



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



**Universitat Autònoma  
de Barcelona**

Programa de doctorat en Medicina  
Departament de Medicina

# Aplicaciones clínicas de la microscopía de reflectancia confocal en el diagnóstico del cáncer cutáneo

**Autor:**

Ignacio Gómez Martín

**Directores de la tesis:**

Dra. Sonia Segura Tigell

Dr. Ramon M. Pujol Vallverdú

**Tutor de la tesis:**

Dr. Ramon M. Pujol Vallverdú

TESIS DOCTORAL  
Barcelona, 2020

La Dra. **Sonia Segura Tigell** (Doctora en Dermatología y adjunta del Servicio de Dermatología del Hospital del Mar de Barcelona) y el Dr. **Ramon M. Pujol Vallverdú** (Profesor Titular de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona y Jefe de Servicio de Dermatología del Hospital del Mar de Barcelona), como directores de la presente tesis doctoral certifican que el trabajo presentado por **Ignacio Gómez Martín**, titulado: "**Aplicaciones clínicas de la microscopía de reflectancia confocal en el diagnóstico del cáncer cutáneo**", cumple las exigencias metodológicas y científicas para ser presentado en el tribunal legalmente constituido según las normas vigentes del Departamento de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Sonia Segura Tigell

Ramon M. Pujol Vallverdú

Ignacio Gómez Martín



## Agradecimientos:

Me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que han colaborado desinteresadamente en la elaboración de este trabajo.

Especialmente a la Dra. Sonia Segura por su incondicional ayuda y dedicación. Sonia, sense tu no hauria estat possible la realització d'aquest doctorat. Gràcies pel teu temps i esforç. També al Dr. Ramón M. Pujol per la seva supervisió, saviesa i permanent disposició.

A les doctores "PhD" Sara Moreno i Laia Curto, les quals em van incitar a començar aquest llarg i difícil viatge. Malgrat el patiment, ara i potser també en un futur us puc dir que us estic molt agraït. Laieta, que hauria sigut de la nostra amistat sense aquests moments de nervis (i també d'esbarjo i "consells" cap al nostre bon amic Dani) durant aquests anys de tesi.

Vull recordar especialment als residents i adjunts de Dermatologia de l'Hospital del Mar pels moments inoblidables compartits en aquests anys i a tot l'equip del servei de Dermatologia de l'Hospital del Mar per fer del meu dia a dia a la feina un moment especial.

A mis padres, por todo el esfuerzo, sacrificio y dedicación por vuestros hijos, y a mi hermano Ángel, por mostrarme su apoyo en todo momento.

A mis amigos de la escuela, universidad y residencia por permitirme desconectar en muchos momentos durante estos 5 años de mi vida.

A tu Mireia, per aguantar la part final d'aquest procés, segurament la part més complicada, mostrant sempre el teu suport, ajuda i comprensió.

Y sobre todo a los pacientes, coautores anónimos de esta tesis.



## Abreviaciones

<b>MM</b>	Melanoma maligno
<b>CBC</b>	Carcinoma basocelular
<b>CEC</b>	Carcinoma escamoso cutáneo o espinocelular
<b>Fig.</b>	Figura
<b>CCNM</b>	Cáncer cutáneo no melanoma
<b>mm</b>	Milímetro
<b>MRC</b>	Microscopía de reflectancia confocal
<b>IC</b>	Intervalo de confianza
<b>OCT</b>	Tomografía óptica coherente
<b>µm</b>	Micrómetro o micra
<b>UDE</b>	Unión dermo-epidérmica
<b>LM</b>	Lentigo maligno
<b>LMM</b>	Lentigo maligno melanoma
<b>MCFEV</b>	Microscopía confocal de fluorescencia <i>ex vivo</i>
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>H&amp;E</b>	Hematoxilina & Eosina
<b>FP</b>	Falso positivo
<b>FN</b>	Falso negativo
<b>NNE</b>	Número necesario para extirpar



## ÍNDICE

Resumen	11
Introducción	14
1. El cáncer cutáneo en la actualidad	16
1.1. Cáncer cutáneo no melanoma	17
1.2. Melanoma maligno	18
2. Técnicas de diagnóstico no invasivo en dermatología	22
2.1. Dermatoscopia (microscopía de epiluminiscencia)	23
2.2. Dermatoscopia digital	26
2.3. Microscopía de reflectancia confocal <i>in vivo</i>	28
2.3.1. Concepto e historia	28
2.3.2. Bases físicas	29
2.3.3. Componentes de la MRC	31
2.3.4. Características de la piel normal por MRC	32
2.3.5. Aplicaciones en dermatología	34
2.3.6. Limitaciones	35
2.4. Microscopía confocal de fluorescencia <i>ex vivo</i>	35
2.5. Tomografía de coherencia óptica	37
2.6. Ecografía de alta frecuencia	37
Hipótesis de estudio	40
Objetivos	44
Compendio de publicaciones	48
1. Artículo I	50
2. Artículo II	63
3. Artículo III	74
Resumen global de los resultados	106
Discusión	121
Conclusiones	139
Futuras líneas de investigación	144
Bibliografía	148
Anexos	167
1. Anexo 1	169
2. Anexo 2	174



## Resumen

La microscopía de reflectancia confocal (MRC) es una técnica de imagen no invasiva que utiliza una luz láser y el principio de confocalidad para el estudio *in vivo* (o *ex vivo*) de tejidos humanos con una resolución comparable al microscopio óptico.

La MRC se ofrece como una técnica complementaria a la dermatoscopia y a la histopatología con el fin de aumentar la precisión diagnóstica de las lesiones cutáneas, especialmente en el campo del cáncer cutáneo (melanoma maligno y en menor medida, cáncer cutáneo no melanoma). Si bien no puede sustituir a la histología, la MRC *in vivo* ofrece la ventaja de no requerir la exéresis de tejidos, a la vez que ofrece un diagnóstico inmediato sin procesamiento de muestras en laboratorio.

Esta tesis doctoral se centra en 3 situaciones clínicas específicas que plantean importantes problemas diagnósticos en la práctica dermatológica habitual:

1. Máculas pigmentadas faciales en piel fotodañada
2. Lesiones planas rosadas en extremidades inferiores
3. Máculas pigmentadas en mucosa oral (concretamente en los labios)

Los estudios incluidos en esta tesis doctoral tienen como objetivo valorar la utilidad de la MRC en estos escenarios concretos, estableciendo una correlación entre los parámetros de dermatoscopia y MRC *in vivo* con los hallazgos histopatológicos subyacentes, con el fin de aumentar la sensibilidad y especificidad diagnóstica en tiempo real.

## Summary

Reflectance confocal microscopy (RCM) is a non-invasive imaging laser-based technique that uses the principle of confocality for the *in vivo* (or *ex vivo*) study of human tissues with a resolution comparable to the optical microscope.

RCM represents a complementary diagnostic technique to dermoscopy and histopathology for skin lesions, especially in the study of premalignant and malignant skin neoplasms. RCM is a non-invasive technique that offers the advantage of avoiding tissue excision, allowing an immediate diagnosis without laboratory sample processing.

This doctoral thesis is focused on 3 specific clinical settings that may represent true diagnostic challenges in the routine dermatological practice:

1. Pigmented facial macules on photodamaged skin
2. Pink flat skin lesions on the legs
3. Pigmented macular lesions in the oral mucosa (specifically lip lesions)

The aim of our studies was to establish a correlation between dermoscopic and *in vivo* RCM parameters with the underlying histopathological findings in order to enhance the sensitivity and specificity in the diagnosis of skin cancer in real time.

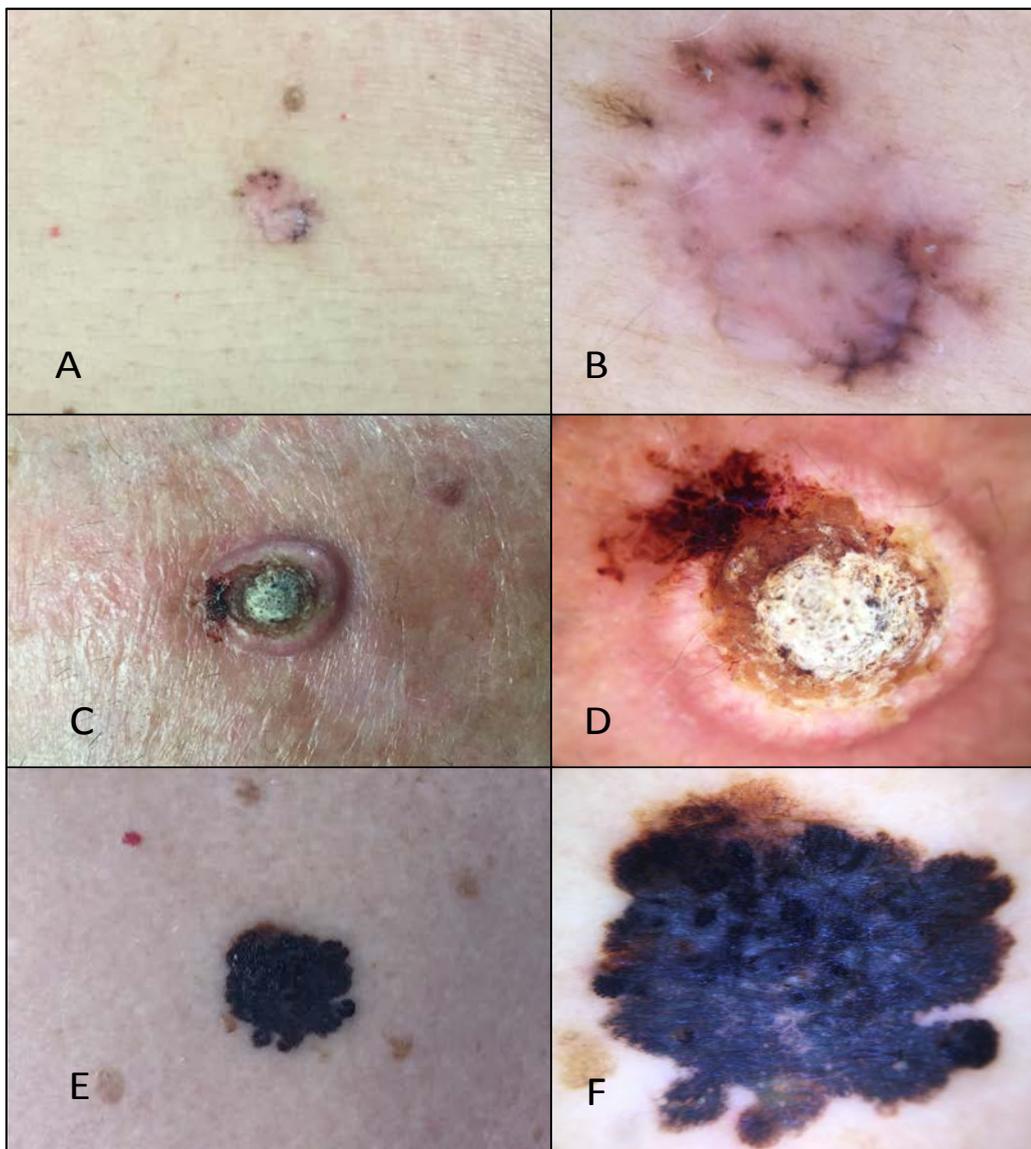


## *Introducción*



## 1. El cáncer cutáneo en la actualidad

Dentro del concepto genérico de cáncer cutáneo se incluyen diferentes tipos de neoplasias malignas cutáneas. Los principales tipos de cáncer cutáneo son el melanoma maligno (MM), el carcinoma basocelular (CBC) y el carcinoma escamoso cutáneo (CEC) que representan más del 95% de las neoplasias malignas cutáneas (Fig. 1). El CBC es el cáncer cutáneo más frecuente, seguido por el CEC (ambos incluidos dentro del término “cáncer cutáneo no melanoma (CCNM)”), y del MM. Otros tipos de cáncer cutáneo menos frecuentes son los linfomas cutáneos primarios, el carcinoma de células de Merkel, el dermatofibrosarcoma protuberans y distintos tumores anexiales malignos.



**Fig. 1.** Principales neoplasias malignas cutáneas. A y B/ Carcinoma basocelular (CBC) Imagen clínica y dermatoscópica. C y D/ Carcinoma escamoso cutáneo (CEC) Imagen clínica y dermatoscópica. E y F/ Melanoma maligno (MM). Imagen clínica y dermatoscópica.

En las últimas décadas se ha objetivado un importante y progresivo aumento en la incidencia del cáncer cutáneo (tanto de CCNM como de MM), representando en la actualidad un verdadero problema de salud pública.(1–9) Este aumento podría explicarse por el aumento de longevidad de la población, la generalización de los hábitos recreacionales vinculados a la exposición solar, la depleción de la capa de ozono y en algunos casos como consecuencia de enfermedades genéticas o situaciones de inmunosupresión persistente.(8,10,11)

### 1.1. Cáncer cutáneo no melanoma (CCNM)

El CCNM representa el cáncer cutáneo más frecuente en humanos e incluye el CBC y el CEC. La incidencia de CCNM en caucásicos es mayor que la de MM (hasta 18-20 veces).(8) En las últimas décadas, se ha objetivado un importante aumento en la incidencia de CCNM, en gran parte como consecuencia del aumento en la esperanza de vida y la exposición solar, y también como resultado de un aumento global del nivel sanitario que conduce a una mejora en su detección. La incidencia exacta de CCNM en nuestro medio es desconocida, al no incluirse habitualmente dentro de los distintos registros poblacionales de cáncer. El CCNM genera grandes costes para los sistemas sanitarios y una gran morbilidad a los pacientes debido a su predilección por desarrollarse en zonas fotoexpuestas (cabeza y cuello). En el año 2012 unos 3.3 millones de personas fueron tratadas de CCNM en los Estados Unidos, registrándose unos 5.4 millones de casos de CCNM al año, de los cuales un 80% correspondían a carcinomas basocelulares.(2) En otro estudio, se observó que el número medio de adultos tratados por cáncer cutáneo al año en EEUU fue de unos 5 millones, con un coste medio de 8.1 billones de dólares cada año.(12)

Los principales factores de riesgo de CCNM son la exposición solar crónica (ocupacional o recreacional), las alteraciones genéticas o predisposición genética para el desarrollo de estas neoplasias, la exposición a radiaciones ionizantes o a productos químicos carcinogénicos como el arsénico, la inmunosupresión crónica y, en algunos casos, la infección por el virus del papiloma humano.(13–15)

El CBC es un tumor epitelial con diferenciación basaloide (similar a las células basales de la epidermis) derivado de las células madre pluripotenciales de los folículos pilosos y la epidermis interfolicular. Se trata del tumor maligno más frecuente en el hombre y tiene un pronóstico excelente, sin tendencia a desarrollar metástasis a distancia, pero con un

comportamiento potencialmente agresivo local, pudiendo generar una morbilidad significativa por progresión y destrucción local.(16)

El CEC es el segundo cáncer cutáneo más frecuente. Es un tumor derivado de los queratinocitos de la epidermis. Su pronóstico suele ser bueno, con una tasa de mortalidad del 1%(17), aunque existe un subgrupo de alto riesgo que puede presentar recurrencias locales, metástasis regionales (cutáneas o ganglionares) y/o a distancia. Los factores pronósticos en el CEC son una situación de inmunosupresión persistente, el tamaño y grosor tumoral, la observación histológica de invasión perineural y/o ósea y el grado de diferenciación histológico.(18,19)

## 1.2. Melanoma maligno

El MM es el tumor maligno que deriva de los melanocitos. Los melanocitos son las células responsables de la síntesis de melanina, una proteína responsable de la protección frente a la radiación ultravioleta. La presencia de tumores melanocitarios benignos (nevus melanocíticos congénitos o adquiridos) es un fenómeno universal en la población, sin trascendencia aparente, aunque de forma excepcional dichas lesiones pueden ser precursoras de un melanoma maligno. El MM afecta principalmente a la piel (90%), pero puede también desarrollarse de forma menos frecuente en las mucosas, estructuras oculares y en el sistema nervioso central (leptomeninges). El MM cutáneo puede aparecer sobre una piel normal (melanoma “*de novo*”) o sobre una lesión melanocitaria preexistente (melanoma “sobre nevus”).

Pese a no ser la más frecuente de las neoplasias malignas cutáneas (representa menos del 5%), es con diferencia el tumor que causa el mayor número de muertes relacionadas con el cáncer cutáneo en todo el mundo (75-80%) y aproximadamente del 1-2% de todas las muertes por cáncer.(20) Las células de MM tienen una alta capacidad de producir enfermedad invasiva, incluso a partir de tumores de volumen muy reducido.(21) Una vez diseminado es un tumor muy resistente a los tratamientos convencionales, con un pronóstico infausto y supervivencias del 15.7% a los 5 años (en estadio IV).(22) A pesar de que en los últimos años han aparecido nuevos tratamientos diana oncogénicos e inmunológicos que mejoran la supervivencia del MM avanzado y metastásico, sigue siendo un problema importante de salud pública.(23,24) Se ha estimado que cada muerte por MM implica una pérdida de 15 a 20 años de vida productiva y que los costes

indirectos anuales en Estados Unidos atribuibles al melanoma oscilan entre los 39 millones de dólares por morbilidad y los 3.300 millones por mortalidad prematura.(25,26)

Los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de un MM son la historia familiar o personal de MM y la presencia de un elevado número de nevus melanocíticos adquiridos o  $\geq 5$  nevus melanocíticos clínicamente atípicos.(20,27–29) Otros factores de riesgo son la presencia de efélides y lentigos solares, la exposición solar excesiva durante la vida (intermitente o crónica), las quemaduras solares frecuentes, el uso de cabinas de bronceado, vivir en latitudes ecuatoriales, una situación de inmunosupresión crónica o un fenotipo claro (tez clara, pelirrojos, incapacidad para broncearse, tendencia a las quemaduras solares).(20)

Existen diferentes tipos de MM:

- Melanoma cutáneo (91% de todos los melanomas)(30):
  - Melanoma de extensión superficial: representa el 60% de casos en nuestro medio, aparece principalmente en tronco y extremidades, debuta en edades más jóvenes y se asocia a la exposición solar intermitente y a la presencia de nevus melanocíticos.
  - Melanoma nodular: 3-4% de casos. Tasa de crecimiento rápido. No presenta fase de crecimiento radial, sino únicamente vertical desde su aparición, lo que implica un peor pronóstico, ya que suele presentar mayor índice de Breslow y mayor tasa de muerte por melanoma metastásico. En ocasiones puede llegar a ser polipoide y/o amelanótico adquiriendo un aspecto de lesión benigna.
  - Lentigo maligno melanoma: aparece en áreas de marcado daño actínico, en edades más avanzadas y es independiente de la presencia de nevus melanocíticos. Representa aproximadamente el 5-10% de casos de MM cutáneo.
  - Melanoma lentiginoso acral: representa el 8-10% de los melanomas en caucásicos. Como su nombre indica aparece típicamente en zonas acras, como son las plantas de los pies y los dedos. No tiene relación con la exposición solar. En este grupo se incluye también la variante subungueal del melanoma (2% de todos los melanomas cutáneos).
  - Otras variantes (menos del 5% de casos) más raras de melanoma cutáneo: melanoma desmoplásico, melanoma spitzoide, melanoma

amelanótico, melanoma sobre nevus congénito o melanoma tipo nevus azul.

- Melanoma de mucosas (oral y genital): 1.3% de todos los melanomas. Sin relación con la exposición solar. Aunque distinto clínicamente, comparte rasgos genómicos con el melanoma lentiginoso acral. Tiene un comportamiento agresivo.
- Melanoma ocular: uveal (iris, coroides o cuerpo ciliar) y conjuntival: aproximadamente el 5% de todos los melanomas, de curso agresivo y sin relación con la exposición solar.
- Melanoma de primario desconocido: hasta un 2.2% de los casos de MM.

De forma similar al CCNM, la incidencia del MM ha aumentado en las últimas décadas en la población caucásica de todo el mundo.(31) Las poblaciones blancas de Australia y Nueva Zelanda tienen las tasas de incidencia de MM más altas (alrededor de 60 casos por 100.000 personas-año), seguidas por las de Norte América y Norte de Europa. En Europa, las tasas de incidencia y mortalidad del MM ajustadas por edad en 2018 fueron de 15.8 y 3.2 por 100.000 en varones y 14.6 y 1.9 por 100.000 en mujeres, respectivamente.(32)

Los valores de incidencia europeos más elevados pertenecen a los países nórdicos y occidentales (poblaciones de piel clara) y los más bajos a los países del Sur de Europa.(31) España tiene una de las tasas de incidencia (8,82 por 100.000 personas-año) y mortalidad más bajas de toda Europa.(33)

En las últimas décadas del siglo XX se observó en España un aumento de la tasa de mortalidad, si bien en los últimos 20 años se ha objetivado una reducción en las cohortes de jóvenes de ambos sexos y en hombres de edad media, habiéndose estabilizado en mujeres de edad media. Por otro lado, la mortalidad en individuos de edades  $\geq 65$  años ha seguido en aumento.(34) Esto podría explicarse porque la incidencia de MM ha aumentado especialmente en gente mayor (35) y a que los MMs en edad avanzada suelen ser de mayor grosor tumoral que en individuos jóvenes.(36)

En Cataluña, la incidencia de MM ha aumentado considerablemente en la última década tanto en hombres como en mujeres (35) y parece bastante probable que dicha incidencia sea incluso superior a la estimada, debido a que ciertos melanomas no son registrados

(p. ej. MMs diagnosticados y tratados en el ámbito ambulatorio / privado, y lesiones detectadas en fases iniciales que no precisan pruebas o tratamientos complementarios).(37) Estudios epidemiológicos recientes indican que el melanoma *in situ* (fase más precoz del MM) ocupa un porcentaje desproporcionadamente elevado dentro del aumento global de incidencia de MM. Se cree que este aumento podría explicarse por un mejor cribado y registro de los nuevos casos o incluso como consecuencia de cambios en los criterios histológicos diagnósticos de MM.(38,39)

La detección precoz del MM representa uno de los aspectos fundamentales en la práctica dermatológica, ya que el diagnóstico de la enfermedad en estadios avanzados conlleva una dramática disminución de la supervivencia de los pacientes con MM. El diagnóstico del MM en fases iniciales y la escisión quirúrgica con márgenes adecuados siguen siendo la única oportunidad de tratamiento curativo. Se ha observado que los pacientes con MM *in situ* tienen la misma esperanza de vida que la población general (38) y aquellos con melanomas delgados (Índice de Breslow o grosor tumoral <1 milímetro (mm); estadios T1a y T1b) presentan una supervivencia a 10 años de un 96-98%. En contraste, aquellos pacientes en estadio IIC (Breslow > 4mm con ulceración), que son tumores localmente avanzados sin afectación ganglionar o metastásica en el momento del diagnóstico, la supervivencia se reduce al 75%. Si ya existe afectación ganglionar o microsateletosis (estadio III) la supervivencia a 10 años puede llegar a reducirse a un 24% en estadios IIID.(40) En casos de metástasis visceral, la supervivencia disminuye drásticamente, con una supervivencia a 1 año del 33%.(41)

Con la finalidad de reducir la mortalidad por MM se han diseñado campañas poblacionales de prevención tanto primaria (educación sanitaria de la población sobre el uso de medidas de fotoprotección y autoexploración de la piel) como secundaria (campañas de cribado y de difusión de los criterios de riesgo de MM) y se ha mejorado en el diagnóstico precoz del MM y la monitorización de los pacientes de riesgo por parte de los profesionales sanitarios. En las últimas décadas, de todas las medidas de prevención secundaria, la detección precoz del MM ha representado muy probablemente el factor más importante para conseguir una mejor supervivencia del MM.(42)

La detección precoz por parte del profesional sanitario debe implicar:

- La identificación y extirpación de los MM en fases iniciales, sin aumentar cirugías innecesarias de lesiones benignas.

- La práctica de un control eficaz de los pacientes con alto riesgo de desarrollar un MM.
- Un diagnóstico histopatológico correcto de las lesiones melanocíticas de diagnóstico difícil, recurriendo si es necesario a técnicas complementarias como la inmunohistoquímica, citogenética o biología molecular.

