



# ACTAS Derma-Sifiliográficas

Full English text available at  
[www.elsevier.es/ad](http://www.elsevier.es/ad)



## DERMATOLOGÍA PRÁCTICA

# La biopsia cutánea: bases fundamentales. Parte II

M. Llamas-Velasco<sup>a,\*</sup> y B.E. Paredes<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Dermatología, Hospital Universitario de La Princesa, Madrid, España

<sup>b</sup> Dermatopathologie Friedrichshafen, Friedrichshafen, Alemania

Recibido el 12 de mayo de 2011; aceptado el 12 de mayo de 2011

Accesible en línea el 6 de julio de 2011

### PALABRAS CLAVE

Biopsia cutánea;  
Anatomía patológica;  
Dermatopatología;  
Preparación  
histocitológica;  
Técnica;  
Complicación  
quirúrgica

### KEYWORDS

Skin biopsy;  
Pathology;  
Dermatopathology;  
Histological  
preparation;  
Technique;  
Surgical complication

**Resumen** En este artículo de dermatología práctica se revisarán algunos de los artefactos encontrados frecuentemente en las biopsias, así como métodos para evitarlos. También se darán nociones básicas acerca de la realización de biopsias de lesiones melanocíticas, enfermedades ampollas o de la biopsia de lesiones en localizaciones especiales, como el cuero cabelludo y la región ungueal. Por último se comentarán algunas de las aplicaciones de la biopsia cutánea al diagnóstico de enfermedades neurológicas y al diagnóstico prenatal de una manera breve. Con esta guía básica pretendemos mejorar la rentabilidad de la biopsia y resaltar la importancia de realizar una correcta correlación clínico-histológica, por lo que se comentarán también algunas nociones respecto a la interpretación del informe dermatopatológico.

© 2011 Elsevier España, S.L. y AEDV. Todos los derechos reservados.

### Basic Concepts in Skin Biopsy. Part II

**Abstract** In this article, we review some of the artifacts commonly observed in biopsies and the methods used to prevent their appearance. We describe the basic techniques for taking biopsies of melanocytic lesions, bullous diseases, and from special areas such as the scalp and nail region. We also provide a brief summary of the role of skin biopsy in the diagnosis of neurological diseases and prenatal diagnosis. The aim of this guide is to improve the diagnostic yield of biopsies and to highlight the importance of a correct clinical-histological correlation; we therefore provide clues to the interpretation of the dermatopathology report.

© 2011 Elsevier España, S.L. and AEDV. All rights reserved.

Como se ha revisado previamente, la elección de la zona a biopsiar, la consideración de la profundidad a la que se encuentra la dermatosis y la elección de una técnica de biopsia adecuada son pasos a tener en cuenta para aumentar en

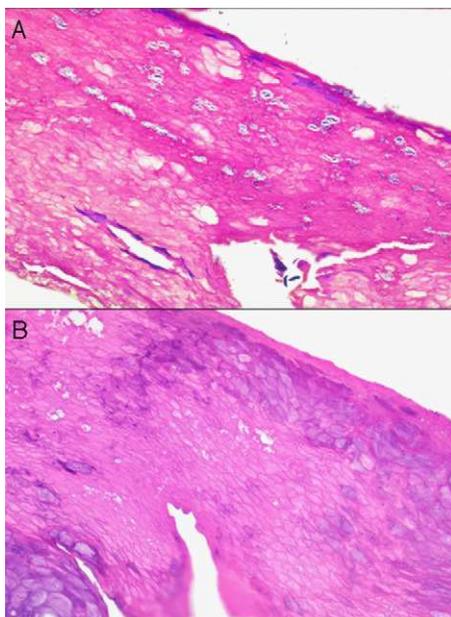
lo posible el rendimiento diagnóstico de la biopsia cutánea. En este segundo bloque trataremos:

1. Artefactos en las biopsias.
2. Indicaciones específicas: lesiones melanocíticas, enfermedades vesiculoampollosas, lesiones del cuero cabelludo, lesiones ungueales, diagnóstico de enfermedades neurológicas y diagnóstico prenatal.
3. Conclusiones: el informe dermatopatológico.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [mar.llamasvelasco@gmail.com](mailto:mar.llamasvelasco@gmail.com)

(M. Llamas-Velasco).