Con el objetivo de mejorar la precisión diagnóstica del melanoma y del CCNM, en las últimas décadas se han desarrollado nuevas herramientas y técnicas de diagnóstico no invasivo entre las que destacan la dermatoscopia (microscopía de epiluminiscencia), la dermatoscopia digital y más recientemente, la microscopía de reflectancia confocal (MRC).

## 2. Técnicas de diagnóstico no invasivo en Dermatología

En los años 60, el diagnóstico del MM se basaba casi exclusivamente en la anamnesis, en las características clínico-patológicas y en la sintomatología asociada. El sangrado, prurito y ulceración eran los síntomas más relevantes y la coexistencia de estos 3 síntomas solía conllevar un mal pronóstico. En los años 80, en un intento de mejorar el diagnóstico precoz del melanoma y reducir así su mortalidad se propuso la regla del ABCD, aplicable tanto para clínicos como para pacientes. Esta regla (que se continúa utilizando en la actualidad) se basa en las características clínicas más frecuentes observadas en el MM como son la **A**simetría, los **B**ordes irregulares, una **C**oloración irregular (heterocromía) y el **D**íámetro de la lesión (mayor a 6mm).(43) Posteriormente, se introdujo un quinto criterio, **E** de **E**volución para describir los cambios (color, tamaño o forma) experimentados en el tiempo de una lesión.(44) Esta regla presentaba una sensibilidad del 89.3% y especificidad del 65.3% si 2 criterios estaban presentes o una sensibilidad del 65.5% y una especificidad del 81% si se cumplían 3 criterios.(45) La precisión del diagnóstico clínico en el MM cutáneo se hallaba entre un 65 y un 70%.(46,47)

Sin embargo, la regla ABCD no permite detectar muchos melanomas incipientes (lesiones simétricas, con color homogéneo o de menos de 5 mm de diámetro) y algunos melanomas nodulares,(48,49) y no evita extirpaciones innecesarias ya que distintas lesiones benignas pueden cumplir la regla ABCD compartiendo características clínicas típicas de melanoma.

Otro signo clínico descrito para intentar mejorar la detección precoz del MM es el denominado signo del “patito feo”, que hace referencia a aquella lesión melanocítica que presenta unas características clínicas distintas con respecto al resto de lesiones melanocíticas del mismo paciente, como una potencial lesión maligna susceptible de ser extirpada (a pesar de no cumplir la regla ABCDE). (50)

Sin embargo, en un estudio en el que se valoraban clínicamente lesiones pigmentadas de un diámetro  $\leq 3$  mm se observó que la sensibilidad de la valoración clínica era solamente de un 43% en este tipo de lesiones incipientes.(49) Esta observación, junto al dato de que por lo menos un 30% de los melanomas cutáneos no se consiguen diagnosticar en base a criterios exclusivamente clínicos,(46) apunta a la necesidad de la utilización de técnicas diagnósticas complementarias en el diagnóstico de este tumor.

## 2.1. Dermatoscopia (microscopía de epiluminiscencia)

La dermatoscopia (microscopía de epiluminiscencia, microscopía de la superficie de la piel) fue utilizada por primera vez en el estudio de lesiones pigmentadas cutáneas en 1971 de la mano de MacKie.(51)

Es una técnica *in vivo*, no invasiva, rápida, sencilla y barata que consiste en una lente de 10 a 40 aumentos con una fuente de iluminación. Los instrumentos de mano utilizados suelen ofrecer 10 aumentos (Fig. 2). Para evitar la dispersión de la luz en contacto con la capa córnea, los dispositivos pueden utilizar una luz y filtro de polarización, o bien una luz convencional aplicando aceite de inmersión sobre la piel y contactando directamente la lente a la superficie cutánea. Los dermatoscopios permiten así visualizar estructuras y colores de la epidermis, de la unión dermoepidérmica y dermis superficial.

La dermatoscopia aporta una valiosa ayuda en el diagnóstico de las lesiones cutáneas, ya que ofrece una observación magnificada y en profundidad de colores y microestructuras cutáneas (no visibles a simple vista) y permite en muchas ocasiones reducir la incertidumbre entre benignidad y malignidad. Un estudio randomizado mostró que la valoración clínica en combinación con la dermatoscopia conseguía una reducción de un 42% en el número de pacientes derivados para biopsia, con respecto al grupo valorado exclusivamente en base a parámetros clínicos ( $p = 0.01$ ). (52)



Fig. 2. Izquierda: Diferentes modelos de dermatoscopia. Derecha: Cámara de dermatoscopia

Inicialmente la dermatoscopia se utilizó para la valoración de lesiones pigmentadas (melanocíticas y no melanocíticas) cutáneas con el objetivo de establecer un diagnóstico precoz de melanoma, pero posteriormente su uso se ha generalizado y extendido a otros campos de la Dermatología, como en la valoración de procesos inflamatorios, infecciosos y alteraciones de pelo y uñas.

Actualmente, distintas guías de práctica clínica sobre el manejo del melanoma recomiendan la utilización y el entrenamiento en dermatoscopia de los facultativos dedicados al control del cáncer cutáneo.(53–56) La dermatoscopia mejora la precisión diagnóstica del MM respecto a la exploración clínica en un 49%; aumentando la sensibilidad en un 19% (83.2% vs 69.9%); y la especificidad en un 6.2% (85.8% vs 80.8%), aunque solo cuando la realizan examinadores experimentados.(57) En un metaanálisis se observó que la precisión diagnóstica para MM era 15.6 veces superior para la dermatoscopia si se comparaba con el diagnóstico realizado con la simple exploración clínica (intervalo de confianza (IC) 95% 2.9-83.7,  $p = 0.016$ ). (58) Tanto la sensibilidad diagnóstica como la especificidad eran mayores con la dermatoscopia en relación con la exploración clínica, aunque esta última no era estadísticamente significativa.(58)

Por otro lado, un estudio retrospectivo mostró una reducción significativa en la ratio benignidad-malignidad de las lesiones melanocíticas extirpadas, pasando de 18:1 (sin uso de dermatoscopia) a 4:1 (con uso de dermatoscopia) ( $p = 0.04$ ) por médicos expertos en dermatoscopia.(59) En otro estudio con pacientes de alto riesgo de padecer MM, el uso de la dermatoscopia se asoció a una reducción significativa (42%) en el número de extirpaciones quirúrgicas.(60)

Un estudio multicéntrico durante diez años (1998-2007) mostró que la relación entre lesiones melanocitarias benignas-malignas extirpadas en centros dedicados al tratamiento del cáncer de piel mejoraba de un 12,8 a un 6,8 ( $p < 0.001$ ) y por el contrario se mantenía sin cambios en centros no dedicados a la detección del cáncer de piel (29.4). Los autores de ese estudio argumentaban que la introducción de la dermatoscopia fue en gran parte responsable de esta mejora.(61)

En 2001, un consenso de expertos en dermatoscopia validó un algoritmo diagnóstico en dos etapas para realizar el diagnóstico diferencial de las lesiones cutáneas.(62) El primer nivel intenta definir si una lesión es de origen melanocítico o no melanocítico. Una vez se ha identificado que estamos delante de una lesión melanocítica o si no se han reconocido criterios de lesión melanocítica ni un patrón específico de lesión no melanocítica se pasará al siguiente nivel, que consiste en un análisis de patrones para definir si esta lesión melanocítica es benigna, maligna o sospechosa (Fig. 3).

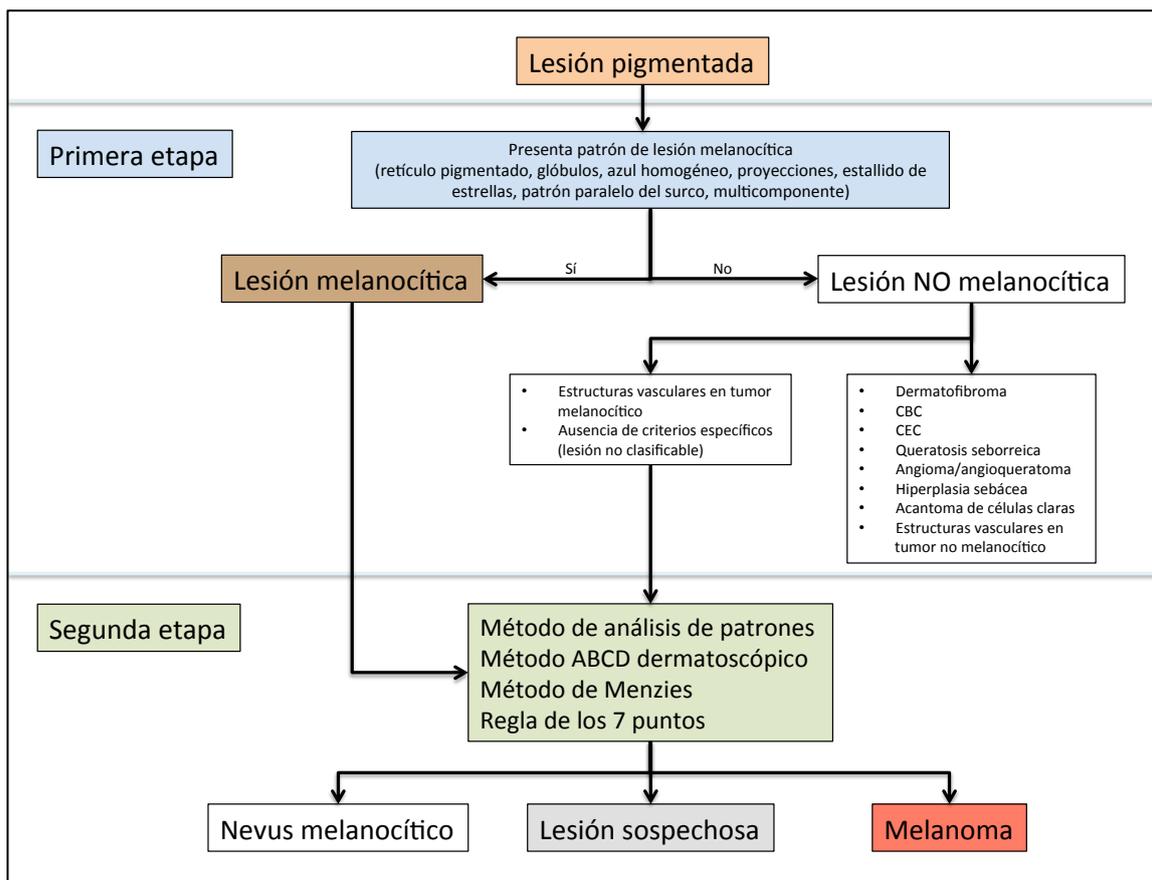


Fig. 3. Representación esquemática del Algoritmo diagnóstico en 2 etapas.(62)

En la segunda etapa el método de análisis de patrones fue el método diagnóstico más sensible y específico para la distinción entre lesión melanocítica benigna y maligna. Se calcularon niveles de sensibilidad >90% en el diagnóstico de melanoma para la primera etapa, mientras que para la segunda, el análisis de patrones alcanzó niveles de sensibilidad y especificidad >80%.<sup>(62)</sup> Las principales limitaciones de este algoritmo se hallan en el diagnóstico de lesiones totalmente regresadas y amelanóticas, lesiones localizadas en cara y pacientes con múltiples nevos atípicos. Además, debe tenerse en cuenta que esta sistemática diagnóstica no está diseñada para la valoración de lesiones en las uñas, mucosas o en el cuero cabelludo.

No obstante, se considera que hasta un 5-10% de los MMs escapan a los criterios dermatoscópicos definidos,<sup>(63)</sup> ya sea porque presentan criterios específicos de lesión no melanocítica, criterios de nevus melanocítico o por la ausencia de criterios de lesión melanocítica y no melanocítica.<sup>(64)</sup> Los pacientes con múltiples nevos con atipia presentan un mayor riesgo de padecer MM y requieren seguimiento a largo plazo. En este grupo de pacientes la dermatoscopia convencional no permite un análisis comparativo en el tiempo de las lesiones y no consigue detectar en fases tempranas aquellos melanomas que inicialmente simulan nevus melanocíticos.<sup>(64)</sup>

Un estudio observó que un antecedente de cambio en la lesión (detectado tanto por el propio paciente como por seguimiento digital) fue el principal motivo para la realización de una biopsia (en un 67% de los casos) en una serie de melanomas de difícil diagnóstico (ausencia de criterios dermatoscópicos específicos de malignidad).<sup>(64)</sup>

## 2.2. Dermatoscopia digital

Las lesiones melanocíticas benignas (incluidos los nevos atípicos o displásicos) tienden a mantenerse estables en el tiempo, o como mucho presentan un crecimiento simétrico sin cambios estructurales sustanciales (como puede ser la corona de glóbulos en gente joven). En cambio, el MM suele evolucionar en períodos cortos de tiempo (crecimiento focal, cambios de color y/o aparición de nuevas estructuras dermatoscópicas sugestivas de MM). Por este motivo, el seguimiento dermatoscópico digital (Dermatoscopia digital o microscopía de epiluminiscencia digitalizada) fue introducido como estrategia para detectar cambios en el tiempo en las lesiones pigmentadas.<sup>(65,66)</sup>

La importancia del seguimiento dermatoscópico digital para el diagnóstico precoz del MM ha sido demostrado en distintos estudios. Skvara y colaboradores observaron 63

melanomas, indistinguibles de un nevus melanocítico en la visita inicial (evaluación clínica y dermatoscópica), que solo pudieron ser diagnosticados a partir de los cambios objetivados durante el seguimiento dermatoscópico digital.(67) Otro ejemplo de la importancia del seguimiento dermatoscópico digital sería en el diagnóstico de los llamados “melanomas de crecimiento lento”, en los que solo un seguimiento dermatoscópico a largo plazo permite detectarlos y establecer su diagnóstico.(68)

En un metaanálisis reciente se observó que el 29.1% de los melanomas aparecían sobre un nevus preexistente, mientras que el 70.9% aparecían “de novo”,(69) lo que demuestra la necesidad de incorporar la fotografía corporal total en el seguimiento de los pacientes con alto riesgo de MM.(70)(71)(72)

Varios estudios han mostrado que el seguimiento digital regular (sobre todo el denominado método en 2 etapas, combinando la fotografía corporal total y la dermatoscopia digital secuencial) (73) en pacientes de alto riesgo supone la estrategia no invasiva más eficiente en la detección de melanomas en fases más precoces (en muchas ocasiones, sin criterios dermatoscópicos de malignidad) y con un menor número de extirpaciones innecesarias.(56,65,74–79) Este método permite aumentar la frecuencia de detección de MM a partir de la observación de cambios macroscópicos, de nuevas lesiones no objetivadas previamente y de cambios dermatoscópicos en el tiempo.(74) Se ha demostrado asimismo que el seguimiento digital especializado es una estrategia coste-efectiva en pacientes de alto riesgo, reduciendo los costes (menor número de extirpaciones y de tratamientos adicionales) y mejorando la efectividad (detección de melanomas delgados con mejor supervivencia) en comparación con un seguimiento clínico convencional.(80)

La dermatoscopia digital constituye una herramienta fundamental en el seguimiento de los pacientes considerados de alto riesgo, incluyendo individuos con múltiples nevus melanocíticos con atipia (síndrome del nevus atípico o síndrome del nevus atípico familiar y melanoma múltiple), con historia personal o familiar de MM, afectos de genodermatosis con elevado riesgo de cáncer cutáneo o pacientes con una elevada susceptibilidad genética para el desarrollo de melanoma. Sin embargo, el seguimiento digital no parece beneficioso para aquellos pacientes con múltiples nevus sin otros factores de riesgo de MM,(81) no estando indicado en la valoración de lesiones palpables o nodulares, o que muestren signos de regresión o color azul, ni en aquellas lesiones con criterios claros de

MM en la valoración inicial (deben ser extirpadas) o en nevos melanocíticos con características evidentes de lesión benigna.(82)

En resumen, tanto la incorporación de la dermatoscopia como la dermatoscopia digital han representado un avance significativo en el diagnóstico del cáncer cutáneo. No obstante, en la práctica clínica los dermatólogos se enfrentan a menudo con lesiones en las que no se consigue filiar su origen (melanocítico o no melanocítico) y en caso de ser melanocítica puede resultar muy difícil determinar si una lesión es benigna o por lo contrario se trata de un MM. En casos de lesión única y fácilmente extirpable por el contexto del paciente y/o localización, el problema suele resolverse con una extirpación y estudio histológico convencional. Pero a menudo nos encontramos con pacientes con múltiples lesiones de estas características, o simplemente en localizaciones donde la biopsia o extirpación puede conllevar una significativa repercusión cosmética para el paciente (cara, genitales, antecedentes de cicatrización hipertrófica o queloidea). Además, se ha descrito que hasta un 8% de las lesiones monitorizadas que han presentado cambios, tras ser extirpadas corresponden a lesiones benignas.(75)

Por todo ello, resulta necesario disponer de técnicas fiables que ofrezcan una información similar a la histología y sirvan de verdadero puente entre la información clínica-dermatoscópica y la biopsia convencional. Con esta intención, en los últimos años se han desarrollado nuevas tecnologías como la microscopía de reflectancia confocal (MRC), la tomografía de coherencia óptica (OCT) y la ecografía de alta frecuencia.

## 2.3. Microscopía de reflectancia confocal *in vivo*

### 2.3.1. Concepto e historia

La MRC es una técnica no invasiva que permite la valoración en tiempo real de lesiones cutáneas o mucosas (tumoraes o inflamatorias) con una resolución a nivel celular (0.5 - 1 µm), comparable a la histología convencional. El microscopio confocal de escaneo (Confocal Scanning Microscope) fue inventado en 1957 en la Universidad de Harvard por Marvin Minsky (Minsky M. Microscopy apparatus. US Patent 3013467; 1957), científico estadounidense, conocido como el padre de la inteligencia artificial.

El instrumento inicial de Minsky escaneaba la pieza *ex vivo* a través del microscopio para formar una imagen. Sin embargo, hasta que no apareció la tecnología láser y la informática no se pudo utilizar para tomar imágenes *in vivo*. La primera publicación en la

que se consigue visualizar la piel humana *in vivo* data de 1993.(83) En 1995, Rajadhyaksha y colaboradores estudiaron la piel humana por MRC combinando longitudes de onda diferentes que les permitió obtener imágenes a diferentes niveles de la piel y identificar la melanina como principal factor de contraste.(84) Ya a finales de los años 90 el mismo grupo de trabajo evidenció la alta correlación entre las imágenes de MRC y la histología mediante un prototipo del microscopio de reflectancia confocal actual,(85) que la empresa americana Lucid comercializaría poco más tarde con el nombre de Vivascope<sup>®</sup> 1000. Con estos estudios se presentaba la MRC al mundo de la Dermatología como una herramienta diagnóstica no invasiva en tiempo real.

### 2.3.2. Bases físicas

El microscopio de reflectancia confocal es básicamente una fuente de luz, un condensador, una lente, un diafragma y un detector. Los microscopios de reflectancia confocal *in vivo* consisten en una fuente de luz (láser casi infrarrojo a 830nm, con una potencia menor a 30mW que no genera daño tisular) que ilumina una zona concreta de tejido de grosor limitado. Una parte de la luz es absorbida y otra parte reflejada hacia el dispositivo. La luz reflejada desde el área iluminada pasa por una lente objetivo y alcanza el detector a través de un diafragma, mientras que la luz reflejada procedente de planos fuera de foco es rechazada. Las imágenes emergen de la luz reflejada recogida exclusivamente del plano tisular bajo estudio (plano confocal) con una magnificación de 40x a 100x (aumentos). Para ello, es imprescindible que los planos estén “conjugados en foco”, es decir que la fuente de luz, el área iluminada y el diafragma se encuentren ópticamente dispuestos en planos ópticos conjugados. Las imágenes obtenidas por MRC, al igual que en la dermatoscopia, se visualizan en un plano horizontal lo que permite una correlación directa con las imágenes dermatoscópicas.

Proporciona secciones ópticas en serie del tejido estudiado con una resolución lateral inferior a 1 micrómetro ( $\mu\text{m}$ ), una resolución axial de 2-5  $\mu\text{m}$  y puede alcanzar una profundidad máxima de 200-350  $\mu\text{m}$ . Las imágenes confocales visualizadas en tiempo real son paralelas a la superficie cutánea (a diferencia de los cortes habituales de la histología) y monocromas en escala de grises. El mecanismo de contraste de la MRC se basa en la retrodispersión de la luz (cantidad de luz reflejada por el tejido). Las estructuras que aparecen brillantes (blanquecinas) en las imágenes de MRC tienen componentes con un índice de refracción elevado comparado con los elementos de su alrededor, y/o son de tamaño similar a la longitud de onda. Las principales estructuras cutáneas con alto índice de refracción son la melanina ( $n=1.7$ ), queratina ( $n=1.5$ ) y

colágeno (n=1.4).(84) Las estructuras no refráctiles aparecerán negras en la imagen.

El microscopio confocal obtiene imágenes con un campo de visión tisular de 0.5 x 0.5 mm para Vivascope® 1500 y hasta 1 x 1 mm para Vivascope® 3000 (Caliber Imaging & Diagnostics, Inc., NY, USA). Estos campos de visión permiten un estudio arquitectural y celular del tejido. Además, el microscopio confocal dispone de unas aplicaciones que permiten obtener imágenes secuenciales en el plano horizontal y el plano vertical y el registro de secuencias de lapsos de tiempo (pequeños videos).

Las imágenes en el plano horizontal forman mosaicos (áreas de piel de 1x1 mm hasta 8x8 mm, formadas por imágenes individuales unidas una junto a la otra) que permiten una visión arquitectural del tejido (Vivablock®). Por otro lado, la obtención de imágenes secuenciales en el plano vertical (imágenes individuales capturadas con una separación de unos 4 µm de profundidad, de superficial a profunda) permite evaluar de forma rápida distintas profundidades del tejido en un punto determinado del plano horizontal (Vivastack®). Las secuencias de lapsos de tiempo sirven para visualizar procesos dinámicos como la circulación sanguínea. Las imágenes son almacenadas electrónicamente y se pueden visualizar en diferentes momentos para ser valoradas.

Los dispositivos de MRC *in vivo* disponibles actualmente son el Vivascope® 1500 (Caliber Imaging and Diagnostics, Rochester, NY, USA; Lucid Inc., Rochester, NY, USA; or Lucid Inc., MAVIG GmbH, Munich, Germany) y el dispositivo portátil Vivascope® 3000 (Caliber Imaging and Diagnostics, Rochester, NY, USA). Las principales diferencias entre ambos son su funcionamiento y la forma en que se muestran las imágenes.

Vivascope® 1500 (Fig.4) permite realizar mosaicos de hasta 8 x 8 mm y correlación dermatoscópica, pero tiene como principal limitación la dificultad para capturar imágenes en superficies contorneadas, mientras que Vivascope® 3000 (Fig. 5) mejora la velocidad de la exploración y la limitación de las superficies contorneadas, pero por el contrario tiene más riesgo de artefactos por movimiento, sin correlación dermatoscópica y sin posibilidad de hacer mosaicos.



Fig. 4. Dispositivo Vivascope® 1500.



Fig. 5. Dispositivo Vivascope® 3000.

### 2.3.3. Componentes de la MRC (*hardware* o soporte físico)

- Pantalla

Pantalla plana a color donde se visualizan las imágenes de MRC.

- Brazo articulado

Brazo de acero móvil altamente flexible para poder aplicar el microscopio sobre las diferentes superficies cutáneas a estudio.

- Cámara de dermatoscopia

Cámara acoplada al dispositivo de MRC (Fig. 6). Obtiene imágenes de dermatoscopia con la misma orientación que las imágenes de MRC, permitiendo establecer correlaciones entre las estructuras dermatoscópicas y las imágenes de MRC, y facilita la orientación espacial dentro de la lesión durante la exploración.

- Medio de contacto

Se utilizan lentes de inmersión en agua (índice de refracción de 1.33, similar al de la epidermis que es de 1.44), lo que reduce las aberraciones esféricas causadas por el paso

de la luz a través de la interfase tejido-aire. Se emplean geles acuosos o agua como medio de interfase.

- Sistema de fijación

Los artefactos por movimiento, principalmente secundarios a la respiración del paciente, se previenen mediante la inmovilización de la lente a la piel utilizando un anillo metálico plano (Fig. 7) que se adhiere a la superficie cutánea por un lado (junto con una pequeña gota de aceite de inmersión) y se mantiene unido al microscopio mediante un imán.



**Fig. 6.** Cámara de dermatoscopia integrada en el dispositivo de MRC.



**Fig. 7.** Mecanismo de adhesión del microscopio confocal a la piel mediante un anillo metálico y un adhesivo desechable.

#### 2.3.4. Características de la piel normal por MRC

- Epidermis: compuesta de queratinocitos diferenciados con pocas células dendríticas intercaladas (melanocitos y células de Langerhans). Está dispuesta en 4 capas de más superficial a profunda.

- Estrato córneo: se encuentra entre 0-15  $\mu\text{m}$  desde la superficie de la piel y presenta corneocitos, que son queratinocitos anucleados grandes y brillantes, poligonales y aplanados, rodeados por dermatoglifos que se visualizan como espacios lineales oscuros.(85) El tamaño de los dermatoglifos varía según el fototipo de piel, localización anatómica y exposición solar.
- Estrato granuloso: compuesto por queratinocitos aplanados con núcleo central

oscuro y ovalado, rodeados por un fino anillo de citoplasma granular y brillante. Su grosor varía de 1-10 células según la localización anatómica. Los límites entre cada queratinocito están bien definidos.

- Estrato espinoso: tiene un grosor de 5-10 células, con un patrón característico en panal de abejas formado por queratinocitos bien delimitados, poligonales y brillantes, ligeramente más pequeños que en las capas superiores y con un núcleo oscuro y redondo.(85)
- Capa basal: compuesta por una capa única de queratinocitos pequeños cuboidales / columnares uniformes con actividad proliferativa, con algunos melanocitos esparcidos entre ellos. La densidad melanocitaria es variable según la región anatómica, siendo la zona facial la que presenta una mayor densidad. Los melanocitos se visualizan como células pequeñas brillantes dendríticas o redondas. Esta capa se encuentra a una profundidad de 40-130  $\mu\text{m}$  por debajo de la superficie cutánea.(87) En fototipos cutáneos bajos, las células basales son difíciles de distinguir, pero en fototipos altos se pueden visualizar formando un patrón en empedrado, debido a que los queratinocitos basales tienen mayor cantidad de melanina en su citoplasma (capa con mayor índice refractivo). En localizaciones anatómicas con crestas interpapilares, los queratinocitos basales forman un patrón en anillos refráctiles rodeando la papila dérmica oscura.

- Unión dermo-epidérmica (UDE): zona de convergencia entre la epidermis y la dermis, donde la dermis forma proyecciones digitiformes hacia la epidermis llamadas papilas dérmicas que se visualizan por MRC como áreas semiovaladas oscuras con vasos capilares y colágeno ligeramente refráctil en su interior, rodeadas por los queratinocitos basales refráctiles (en fototipos altos).

- Dermis: compuesta por fibras y haces de colágeno, fibras elásticas, fibroblastos, nervios y vasos sanguíneos. Existen variaciones en su distribución, densidad y refractilidad según localización anatómica y edad. Presenta un grosor variable entre 0.3 mm (párpados) a 3 mm (espalda) y se subdivide en dermis papilar (más superficial, desde papilas dérmicas hasta el plexo vascular superficial) y dermis reticular (desde plexo vascular superficial hasta tejido subcutáneo).

- Dermis papilar: por MRC se visualiza como una zona más oscura que la epidermis sin núcleos visibles y cantidades variables de fibras y haces de colágeno (formando una malla reticulada o haces finos brillantes).

- Dermis reticular: por MRC solo se puede observar su región más superficial y de forma poco nítida. Se visualiza como haces gruesos de colágeno grises, ligeramente refráctiles con un patrón fascicular intercalados en un lumen oscuro. En la dermis reticular se encuentran la mayoría de estructuras anexiales cuáneas (folículos y tallos pilosos, glándulas ecrinas, apocrinas y sebáceas).

### 2.3.5. Aplicaciones en Dermatología

- Valoración secundaria de lesiones cutáneas

Permite confirmar el diagnóstico de sospecha clínico-dermatoscópico de distintas lesiones cutáneas y ayuda al diagnóstico de sospecha de melanomas sin signos específicos de lesión melanocítica o en aquellas lesiones melanocíticas malignas sin criterios clínico-dermatoscópicos de malignidad. Diversos estudios han demostrado la utilidad de la MRC como complemento a la dermatoscopia en lesiones melanocíticas atípicas que exhiben cambios en el seguimiento con dermatoscopia digital, mejorando la precisión diagnóstica del MM incipiente y permitiendo disminuir el número de lesiones benignas extirpadas.(88,89) También es de gran ayuda en el diagnóstico del CCNM, donde consigue una significativa precisión diagnóstica para el CBC(90–92) con una excelente correlación con la histopatología y para otros tipos de neoplasias no melanocíticas como son las queratosis actínicas o el CEC.(93)

Es una técnica especialmente útil en lesiones localizadas en zonas cosméticamente sensibles, con el objetivo de evitar una biopsia cutánea, una exéresis quirúrgica amplia o en lesiones en las que podría existir un error en la conducta terapéutica en caso de diagnóstico de benignidad.

- Guía para la toma de biopsia incisional

La MRC puede utilizarse para seleccionar la mejor zona de biopsia incisional, permitiendo seleccionar el área más sospechosa de la lesión y aumentando el rendimiento diagnóstico del estudio histopatológico (reduciendo falsos negativos o intentando detectar la invasión dérmica de una lesión maligna).

- Delimitación de tumores

La MRC permite la detección, delimitación y mapeo prequirúrgico de lesiones tumorales cutáneas, especialmente en lesiones mal delimitadas, en tumores de colisión, o lesiones con un importante componente subclínico como pueden ser las lesiones faciales tipo

lentigo maligno / lentigo maligno melanoma (LM / LMM).(94–96) Al determinar las dimensiones reales del tumor, permite asimismo orientar sobre la posible indicación terapéutica, tipo de Cirugía y reconstrucción quirúrgica. Se ha utilizado también intraoperatoriamente para conseguir márgenes quirúrgicos negativos.(97,98)

- Monitorización de la respuesta tumoral a tratamientos no invasivos y detección de recidivas

La MRC puede ser útil para valorar la respuesta al tratamiento, detectar un posible fracaso terapéutico y las posibles recidivas, especialmente después de tratamientos no quirúrgicos (radioterapia, terapia fotodinámica o imiquimod tópico).(99–102)

### 2.3.6. Limitaciones

Las principales limitaciones técnicas de la MRC *in vivo* son la profundidad limitada de penetración, el pequeño campo de visión y la falta de contrastes exógenos que aumenten el contraste. A medida que la profundidad aumenta más allá de las 200  $\mu\text{m}$  (capas profundas de la dermis e hipodermis), la resolución disminuye, causando unas imágenes demasiado borrosas y oscuras para ser valoradas. Por lo tanto, aquellas lesiones localizadas en dermis profunda, así como lesiones con un intenso engrosamiento epidérmico (gran componente hiperqueratósico, ulceración / costra o con una capa córnea muy gruesa como son las localizadas en palmas y plantas) resultaran complicadas de valorar mediante MRC. Por otro lado, los principales inconvenientes de la MRC para su difusión global son el elevado coste del equipo y la compleja curva de aprendizaje que requiere para poder identificar estructuras y correlacionarlas con la dermatoscopia y la histología.

## 2.4. Microscopía confocal de fluorescencia *ex vivo*

La microscopía confocal de fluorescencia *ex vivo* (MCFEV) es una técnica de imagen que permite un análisis histopatológico del tejido en fresco. Solo existe un aparato disponible comercialmente llamado Vivascope<sup>®</sup> 2500 producido por Caliber Imaging and Diagnostics, Rochester, NY, USA, y distribuido en Europa por MAVIG GmbH, Munich, Alemania.

Puede funcionar en modo reflectancia (longitud de onda de 830 nm), en modo fluorescencia (longitud de onda 488 nm o 658 nm) o en modo fusión. El modo reflectancia da imágenes en escala de grises como la MRC *in vivo*, mientras que el modo

fluorescencia se basa en la utilización de fluoróforos exógenos (ácido acético 5%, naranja de acridina o azul de metileno) introducidos en la piel para obtener mayor refractilidad de las estructuras cutáneas y por tanto mayor contraste en las imágenes de las muestras estudiadas (microscopía de fluorescencia confocal o microscopía confocal multimodal mejorada con colorante). El agente más utilizado es el naranja de acridina, el cual se une a los ácidos nucleicos del ácido desoxirribonucleico (ADN) reforzando los núcleos celulares (que se visualizan en color verde). Esta tinción no altera el tejido, por lo que posteriormente la pieza puede ser estudiada histopatológicamente. Por su parte, el modo fusión aporta la posibilidad de visualización con una tinción digital que cambia la escala de grises o el color verde en una escala de color que simula la apariencia histológica de la hematoxilina & eosina (H&E).(103,104)

La MCFEV ofrece mosaicos de hasta 2 cm<sup>2</sup> prácticamente comparables a los cortes de histología por congelación. No altera el tejido estudiado, lo que permite un estudio convencional histológico posterior.

Se ha utilizado principalmente para la detección y el análisis perioperatorio de los márgenes quirúrgicos del CBC durante la cirugía micrográfica de Mohs (tejido en fresco sin fijar),(105) pero también se ha estudiado en otros tipos de neoplasia como son el CEC, el dermatofibrosarcoma protuberans o las lesiones melanocíticas.(106–108)

Se trata de una técnica rápida (promedio de 4.2 minutos por sección, reduce al menos 1/3 de tiempo), con buena fiabilidad para la detección del CBC (Sensibilidad 85%, Especificidad 99%, VPP 96%, VPN 97%), buena correlación interobservador ( $\kappa > 0.8$ ) y una rápida curva de aprendizaje.(105,109,110)

Se están estudiando otras aplicaciones de la MCFEV como el estudio de los anejos cutáneos o el diagnóstico de las infecciones cutáneas.(111,112)

Hasta la fecha, la MCFEV no ha conseguido reemplazar al estudio histopatológico convencional, debido a que los detalles citológicos y arquitecturales no siempre son claramente identificables.

La principal limitación de la MCFEV es la posibilidad de obtener resultados falsos negativos producidos principalmente por la presencia de burbujas o por plegado de la epidermis. Sin embargo, tiene la ventaja de que valora los verdaderos márgenes

directamente de las piezas en fresco, sin riesgo de producir los posibles falsos positivos de la histología convencional por agotamiento de la pieza en el corte.(113) Por el momento, el uso de la MCFEV no está generalizado por el elevado coste del dispositivo.

## 2.5. Tomografía de coherencia óptica

La tomografía de coherencia óptica (OCT) de alta definición es una técnica de imagen basada en la reflectancia de la luz al incidir sobre los tejidos, utilizando una fuente de luz con una longitud de onda relativamente larga (800-1300 nm). El contraste se produce por las variaciones del índice refractivo de los diferentes componentes de la piel. Las imágenes de OCT son en cierta manera análogas a las imágenes en modo B de ultrasonido (ecografía), aunque la fuente es lumínica y no sónica.(114) Ofrece imágenes seriadas axiales en tiempo real alcanzando una profundidad de unos 2 mm (dermis reticular), una resolución axial de 5-10  $\mu\text{m}$  y una resolución lateral de 7.5  $\mu\text{m}$ . Esta resolución lateral (menor que la MRC) no permite distinguir células individuales de la piel, limitando las capacidades diagnósticas de la OCT. Su principal ventaja es un mayor grado de penetración que permite visualizar lesiones a mayor profundidad que la MRC. Mientras que en Oftalmología es una técnica ya consolidada, en Dermatología aún está en proceso de investigación. Diversos estudios han demostrado su utilidad en tumores no melanocíticos como el CBC, en el diagnóstico, medición de su profundidad, delimitación de márgenes o en la monitorización de tratamientos no invasivos.(115,116) Sin embargo, esta técnica se encuentra todavía en desarrollo en el análisis de lesiones melanocíticas y se requieren estudios adicionales con mejores controles metodológicos para confirmar su utilidad.(117) La principal limitación es su elevado coste económico.

## 2.6. Ecografía de alta frecuencia

La ecografía de alta frecuencia permite la visualización *in vivo* de tejidos próximos a la superficie cutánea. Esta técnica consiste en la emisión de un ultrasonido desde un transductor (sonda) y la captación del sonido que retorna del tejido (reflejo o eco). El transductor actúa tanto de transmisor como de receptor de las ondas. La sonda se sitúa sobre la piel y las ondas de sonido, tras incidir sobre las diferentes estructuras cutáneas con diferentes impedancias acústicas, son reflejadas y captadas por el transductor y convertidas en energía eléctrica. Dicha energía es procesada por un ordenador que genera una imagen en un monitor en escala de grises.(118) La frecuencia de las ondas es un factor determinante en la penetración y resolución del sistema de imagen. La frecuencia del ultrasonido está inversamente relacionada con la profundidad de

penetración y directamente con la resolución.(119) En Dermatología, se suelen utilizar frecuencias entre 7.5 y 100 MHz, aunque las más frecuentes se sitúan entre 20 y 25 MHz, que son las que permiten una resolución que alcanza los 50-200  $\mu\text{m}$ , con una profundidad de penetración de 6-7 mm.(118,120) Estas frecuencias posibilitan la diferenciación de las diferentes capas de la piel y el Doppler Color permite visualizar el flujo sanguíneo.

La ecografía de alta frecuencia puede utilizarse en el estudio y valoración de tumores benignos y malignos, y puede ser útil en la toma de decisiones (determinar el grosor y profundidad del tumor y estudio de márgenes del CBC) y en el seguimiento (recurrencias locales, estudio ganglionar y la monitorización de la eficacia de distintas intervenciones terapéuticas tanto en lesiones tumorales como en enfermedades inflamatorias).(119,121) Aunque presenta una elevada sensibilidad y especificidad,(122) su menor resolución condiciona su precisión diagnóstica.(119) Sus principales limitaciones son la dificultad para la detección de lesiones menores a 0.1 mm de profundidad o exclusivamente epidérmicas y la detección de pigmentos como la melanina.(123)



*Hipótesis de estudio*



La dermatoscopia representa una herramienta útil en el diagnóstico del cáncer cutáneo (MM y del CCNM). Sin embargo, existen situaciones frecuentes en la práctica dermatológica en las que la valoración clínico-dermatoscópica presenta ciertas limitaciones diagnósticas.

En situaciones clínicas concretas el diagnóstico puede ser especialmente difícil: a) En la valoración de lesiones pigmentadas faciales los criterios de dermatoscopia suelen ser a menudo poco específicos; b) En lesiones no pigmentadas en localizaciones concretas (lesiones planas rosadas en las piernas) la ausencia de pigmento puede dificultar la correcta interpretación de los cambios observados; c) En lesiones benignas pigmentadas labiales, cuya diferenciación con lesiones malignas incipientes puede ser difícil incluso tras una valoración histopatológica (*gold standard*). En todos estos casos suele recurrirse a la práctica de una biopsia cutánea o a la excisión quirúrgica para confirmar el diagnóstico.

La MRC *in vivo* es una técnica no invasiva que permite obtener un diagnóstico en tiempo real de patología cutánea tumoral con una resolución cercana a la histopatología.

Es por ello que nos hemos planteado si la MRC *in vivo* puede ser de utilidad en estos tres escenarios de la práctica clínica habitual, en los cuales los elementos habituales de diagnóstico dermatológico no permiten asegurar un diagnóstico de certeza con un alto grado de confianza. De esta manera se intentan evitar errores diagnósticos y reducir procedimientos quirúrgicos innecesarios. Los errores diagnósticos tras considerar una lesión maligna como benigna pueden inducir manejos terapéuticos inapropiados y retrasos diagnósticos de MM, mientras que el considerar como maligna una lesión benigna causa intervenciones quirúrgicas innecesarias que conllevan un elevado coste y morbilidad.



## *Objetivos*



El **objetivo principal** del presente proyecto de investigación consiste en demostrar la utilidad clínica de la MRC *in vivo* en el diagnóstico del cáncer cutáneo, concretamente en el manejo de 3 situaciones clínicas de la práctica habitual (máculas pigmentadas faciales, lesiones rosadas planas en las piernas y máculas pigmentadas labiales), en las cuales las herramientas convencionales del dermatólogo (evaluación clínica y dermatoscópica) resultan, en muchas ocasiones, insuficientes para asegurar un correcto diagnóstico, y por consiguiente un tratamiento adecuado. Esta situación de incertidumbre diagnóstica suele conllevar la realización de un gran número de procedimientos (biopsias cutáneas y/o extirpaciones quirúrgicas) que suponen costes elevados y riesgo de complicaciones médicas y/o cosméticas.

Los **objetivos secundarios** de este proyecto son:

1. Describir las características dermatoscópicas y de MRC de las máculas pigmentadas faciales, de las lesiones rosadas planas de las piernas y de las máculas pigmentadas labiales.
2. Correlacionar los parámetros de MRC con las características dermatoscópicas e histopatológicas de las máculas pigmentadas faciales, lesiones planas rosadas de las piernas y máculas pigmentadas labiales.
3. Investigar la sensibilidad y especificidad del estudio con MRC *in vivo* a la hora de establecer un diagnóstico de certeza en estos 3 tipos de lesiones, en comparación con el diagnóstico de sospecha establecido por datos clínicos y dermatoscópicos.
4. En el caso de las máculas pigmentadas faciales valorar la expresión inmunohistoquímica de una serie de marcadores melanocitarios (MelanA, SOX-10, MITF).



*Compendio de publicaciones*



#### 4.1. Artículo I

**Histopathologic and Immunohistochemical Correlates of Confocal Descriptors in Pigmented Facial Macules on Photodamaged Skin.**

**Gómez-Martín I**, Moreno S, Andrades-López E, Hernández-Muñoz I, Gallardo F, Barranco C, Pujol RM, Segura S.

**JAMA Dermatology 2017;153(8):771-780**

DOI: 10.1001/jamadermatol.2017.1323

Factor de impacto 2017 (*Journal Citation Reports*): 8.107

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*



#### 4.1. Artículo I

**Histopathologic and Immunohistochemical Correlates of Confocal Descriptors in Pigmented Facial Macules on Photodamaged Skin.**

**Gómez-Martín I**, Moreno S, Andrades-López E, Hernández-Muñoz I, Gallardo F, Barranco C, Pujol RM, Segura S.

**JAMA Dermatology 2017;153(8):771-780**

DOI: 10.1001/jamadermatol.2017.1323

Factor de impacto 2017 (*Journal Citation Reports*): 8.107

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

#### 4.1. Artículo I

**Histopathologic and Immunohistochemical Correlates of Confocal Descriptors in Pigmented Facial Macules on Photodamaged Skin.**

**Gómez-Martín I**, Moreno S, Andrades-López E, Hernández-Muñoz I, Gallardo F, Barranco C, Pujol RM, Segura S.

**JAMA Dermatology 2017;153(8):771-780**

DOI: 10.1001/jamadermatol.2017.1323

Factor de impacto 2017 (*Journal Citation Reports*): 8.107

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

#### 4.1. Artículo I

**Histopathologic and Immunohistochemical Correlates of Confocal Descriptors in Pigmented Facial Macules on Photodamaged Skin.**

**Gómez-Martín I**, Moreno S, Andrades-López E, Hernández-Muñoz I, Gallardo F, Barranco C, Pujol RM, Segura S.

**JAMA Dermatology 2017;153(8):771-780**

DOI: 10.1001/jamadermatol.2017.1323

Factor de impacto 2017 (*Journal Citation Reports*): 8.107

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

#### 4.1. Artículo I

**Histopathologic and Immunohistochemical Correlates of Confocal Descriptors in Pigmented Facial Macules on Photodamaged Skin.**

**Gómez-Martín I**, Moreno S, Andrades-López E, Hernández-Muñoz I, Gallardo F, Barranco C, Pujol RM, Segura S.

**JAMA Dermatology 2017;153(8):771-780**

DOI: 10.1001/jamadermatol.2017.1323

Factor de impacto 2017 (*Journal Citation Reports*): 8.107

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

#### 4.1. Artículo I

**Histopathologic and Immunohistochemical Correlates of Confocal Descriptors in Pigmented Facial Macules on Photodamaged Skin.**

**Gómez-Martín I**, Moreno S, Andrades-López E, Hernández-Muñoz I, Gallardo F, Barranco C, Pujol RM, Segura S.

**JAMA Dermatology 2017;153(8):771-780**

DOI: 10.1001/jamadermatol.2017.1323

Factor de impacto 2017 (*Journal Citation Reports*): 8.107

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

#### 4.1. Artículo I

**Histopathologic and Immunohistochemical Correlates of Confocal Descriptors in Pigmented Facial Macules on Photodamaged Skin.**

**Gómez-Martín I**, Moreno S, Andrades-López E, Hernández-Muñoz I, Gallardo F, Barranco C, Pujol RM, Segura S.

**JAMA Dermatology 2017;153(8):771-780**

DOI: 10.1001/jamadermatol.2017.1323

Factor de impacto 2017 (*Journal Citation Reports*): 8.107

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

#### 4.1. Artículo I

**Histopathologic and Immunohistochemical Correlates of Confocal Descriptors in Pigmented Facial Macules on Photodamaged Skin.**

**Gómez-Martín I**, Moreno S, Andrades-López E, Hernández-Muñoz I, Gallardo F, Barranco C, Pujol RM, Segura S.

**JAMA Dermatology 2017;153(8):771-780**

DOI: 10.1001/jamadermatol.2017.1323

Factor de impacto 2017 (*Journal Citation Reports*): 8.107

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

#### 4.1. Artículo I

**Histopathologic and Immunohistochemical Correlates of Confocal Descriptors in Pigmented Facial Macules on Photodamaged Skin.**

**Gómez-Martín I**, Moreno S, Andrades-López E, Hernández-Muñoz I, Gallardo F, Barranco C, Pujol RM, Segura S.

**JAMA Dermatology 2017;153(8):771-780**

DOI: 10.1001/jamadermatol.2017.1323

Factor de impacto 2017 (*Journal Citation Reports*): 8.107

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

#### 4.1. Artículo I

**Histopathologic and Immunohistochemical Correlates of Confocal Descriptors in Pigmented Facial Macules on Photodamaged Skin.**

**Gómez-Martín I**, Moreno S, Andrades-López E, Hernández-Muñoz I, Gallardo F, Barranco C, Pujol RM, Segura S.

**JAMA Dermatology 2017;153(8):771-780**

DOI: 10.1001/jamadermatol.2017.1323

Factor de impacto 2017 (*Journal Citation Reports*): 8.107

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

#### 4.1. Artículo I

**Histopathologic and Immunohistochemical Correlates of Confocal Descriptors in Pigmented Facial Macules on Photodamaged Skin.**

**Gómez-Martín I**, Moreno S, Andrades-López E, Hernández-Muñoz I, Gallardo F, Barranco C, Pujol RM, Segura S.

**JAMA Dermatology 2017;153(8):771-780**

DOI: 10.1001/jamadermatol.2017.1323

Factor de impacto 2017 (*Journal Citation Reports*): 8.107

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*



#### 4.2. Artículo II

**Diagnostic Accuracy of Non-melanocytic Pink Flat Skin Lesions on the Legs:  
Dermoscopic and Reflectance Confocal Microscopy Evaluation.**

**Gómez-Martín I, Moreno S, Duran X, Pujol RM, Segura S.**

**Acta Dermato-Venereologica. 2019;99(1):33-40**

DOI: 10.2340/00015555-3029

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 3.531

1<sup>er</sup> cuartil de la categoría *Dermatology*



#### 4.2. Artículo II

**Diagnostic Accuracy of Non-melanocytic Pink Flat Skin Lesions on the Legs: Dermoscopic and Reflectance Confocal Microscopy Evaluation.**