**Figura 1** A. Hematoxilina eosina,  $\times 4$ . Fragmento de capa córnea de la región plantar. B. Con tinción de Gram se evidencian múltiples bacterias. Diagnóstico: queratólisis punctata.

### Artefactos en las biopsias de piel: fuente de errores histopatológicos

La desinfección de la piel realizando una presión tangencial demasiado intensa puede conllevar una pérdida de la capa córnea y, por consiguiente, de información. Así, pueden no encontrarse las hifas y esporas de un hongo en una dermatomycosis, la paraqueratosis de una psoriasis vulgar o la presencia de polimorfonucleares neutrófilos y de agregados bacterianos en un impétigo contagioso o en una queratólisis punctata (fig. 1).

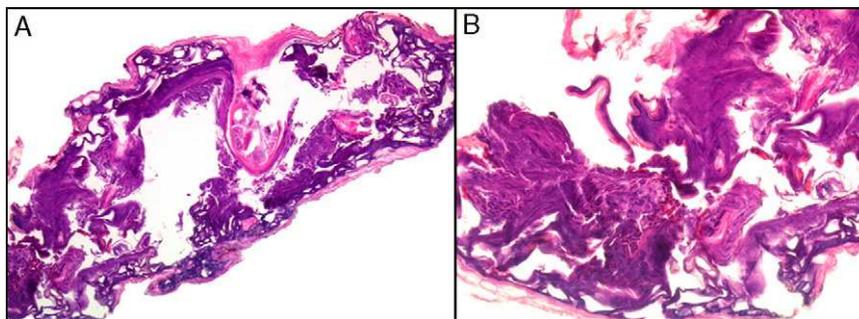
Una inyección demasiado rápida de anestésico local, o el uso del dispositivo denominado Dermajet<sup>®</sup> puede dar lugar a la aparición de espacios ovalados en la dermis o incluso en la epidermis<sup>1</sup>. También el uso de anestésicos tópicos, como EMLA<sup>®</sup>, se ha asociado a vacuolización de las capas espinosa y granulosa, así como a cambios similares a los que se pueden observar en la epidermolisis ampollosa simple<sup>2</sup>.

La compresión mecánica con las pinzas o, en ocasiones, en el borde del recipiente para transporte de las

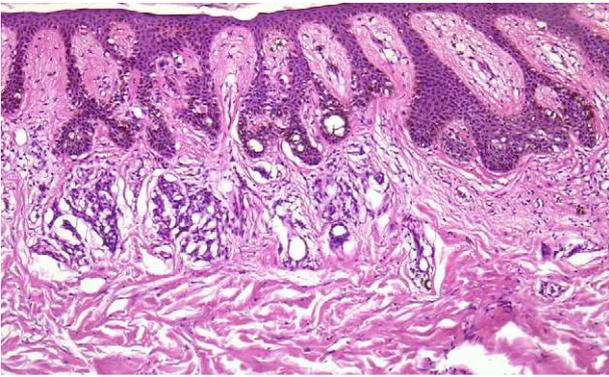
mismas, también produce cambios que deben reconocerse como artefactos, ya que pueden imitar una esclerodermia localizada o un fibroma péndulo<sup>1</sup>. En los epiteliomas basocelulares, especialmente de tipo nodular, la presión de las pinzas puede extruir el tumor, dejando espacios vacíos. A veces pueden observarse espacios vacíos similares en pacientes en los que se les ha realizado un curetaje previo de epiteliomas basocelulares de tipo superficial, y hay que diferenciar estos artefactos de lesiones como los linfangiomas. También pueden observarse ampollas subepidérmicas por la aplicación de presión excesiva, como sucede con cierta frecuencia en biopsias en sacabocados de lesiones de paniculitis<sup>1</sup>, o tras la realización de crioterapia<sup>2</sup>.