**Gómez-Martín I, Moreno S, Duran X, Pujol RM, Segura S.**

**Acta Dermato-Venereologica. 2019;99(1):33-40**

DOI: 10.2340/00015555-3029

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 3.531

1<sup>er</sup> cuartil de la categoría *Dermatology*

#### 4.2. Artículo II

**Diagnostic Accuracy of Non-melanocytic Pink Flat Skin Lesions on the Legs: Dermoscopic and Reflectance Confocal Microscopy Evaluation.**

**Gómez-Martín I, Moreno S, Duran X, Pujol RM, Segura S.**

**Acta Dermato-Venereologica. 2019;99(1):33-40**

DOI: 10.2340/00015555-3029

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 3.531

1<sup>er</sup> cuartil de la categoría *Dermatology*

#### 4.2. Artículo II

**Diagnostic Accuracy of Non-melanocytic Pink Flat Skin Lesions on the Legs:  
Dermoscopic and Reflectance Confocal Microscopy Evaluation.**

**Gómez-Martín I, Moreno S, Duran X, Pujol RM, Segura S.**

**Acta Dermato-Venereologica. 2019;99(1):33-40**

DOI: 10.2340/00015555-3029

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 3.531

1<sup>er</sup> cuartil de la categoría *Dermatology*

#### 4.2. Artículo II

**Diagnostic Accuracy of Non-melanocytic Pink Flat Skin Lesions on the Legs:  
Dermoscopic and Reflectance Confocal Microscopy Evaluation.**

**Gómez-Martín I, Moreno S, Duran X, Pujol RM, Segura S.**

**Acta Dermato-Venereologica. 2019;99(1):33-40**

DOI: 10.2340/00015555-3029

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 3.531

1<sup>er</sup> cuartil de la categoría *Dermatology*

#### 4.2. Artículo II

**Diagnostic Accuracy of Non-melanocytic Pink Flat Skin Lesions on the Legs:  
Dermoscopic and Reflectance Confocal Microscopy Evaluation.**

**Gómez-Martín I, Moreno S, Duran X, Pujol RM, Segura S.**

**Acta Dermato-Venereologica. 2019;99(1):33-40**

DOI: 10.2340/00015555-3029

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 3.531

1<sup>er</sup> cuartil de la categoría *Dermatology*

#### 4.2. Artículo II

**Diagnostic Accuracy of Non-melanocytic Pink Flat Skin Lesions on the Legs: Dermoscopic and Reflectance Confocal Microscopy Evaluation.**

**Gómez-Martín I, Moreno S, Duran X, Pujol RM, Segura S.**

**Acta Dermato-Venereologica. 2019;99(1):33-40**

DOI: 10.2340/00015555-3029

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 3.531

1<sup>er</sup> cuartil de la categoría *Dermatology*

#### 4.2. Artículo II

**Diagnostic Accuracy of Non-melanocytic Pink Flat Skin Lesions on the Legs:  
Dermoscopic and Reflectance Confocal Microscopy Evaluation.**

**Gómez-Martín I, Moreno S, Duran X, Pujol RM, Segura S.**

**Acta Dermato-Venereologica. 2019;99(1):33-40**

DOI: 10.2340/00015555-3029

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 3.531

1<sup>er</sup> cuartil de la categoría *Dermatology*

#### 4.2. Artículo II

**Diagnostic Accuracy of Non-melanocytic Pink Flat Skin Lesions on the Legs: Dermoscopic and Reflectance Confocal Microscopy Evaluation.**

**Gómez-Martín I, Moreno S, Duran X, Pujol RM, Segura S.**

**Acta Dermato-Venereologica. 2019;99(1):33-40**

DOI: 10.2340/00015555-3029

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 3.531

1<sup>er</sup> cuartil de la categoría *Dermatology*



### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*



### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020 [Epub Ahead of Print]**

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020 [Epub Ahead of Print]**

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020 [Epub Ahead of Print]**

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020 [Epub Ahead of Print]**

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

### 4.3. Artículo III

**Diagnostic accuracy of pigmented labial macules by in vivo reflectance confocal microscopy and correlation among techniques.**

**Gómez-Martín I**, Collgros H, Ferguson PM, Barreiro A, Guitera P, Andrades-López E, Puig S, Pujol RM, Barranco C, Alòs L, Segura S.

**Journal of the American Academy of Dermatology 2020** [*Epub Ahead of Print*]

DOI: 10.1016/j.jaad.2020.02.067

Factor de impacto 2018 (*Journal Citation Reports*): 7.102

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*



*Resumen global de  
los resultados*



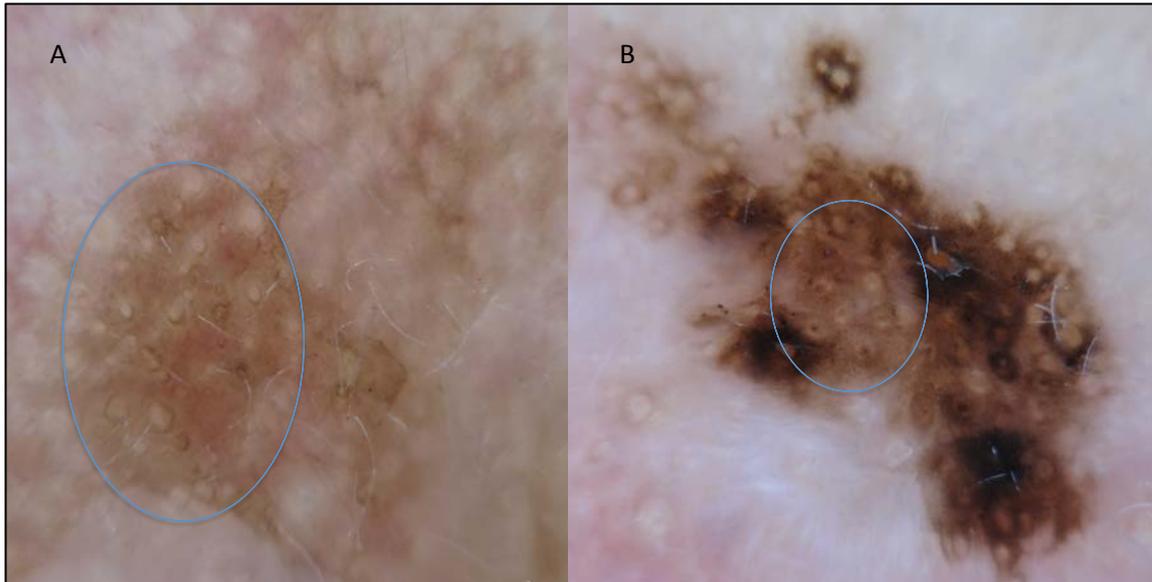
La **primera parte** del proyecto de investigación estuvo centrada en el estudio de las **máculas pigmentadas faciales en piel fotodañada**. En este estudio prospectivo se incluyeron 63 lesiones pigmentadas faciales clínica y dermatoscópicamente ambiguas de 61 pacientes, que fueron recogidas en el período comprendido entre los años 2009 y 2015 en un centro de referencia de Dermatología de tercer nivel. Se incluyeron también 12 áreas fotoexpuestas sin lesión pigmentada como grupo control.

#### Hallazgos clínicos

Un 51% de los casos estudiados eran mujeres (31/61) y la edad media fue de 71.8 +/- 13.1 años. Solo se incluyeron en el estudio lesiones ambiguas, es decir, lesiones con al menos 1 criterio dermatoscópico de malignidad pero sin criterios claros para asegurar el diagnóstico de LM, o lesiones que, en ausencia de criterios de malignidad, tampoco presentaban criterios claros de lesión benigna. Las máculas faciales incluidas eran lesiones primarias o recurrentes (previamente tratadas con crioterapia, radioterapia o cirugía). En todas ellas se realizó estudio histológico tras una valoración clínica, dermatoscópica y por MRC. Las lesiones correspondían a 24 (38%) lesiones malignas (17 LM y 7 LMM) y 39 (62%) lesiones benignas (3 nevus melanocíticos, 1 nevus azul, 9 pigmentaciones dérmicas, 9 queratosis actínicas pigmentadas, 7 lentigos solares, 5 queratosis seborreicas, 4 CBCs y 1 queratosis liquenoide benigna).

#### Hallazgos dermatoscópicos

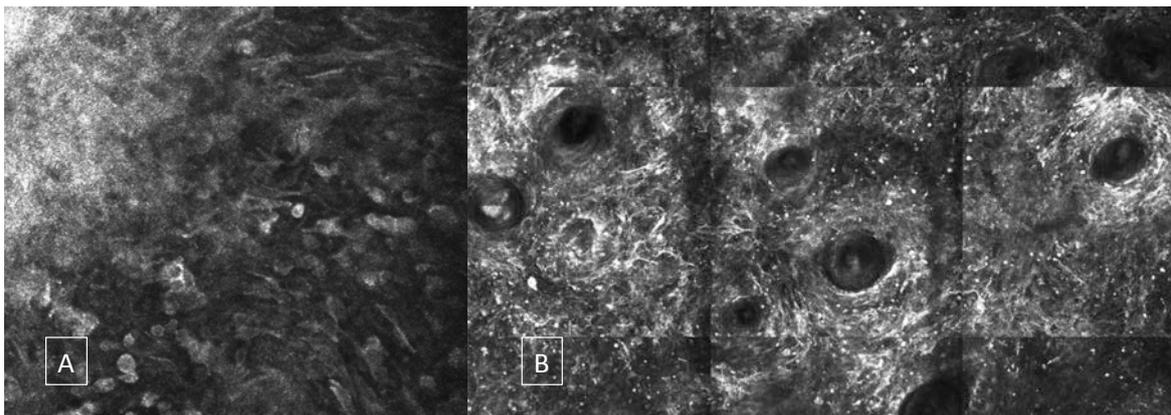
Desde el punto de vista dermatoscópico los patrones más frecuentemente encontrados en las lesiones malignas fueron las estructuras romboidales pigmentadas (75%), seguido de las aberturas foliculares con pigmentación asimétrica (67%), y las estructuras en diana (42%). El 89% (56/63) de las máculas faciales pigmentadas ambiguas del estudio mostraron al menos un criterio dermatoscópico de malignidad y el 82% de las lesiones benignas incluidas presentaban al menos 1 criterio dermatoscópico sugestivo de malignidad; siendo los más frecuentes el aumento de densidad del retículo vascular (41%) y el patrón anular-granular (41%). En el estudio multivariante, solo las aberturas foliculares con pigmentación asimétrica (18% en lesiones benignas vs 67% en lesiones malignas;  $p = 0.03$ ) y las estructuras en diana (8% vs 42%;  $p = 0.002$ ) fueron estadísticamente significativas (Fig. 8).



**Fig. 8.** Hallazgos dermatoscópicos estadísticamente significativos en el estudio multivariante. A/ Aberturas foliculares con pigmentación asimétrica. B/ Estructuras en diana.

#### Hallazgos de MRC

En el estudio por MRC el criterio más observado en las lesiones malignas fue la presencia de  $\geq 3$  células atípicas en la UDE (79% vs 23% en lesiones benignas;  $p < 0.001$ ), células pagetoides (intraepidérmicas) grandes y redondeadas (67% vs 13% en lesiones benignas;  $p < 0.001$ ) y la presencia de células atípicas con localización folicular (54% vs 13% en lesiones benignas;  $p = 0.001$ ). Las papilas dérmicas mal delimitadas, las células nucleadas en las papilas y la desestructuración epidérmica también se asociaron a malignidad de forma estadísticamente significativa. La presencia de células dendríticas intraepidérmicas fue un hallazgo frecuente en lesiones benignas (51%) y malignas (83%), aunque se asoció a malignidad de una manera estadísticamente significativa ( $p = 0.02$ ). Por otro lado, los cordones epidérmicos o proyecciones bulbosas y las papilas bien delimitadas fueron criterios asociados a benignidad (criterio protector). En el análisis multivariante, solo las células pagetoides grandes y redondeadas (13% en lesiones benignas vs 67% en malignas;  $p < 0.001$ ) y la presencia de células atípicas con localización folicular (13% vs 54%;  $p = 0.002$ ) fueron estadísticamente significativas para malignidad (Fig. 9).



**Fig. 9.** Hallazgos de MRC estadísticamente significativos en el estudio multivariante. A/ Células pagetoides grandes y redondeadas. B/ Presencia de células atípicas con localización folicular.

El algoritmo diagnóstico de Guitera (*LM Score*)(124), que calcula una puntuación basada en 6 criterios para distinguir el LM de las máculas faciales benignas de la cara, fue aplicado en todos los casos del estudio. En este algoritmo, dos criterios mayores (papilas dérmicas mal delimitadas y células pagetoides grandes y redondeadas) puntúan +2 puntos cada uno de ellos, y 3 criterios menores (células nucleadas en la papila dérmica,  $\geq 3$  células atípicas en la UDE en  $0.5 \times 0.5 \text{ mm}^2$ , y la localización folicular de las células atípicas) puntúan +1 punto cada una. Hay un criterio negativo o de benignidad (patrón epidérmico en panal de abejas engrosado, típico de lesiones benignas o de una epidermis normal) que contabiliza -1 punto. Según este algoritmo, las lesiones con un *LM Score* de 2 o superior son sugestivas de malignidad (LM / LMM). El análisis cuantitativo del *LM Score* en nuestro estudio mostró que la puntuación media por confocal de las lesiones malignas era significativamente superior ( $3.25 \pm 1.29$ ) respecto a las benignas ( $0.54 \pm 0.91$ ),  $p < 0.001$ .

Teniendo en cuenta el algoritmo de Guitera se obtuvieron 5 falsos positivos (FPs) y 2 falsos negativos (FNs). Todos los FPs presentaban abundantes células pagetoides dendríticas, 4 de ellos mostraron células pagetoides grandes y redondeadas y 3 de ellos células atípicas en la UDE. Dos de los FPs correspondían a pigmentaciones post-radioterapia. Respecto a los FNs, uno de ellos correspondía a una lesión incipiente que había sido biopsiada anteriormente y el segundo caso era una mácula facial pigmentada en la mejilla previamente tratada con crioterapia en múltiples ocasiones. Esta última lesión presentaba en la MRC unas estructuras características en la UDE llamadas estructuras en cabeza de medusa,(125) descritas por González y colaboradores, que no

fueron consideradas en el algoritmo diagnóstico, pero que representan una pista para el diagnóstico correcto de malignidad.

### Hallazgos histopatológicos e inmunohistoquímicos

Desde el punto de vista histopatológico e inmunohistoquímico, los criterios que nos permitieron diferenciar lesiones benignas de malignas de manera estadísticamente significativa fueron la hiperplasia melanocitaria basal, la atipia de melanocitos, la localización perifolicular de los melanocitos, la presencia de melanocitos en distribución pagetoide y/o nidos melanocitarios en la UDE y la mayor densidad de melanocitos basales e intraepidérmicos.

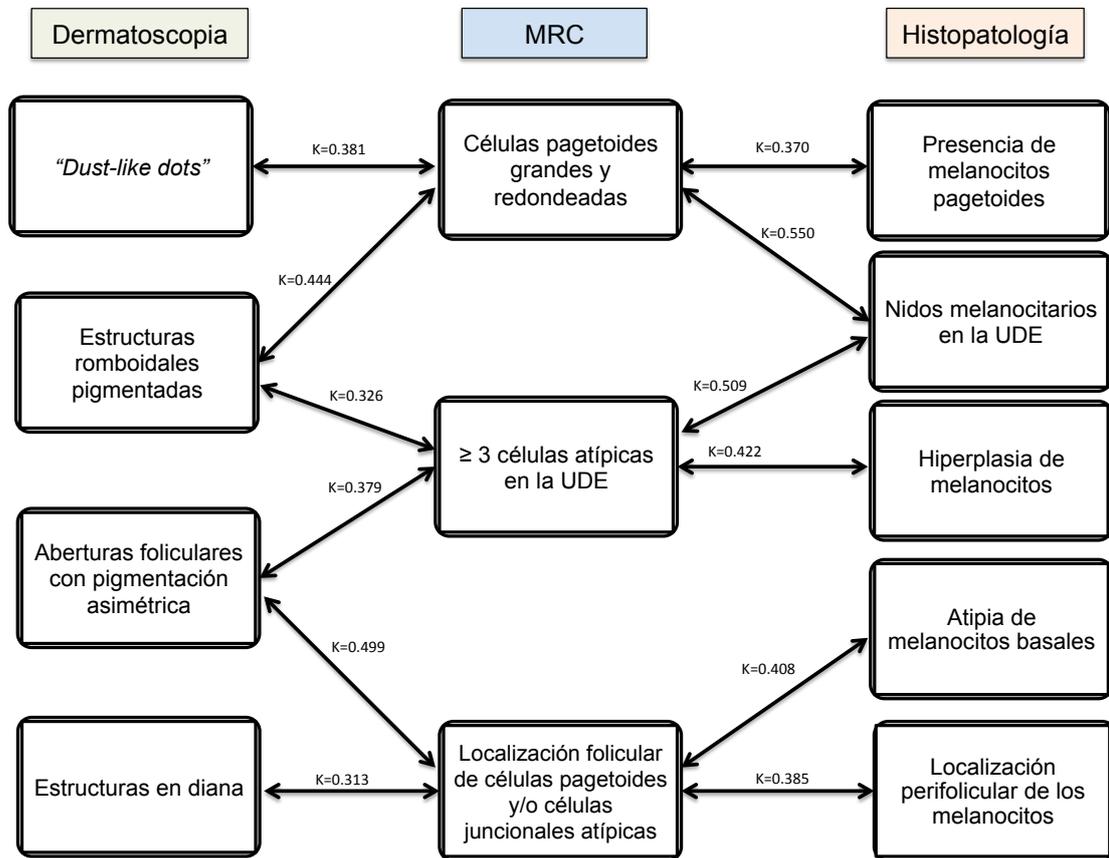
El análisis cuantitativo de los marcadores inmunohistoquímicos evidenció diferencias estadísticamente significativas en el recuento de melanocitos basales por 1 mm de capa basal (densidad melanocitaria) y de melanocitos intraepiteliales (pagetoides) entre las lesiones malignas y las benignas con los 3 marcadores inmunohistoquímicos utilizados (melan-A, MITF, y SOX10). El coeficiente de correlación de Pearson entre las diferentes tinciones fue  $>0.8$ , siendo la mejor correlación la obtenida entre melan-A y MITF, con valores de 0.884 ( $p = 0.02$ ) en los recuentos de melanocitos basales y de 0.921 ( $p < 0.001$ ) en el de células pagetoides. En las lesiones malignas, la tinción de melan-A evidenció un mayor número de melanocitos basales en comparación con MITF ( $t = 4.149$ ;  $p < 0.001$ ) y SOX10 ( $t = 2.295$ ;  $p = 0.03$ ), mientras que MITF y SOX10 tuvieron resultados similares ( $t = 0.788$ ;  $p = 0.44$ ). No se hallaron diferencias estadísticamente significativas en la positividad de melanocitos basales entre los distintos marcadores inmunohistoquímicos en las lesiones benignas estudiadas.

### Correlación entre las diferentes técnicas

Las posibles correlaciones entre las diferentes técnicas estudiadas (dermatoscopia, MRC, histopatología e inmunohistoquímica) se ilustran en la Fig. 10.

Por otro lado, la visualización de células pagetoides dendríticas en la MRC no se correlacionó con la presencia de células pagetoides en el estudio histopatológico. De un total de 20 lesiones malignas con presencia de células dendríticas intraepidérmicas (pagetoides) en la MRC, solamente 11 presentaban células pagetoides tras las tinciones melanocitarias. En las lesiones benignas con células dendríticas intraepidérmicas en la

MRC (20 casos; 5 de ellos fueron FPs mediante el algoritmo diagnóstico de Guitera), la tinción CD1a mostró, en 15 de 18 casos, la presencia de abundantes células de Langerhans intraepidérmicas.



**Fig. 10.** Correlación entre dermatoscopia, microscopía de reflectancia confocal e histopatología. MRC: microscopía de reflectancia confocal; UDE indica unión dermoepidérmica; k= estadístico Cohen Kappa.

La **segunda parte** del proyecto de investigación se centraba en el estudio de **lesiones cutáneas rosadas y planas en las piernas**. Se recogieron de forma prospectiva un total de 114 lesiones en 85 pacientes de edad avanzada durante el período comprendido entre los años 2012 y 2016 en la unidad de referencia de Dermatología del Hospital del Mar. En todas las lesiones se realizó el estudio histológico tras una valoración clínica, dermatoscópica y por MRC. Se incluyeron lesiones planas rosadas en las piernas detectadas en el examen clínico sin pigmentación o con una pigmentación menor al 10% en la valoración dermatoscópica. Se excluyeron del estudio las lesiones nodulares.

#### Hallazgos clínicos

Un 67% de los casos estudiados correspondían a mujeres (57/84) y la edad media fue de 73.2 +/- 12 años. Se analizaron un total de 80 lesiones malignas (50 CBCs, 17 enfermedad de Bowen, 9 queratosis actínicas y 4 CECs) y 34 lesiones benignas (16 dermatitis de estasis, 5 queratosis seborreicas, 3 psoriasis, 2 queratosis liquenoides benignas, 2 poroqueratosis, 1 liquen plano, 1 liquen simple crónico, 1 verruga plana, 1 dermatofibroma, 1 neurofibroma, 1 cicatriz hipertrófica). Ciento cuatro de estas lesiones se localizaban en las piernas y 10 en los muslos.

#### Hallazgos en el CBC

Dermatoscópicamente, los casos de CBC mostraban, de una manera estadísticamente significativa: estructuras blancas brillantes (crisálidas), erosiones / ulceraciones, vasos atípicos, vasos arboriformes / telangiectásicos, telangiectasias cortas y finas, vasos lineales irregulares, vasos polimorfos, múltiples glóbulos azul-grises, estructuras en hoja de arce, nidos ovoides azul-grises, puntos dispersos enfocados y estructuras en rueda de carro / concéntricas. En el estudio multivariante solo las estructuras blancas brillantes ( $p = 0.027$ ), las erosiones / ulceraciones ( $p < 0.001$ ) y las telangiectasias finas cortas ( $p = 0.005$ ) fueron estadísticamente significativas.

En cuanto a la MRC los criterios que fueron estadísticamente significativos en el estudio bivalente fueron: el patrón en panal de abejas regular, la polarización epidérmica ("*streaming*"), las papilas no visibles, los cordones / nódulos basaloides, las telangiectasias, los vasos ramificados, los vasos curvados, los vasos rectos, los vasos polimórficos, los haces de colágeno engrosados y la presencia de melanófagos. En el estudio multivariante los cordones / nódulos basaloides ( $p < 0.001$ ), la polarización

epidérmica ( $p = 0.001$ ) y las papilas no visibles ( $p = 0.03$ ) alcanzaron significación estadística.

#### Hallazgos en enfermedad de Bowen / Carcinoma espinocelular (CEC)

La dermatoscopia en el grupo enfermedad de Bowen / CEC obtuvo como criterios estadísticamente significativos en el análisis bivariante los vasos glomerulares y las áreas excéntricas rosado-marronáceas sin estructura. En el estudio multivariante las áreas excéntricas rosado-marronáceas sin estructura ( $p = 0.001$ ), los vasos puntiformes ( $p = 0.021$ ) y los vasos glomerulares ( $p = 0.017$ ) fueron estadísticamente significativos. Desde el punto de vista de la MRC, la paraqueratosis, hiperqueratosis, las células en diana, la desestructuración epidérmica y los vasos visibles fueron estadísticamente significativos en el estudio bivariante mientras que la hiperqueratosis ( $p = 0.005$ ), las células en diana ( $p = 0.044$ ) y la desestructuración epidérmica ( $p = 0.012$ ) lo fueron en el multivariante.

#### Hallazgos en lesiones inflamatorias

En las lesiones inflamatorias los criterios dermatoscópicos estadísticamente significativos fueron los vasos homogéneos, los vasos generalizados y la lamela corneíde. En el estudio multivariante solo la erosión / ulceración se mostró de forma estadísticamente significativa como un criterio protector ( $p = 0.031$ ). En cuanto a la MRC, los criterios con significación estadística en el estudio bivariante fueron la paraqueratosis, la hiperqueratosis, las papilas mal definidas, la papilomatosis y la presencia de células inflamatorias en la dermis. En el estudio multivariante solo la presencia de células inflamatorias dérmicas en la MRC fue significativa ( $p = 0.034$ ).

Respecto al subgrupo de casos de dermatitis de estasis, los vasos generalizados ( $p = 0.026$ ) y homogéneos ( $p = 0.002$ ) en la dermatoscopia fueron estadísticamente significativos en el estudio multivariante. En la MRC de las dermatitis de estasis, la paraqueratosis, la espongirosis, los vasos glomerulares contorneados, las células inflamatorias en la dermis y los grupos de colágeno fueron los criterios con significación estadística en el estudio bivariante.

Correlación entre técnicas

- Dermatoscopia-MRC: se realizó un estudio de correlación entre las diferentes técnicas y se observó que los criterios dermatoscópicos clásicos de CBC (nidus ovoides azul-grisáceos, estructuras en hoja de arce, estructuras en rueda de carro / concéntricas y los puntos dispersos enfocados) se correlacionaban moderadamente con los nódulos / cordones basaloides de la MRC ( $k = 0.426$ ); las telangiectasias cortas y finas con los vasos ramificados en la MRC ( $k = 0.442$ ); y la ulceración / erosión observada por dermatoscopia con la ulceración en la MRC ( $k = 0.470$ ).

- MRC-Histopatología: los nódulos / cordones basaloides encontrados en la MRC se correlacionaron bien con los nidus basaloides de la histopatología ( $k = 0.631$ ), así como la hendidura (“clefing”) en la MRC con la hendidura en la histopatología ( $k = 0.607$ ). Por otra parte, las células en diana observadas por MRC en la enfermedad de Bowen se correlacionaron bien con las mitosis atípicas en la histopatología ( $k = 0.455$ ). Los haces de colágeno engrosados de la MRC se correlacionaron moderadamente con la desmoplasia de la histopatología ( $k = 0.439$ ).

Precisión diagnóstica, sensibilidad y especificidad

En este trabajo también se calculó la precisión diagnóstica, sensibilidad y especificidad de la valoración clínica, dermatoscópica y por MRC. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Técnica	Precisión diagnóstica (Benignidad/Malignidad) (%)	Precisión diagnóstica (%)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Valoración clínica	70.2	49.1	68.7%	73.5%
Dermatoscopia	79.8	59.6	85	67.6
MRC a ciegas	85.1	71.9	90	73.5
MRC	94.7	85.1	97.5	88.2

**Tabla 1.** Precisión diagnóstica, sensibilidad y especificidad de cada técnica. MRC a ciegas: evaluación por Microscopía de reflectancia confocal a ciegas para las imágenes clínicas y dermatoscópicas; MRC: Microscopía de reflectancia confocal

Por último, en la **tercera parte** del proyecto de investigación se estudiaron las **máculas pigmentadas labiales** de forma prospectiva en 4 hospitales terciarios con unidades de referencia en Dermatología (Hospital del Mar, Barcelona; Hospital Clínic, Barcelona; Sydney Melanoma Diagnostic Centre, Sydney; Melanoma Institute Australia, Sydney) durante el período comprendido entre Septiembre de 2015 y Diciembre de 2018.

Cincuenta pacientes (38 mujeres; 12 hombres) con 51 máculas pigmentadas labiales, fueron incluidos en el estudio. La edad media fue de 54.5 +/- 18.1 años. El principal criterio de inclusión fue que se tratase de lesiones labiales pigmentadas y persistentes y de localización completa o parcial en la mucosa oral. Las lesiones nodulares se excluyeron del estudio. En todas ellas se realizó estudio histológico tras valoración clínica, dermatoscópica, de MRC y cálculo del *RCM Lip Score* (126) a ciegas para las imágenes de dermatoscopia y el diagnóstico histopatológico.

El *RCM Lip Score* calcula un puntuación de MM basado en 7 criterios. Se puntúa un criterio principal (presencia de células pagetoides dendríticas o redondeadas) con +2 puntos, y se puntúan 4 criterios menores (desestructuración epitelial, papilas distribuidas no homogéneamente, atipia celular marcada en la unión epitelio-corion y distribución interpapilar de células atípicas en relación con las papilas) con +1 punto cada uno. Se incluyen 2 criterios protectores o benignos (patrón en panal de abejas normal y papilas distribuidas homogéneamente) que reciben una puntuación de -1 punto cada uno. Una puntuación total de *RCM Lip Score*  $\geq 4$  es sospechosa de MM.

#### Hallazgos clínicos

Las lesiones correspondían a 46 lesiones benignas (23 maculas melanóticas, 7 hiperplasias melanocitarias, 5 lesiones liquenoides, 3 lentigos solares, 2 efélides, 2 queratosis actínicas pigmentadas, 2 lentigos simples, 1 nevus compuesto, 1 hemangioma arterio-venoso) y 5 MMs.

Clínicamente, las lesiones malignas mostraron un mayor tamaño en comparación con las lesiones benignas (34 mm vs 8.75 mm;  $p < 0.001$ ), más asimetría (100% vs 45.7%;  $p = 0.037$ ) y afectaban con mayor frecuencia la mucosa y piel labial de forma simultánea (60% vs 2.2%;  $p = 0.002$ ).

### Hallazgos dermatoscópicos

Dermatoscópicamente, se objetivó que las lesiones malignas presentaban con mayor frecuencia  $\geq 3$  colores (80% vs 28.6%;  $p = 0.043$ ) y  $\geq 3$  estructuras (80% vs 24.4%;  $p = 0.025$ ). Ningún color ni estructura mostraba diferencias estadísticamente significativas entre las lesiones benignas y las malignas.

### Hallazgos de MRC

Los criterios que mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las lesiones malignas y las benignas fueron: la presencia de células grandes brillantes en capas epiteliales (células pagetoides), especialmente redondeadas, pero también dendríticas; la proliferación continua de células grandes brillantes alrededor de la papilas dérmicas; la distribución no homogénea de las papilas; la atipia celular marcada en la unión epitelio-corion; el mayor número de células dendríticas brillantes por papila y la presencia de células atípicas redondas en la unión epitelio-corion.

En todos los casos se determinó el *RCM Lip Score*,<sup>(126)</sup> observándose un *RCM Lip score* medio significativamente mayor en los melanomas (3.8 +/- 2.39) que en las lesiones benignas (- 0.67 +/- 1.75),  $p < 0.001$ . Sin embargo, en 2 MMs la puntuación fue  $< 4$  (FNs del *RCM Lip Score*); una lesión obtuvo una puntuación de 0 debido a que en su mayor parte se localizaba en la región cutánea del labio con cambios sutiles en mucosa y el *RCM Lip Score* no fue diseñado para valorar imágenes cutáneas. No obstante, se diagnosticó de forma correcta como lesión maligna ya que la región cutánea exhibía criterios dermatoscópicos y de MRC descritos para el LM.<sup>(127–129)</sup> El segundo FN era una lesión incipiente, en la cual la biopsia excisional reveló una proliferación melanocítica atípica con solo progresión focal a LM, que pudo haber pasado por alto en la valoración por MRC.

Por el contrario, el *RCM Lip Score* solo obtuvo un FP, una mácula melanótica con un *Lip Score* de 5 debido a desestructuración epitelial, células dendríticas pagetoides atípicas, distribución asimétrica de las papilas y distribución interpapilar de células atípicas. La biopsia parcial mostró un aumento de melanocitos basales con escasas células de Langerhans en capas suprabasales que no permitían definir de forma precisa la naturaleza de las células intraepidérmicas dendríticas visualizadas en la MRC.

En el análisis multivariante, únicamente el *RCM Lip Score* mostró una relación estadísticamente significativa con una *Odds Ratio* de 1.6 ( $p = 0.034$ , IC: 1.04-2.5).

#### Hallazgos histopatológicos e inmunohistoquímicos

Los criterios histopatológicos que nos permitieron diferenciar las máculas pigmentadas labiales de los melanomas fueron la atipia melanocitaria (100% vs 14.3%,  $p = 0.001$ ), la hiperplasia melanocítica en la H&E (75% vs 16.7%,  $p = 0.028$ ) e inmunohistoquímica con Melan-A (100% vs 14.3%,  $p = 0.04$ ) y SOX-10 (100% vs 20.6%,  $p = 0.015$ ), y el crecimiento pagetoide de melanocitos (75% vs 2.4%,  $p = 0.001$ ). Algunas lesiones benignas mostraron atipia melanocitaria (14.3%, 6/42), hiperplasia melanocitaria en la H&E (16.7%, 7/42) y crecimiento pagetoide (2.4%, 1/42).

#### Correlación entre técnicas

- Dermatoscopia-RCM: Se correlacionó la dermatoscopia con la MRC y se observó que el velo azul-blanquecino se correlacionaba bien con los nidos de células dispersas en el corion ( $k=0.656$ ), atipia celular marcada ( $k=0.483$ ) y la proliferación continua de células brillantes grandes y atípicas ( $k=0.483$ ) en la valoración por confocal. Las estructuras de regresión en dermatoscopia se correlacionaron con las papilas no visibles por MRC ( $k=0.536$ ).

- MRC-Histopatología e inmunohistoquímica: Tanto las células pagetoides en general como las células pagetoides redondas (pero no las dendríticas pagetoides) se correlacionaron bien con el crecimiento pagetoide en el estudio histopatológico ( $k=0.434$  y  $k=0.553$ , respectivamente). Por su parte la atipia celular marcada en la unión epitelio-corion por MRC se correlacionó con la atipia melanocitaria en la histopatología ( $k=0.401$ ) y las células atípicas redondeadas en la unión epitelio-corion por MRC con la atipia melanocitaria ( $k=0.511$ ) y la hiperplasia melanocítica en la inmunohistoquímica ( $k=0.425$ ). Los nidos de células en el corion de la MRC se correlacionaron con los nidos melanocitarios en la histopatología ( $k=0.477$ ) y las células brillantes engrosadas dentro de las papilas se correlacionaba con el infiltrado inflamatorio ( $k=0.575$ ).

Se observó una alta correlación entre el número de células atípicas en la unión epitelio-corion en  $1 \text{ mm}^2$  por MRC y la densidad melanocitaria en las tinciones melanocíticas (Pearson = 0.724,  $p < 0.001$ ). Además, el número máximo de células dendríticas por

papila observado en la MRC se correlacionó bien con la densidad melanocitaria en las tinciones melanocíticas (Pearson = 0.606,  $p < 0.001$ ).

Precisión diagnóstica / Sensibilidad / Especificidad

La precisión de la dermatoscopia y de la MRC para el diagnóstico de MM fue valorada a ciegas para la histopatología. Los resultados se muestran en la Tabla 2. La MRC a ciegas fue menos sensible pero más específica que la valoración clínica y dermatoscópica. La evaluación mediante MRC después de la valoración clínica y dermatoscópica (escenario clínico real) obtuvo una sensibilidad y especificidad del 100%.

Técnica	Precisión diagnóstica %	Precisión diagnóstica (benignidad/malignidad) %	Sensibilidad %	Especificidad %
Cx-Dx	53.2	89.4	80	90.5
MRC a ciegas	47.1	94.1	60	97.8
MRC	62.7	100	100	100

**Tabla 2.** Precisión diagnóstica, sensibilidad y especificidad de cada técnica Cx-Dx: valoración clínico-dermatoscópica; MRC a ciegas: valoración por microscopía de reflectancia confocal mediante el *RCM Lip Score* a ciegas para las imágenes clínico-dermatoscópicas; MRC: microscopía de reflectancia confocal tras valoración de las imágenes clínicas y dermatoscópicas.



## *Discusión*



Desde su introducción en la Dermatología a finales de los 90, múltiples estudios han intentado demostrar la utilidad de la microscopía de reflectancia confocal (MRC) *in vivo* en las enfermedades de la piel. Se ha descrito que la MRC presenta una mejor precisión diagnóstica que la dermatoscopia en la detección de tumores malignos, con una mayor confianza diagnóstica, permitiendo evitar biopsias innecesarias de lesiones benignas.(91,130–134) Se trata de una técnica que junto a su valor diagnóstico en tumores cutáneos (Anexo 1), puede ser de ayuda en la selección de la zona más representativa para biopsiar,(135) en la delimitación pre/intra-quirúrgica de los márgenes tumorales en lesiones mal delimitadas,(135,136) en la monitorización de lesiones melanocíticas en el tiempo (88,89) y en la monitorización de la respuesta tumoral a los tratamientos no invasivos.(137–142)

Sin embargo, aunque la principal limitación de la MRC para su difusión global (en comparación con la dermatoscopia) es el elevado coste del dispositivo, un análisis coste-beneficio llevado a cabo en Europa por Pellacani y colaboradores, ha demostrado que el uso de la MRC consigue reducir costes al evitar extirpaciones innecesarias de lesiones benignas.(143) En este estudio la MRC facilitó una reducción en el número necesario para extirpar o NNE (número de lesiones extirpadas para detectar un melanoma), pasando de 19.41 (solo con dermatoscopia) a 6.25 (dermatoscopia + MRC), lo que representa una reducción de alrededor del 70% de las lesiones benignas biopsiadas. Este punto supondría un ahorro anual en torno a los 280.000 euros para el sistema europeo de atención médica en el manejo del MM y CCNM.(143)

### **Utilidad de la MRC en las máculas faciales pigmentadas en piel fotodañada**

Las **máculas faciales pigmentadas** representan una consulta dermatológica extremadamente frecuente, especialmente en pacientes de edad avanzada con importante daño solar. Existe una gran variedad de lesiones que se pueden presentar clínicamente como máculas faciales pigmentadas, tanto malignas (LM / LMM, CBC pigmentado) como benignas (queratosis actínica pigmentada, queratosis seborreica, queratosis liquenoide benigna, lentigos solares, nevos melanocíticos o nevos azules). El LM es una neoplasia intraepitelial que evoluciona lentamente, y sin tratamiento, puede progresar a un melanoma invasivo (LMM) y, por lo tanto, con potencial metastásico. Por esta razón, y teniendo en cuenta que las lesiones pigmentadas faciales son un motivo frecuente de consulta en Dermatología y Medicina cosmética, resulta crucial identificar un LM incipiente antes de realizar tratamientos con láser u otros procedimientos

dermocosméticos que sin ser curativos puedan enmascarar, dificultar y retrasar el diagnóstico de un melanoma.

Las peculiares características de la piel facial (aplanamiento de las crestas de la UDE, un mayor número y tamaño de los folículos pilosos y de los acrosiringios, la presencia de una intensa elastosis solar) hacen que las lesiones pigmentadas en esta zona no muestren un retículo pigmentado. La distribución del pigmento alrededor de los folículos pilosos forma un pseudoretículo que se halla presente tanto en lesiones melanocíticas como no melanocíticas. Por todo ello, los criterios dermatoscópicos de malignidad habituales (de zonas cutáneas no fotoexpuestas crónicamente) no suelen ser útiles para el diagnóstico precoz del LM y hacen que la interpretación dermatoscópica de estas lesiones sea más compleja. Sin embargo, se han descrito distintos criterios dermatoscópicos que pueden ser de utilidad en la valoración de estas lesiones. Tabla 3 (99,127,128)

Criterios dermatoscópicos en máculas faciales pigmentadas				
	Lentigo maligno/ Lentigo maligno melanoma	Queratosis actínica pigmentada	Lentigo solar/ Queratosis seborreica incipiente	Queratosis liquenoide benigna
Criterios clásicos de Stolz (127)	Aberturas foliculares con pigmentación asimétrica	Aberturas foliculares con pigmentación asimétrica	Aberturas foliculares con pigmentación asimétrica	Cualquier criterio de queratosis seborreica o lentigo solar
	Estructuras romboidales pigmentadas	Estructuras romboidales pigmentadas	Áreas con patrón en huella digital marrón claro	Gránulos gris marrones localizados o difusos
	Patrón anular granular	Patrón anular granular	Áreas amarillentas opacas	Gránulos gris azulados localizados o difusos
	Manchas oscuras y obliteración de aberturas foliculares	Glóbulos o puntos negros	Pseudoquistes córneos	Gránulos gris- blanquecinos localizados o difusos

Nuevos criterios de Pralong (128)	Estructuras en diana	Pseudoretículo roto	Quistes de millium
	Oscurecimiento al exámen dermatoscópico	Tapones de queratina	Estructuras cerebriformes
	Estructuras romboidales rojas	Círculo dentro de otro círculo (estructuras en diana)	Vasos en horquilla
Otros criterios (99)	Aumento de densidad de la red vascular	Proyecciones gris-marrón	Bordes apolillados
	Pseudoretículo	Pseudoretículo	Pseudoretículo
	Círculo dentro de otro círculo (estructuras en diana)	Puntos gris pizarra ( <i>"dust-like dots"</i> )	Bordes abruptos
	Puntos gris pizarra ( <i>"dust-like dots"</i> )	Glóbulos gris pizarra	Signo de la gelatina
	Glóbulos gris pizarra		
	Proyecciones gris-marrón		
	Áreas homogéneas oscuras / azuladas		
	Áreas blanquecinas cicatriciales		
Áreas rojo lechosas			
Patrón en "zig-zag"			

**Tabla 3.** Criterios dermatoscópicos de las máculas faciales pigmentadas. Adaptado de Lallas y colaboradores.(144)

El problema reside en que un grupo heterogéneo de lesiones benignas pueden mostrar criterios dermatoscópicos propios de malignidad (con una baja especificidad de los criterios de dermatoscopia),(144,145) y que algunos LM / LMM pueden presentar a su vez criterios de lesión benigna (con una baja sensibilidad de los criterios de dermatoscopia).(146,147) El único criterio que ha demostrado ser altamente específico de LM / LMM son las manchas oscuras o negruzcas, aunque representa un parámetro tardío raramente presente en fases iniciales (LM).(147,148)

Por todo ello, no resulta excepcional que en muchas lesiones faciales no sea posible establecer un diagnóstico preciso y que sea necesaria la incorporación de pruebas complementarias adicionales, incluyendo la práctica de una biopsia cutánea (*gold standard*) o si se dispone, de un estudio mediante MRC *in vivo*.

En la primera parte del proyecto de investigación se revisa nuestra experiencia en el diagnóstico de las máculas faciales pigmentadas en piel fotodañada. Este trabajo prospectivo intenta valorar si la MRC es una técnica lo suficientemente fiable para discernir entre máculas faciales benignas y malignas en ausencia de criterios dermatoscópicos de malignidad evidentes, considerando que los criterios clásicos de LM pueden no ser útiles en el diagnóstico de los melanomas faciales incipientes y que existe una cierta superposición entre los criterios dermatoscópicos descritos para lesiones faciales benignas y malignas.

En nuestro estudio hemos podido observar que los criterios dermatoscópicos clásicos de Stolz y colaboradores (127) fueron insuficientes para el diagnóstico de LM, ya que todos los casos de máculas pigmentadas faciales ambiguas presentaban como mínimo 1 criterio clásico de Stolz. Dentro de los criterios dermatoscópicos de LM postulados más recientemente,(128,144) solo las estructuras tipo diana resultaron ser de utilidad en la diferenciación entre lesiones benignas y malignas. Esta ausencia de criterios específicos de LM obliga a valorar el posible rol de otras técnicas no invasivas y concretamente de la MRC en el diagnóstico de LM, evitando la realización de biopsias cutáneas.

Guitera y colaboradores propusieron en 2010 un algoritmo de MRC (*LM Score*) para la valoración de lesiones pigmentadas faciales basado en 6 criterios que permitía establecer una puntuación para el diagnóstico de LM.(124) Al aplicar dicho algoritmo en nuestra serie, detectamos una sensibilidad diagnóstica del 91.7% con una especificidad del 86.8% (como consecuencia de 2 FNs y 5 FPs). Estos porcentajes fueron similares a los

descritos en el trabajo original con una sensibilidad del 85% y una especificidad del 76%.(124) En un estudio prospectivo reciente realizado por Menge y colaboradores,(149) en 63 lesiones clínicamente equívocas de 17 pacientes, la MRC fue concordante con el examen histopatológico en 56 casos (89%), con 7 FPs y ningún FN, alcanzando una sensibilidad del 100% y una especificidad del 71%. Los autores atribuían los FPs observados a la presencia de daño solar. En nuestro estudio, los 5 FPs se debieron a la presencia de células pagetoides grandes y redondeadas y/o células atípicas en la capa basal. Los hallazgos histopatológicos e inmunohistoquímicos confirmaron que las células intraepidérmicas presentes en algunas lesiones benignas correspondían a células de Langerhans intraepidérmicas CD1a+. En 2 FPs, los hallazgos de MRC que indujeron a la confusión fueron los cambios post-radioterapia con una hiperplasia melanocitaria en la capa basal y la presencia de células de Langerhans intraepidérmicas.

Estudios posteriores también han descrito la presencia de células dendríticas pagetoides hiperrefráciles (células de Langerhans) en la MRC como causa frecuente de resultados FPs en lesiones benignas.(150–152)

La característica más frecuentemente observada en nuestros casos de LM / LMM fue la presencia de células atípicas en la capa basal (19 de 24 casos, 79%). Sin embargo, este criterio de MRC también se observó en casi un 25% de las máculas pigmentadas faciales benignas (9 de 39 casos). Estas células atípicas basales fueron casi siempre de morfología dendrítica por MRC y se relacionaban histopatológicamente con la hiperplasia melanocitaria basal y en los LM tendían a fusionarse y presentar atipia histológica. Algunas lesiones benignas en piel fotodañada pueden presentar también hiperplasia melanocitaria que, en algunos casos, puede ser intensa y manifestarse en la MRC como células dendríticas en la UDE (>3 por imagen de confocal, 500x500 µm). Además, la hiperplasia melanocitaria puede presentar atipia, especialmente tras exposición solar o tratamientos con radioterapia, lo que daría lugar a resultados FPs en la MRC. De forma relevante, en nuestro estudio, ningún control no lesional presentó hallazgos en la MRC que pudieran conducir a un diagnóstico erróneo de LM.

La confluencia de los melanocitos basales atípicos se relacionaba dermatoscópicamente con estructuras romboidales pigmentadas y aberturas foliculares con pigmentación asimétrica. La correspondencia entre los hallazgos dermatoscópicos y de MRC en las máculas pigmentadas faciales ha sido estudiada recientemente por De Carvalho y colaboradores, con unos resultados similares.(153)

Otra característica importante por MRC es la presencia de células pagetoides grandes y redondeadas, que se observaron en 16 lesiones malignas. La visualización de las células intraepidérmicas refráctiles también es común en lesiones benignas sobre piel fotodañada, pero generalmente tienen una morfología dendrítica. En nuestro estudio pudo demostrarse que estas células correspondían a células de Langerhans, con una morfología y reflectancia similar a melanocitos, generando dudas razonables y confusión con lesiones malignas. Este hallazgo en la MRC también lo describió Hashemi y colaboradores en un estudio sobre lesiones melanocíticas, donde las células pagetoides brillantes en la MRC condujo a un número elevado de falsos positivos, en gran medida debidos a la presencia de células de Langerhans intraepidérmicas.(151) La presencia de células dendríticas y/o redondeadas se ha establecido como un signo de MRC altamente específico para el diagnóstico de LM / LMM.(124) Sin embargo, Nascimento y colaboradores mostraron que la presencia de células dendríticas en las capas epidérmicas alrededor del folículo piloso (sin invadir el infundíbulo) es un hallazgo frecuente en lesiones benignas tipo queratosis actínica pigmentada, junto a un patrón en panal de abejas atípico.(147)

Por otro lado, De Carvalho y colaboradores identificaron las estructuras “en cabeza de medusa”, el foliculotropismo y las “células atípicas pagetoides y/o juncionales” como cambios característicos que ayudan a establecer el diagnóstico diferencial entre LM / LMM y lesiones no melanocíticas en la región facial.(153) En otro estudio, las células pagetoides redondeadas, a priori más específicas de malignidad que las dendríticas, solo se hallaron en el 62% de los LM / LMM estudiados, mientras que las células dendríticas / dendritas brillantes en la epidermis podían observarse en hasta un 78.5% de las queratosis actínicas pigmentadas, aunque en menor cantidad que en las lesiones malignas y sin infiltrar la región interna del infundíbulo folicular.(154) Además, se objetivó que los LM / LMM presentaban con mayor frecuencia un contorno folicular mal definido (36.8% vs 3.5%;  $p = 0.004$ ) y un contorno folicular con presencia de protrusiones / protuberancias sobresalientes (62% vs 7.1%;  $p < 0.001$ ) pequeñas o alargadas (que cuando rodean todo el perímetro del folículo se les llama estructuras “en cabeza de medusa”) en comparación con las queratosis actínicas pigmentadas. Las estructuras dendríticas y/o células redondeadas en el área perifolicular fueron más prevalentes en lesiones malignas (68.4% vs 32.1%;  $p < 0.001$ ), mientras que el foliculotropismo (infiltración de la porción interna del folículo piloso por células dendríticas / redondeadas) fue un hallazgo característico de LM / LMM (68.4% vs 7.1%;  $p = 0.001$ ).