Se pueden observar áreas con necrosis grasa u otros artefactos secundarios al uso de corrientes eléctricas para conseguir una correcta hemostasia o a tratamientos con láser. En los márgenes de las biopsias en las que se ha realizado electrocauterización puede verse aumento de la eosinofilia citoplásmica, así como elongación de los núcleos celulares de los queratinocitos<sup>3</sup> (fig. 2) o, incluso, de la neoplasia extirpada (fenómeno denominado por Ackerman «polarización» de las células), con cambios que pueden confundirse con la presencia de epiteliomas basocelulares<sup>4</sup>. Igualmente, la deshidratación secundaria a la aplicación de la corriente eléctrica produce vacuolización de los citoplasmas celulares.

La fijación de las muestras en formol al 10%, a temperaturas cercanas a 0° centígrados, produce la aparición de artefactos por congelación (figs. 2 y 3). La expansión de los cristales de hielo en el tejido conduce a cambios que van desde una vacuolización mínima a una destrucción celular completa. Para contrarrestar este artefacto es suficiente permitir la fijación adicional de la muestra durante 8-12 horas manteniéndola a temperatura ambiente. En caso de no disponer de ese plazo de tiempo, por tratarse de una biopsia urgente, se puede evitar el artefacto de congelación añadiendo etanol al 75-95% en una proporción de 1:10<sup>1,5,6</sup>. En Suiza este problema sucede rara vez debido a las cortas distancias que debe recorrer el preparado. Es un problema más frecuente en Alemania, y posiblemente presente también en determinadas regiones de España. Si los recipientes que contienen el formol se abren los preparados no se fijan correctamente o lo hacen con aspectos peculiares. A esto se añade el envío de las muestras en recipientes de plástico frágil, que se rompen (incluso, en una ocasión una muestra fue enviada en un recipiente de lentillas). Esto último es excepcional, pero sí se observa con frecuencia el envío



**Figura 2** A. Hematoxilina-eosina,  $\times 10$ . Balonización de las células debido a la congelación y electrocauterización. B. Núcleos elongados en relación con el daño térmico originado al electrocoagular.

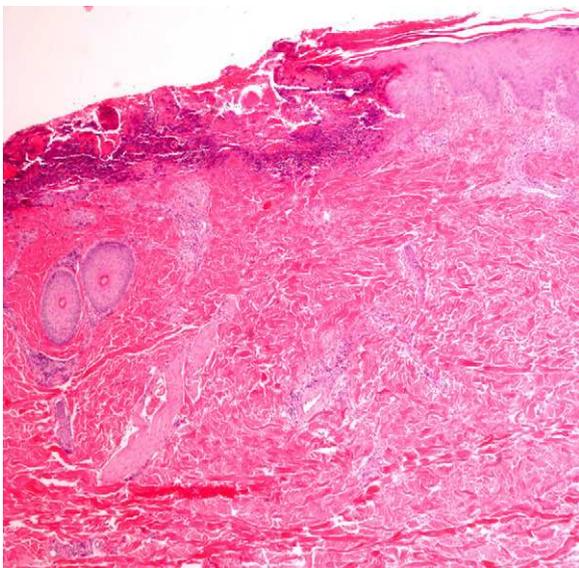


**Figura 3** Hematoxilina-eosina x4. Balonización como artefacto de congelación de los melanocitos que constituyen este nevus melanocítico compuesto.

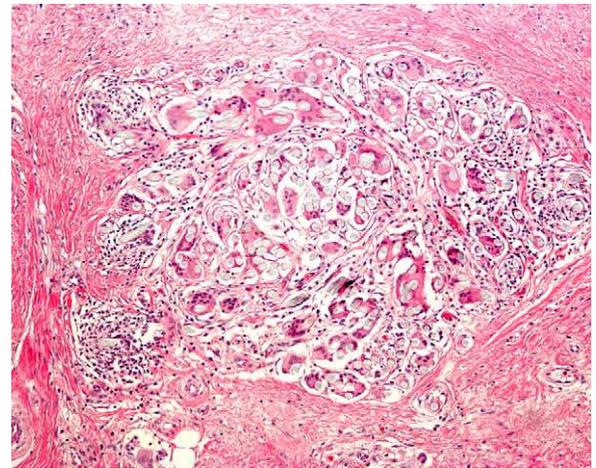
de varias lesiones en un único envase de transporte. Realizar el diagnóstico de un melanoma en una muestra que contenga diversas lesiones melanocíticas daría lugar a difíciles decisiones terapéuticas, y a una considerable dificultad en el seguimiento del paciente que podría haberse evitado fácilmente.