En nuestra serie identificamos 6 criterios histopatológicos estadísticamente significativos que podían ayudar a diferenciar las lesiones malignas de las benignas. Sin embargo, en la práctica clínica el estudio inmunohistoquímico de las lesiones melanocíticas es una herramienta útil adicional en el diagnóstico de las máculas pigmentadas faciales. La tinción Melan-A es la técnica más utilizada, sin embargo, algunos autores han cuestionado su utilidad diagnóstica en el LM / LMM, ya que la piel sana fotodañada, los lentigos solares y las queratosis actínicas pueden presentar un número significativo de células melan-A+. (125) En este sentido, algunos estudios han investigado el papel de otros marcadores nucleares en el diagnóstico de lesiones melanocíticas intraepiteliales, como MITF(156,157) y SOX10(158). Dos estudios mostraron que MITF era más específico que Melan-A para diagnosticar LM, pero SOX10 tenía una sensibilidad menor. (157,158)

En nuestro trabajo, hemos demostrado que las lesiones malignas tienen un número significativamente mayor de melanocitos basales e intraepidérmicos que las lesiones benignas. Además, las células intraepidérmicas grandes y redondeadas que se observaron con MRC se correlacionaron con la proliferación pagetoide demostrada por inmunotinción, pero no por H&E. De esta manera, la realización de inmunotinciones podría recomendarse cuando la valoración por MRC mostrase células intraepidérmicas grandes y redondeadas.

Se objetivó una buena correlación entre las 3 tinciones, si bien en las lesiones malignas la tinción con melan-A fue ligeramente superior a MITF y SOX10. En las lesiones benignas, la expresión de Melan-A, MITF y SOX10 fue muy similar. Estas tinciones inmunohistoquímicas (Melan-A MITF y SOX10) fueron más sensibles que la tinción convencional con H&E en la detección de melanocitos y podrían ser de utilidad para demostrar la hiperplasia melanocítica en casos de LM / LMM. En este sentido, y en concordancia con estudios previos, la tinción con Melan-A podría sobreestimar el número de melanocitos en comparación con MITF y SOX10.(156–158) Sin embargo, en nuestro estudio, estas diferencias solo fueron estadísticamente significativas en el grupo de lesiones malignas, probablemente como consecuencia de presentar una mayor densidad de melanocitos.

Estudios recientes han confirmado la utilidad de la MRC en el estudio de lesiones en zona facial o cervical,(97,134) al tratarse de zonas fácilmente explorables por MRC (epidermis a menudo atrófica) y con un intenso daño solar (fotoexpuestas) en las que los

hallazgos dermatoscópicos pueden ser poco concluyentes. Por su parte, Cinotti y colaboradores han descrito una mayor sensibilidad de la MRC respecto a la dermatoscopia en LM / LMM faciales amelanóticos o recurrentes.(150) La MRC es una herramienta diagnóstica capaz de identificar proliferaciones muy incipientes de pocos melanocitos malignos que aún no expresan cambios dermatoscópicos relevantes.

En su estudio, Cinotti y colaboradores estudiaron 223 lesiones faciales y observaron que el nivel de confianza de los investigadores en el diagnóstico fue mayor con MRC que con dermatoscopia, lo que parece confirmar que la dermatoscopia suele plantear dudas diagnósticas en lesiones faciales, mientras que la MRC proporciona un tipo de información más cercana a la técnica *gold standard*: la histopatología, proporcionando más elementos para establecer un diagnóstico.(150)

En resumen, podemos concluir que la MRC es una técnica diagnóstica válida para el estudio de las lesiones pigmentadas planas faciales complementaria a la evaluación clínico-dermatoscópica. Nuestro trabajo ratificó y amplió el conocimiento de la MRC en este contexto clínico concreto con respecto a trabajos anteriores y obtuvo unos resultados en consonancia con algunas series publicadas *a posteriori*.

### **Utilidad de la MRC en las lesiones cutáneas planas y rosadas en las piernas**

Las lesiones rosadas representan verdaderos desafíos para el dermatólogo, ya que la interpretación de los colores y patrones en una lesión es clave en dermatoscopia y la ausencia de pigmentación incrementa el grado de dificultad de la exploración.

El diagnóstico diferencial de las lesiones rosadas es amplio y heterogéneo, incluyendo lesiones tumorales (enfermedad de Bowen, queratosis actínica, CEC, CBC, melanoma amelanótico / hipomelanótico, queratosis seborreica, acantoma de células claras (Anexo 2), nevus melanocítico, angioma, dermatofibroma, neurofibroma), lesiones inflamatorias (dermatitis de estasis, liquen plano, queratosis liquenoide benigna, poroqueratosis, psoriasis, liquen aureus, liquen simple crónico) y enfermedades infecciosas (verruca plana). Muchas de estas lesiones a menudo presentan características clínicas y dermatoscópicas vagas, inespecíficas y superpuestas. Estas lesiones suelen asimismo plantear problemas diagnósticos no solo por la escasez de signos clínicos y dermatoscópicos específicos sino también por la coexistencia de grados variables de xerosis, daño solar y dermatitis de estasis venoso.

Dado que los algoritmos dermatoscópicos utilizados habitualmente para las lesiones pigmentadas son de escasa utilidad en el diagnóstico de las lesiones rosadas,(161) en los últimos años se han descrito patrones dermatoscópicos para intentar facilitar el diagnóstico de este tipo de lesiones, basados fundamentalmente en la vascularización.(162–165)

En nuestro estudio hemos observado, de acuerdo con los patrones descritos en la literatura, que la enfermedad de Bowen se caracteriza típicamente por escamas superficiales y vasos glomerulares / punteados dispuestos en grupos, el CBC superficial por telangiectasias cortas, áreas brillantes de color blanco rosado y múltiples erosiones de pequeño tamaño, y la dermatitis por estasis venoso se define por una superficie escamosa y vasos glomerulares / punteados homogéneos con una distribución generalizada.

Sin embargo, criterios dermatoscópicos importantes, como los vasos glomerulares / punteados o la escama superficial, se observan en distintas entidades, lo que da lugar a una reducción de la especificidad dermatoscópica y de la precisión diagnóstica en esta localización (extremidades inferiores).

En contraste, la MRC aporta una ventaja significativa tanto a la clínica como a la dermatoscopia en este tipo de lesiones ya que visualiza la piel en una escala de grises, y se basa en las propiedades refractivas de las estructuras subyacentes, cuyo color puede no detectarse en la superficie mediante dermatoscopia. Las lesiones melanocíticas hipopigmentadas valoradas por MRC, como consecuencia de la reflectancia de los melanosomas y organelas intramelanocitarias (incluso en ausencia de pigmento melánico en la dermatoscopia), presentan en la MRC siluetas celulares de melanocitos brillantes. Además, los queratinocitos situados alrededor de la lesión carecen de melanina o melanosomas y, por lo tanto, proporcionan un fondo de refractividad relativamente bajo en el que destacan los melanocitos refráctiles, compensando así la menor cantidad de melanina en su interior. En cambio, en tumores queratinizantes, los gránulos de queratina y queratohialina son la fuente de contraste.

Nuestro estudio, en concordancia con la literatura previa, mostró a través del análisis multivariante los siguientes criterios de MRC significativos en el CBC: cordones / nódulos basaloides, polarización epidérmica y papilas no visibles.(128,164) Los cordones / nódulos basaloides se correlacionaban con los criterios dermatoscópicos clásicos de un

CBC pigmentado y con la presencia histológica de nidos basaloides. El grupo enfermedad de Bowen / CEC mostró: hiperqueratosis, células en diana y desestructuración epidérmica.(93,167–169) Curiosamente, las células en diana observadas por MRC, correlacionadas previamente con queratinocitos disqueratósicos, se asociaron estadísticamente con la observación histopatológica de mitosis atípicas. Posiblemente sea debido a que los casos con más displasia epitelial y disqueratosis presentaban también mayor número de mitosis. Por último, en el grupo de lesiones inflamatorias se objetivó la presencia de células inflamatorias dérmicas.(170) Sin embargo, la concordancia con el nivel / intensidad de inflamación histopatológico fue pobre, probablemente debido a la difícil valoración de las estructuras dérmicas por MRC.

Otros criterios como la espongirosis, la paraqueratosis y los vasos sanguíneos en forma de S o redondeados no mostraron asociación estadísticamente significativa con el grupo de enfermedades inflamatorias debido al pequeño número de casos y a la presencia de estos criterios en algunos casos del grupo enfermedad de Bowen / CEC.

Sorprendentemente, el análisis multivariante no mostró significación de ningún tipo de vasos; quizás debido a una mayor prevalencia de vascularización en las extremidades inferiores, a una frecuente superposición de patrones vasculares entre las diferentes entidades, y a dificultades técnicas al valorar las características de la dermis en lesiones hiperqueratósicas. Por su parte, Guitera y colaboradores (171) en su serie de 191 lesiones rosadas (en cualquier localización) observó que una proporción no despreciable de los MMs incluidos (21 de 45 MMs, 46.7%) presentaba vascularización en la MRC, incluso vasos de tipo glomerular o telangiectásico, típicamente atribuidos a otras patologías como son la enfermedad de Bowen o el CBC. Todo ello, ilustra la complejidad del diagnóstico de las lesiones rosadas en función exclusivamente de la morfología de las estructuras vasculares.

En nuestro estudio la valoración clínica y dermatoscópica obtenía una tasa elevada de diagnósticos erróneos en lesiones planas rosadas de las piernas, mientras que la MRC mejoraba la precisión diagnóstica. En la valoración clínica, se observó una tendencia a subestimar las lesiones rosadas malignas; mientras que en la dermatoscópica debido a la intensa vascularización en las lesiones rosadas de las piernas se tendía a sobreestimar malignidad. La dermatoscopia evidenció una baja precisión diagnóstica (59.6%), sensibilidad moderadamente buena (85%), pero baja especificidad (67.6%), incluso menor que el examen clínico. Estos valores obtenidos por la dermatoscopia son

parecidos a los observados en otro estudio de lesiones rosadas en el que se halló una sensibilidad del 70% y una especificidad del 56%.(161)

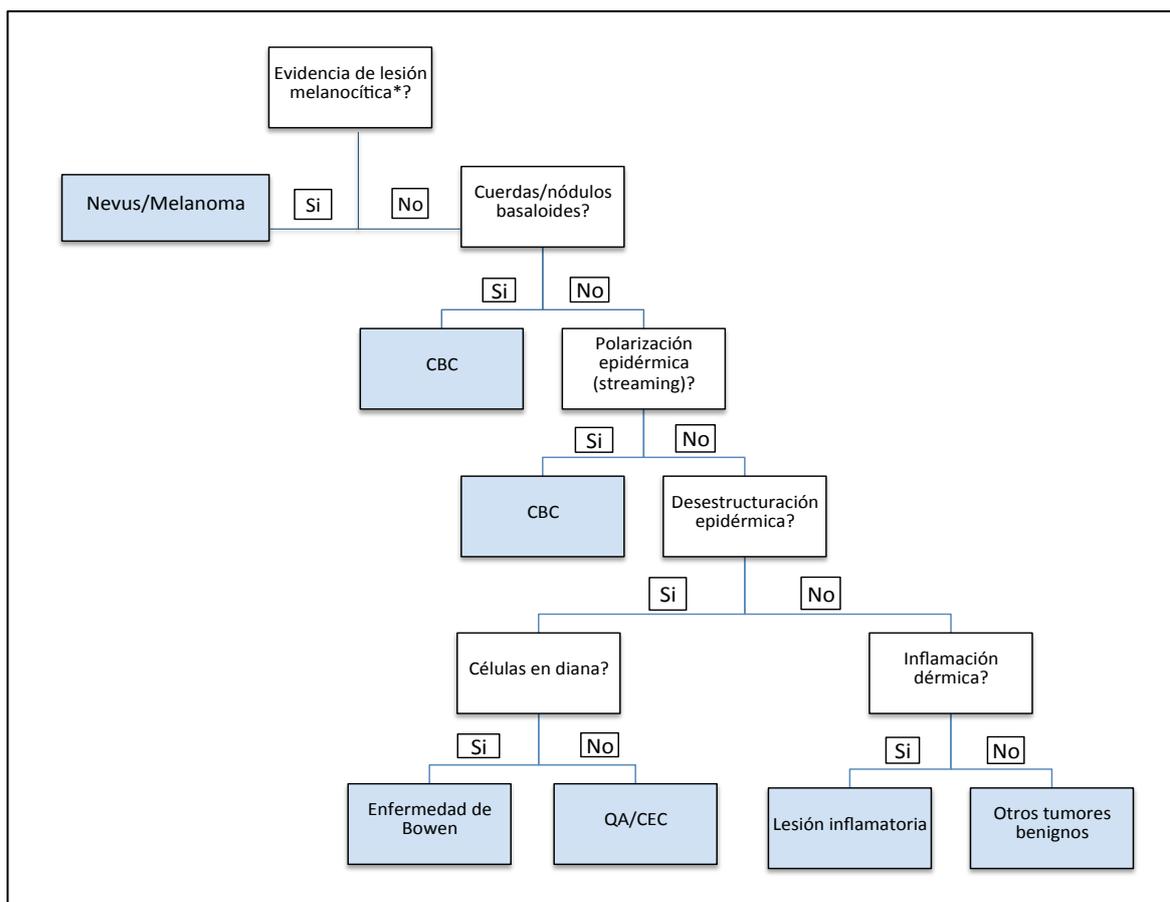
La MRC a ciegas demostró niveles ligeramente más altos de sensibilidad (90%), especificidad (73.5%) y precisión diagnóstica (71.9%). Por su parte, la valoración por MRC tras exploración clínica y dermatoscópica, que sería un modelo de exploración más realista, consiguió aumentar la sensibilidad (97,5%), especificidad (88.2%) y la precisión diagnóstica (85,1%).

Estos resultados son similares a los descritos en un estudio previo,(172) en el que se demostró una mejora en el diagnóstico de las lesiones hipopigmentadas basado en MRC (especificidad 84%, IC 95%: 66.3-94.5) en comparación con la dermatoscopia (especificidad 39%, IC 95%: 23.7-56.2). Curiosamente, en este mismo estudio se evidenció que la especificidad de la MRC era mejor en lesiones hipopigmentadas que en lesiones pigmentadas de una manera estadísticamente significativa (84% vs 65%,  $p < 0.001$ ).

Los resultados obtenidos en nuestro estudio corroboran el interés de la aproximación combinada de la dermatoscopia y la MRC en el diagnóstico de las lesiones planas rosadas en las piernas. Esta complementariedad también se objetivó en otro estudio llevado a cabo por Guitera y colaboradores, en el que tras valorar una serie de 191 lesiones amelanóticas e hipopigmentadas (incluyendo 45 melanomas) mediante dermatoscopia y MRC, observaron que combinando ambas técnicas ningún melanoma de la serie habría dejado de ser biopsiado para confirmación histopatológica.(171)

En vista de los resultados de nuestro estudio, se propuso un algoritmo de MRC de aplicación en práctica clínica (Fig. 11) para mejorar el diagnóstico de las lesiones cutáneas planas y rosadas de las piernas, en el que los criterios principales se obtuvieron a partir de los resultados del análisis multivariante. Se agregó un paso inicial a este algoritmo para descartar una lesión melanocítica, de acuerdo con otros algoritmos de MRC propuestos en lesiones rosadas solitarias,(173) ya que el cribado del MM es primordial cuando se valoran este tipo de lesiones.

La principal limitación de nuestro estudio fue que no se consiguió incluir ningún caso de melanoma amelanótico / hipomelanótico localizado en las piernas, debido a la baja prevalencia de este subtipo de melanoma maligno en la población.



**Figura 11.** Algoritmo diagnóstico por microscopía de reflectancia confocal para lesiones rosadas planas en las piernas. \*Presencia de nidos / engrosamientos juncionales y/o nidos dérmicos y/o células atípicas extendidas por la UDE; CBC: carcinoma basocelular; QA/CEC: Queratosis actínica / Carcinoma espinocelular.

### Utilidad de la MRC en las máculas labiales pigmentadas

Las máculas labiales pigmentadas comprenden un grupo heterogéneo de enfermedades con distinta relevancia clínica y aproximación terapéutica, incluyendo desde lesiones inflamatorias a neoplásicas. Debido a la falta de criterios clínicos y dermatoscópicos específicos de MM oral, especialmente en fases tempranas, con frecuencia suele ser necesaria la realización de biopsias de la mucosa oral para establecer un diagnóstico definitivo.

En nuestro estudio hemos observado que el mayor tamaño de una lesión, la asimetría y la afectación concomitante de la piel y la mucosa confieren un mayor riesgo de malignidad. El 60% (3/5) de los MM afectó tanto a la piel como a la mucosa, mientras que

esta afectación solo se observó en una lesión benigna (2.2%). Dicha lesión fue diagnosticada histopatológicamente como una hiperplasia melanocítica atípica basada en dos biopsias en sacabocados de 4mm y un tiempo de seguimiento de 12 meses.

En nuestra opinión, todas las biopsias de la mucosa con hiperplasia melanocítica deben ser controladas periódicamente, rebiopsiadas o incluso extirpadas por completo debido a que pueden corresponder a melanomas incipientes, ya que las máculas melanóticas por definición deberían exhibir un número normal de melanocitos o solo un ligero aumento.(174,175) En nuestro estudio, las 7 hiperplasias melanocíticas incluidas (5 con atípia) han sido controladas durante 6-18 meses y todas ellas fueron biopsiadas al menos en una ocasión con resultados benignos. En este escenario, un control estricto y periódico mediante MRC podría evitar la práctica de biopsias adicionales.

Dermatoscópicamente, observamos que cualquier color o estructura dermatoscópica podía estar presente tanto en lesiones benignas como en malignas. Sin embargo, la observación de un patrón multicomponente ( $\geq 3$  estructuras) o  $\geq 3$  colores en una lesión debería aumentar la sospecha de malignidad. Estos resultados son similares a los descritos en artículos anteriores en los que se objetivó la presencia de asimetría, un patrón multicomponente y colores múltiples en lesiones malignas.(176–178)

Respecto al estudio por MRC, las células redondeadas (basales y/o suprabasales) y una mayor densidad de células dendríticas por papila fueron indicios de malignidad de acuerdo con estudios previos.(179–181) Detectamos, en concordancia con otros autores (125), que la presencia de células pagetoides redondas y/o dendríticas, la proliferación continua de melanocitos alrededor de la papila dérmica, la atipia celular marcada en la UDE, la desestructuración epidérmica, la presencia de células redondas atípicas en la UDE y la distribución no homogénea de las papilas dérmicas también eran hallazgos que sugerían malignidad.

De forma similar a estudios previos observamos algunas máculas melanóticas de “tipo dendrítico” con un patrón dendrítico irregular (máculas melanóticas con unos hallazgos de MRC superpuestos a los observados en un MM) que representaron un verdadero reto diagnóstico.(181,182) En algunos casos, las células dendríticas observadas se correlacionaron histopatológicamente con células de Langerhans.

Sin embargo, no se detectó una correlación estadísticamente significativa entre las células dendríticas observadas en la MRC y las células de Langerhans visualizadas mediante técnicas inmunohistoquímicas, tal vez como consecuencia de las dificultades

existentes en la diferenciación entre las células de Langerhans y los melanocitos por MRC. Dicha falta de correlación podría asimismo explicarse por las dificultades que se plantean al valorar una misma zona mediante histología y MRC, ya que ambas técnicas valoran distintos planos espaciales. Pudo demostrarse, en contraste, una correlación entre el número de células atípicas en la UDE por MRC y la densidad melanocítica basal valorada mediante tinciones inmunohistoquímicas melanocíticas.

Observamos que la valoración clínico-dermatoscópica presentaba una sensibilidad y especificidad notables para el diagnóstico de máculas pigmentadas labiales, y que la MRC representaba una herramienta adicional para mejorar la precisión diagnóstica. El estudio de las máculas pigmentadas labiales mediante una valoración clínico-dermatoscópica y por MRC a ciegas presentaban por separado una tasa elevada de diagnósticos erróneos, aunque la MRC a ciegas presentaba una menor sensibilidad que el examen clínico-dermatoscópico. La MRC tras la valoración clínico-dermatoscópica obtuvo la mayor precisión diagnóstica, sensibilidad y especificidad.

Desafortunadamente, la precisión de la MRC para un diagnóstico concreto se mantuvo ligeramente baja (62.7%). Este fenómeno podría explicarse por las dificultades que se plantean para establecer un diagnóstico preciso entre la amplia gama de posibles entidades benignas, especialmente cuando solo difieren en la presencia de escasas células inflamatorias en la unión epitelio-corion, por una leve pigmentación de las crestas epidérmicas o por la presencia de melanófagos dérmicos. Estos casos también son de difícil diagnóstico dermatopatológico, y a menudo, son informados mediante una descripción genérica destacando la ausencia de malignidad sin establecer un diagnóstico preciso / definitivo (p. ej. hiperplasia melanocítica o pigmentación dérmica). Por otra parte, en nuestra experiencia la MRC también ayuda a identificar la región más atípica de una lesión y seleccionar la zona más informativa susceptible de ser biopsiada en lesiones clínica e histopatológicamente heterogéneas.

En nuestro estudio, el *RCM Lip Score* (126) fue significativamente mayor en lesiones malignas (3.8 +/- 2.39) que en lesiones benignas (-0.67 +/- 1.75);  $p < 0.001$ . En el análisis multivariante, el *RCM Lip Score* fue el único criterio que evidenció una significación estadística ( $p = 0.034$ , IC: 1.04 - 2.5). Esta observación proporciona una evidencia adicional del valor del *RCM Lip Score* como herramienta útil en el diagnóstico de las máculas pigmentadas labiales. Sin embargo, este "Score" no está exento de posibles errores sin una precisa información clínica y dermatoscópica. Debe realizarse una

valoración minuciosa, teniendo en cuenta además de los criterios de MRC de mucosas, los criterios de MRC de lesiones cutáneas en aquellas máculas pigmentadas labiales con afectación mucosa y cutánea.

Este trabajo, aunque con un limitado número de melanomas a pesar de la cooperación de cuatro centros de referencia, valida criterios y algoritmos previamente reportados y aporta una correlación detallada con los hallazgos histopatológicos (e inmunohistoquímicos) de los criterios de MRC en mucosas, dado que todas las lesiones (benignas y malignas) fueron biopsiadas, pudiendo ser la base para futuros estudios multicéntricos con mayor número de lesiones.

#### Limitaciones

El presente proyecto de investigación no se halla exento de ciertas limitaciones. Una limitación de nuestros tres estudios es que el diagnóstico definitivo se estableció en muchas ocasiones de acuerdo a la valoración histopatológica de una biopsia en sacabocados de 4 mm seleccionada a partir de los hallazgos de MRC. El pequeño tamaño de la muestra podría ser una fuente potencial de resultados FNs de MRC si la muestra estudiada no fuera estrictamente representativa de la lesión.

Por otro lado, la hiperqueratosis, la ulceración y las costras, especialmente en algunas lesiones de las piernas, representaron una limitación técnica en la valoración y posterior correlación dermatoscópica-MRC-histopatológica. Dichos cambios pueden haber dificultado la obtención de imágenes de calidad de MRC o evitado la penetración suficiente de la luz para valorar de forma precisa los cambios en la dermis.



## *Conclusiones*



Las **conclusiones** derivadas de las publicaciones que forman parte de la presente tesis doctoral son:

1. La MRC es una técnica no invasiva que complementa a la dermatoscopia en el diagnóstico diferencial de las máculas pigmentadas faciales, mejorando la precisión diagnóstica del LM / LMM. La falta de especificidad de la MRC para diferenciar melanocitos y células de Langerhans intraepidérmicas es la principal causa de resultados falsamente positivos.
2. Aunque el examen histopatológico sigue siendo la técnica *gold standard* en el diagnóstico de las máculas pigmentadas faciales, la inmunohistoquímica puede ser útil en la diferenciación entre un LM incipiente, lesiones benignas y una hiperplasia melanocítica basal en una piel fotodañada, con perfiles de tinción similares entre los diferentes marcadores (Melan-A, MITF, SOX10), excepto por la mayor sensibilidad de Melan-A en la identificación de melanocitos en lesiones malignas.
3. El estudio de las lesiones rosadas planas de las piernas ha demostrado que la MRC es una herramienta que mejora considerablemente la precisión diagnóstica, la sensibilidad y la especificidad en el diagnóstico de cáncer cutáneo, reduciendo así el número de biopsias necesarias.
4. En la valoración de las máculas pigmentadas labiales la exploración mediante MRC resulta ventajosa en el diagnóstico de melanoma como una técnica complementaria a la evaluación clínica y dermatoscópica (mejora la sensibilidad y especificidad). Su utilidad es más limitada en ausencia de información clínica y dermatoscópica, así como para establecer un diagnóstico histopatológico exacto en patología benigna. En lesiones sospechosas sin resultados concluyentes para el diagnóstico de malignidad, dentro de la sistemática diagnóstica, la MRC puede ser una técnica útil de seguimiento, detección precoz y selección de zonas sospechosas susceptibles de ser biopsiadas.

En resumen, podemos afirmar que la MRC *in vivo* es una técnica diagnóstica válida para el estudio del cáncer cutáneo, concretamente en las 3 situaciones clínicas estudiadas (lesiones pigmentadas planas faciales, lesiones rosadas planas en las piernas y lesiones pigmentadas labiales), en las que las herramientas habituales del dermatólogo presentan ciertas limitaciones. El examen aislado de las imágenes de MRC (sin información clínica

ni dermatoscópica) conlleva un riesgo de errores diagnósticos y una disminución de la especificidad diagnóstica, por lo que siempre se recomendará su utilización de forma complementaria a una valoración inicial clínico-dermatoscópica.



*Futuras líneas de  
investigación*



## 8. Líneas de futuro

Las principales vías de trabajo que abre la presente tesis y su aplicabilidad clínica son:

- 1- Confirmar definitivamente la utilidad de la MRC en la práctica diaria del dermatólogo a la hora de valorar lesiones de difícil diagnóstico, mediante la realización de estudios multicéntricos con gran número de lesiones.
- 2- Realizar estudios de coste-utilidad, para consolidar la presencia de la MRC en los centros de referencia de Dermatología, dado que mejora la precisión diagnóstica, la sensibilidad y especificidad en el diagnóstico del cáncer cutáneo, reduciendo así errores diagnósticos y la práctica de biopsias innecesarias.
- 3- Realizar estudios de validación y mejora de algoritmos diagnósticos ya existentes como el *LM Score* para zona facial, el *RCM Lip Score* para labios o el algoritmo diagnóstico para lesiones rosadas planas en las piernas.
- 4- Aportar nuevos criterios, correlaciones entre técnicas y algoritmos diagnósticos que faciliten la valoración de lesiones cutáneas y mucosas.



## *Bibliografía*



1. Marcos-Gragera R, Vilar-Coromina N, Galceran J, Borràs J, Clèries R, Ribes J, et al. Rising trends in incidence of cutaneous malignant melanoma and their future projections in Catalonia, Spain: increasing impact or future epidemic? *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2010;24(9):1083-8.
2. Rogers HW, Weinstock MA, Feldman SR, Coldiron BM. Incidence Estimate of Nonmelanoma Skin Cancer (Keratinocyte Carcinomas) in the U.S. Population, 2012. *JAMA Dermatol.* 2015;151(10):1081-6.
3. Whiteman DC, Green AC, Olsen CM. The Growing Burden of Invasive Melanoma: Projections of Incidence Rates and Numbers of New Cases in Six Susceptible Populations through 2031. *J Invest Dermatol.* 2016;136(6):1161-71.
4. Dennis LK. Analysis of the melanoma epidemic, both apparent and real: data from the 1973 through 1994 surveillance, epidemiology, and end results program registry. *Arch Dermatol.* 1999;135(3):275-80.
5. Geller AC, Miller DR, Annas GD, Demierre M-F, Gilchrest BA, Koh HK. Melanoma incidence and mortality among US whites, 1969-1999. *JAMA.* 2002;288(14):1719-20.
6. Hall HI, Miller DR, Rogers JD, Bewerse B. Update on the incidence and mortality from melanoma in the United States. *J Am Acad Dermatol.* 1999;40(1):35-42.
7. Perera E, Gnaneswaran N, Staines C, Win AK, Sinclair R. Incidence and prevalence of non-melanoma skin cancer in Australia: A systematic review. *Australas J Dermatol.* 2015;56(4):258-67.
8. Leiter U, Garbe C. Epidemiology of melanoma and nonmelanoma skin cancer--the role of sunlight. *Adv Exp Med Biol.* 2008;624:89-103.
9. Leiter U, Keim U, Eigentler T, Katalinic A, Holleczek B, Martus P, et al. Incidence, Mortality, and Trends of Nonmelanoma Skin Cancer in Germany. *J Invest Dermatol.* 2017;137(9):1860-7.
10. Kripke ML. Impact of ozone depletion on skin cancers. *J Dermatol Surg Oncol.* 1988;14(8):853-7.
11. Narayanan DL, Saladi RN, Fox JL. Ultraviolet radiation and skin cancer. *Int J Dermatol.* 2010;49(9):978-86.
12. Guy GP, Machlin SR, Ekwueme DU, Yabroff KR. Prevalence and costs of skin cancer treatment in the U.S., 2002-2006 and 2007-2011. *Am J Prev Med.* 2015;48(2):183-7.
13. Benjamin CL, Ananthaswamy HN. p53 and the pathogenesis of skin cancer. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2007;224(3):241-8.
14. Zanetti R, Rosso S, Martinez C, Navarro C, Schraub S, Sancho-Garnier H, et al.

- The multicentre south European study «Helios». I: Skin characteristics and sunburns in basal cell and squamous cell carcinomas of the skin. *Br J Cancer*. 1996;73(11):1440-6.
15. Rosales-Castillo JA, Acosta-Saavedra LC, Torres R, Ochoa-Fierro J, Borja-Aburto VH, Lopez-Carrillo L, et al. Arsenic exposure and human papillomavirus response in non-melanoma skin cancer Mexican patients: a pilot study. *Int Arch Occup Environ Health*. 2004;77(6):418-23.
  16. Kim DP, Kus KJB, Ruiz E. Basal Cell Carcinoma Review. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2019;33(1):13-24.
  17. Clayman GL, Lee JJ, Holsinger FC, Zhou X, Duvic M, El-Naggar AK, et al. Mortality risk from squamous cell skin cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23(4):759-65.
  18. Brantsch KD, Meisner C, Schönfisch B, Trilling B, Wehner-Caroli J, Röcken M, et al. Analysis of risk factors determining prognosis of cutaneous squamous-cell carcinoma: a prospective study. *Lancet Oncol*. 2008;9(8):713-20.
  19. Karia PS, Morgan FC, Ruiz ES, Schmults CD. Clinical and Incidental Perineural Invasion of Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review and Pooled Analysis of Outcomes Data. *JAMA Dermatol*. 2017;153(8):781-8.
  20. Miller AJ, Mihm MC. Melanoma. *N Engl J Med*. 2006;355(1):51-65.
  21. Gray-Schopfer V, Wellbrock C, Marais R. Melanoma biology and new targeted therapy. *Nature*. 2007;445(7130):851-7.
  22. Pollack LA, Li J, Berkowitz Z, Weir HK, Wu X-C, Ajani UA, et al. Melanoma survival in the United States, 1992 to 2005. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65(5 Suppl 1):S78-86.
  23. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob J-J, Rutkowski P, Lao CD, et al. Five-Year Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2019;381(16):1535-1546.
  24. Robert C, Grob JJ, Stroyakovskiy D, Karaszewska B, Hauschild A, Levchenko E, et al. Five-Year Outcomes with Dabrafenib plus Trametinib in Metastatic Melanoma. *N Engl J Med*. 2019;381(7):626-36.
  25. Ekwueme DU, Guy GP, Li C, Rim SH, Parelkar P, Chen SC. The health burden and economic costs of cutaneous melanoma mortality by race/ethnicity-United States, 2000 to 2006. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65(5 Suppl 1):S133-143.
  26. Guy GP, Ekwueme DU. Years of potential life lost and indirect costs of melanoma and non-melanoma skin cancer: a systematic review of the literature. *Pharmacoeconomics*. 2011;29(10):863-74.
  27. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Abeni D, Boyle P, et al. Meta-

- analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2005;41(1):28-44.
28. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Picconi O, Boyle P, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur J Cancer*. 2005;41(1):45-60.
  29. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Zanetti R, Masini C, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: III. Family history, actinic damage and phenotypic factors. *Eur J Cancer*. 2005;41(14):2040-59.
  30. Hicks MJ, Flaitz CM. Oral mucosal melanoma: epidemiology and pathobiology. *Oral Oncol*. 2000;36(2):152-69.
  31. Arnold M, Holterhues C, Hollestein LM, Coebergh JWW, Nijsten T, Pukkala E, et al. Trends in incidence and predictions of cutaneous melanoma across Europe up to 2015. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2014;28(9):1170-8.
  32. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Dyba T, Randi G, Bettio M, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. *Eur J Cancer*. 2018;103:356-87.
  33. Tejera-Vaquerizo A, Descalzo-Gallego MA, Otero-Rivas MM, Posada-García C, Rodríguez-Pazos L, Pastushenko I, et al. Skin Cancer Incidence and Mortality in Spain: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Actas Dermosifiliogr*. 2016;107(4):318-28.
  34. Gutiérrez-González E, López-Abente G, Aragonés N, Pollán M, Pastor-Barriuso R, Sánchez MJ, et al. Trends in mortality from cutaneous malignant melanoma in Spain (1982-2016): sex-specific age-cohort-period effects. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019;33(8):1522-8.
  35. Puig S, Marcoval J, Paradelo C, Azon A, Bartralot R, Bel S, et al. Melanoma incidence increases in the elderly of Catalonia but not in the younger population: effect of prevention or consequence of immigration? *Acta Derm Venereol*. 2015;95(4):422-6.
  36. Tejera-Vaquerizo A, Barrera-Vigo MV, López-Navarro N, Herrera-Ceballos E. Growth rate as a prognostic factor in localized invasive cutaneous melanoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2010;24(2):147-54.
  37. Cockburn M, Swetter SM, Peng D, Keegan THM, Deapen D, Clarke CA. Melanoma underreporting: why does it happen, how big is the problem, and how do we fix it? *J Am Acad Dermatol*. 2008;59(6):1081-5.
  38. Higgins HW, Lee KC, Galan A, Leffell DJ. Melanoma in situ: Part I. Epidemiology, screening, and clinical features. *J Am Acad Dermatol*. 2015;73(2):181-90, quiz

- 191-2.
39. Criscione VD, Weinstock MA. Melanoma thickness trends in the United States, 1988-2006. *J Invest Dermatol.* 2010;130(3):793-7.
  40. Gershenwald JE, Scolyer RA, Hess KR, Sondak VK, Long GV, Ross MI, et al. Melanoma staging: Evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin.* 2017;67(6):472-92.
  41. Balch CM, Gershenwald JE, Soong S-J, Thompson JF, Atkins MB, Byrd DR, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol.* 2009;27(36):6199-206.
  42. Hu S, Parmet Y, Allen G, Parker DF, Ma F, Rouhani P, et al. Disparity in melanoma: a trend analysis of melanoma incidence and stage at diagnosis among whites, Hispanics, and blacks in Florida. *Arch Dermatol.* 2009;145(12):1369-74.
  43. Friedman RJ, Rigel DS, Kopf AW. Early detection of malignant melanoma: the role of physician examination and self-examination of the skin. *CA Cancer J Clin.* 1985;35(3):130-51.
  44. Abbasi NR, Shaw HM, Rigel DS, Friedman RJ, McCarthy WH, Osman I, et al. Early diagnosis of cutaneous melanoma: revisiting the ABCD criteria. *JAMA.* 2004;292(22):2771-6.
  45. Thomas L, Tranchand P, Berard F, Secchi T, Colin C, Moulin G. Semiological value of ABCDE criteria in the diagnosis of cutaneous pigmented tumors. *Dermatology.* 1998;197(1):11-7.
  46. Wolf IH, Smolle J, Soyer HP, Kerl H. Sensitivity in the clinical diagnosis of malignant melanoma. *Melanoma Res.* 1998;8(5):425-9.
  47. Grin CM, Kopf AW, Welkovich B, Bart RS, Levenstein MJ. Accuracy in the clinical diagnosis of malignant melanoma. *Arch Dermatol.* 1990;126(6):763-6.
  48. Healsmith MF, Bourke JF, Osborne JE, Graham-Brown RA. An evaluation of the revised seven-point checklist for the early diagnosis of cutaneous malignant melanoma. *Br J Dermatol.* 1994;130(1):48-50.
  49. Bono A, Tolomio E, Trincone S, Bartoli C, Tomatis S, Carbone A, et al. Micro-melanoma detection: a clinical study on 206 consecutive cases of pigmented skin lesions with a diameter  $\leq$  3 mm. *Br J Dermatol.* 2006;155(3):570-3.
  50. Grob JJ, Bonerandi JJ. The «ugly duckling» sign: identification of the common characteristics of nevi in an individual as a basis for melanoma screening. *Arch Dermatol.* 1998;134(1):103-4.

51. MacKie RM. An aid to the preoperative assessment of pigmented lesions of the skin. *Br J Dermatol.* 1971;85(3):232-8.
52. Carli P, de Giorgi V, Chiarugi A, Nardini P, Weinstock MA, Crocetti E, et al. Addition of dermoscopy to conventional naked-eye examination in melanoma screening: a randomized study. *J Am Acad Dermatol.* 2004;50(5):683-9.
53. Marsden JR, Newton-Bishop JA, Burrows L, Cook M, Corrie PG, Cox NH, et al. Revised U.K. guidelines for the management of cutaneous melanoma 2010. *Br J Dermatol.* 2010;163(2):238-56.
54. Dummer R, Hauschild A, Lindenblatt N, Pentheroudakis G, Keilholz U, ESMO Guidelines Committee. Cutaneous melanoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2015;26 Suppl 5:v126-132.
55. Garbe C, Peris K, Hauschild A, Saiag P, Middleton M, Bastholt L, et al. Diagnosis and treatment of melanoma. European consensus-based interdisciplinary guideline - Update 2016. *Eur J Cancer.* 2016;63:201-17.
56. Adler NR, Kelly JW, Guitera P, Menzies SW, Chamberlain AJ, Fishburn P, et al. Methods of melanoma detection and of skin monitoring for individuals at high risk of melanoma: new Australian clinical practice. *Med J Aust.* 2019;210(1):41-7.
57. Kittler H, Pehamberger H, Wolff K, Binder M. Diagnostic accuracy of dermoscopy. *Lancet Oncol.* 2002;3(3):159-65.
58. Vestergaard ME, Macaskill P, Holt PE, Menzies SW. Dermoscopy compared with naked eye examination for the diagnosis of primary melanoma: a meta-analysis of studies performed in a clinical setting. *Br J Dermatol.* 2008;159(3):669-76.
59. Carli P, De Giorgi V, Crocetti E, Mannone F, Massi D, Chiarugi A, et al. Improvement of malignant/benign ratio in excised melanocytic lesions in the «dermoscopy era»: a retrospective study 1997-2001. *Br J Dermatol.* 2004;150(4):687-92.
60. van der Rhee JI, Bergman W, Kukutsch NA. Impact of dermoscopy on the management of high-risk patients from melanoma families: a prospective study. *Acta Derm Venereol.* 2011;91(4):428-31.
61. Argenziano G, Cerroni L, Zalaudek I, Staibano S, Hofmann-Wellenhof R, Arpaia N, et al. Accuracy in melanoma detection: a 10-year multicenter survey. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67(1):54-9.
62. Argenziano G, Soyer HP, Chimenti S, Talamini R, Corona R, Sera F, et al. Dermoscopy of pigmented skin lesions: results of a consensus meeting via the Internet. *J Am Acad Dermatol.* 2003;48(5):679-93.
63. Menzies SW, Ingvar C, Crotty KA, McCarthy WH. Frequency and morphologic

- characteristics of invasive melanomas lacking specific surface microscopic features. *Arch Dermatol.* 1996;132(10):1178-82.
64. Puig S, Argenziano G, Zalaudek I, Ferrara G, Palou J, Massi D, et al. Melanomas that failed dermoscopic detection: a combined clinicodermoscopic approach for not missing melanoma. *Dermatol Surg.* 2007;33(10):1262-73.
65. Menzies SW, Gutenev A, Avramidis M, Batrac A, McCarthy WH. Short-term digital surface microscopic monitoring of atypical or changing melanocytic lesions. *Arch Dermatol.* 2001;137(12):1583-9.
66. Kittler H, Pehamberger H, Wolff K, Binder M. Follow-up of melanocytic skin lesions with digital epiluminescence microscopy: patterns of modifications observed in early melanoma, atypical nevi, and common nevi. *J Am Acad Dermatol.* 2000;43(3):467-76.
67. Skvara H, Teban L, Fiebiger M, Binder M, Kittler H. Limitations of dermoscopy in the recognition of melanoma. *Arch Dermatol.* 2005;141(2):155-60.
68. Argenziano G, Kittler H, Ferrara G, Rubegni P, Malvey J, Puig S, et al. Slow-growing melanoma: a dermoscopy follow-up study. *Br J Dermatol.* 2010;162(2):267-73.
69. Pampena R, Kyrgidis A, Lallas A, Moscarella E, Argenziano G, Longo C. A meta-analysis of nevus-associated melanoma: Prevalence and practical implications. *J Am Acad Dermatol.* 2017;77(5):938-945.e4.
70. Kelly JW, Yeatman JM, Regalia C, Mason G, Henham AP. A high incidence of melanoma found in patients with multiple dysplastic naevi by photographic surveillance. *Med J Aust.* 1997;167(4):191-4.
71. Schosser RH, Michaels KV, Giannavola S, Morris M, Kendrick JP. Total body photographs of dysplastic nevi. *Arch Dermatol.* 1989;125(4):566-7.
72. Goodson AG, Florell SR, Hyde M, Bowen GM, Grossman D. Comparative analysis of total body and dermatoscopic photographic monitoring of nevi in similar patient populations at risk for cutaneous melanoma. *Dermatol Surg.* 2010;36(7):1087-98.
73. Malvey J, Puig S. Follow-up of melanocytic skin lesions with digital total-body photography and digital dermoscopy: a two-step method. *Clin Dermatol.* 2002;20(3):297-304.
74. Salerni G, Carrera C, Lovatto L, Puig-Butille JA, Badenas C, Plana E, et al. Benefits of total body photography and digital dermoscopy ("two-step method of digital follow-up") in the early diagnosis of melanoma in high-risk patients. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67(1):e17-27.

75. Salerni G, Terán T, Puig S, Malveyh J, Zalaudek I, Argenziano G, et al. Meta-analysis of digital dermoscopy follow-up of melanocytic skin lesions: a study on behalf of the International Dermoscopy Society. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2013;27(7):805-14.
76. Haenssle HA, Hoffmann S, Holzkamp R, Samhaber K, Lockmann A, Fliesser M, et al. Melanoma thickness: the role of patients' characteristics, risk indicators and patterns of diagnosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015;29(1):102-8.
77. Haenssle HA, Vente C, Bertsch HP, Rupprecht R, Abuzahra F, Junghans V, et al. Results of a surveillance programme for patients at high risk of malignant melanoma using digital and conventional dermoscopy. *Eur J Cancer Prev.* 2004;13(2):133-8.
78. Tromme I, Sacré L, Hammouch F, Legrand C, Marot L, Vereecken P, et al. Availability of digital dermoscopy in daily practice dramatically reduces the number of excised melanocytic lesions: results from an observational study. *Br J Dermatol.* 2012;167(4):778-86.
79. Gasparini G, Madjlessi N, Delyon J, Carmisciano L, Brahimy N, Basset-Seguín N, et al. Usefulness of the «two-step method» of digital follow-up for early-stage melanoma detection in high-risk French patients: a retrospective 4-year study. *Br J Dermatol.* 2019;181(2):415-6.
80. Watts CG, Cust AE, Menzies SW, Mann GJ, Morton RL. Cost-Effectiveness of Skin Surveillance Through a Specialized Clinic for Patients at High Risk of Melanoma. *J Clin Oncol.* 2017;35(1):63-71.
81. Haenssle HA, Korpas B, Hansen-Hagge C, Buhl T, Kaune KM, Johnsen S, et al. Selection of patients for long-term surveillance with digital dermoscopy by assessment of melanoma risk factors. *Arch Dermatol.* 2010;146(3):257-64.
82. Thomas L, Puig S. Dermoscopy, Digital Dermoscopy and Other Diagnostic Tools in the Early Detection of Melanoma and Follow-up of High-risk Skin Cancer Patients. *Acta Derm Venereol.* 2017;Suppl 218:14-21.
83. Corcuff P, Lévêque JL. In vivo vision of the human skin with the tandem scanning microscope. *Dermatology.* 1993;186(1):50-4.
84. Rajadhyaksha M, Grossman M, Esterowitz D, Webb RH, Anderson RR. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast. *J Invest Dermatol.* 1995;104(6):946-52.
85. Rajadhyaksha M, González S, Zavislan JM, Anderson RR, Webb RH. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin II: advances in instrumentation and comparison with histology. *J Invest Dermatol.*

- 1999;113(3):293-303.
86. Huzaira M, Rius F, Rajadhyaksha M, Anderson RR, González S. Topographic variations in normal skin, as viewed by in vivo reflectance confocal microscopy. *J Invest Dermatol.* 2001;116(6):846-52.
  87. Stanganelli I, Longo C, Mazzoni L, Magi S, Medri M, Lanza G, et al. Integration of reflectance confocal microscopy in sequential dermoscopy follow-up improves melanoma detection accuracy. *Br J Dermatol.* 2015;172(2):365-71.
  88. Lovatto L, Carrera C, Salerni G, Alós L, Malvey J, Puig S. In vivo reflectance confocal microscopy of equivocal melanocytic lesions detected by digital dermoscopy follow-up. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015;29(10):1918-25.
  89. Nori S, Rius-Díaz F, Cuevas J, Goldgeier M, Jaen P, Torres A, et al. Sensitivity and specificity of reflectance-mode confocal microscopy for in vivo diagnosis of basal cell carcinoma: a multicenter study. *J Am Acad Dermatol.* 2004;51(6):923-30.
  90. Kadouch DJ, Leeflang MM, Elshot YS, Longo C, Ulrich M, van der Wal AC, et al. Diagnostic accuracy of confocal microscopy imaging vs. punch biopsy for diagnosing and subtyping basal cell carcinoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2017;31(10):1641-8.
  91. Longo C, Lallas A, Kyrgidis A, Rabinovitz H, Moscarella E, Ciardo S, et al. Classifying distinct basal cell carcinoma subtype by means of dermatoscopy and reflectance confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol.* 2014;71(4):716-724.e1.
  92. Ulrich M, Maltusch A, Rius-Díaz F, Röwert-Huber J, González S, Sterry W, et al. Clinical applicability of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnosis of actinic keratoses. *Dermatol Surg.* 2008;34(5):610-9.
  93. Guitera P, Moloney FJ, Menzies SW, Stretch JR, Quinn MJ, Hong A, et al. Improving management and patient care in lentigo maligna by mapping with in vivo confocal microscopy. *JAMA Dermatol.* 2013;149(6):692-8.
  94. Chen C-SJ, Elias M, Busam K, Rajadhyaksha M, Marghoob AA. Multimodal in vivo optical imaging, including confocal microscopy, facilitates presurgical margin mapping for clinically complex lentigo maligna melanoma. *Br J Dermatol.* 2005;153(5):1031-6.
  95. 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.
  96. Hibler BP, Cordova M, Wong RJ, Rossi AM. Intraoperative real-time reflectance

- confocal microscopy for guiding surgical margins of lentigo maligna melanoma. *Dermatol Surg.* 2015;41(8):980-3.
97. Champin J, Perrot J-L, Cinotti E, Labeille B, Douchet C, Parrau G, et al. In vivo reflectance confocal microscopy to optimize the spaghetti technique for defining surgical margins of lentigo maligna. *Dermatol Surg.* 2014;40(3):247-56.
98. Guitera P, Haydu LE, Menzies SW, Scolyer RA, Hong A, Fogarty GB, et al. Surveillance for treatment failure of lentigo maligna with dermoscopy and in vivo confocal microscopy: new descriptors. *Br J Dermatol.* 2014;170(6):1305-12.
99. Nadiminti H, Scope A, Marghoob AA, Busam K, Nehal KS. Use of reflectance confocal microscopy to monitor response of lentigo maligna to nonsurgical treatment. *Dermatol Surg.* 2010;36(2):177-84.
100. Alarcon I, Carrera C, Alos L, Palou J, Malvehy J, Puig S. In vivo reflectance confocal microscopy to monitor the response of lentigo maligna to imiquimod. *J Am Acad Dermatol.* 2014;71(1):49-55.
101. Teoh YL, Kuan LY, Chong W-S, Chia HY, Thng TGS, Chuah SY. The role of reflectance confocal microscopy in the diagnosis and management of squamous cell carcinoma in situ treated with photodynamic therapy. *Int J Dermatol.* 2019;58(12):1382-7.
102. Bini J, Spain J, Nehal K, Hazelwood V, DiMarzio C, Rajadhyaksha M. Confocal mosaicing microscopy of human skin ex vivo: spectral analysis for digital staining to simulate histology-like appearance. *J Biomed Opt.* 2011;16(7):076008.
103. Anker JP, 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.* 2020;182(2):468-476.
104. Bennàssar A, Carrera C, Puig S, Vilalta A, Malvehy J. Fast evaluation of 69 basal cell carcinomas with ex vivo fluorescence confocal microscopy: criteria description, histopathological correlation, and interobserver agreement. *JAMA Dermatol.* 2013;149(7):839-47.
105. Longo C, Ragazzi M, Gardini S, Piana S, Moscarella E, Lallas A, et al. Ex vivo fluorescence confocal microscopy in conjunction with Mohs micrographic surgery for cutaneous squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol.* 2015;73(2):321-2.
106. Lamberti A, Cinotti E, Habougit C, Labeille B, Rubegni P, Perrot J-L. Ex vivo confocal microscopy for dermatofibrosarcoma protuberans. *Skin Res Technol.* 2019;25(4):589-91.
107. Hartmann D, Ruini C, Mathemeier L, Bachmann MR, Dietrich A, Ruzicka T, et al.