Por supuesto la biopsia en lesiones cutáneas rascadas o sobreinfectadas (fig. 4) de vesículas de más de 24 horas de duración, de áreas necróticas o ulceradas sin epidermis presentan importantes artefactos, y prácticamente nunca son útiles para el diagnóstico.

Por último, si bien excede la finalidad de este artículo, cabe recordar que existen diversos materiales exógenos que pueden producir reacciones características en la piel, tales como el cloruro de aluminio (usado para el tratamiento de la hiperhidrosis), el subsulfato férrico (usado como hemostático), la parafina, el mercurio o los diversos materiales empleados como rellenos, o el material de sutura (fig. 5), y que no deben ser etiquetados incorrectamente como artefactos<sup>7</sup>.



**Figura 4** Hematoxilina-eosina x4. Erosión y necrosis epidérmica secundaria a rascado.



**Figura 5** Hematoxilina-eosina x10. Granuloma de cuerpo extraño secundario a material de sutura.

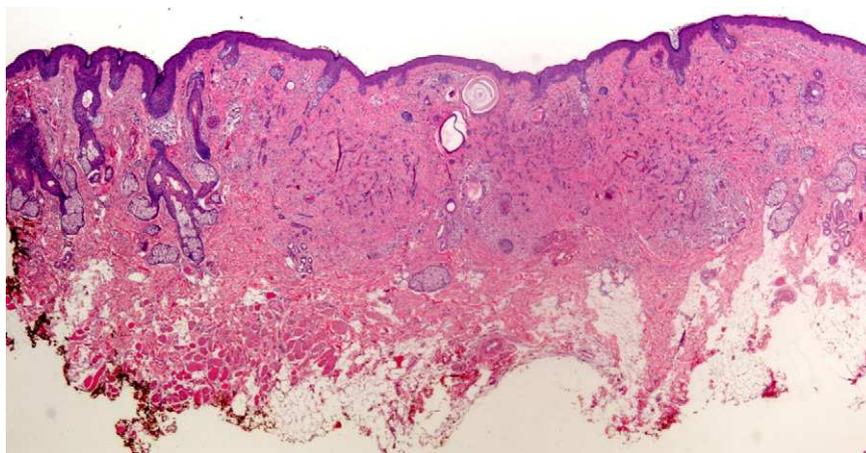
## Indicaciones específicas y recomendaciones

### Biopsia de lesiones melanocíticas

Se debería realizar una biopsia excisional en cualquier lesión pigmentada de diagnóstico clínico impreciso, y en especial si se sospecha melanoma. No obstante, en ocasiones se realiza una biopsia incisional para descartar malignidad. En otros tipos de tumores cutáneos puede ser suficiente, pero en el caso de lesiones melanocíticas el diagnóstico histológico está basado tanto en criterios arquitecturales como citológicos. Entre los criterios arquitecturales se evalúa la simetría/asimetría y la presencia o no de límites difusos, ambos complicados o imposibles de evaluar en biopsias parciales. Además, no siempre existen atipias citológicas marcadas de manera homogénea en toda la lesión, por lo que pueden biopsiarse zonas citológicamente «pseudobenignas» con el consiguiente error diagnóstico<sup>8</sup>.

En caso de lesiones melanocíticas de gran tamaño que no puedan extirparse inicialmente por completo, sería recomendable elegir la zona de la biopsia para intentar enviar al dermatopatólogo una zona lo más representativa posible. Recientemente se está estudiando la utilidad de la dermatoscopia como ayuda para la elección de las zonas con mayor Breslow, al igual que se ha intentado hacer con la microscopía confocal<sup>9</sup>. También se están investigando los criterios que permitan identificar zonas con cambios diagnósticos de lentigo maligno en microscopía confocal<sup>10,11</sup>. Como hemos comentado, la realización de aplanamientos no es lo más indicado, aunque algunos autores aceptan que puede ser útil en algunos casos<sup>8,12</sup>. Ante dudas clínicas que confrontan los diagnósticos de melanoma frente a nevus, o de epiteloma basocelular esclerosante frente a tricopitelioma desmoplásico (fig. 6), las biopsias por aplanamiento son demasiado superficiales como para permitir al dermatopatólogo un diagnóstico de certeza<sup>13</sup>.