- Identification of ex-vivo confocal laser scanning microscopic features of melanocytic lesions and their histological correlates. *J Biophotonics*. 2017;10(1):128-42.
108. Rajadhyaksha M, Menaker G, Flotte T, Dwyer PJ, González S. Confocal examination of nonmelanoma cancers in thick skin excisions to potentially guide mohs micrographic surgery without frozen histopathology. *J Invest Dermatol*. 2001;117(5):1137-43.
109. Bennàssar A, Vilata A, Puig S, Malveyh J. Ex vivo fluorescence confocal microscopy for fast evaluation of tumour margins during Mohs surgery. *Br J Dermatol*. 2014;170(2):360-5.
110. Debarbieux S, Gaspar R, Depaepe L, Dalle S, Balme B, Thomas L. Intraoperative diagnosis of nonpigmented nail tumours with ex vivo fluorescence confocal microscopy: 10 cases. *Br J Dermatol*. 2015;172(4):1037-44.
111. Cinotti E, Perrot JL, Labeille B, Raberin H, Flori P, Cambazard F. Hair dermatophytosis diagnosed by reflectance confocal microscopy: six cases. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29(11):2257-9.
112. Longo C, Pampena R, Bombonato C, Gardini S, Piana S, Mirra M, et al. Diagnostic accuracy of ex vivo fluorescence confocal microscopy in Mohs surgery of basal cell carcinomas: a prospective study on 753 margins. *Br J Dermatol*. 2019;180(6):1473-80.
113. Fujimoto JG, Pitris C, Boppart SA, Brezinski ME. Optical coherence tomography: an emerging technology for biomedical imaging and optical biopsy. *Neoplasia*. 2000;2(1-2):9-25.
114. Cheng HM, Guitera P. Systematic review of optical coherence tomography usage in the diagnosis and management of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol*. 2015;173(6):1371-80.
115. Que SKT. Research Techniques Made Simple: Noninvasive Imaging Technologies for the Delineation of Basal Cell Carcinomas. *J Invest Dermatol*. 2016;136(4):e33-8.
116. Rajabi-Estarabadi A, Bittar JM, Zheng C, Nascimento V, Camacho I, Feun LG, et al. Optical coherence tomography imaging of melanoma skin cancer. *Lasers Med Sci*. 2019;34(2):411-20.
117. Barcaui E de O, Carvalho ACP, Lopes FPPL, Piñeiro-Maceira J, Barcaui CB. High frequency ultrasound with color Doppler in dermatology. *An Bras Dermatol*. 2016;91(3):262-73.
118. Bhatt KD, Tambe SA, Jerajani HR, Dhurat RS. Utility of high-frequency

- ultrasonography in the diagnosis of benign and malignant skin tumors. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2017;83(2):162-82.
119. Wortsman X. Ultrasound in dermatology: why, how, and when? *Semin Ultrasound CT MR.* 2013;34(3):177-95.
120. Vidal D, Ruiz-Villaverde R, Alfageme F, Roustan G, Mollet J, Ruiz-Carrascosa JC, et al. Use of high frequency ultrasonography in dermatology departments in Spain. *Dermatol Online J.* 2016;22(2).
121. Hung EHY, Griffith JF, Ng AWH, Lee RKL, Lau DTY, Leung JCS. Ultrasound of musculoskeletal soft-tissue tumors superficial to the investing fascia. *AJR Am J Roentgenol.* 2014;202(6):W532-540.
122. Wortsman X, Wortsman J. Clinical usefulness of variable-frequency ultrasound in localized lesions of the skin. *J Am Acad Dermatol.* 2010;62(2):247-56.
123. Guitera P, Pellacani G, Crotty KA, Scolyer RA, Li L-XL, Bassoli S, et al. The impact of in vivo reflectance confocal microscopy on the diagnostic accuracy of lentigo maligna and equivocal pigmented and nonpigmented macules of the face. *J Invest Dermatol.* 2010;130(8):2080-91.
124. Gonzalez S, Gill M, Halpern AC, eds. *Reflectance Confocal Microscopy of Cutaneous Tumors.* London: Informa UK; 2008.
125. Uribe P, Collgros H, Scolyer RA, Menzies SW, Guitera P. In Vivo Reflectance Confocal Microscopy for the Diagnosis of Melanoma and Melanotic Macules of the Lip. *JAMA Dermatol.* 2017;153(9):882-91.
126. Stolz W, Schiffner R, Burgdorf WHC. Dermatoscopy for facial pigmented skin lesions. *Clin Dermatol.* 2002;20(3):276-8.
127. Pralong P, Bathelier E, Dalle S, Poulalhon N, Debarbieux S, Thomas L. Dermoscopy of lentigo maligna melanoma: report of 125 cases. *Br J Dermatol.* 2012;167(2):280-7.
128. Guitera P, Menzies SW, Longo C, Cesinaro AM, Scolyer RA, Pellacani G. In vivo confocal microscopy for diagnosis of melanoma and basal cell carcinoma using a two-step method: analysis of 710 consecutive clinically equivocal cases. *J Invest Dermatol.* 2012;132(10):2386-94.
129. Alarcon I, Carrera C, Palou J, Alos L, Malvehy J, Puig S. Impact of in vivo reflectance confocal microscopy on the number needed to treat melanoma in doubtful lesions. *Br J Dermatol.* 2014;170(4):802-8.
130. Pellacani G, Pepe P, Casari A, Longo C. Reflectance confocal microscopy as a second-level examination in skin oncology improves diagnostic accuracy and saves unnecessary excisions: a longitudinal prospective study. *Br J Dermatol.*

- 2014;171(5):1044-51.
131. Pellacani G, Longo C, Malveyh J, Puig S, Carrera C, Segura S, et al. In vivo confocal microscopic and histopathologic correlations of dermoscopic features in 202 melanocytic lesions. *Arch Dermatol*. 2008;144(12):1597-608.
  132. Segura S, Puig S, Carrera C, Palou J, Malveyh J. Development of a two-step method for the diagnosis of melanoma by reflectance confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol*. 2009;61(2):216-29.
  133. Borsari S, Pampena R, Lallas A, Kyrgidis A, Moscarella E, Benati E, et al. Clinical Indications for Use of Reflectance Confocal Microscopy for Skin Cancer Diagnosis. *JAMA Dermatol*. 2016;152(10):1093-8.
  134. Alarcón I, Carrera C, Puig S, Malveyh J. Clinical usefulness of reflectance confocal microscopy in the management of facial lentigo maligna melanoma. *Actas Dermosifiliogr*. 2014;105(3):e13-17.
  135. Pellacani G, De Carvalho N, Ciardo S, Ferrari B, Cesinaro AM, Farnetani F, et al. The smart approach: feasibility of lentigo maligna superficial margin assessment with hand-held reflectance confocal microscopy technology. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018;32(10):1687-94.
  136. Malveyh J, Alarcon I, Montoya J, Rodríguez-Azeredo R, Puig S. Treatment monitoring of 0.5% 5-fluorouracil and 10% salicylic acid in clinical and subclinical actinic keratoses with the combination of optical coherence tomography and reflectance confocal microscopy. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016;30(2):258-65.
  137. Ulrich M, Alarcon I, Malveyh J, Puig S. In vivo reflectance confocal microscopy characterization of field-directed 5-fluorouracil 0.5%/salicylic acid 10% in actinic keratosis. *Dermatology*. 2015;230(3):193-8.
  138. Ulrich M, Reinhold U, Falqués M, Rodriguez Azeredo R, Stockfleth E. Use of reflectance confocal microscopy to evaluate 5-fluorouracil 0.5%/salicylic acid 10% in the field-directed treatment of subclinical lesions of actinic keratosis: subanalysis of a Phase III, randomized, double-blind, vehicle-controlled trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018;32(3):390-6.
  139. Ulrich M, Lange-Asschenfeldt S, Skak K, Skov T, Østerdal ML, Røwert-Huber H-J, et al. Biological Effects of Ingenol Mebutate Gel in Moderate to Severe Actinic Fields Assessed by Reflectance Confocal Microscopy: A Phase I Study. *J Drugs Dermatol*. 2016;15(10):1181-9.
  140. Ulrich M, Krueger-Corcoran D, Roewert-Huber J, Sterry W, Stockfleth E, Astner S. Reflectance confocal microscopy for noninvasive monitoring of therapy and

- detection of subclinical actinic keratoses. *Dermatology*. 2010;220(1):15-24.
141. Banzhaf CA, Phothong W, Suku M-LH, Ulrich M, Philipsen PA, Mogensen M, et al. Basal cell carcinoma treated with combined ablative fractional laser and ingenol mebutate - An exploratory study monitored by optical coherence tomography and reflectance confocal microscopy. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020;34(3):502-509.
142. Pellacani G, Witkowski A, Cesinaro AM, Losi A, Colombo GL, Campagna A, et al. Cost-benefit of reflectance confocal microscopy in the diagnostic performance of melanoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016;30(3):413-9.
143. Lallas A, Argenziano G, Moscarella E, Longo C, Simonetti V, Zalaudek I. Diagnosis and management of facial pigmented macules. *Clin Dermatol*. 2014;32(1):94-100.
144. Tanaka M, Sawada M, Kobayashi K. Key points in dermoscopic differentiation between lentigo maligna and solar lentigo. *J Dermatol*. 2011;38(1):53-8.
145. Chen LL, Scope A, De Carvalho N, Rabinovitz HS, Pellacani G. Difficult-to-diagnose facial melanomas: Utility of reflectance confocal microscopy in uncovering the diagnosis. *JAAD Case Rep*. 2017;3(5):379-83.
146. Nascimento MM, Shitara D, Enokihara MMSS, Yamada S, Pellacani G, Rezza GG. Inner gray halo, a novel dermoscopic feature for the diagnosis of pigmented actinic keratosis: clues for the differential diagnosis with lentigo maligna. *J Am Acad Dermatol*. 2014;71(4):708-15.
147. Akay BN, Kocyigit P, Heper AO, Erdem C. Dermatoscopy of flat pigmented facial lesions: diagnostic challenge between pigmented actinic keratosis and lentigo maligna. *Br J Dermatol*. 2010;163(6):1212-7.
148. Menge TD, Hibler BP, Cordova MA, Nehal KS, Rossi AM. Concordance of handheld reflectance confocal microscopy (RCM) with histopathology in the diagnosis of lentigo maligna (LM): A prospective study. *J Am Acad Dermatol*. 2016;74(6):1114-20.
149. Cinotti E, Labeille B, Debarbieux S, Carrera C, Lacarrubba F, Witkowski AM, et al. Dermoscopy vs. reflectance confocal microscopy for the diagnosis of lentigo maligna. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018;32(8):1284-91.
150. Hashemi P, Pulitzer MP, Scope A, Kovalyshyn I, Halpern AC, Marghoob AA. Langerhans cells and melanocytes share similar morphologic features under in vivo reflectance confocal microscopy: a challenge for melanoma diagnosis. *J Am Acad Dermatol*. 2012;66(3):452-62.
151. Rajadhyaksha M, Marghoob A, Rossi A, Halpern AC, Nehal KS. Reflectance

- confocal microscopy of skin in vivo: From bench to bedside. *Lasers Surg Med.* 2017;49(1):7-19.
152. de Carvalho N, Farnetani F, Ciardo S, Ruini C, Witkowski AM, Longo C, et al. Reflectance confocal microscopy correlates of dermoscopic patterns of facial lesions help to discriminate lentigo maligna from pigmented nonmelanocytic macules. *Br J Dermatol.* 2015;173(1):128-33.
153. Persechino F, De Carvalho N, Ciardo S, De Pace B, Casari A, Chester J, et al. Folliculotropism in pigmented facial macules: Differential diagnosis with reflectance confocal microscopy. *Exp Dermatol.* 2018;27(3):227-32.
154. El Shabrawi-Caelen L, Kerl H, Cerroni L. Melan-A: not a helpful marker in distinction between melanoma in situ on sun-damaged skin and pigmented actinic keratosis. *Am J Dermatopathol.* 2004;26(5):364-6.
155. Helm K, Findeis-Hosey J. Immunohistochemistry of pigmented actinic keratoses, actinic keratoses, melanomas in situ and solar lentigines with Melan-A. *J Cutan Pathol.* 2008;35(10):931-4.
156. Black WH, Thareja SK, Blake BP, Chen R, Cherpelis BS, Glass LF. Distinction of melanoma in situ from solar lentigo on sun-damaged skin using morphometrics and MITF immunohistochemistry. *Am J Dermatopathol.* 2011;33(6):573-8.
157. Nybakken GE, Sargen M, Abraham R, Zhang PJ, Ming M, Xu X. MITF accurately highlights epidermal melanocytes in atypical intraepidermal melanocytic proliferations. *Am J Dermatopathol.* 2013;35(1):25-9.
158. Buonaccorsi JN, Prieto VG, Torres-Cabala C, Suster S, Plaza JA. Diagnostic utility and comparative immunohistochemical analysis of MITF-1 and SOX10 to distinguish melanoma in situ and actinic keratosis: a clinicopathological and immunohistochemical study of 70 cases. *Am J Dermatopathol.* 2014;36(2):124-30.
159. Menzies SW, Kreusch J, Byth K, Pizzichetta MA, Marghoob A, Braun R, et al. Dermoscopic evaluation of amelanotic and hypomelanotic melanoma. *Arch Dermatol.* 2008;144(9):1120-7.
160. Zalaudek I, Kreusch J, Giacomel J, Ferrara G, Catricalà C, Argenziano G. How to diagnose nonpigmented skin tumors: a review of vascular structures seen with dermoscopy: part I. Melanocytic skin tumors. *J Am Acad Dermatol.* 2010;63(3):361-74; quiz 375-6.
161. Zalaudek I, Kreusch J, Giacomel J, Ferrara G, Catricalà C, Argenziano G. How to diagnose nonpigmented skin tumors: a review of vascular structures seen with dermoscopy: part II. Nonmelanocytic skin tumors. *J Am Acad Dermatol.*

- 2010;63(3):377-86; quiz 387-8.
162. Giacomel J, Zalaudek I. Pink lesions. *Dermatol Clin*. 2013;31(4):649-78, ix.
163. Rosendahl C, Cameron A, Tschandl P, Bulinska A, Zalaudek I, Kittler H. Prediction without Pigment: a decision algorithm for non-pigmented skin malignancy. *Dermatol Pract Concept*. 2014;4(1):59-66.
164. González S, Tannous Z. Real-time, in vivo confocal reflectance microscopy of basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2002;47(6):869-74.
165. Peppelman M, Nguyen KP, Hoogedoorn L, van Erp PEJ, Gerritsen M-JP. Reflectance confocal microscopy: non-invasive distinction between actinic keratosis and squamous cell carcinoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29(7):1302-9.
166. Rishpon A, Kim N, Scope A, Porges L, Oliviero MC, Braun RP, et al. Reflectance confocal microscopy criteria for squamous cell carcinomas and actinic keratoses. *Arch Dermatol*. 2009;145(7):766-72.
167. Ulrich M, Kanitakis J, González S, Lange-Asschenfeldt S, Stockfleth E, Roewert-Huber J. Evaluation of Bowen disease by in vivo reflectance confocal microscopy. *Br J Dermatol*. 2012;166(2):451-3.
168. Ardigo M, Longo C, Gonzalez S, International Confocal Working Group Inflammatory Skin Diseases Project. Multicentre study on inflammatory skin diseases from The International Confocal Working Group: specific confocal microscopy features and an algorithmic method of diagnosis. *Br J Dermatol*. 2016;175(2):364-74.
169. Guitera P, Menzies SW, Argenziano G, Longo C, Losi A, Drummond M, et al. Dermoscopy and in vivo confocal microscopy are complementary techniques for diagnosis of difficult amelanotic and light-coloured skin lesions. *Br J Dermatol*. 2016;175(6):1311-9.
170. Guitera P, Pellacani G, Longo C, Seidenari S, Avramidis M, Menzies SW. In vivo reflectance confocal microscopy enhances secondary evaluation of melanocytic lesions. *J Invest Dermatol*. 2009;129(1):131-8.
171. Gill M, González S. Enlightening the Pink: Use of Confocal Microscopy in Pink Lesions. *Dermatol Clin*. 2016;34(4):443-58.
172. Patterson JW, eds. *Weedon's skin pathology: Lentigines, nevi, and melanomas*. London: Churchill Livingstone Elsevier; 2016.
173. Calonje E, Brenn T, Lazar AJ, Billings SD, eds. *McKee's pathology of the skin with clinical correlations: Diseases of the oral mucosa*. Amsterdam: Elsevier; 2019.

174. Puig S, Malvehy J, eds. Principles of Dermoscopy: Dermoscopic findings of pigmented lesions of the mucosae. Barcelona: Coge Editors; 2002.
175. Lin J, Koga H, Takata M, Saida T. Dermoscopy of pigmented lesions on mucocutaneous junction and mucous membrane. *Br J Dermatol.* 2009;161(6):1255-61.
176. Blum A, Simionescu O, Argenziano G, Braun R, Cabo H, Eichhorn A, et al. Dermoscopy of pigmented lesions of the mucosa and the mucocutaneous junction: results of a multicenter study by the International Dermoscopy Society (IDS). *Arch Dermatol.* 2011;147(10):1181-7.
177. Debarbieux S, Perrot JL, Erfan N, Ronger-Savlé S, Labeille B, Cinotti E, et al. Reflectance confocal microscopy of mucosal pigmented macules: a review of 56 cases including 10 macular melanomas. *Br J Dermatol.* 2014;170(6):1276-84.
178. Maher NG, Solinas A, Scolyer RA, Guitera P. In vivo reflectance confocal microscopy for evaluating melanoma of the lip and its differential diagnoses. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2017;123(1):84-94.
179. Laimer M, Arzberger E, Kirchner C-A, Prodingner C, Hofmann-Wellenhof R, Ahlgrim-Siess V. Noninvasive RCM for Differentiation of Melanotic Macules From Melanocytic Lesions-Blinded Evaluation of a Series of 42 Pigmented Macules. *Dermatol Surg.* 2017;43(7):911-9.
180. Cinotti E, Couzan C, Perrot JL, Habougit C, Labeille B, Cambazard F, et al. In vivo confocal microscopic substrate of grey colour in melanosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015;29(12):2458-62.



*Anexos*



**Anexo I**

**Pigmented fibroepithelioma of Pinkus: A potential dermoscopic simulator of malignant melanoma.**

**Gómez-Martín I, Moreno S, Pujol RM, Segura S.**

**The Journal of Dermatology 2017;44(5):542-543**

DOI: 10.1111/1346-8138.13485

Factor de impacto 2017 (*Journal Citation Reports*): 2.788

1<sup>er</sup> cuartil de la categoría *Dermatology*



**Anexo I**

**Pigmented fibroepithelioma of Pinkus: A potential dermoscopic simulator of malignant melanoma.**

**Gómez-Martín I, Moreno S, Pujol RM, Segura S.**

**The Journal of Dermatology 2017;44(5):542-543**

DOI: 10.1111/1346-8138.13485

Factor de impacto 2017 (*Journal Citation Reports*): 2.788

1<sup>er</sup> cuartil de la categoría *Dermatology*

**Anexo I**

**Pigmented fibroepithelioma of Pinkus: A potential dermoscopic simulator of malignant melanoma.**

**Gómez-Martín I, Moreno S, Pujol RM, Segura S.**

**The Journal of Dermatology 2017;44(5):542-543**

DOI: 10.1111/1346-8138.13485

Factor de impacto 2017 (*Journal Citation Reports*): 2.788

1<sup>er</sup> cuartil de la categoría *Dermatology*



**Anexo II**

**A classical dermoscopic vascular pattern in an uncommon location.**

**Gómez-Martín I, Pujol RM, Segura S.**

**Journal of the American Academy of Dermatology 2016;75(2):e57-9**

DOI: 10.1016/j.jaad.2016.01.040

Factor de impacto 2016 (*Journal Citation Reports*): 7.002

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*



**Anexo II**

**A classical dermoscopic vascular pattern in an uncommon location.**

**Gómez-Martín I, Pujol RM, Segura S.**

**Journal of the American Academy of Dermatology 2016;75(2):e57-9**

DOI: 10.1016/j.jaad.2016.01.040

Factor de impacto 2016 (*Journal Citation Reports*): 7.002

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*

**Anexo II**

**A classical dermoscopic vascular pattern in an uncommon location.**

**Gómez-Martín I, Pujol RM, Segura S.**

**Journal of the American Academy of Dermatology 2016;75(2):e57-9**

DOI: 10.1016/j.jaad.2016.01.040

Factor de impacto 2016 (*Journal Citation Reports*): 7.002

1<sup>er</sup> decil de la categoría *Dermatology*



*La realización del presente proyecto de investigación ha sido posible gracias al apoyo financiero de la beca RD09/0076/00036 y PT13/0010/0005 del Instituto de Salud Carlos III/FEDER.*