Finalmente, hay que tener en cuenta que para ofrecer al paciente la mejor calidad asistencial hay que elegir no sólo una técnica quirúrgica lo más sencilla posible y con una morbilidad mínima, sino aquella que permita la realización de un diagnóstico más certero.



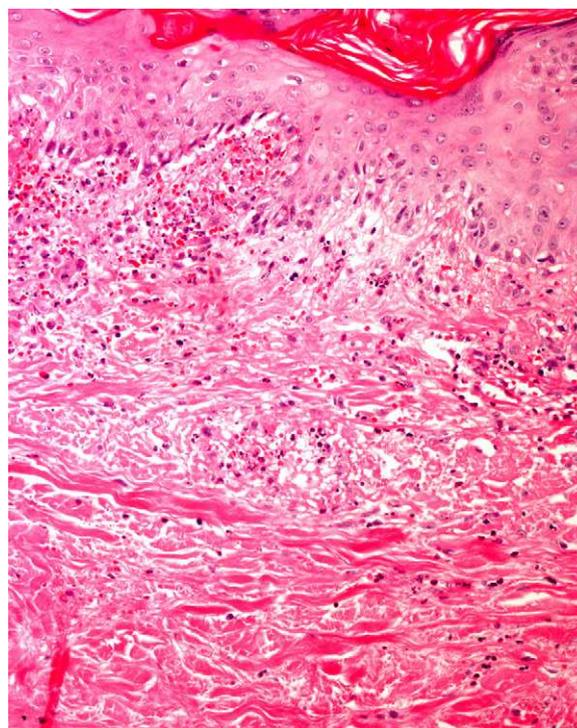
**Figura 6** Hematoxilina-eosina x2. Tricoepitelioma desmoplásico. Como se ve en la imagen la existencia de cordones de células epitelioides en la dermis reticular haría complicado descartar que se tratase de un epiteloma basocelular esclerosante en biopsias incisionales pequeñas.

### Realización de inmunofluorescencia. Biopsia de enfermedades de la piel vesiculoampollosas

En este grupo de dermatosis el estudio por inmunofluorescencia es especialmente útil. Incluye enfermedades como el penfigoide ampoloso, la epidermólisis ampollosa adquirida, el penfigoide gestacional/ herpes gestacional, el penfigoide cicatricial, la dermatitis herpetiforme, la familia de los pénfigos y otras dermatosis que pueden cursar con ampollas, como el lupus eritematoso o el liquen ruber plano. Para la correcta caracterización de estas enfermedades es útil la realización de estudios de IFD empleando autoanticuerpos frente a IgG, IgA, IgM, C3 y fibrina. Con ello se identifican proteínas localizadas en la unión dermoepidérmica o en la dermis papilar. Es un método útil para diferenciar, por ejemplo, un liquen plano erosivo de un lupus eritematoso o de un penfigoide mucoso, que pueden parecerse desde un punto de vista tanto clínico como histológico. El estudio de las vasculitis es útil en las sospechas de vasculitis de Schönlein-Henoch (fig. 7)<sup>14</sup>, debiendo realizar la técnica en lesiones de menos de 24 horas de evolución<sup>15</sup> y, como se ha descrito recientemente, en la vasculopatía livedoide, en la que se han descrito porcentajes elevados de depósitos de fibrina y C3 en los plexos vasculares superficial y profundo<sup>16</sup>.

En el caso de las enfermedades ampollosas es recomendable biopsiar lesiones tempranas para evitar que presenten cambios secundarios a reepitelización. Sería óptima la toma de una muestra menor de 5 mm de piel sana perilesional<sup>17</sup>. En el caso de biopsias tomadas de lesiones ampollosas de más de 24 horas de evolución, en el estudio histológico con hematoxilina-eosina el dermatopatólogo a menudo encuentra cambios reparativos<sup>18,19</sup>. No está tan clara la actitud a tomar en cuanto a los resultados de la inmunofluorescencia, ya que aunque se ha preconizado el procesamiento rápido de la muestra, algunos autores consideran que mantenerla en suero salino isotónico a temperatura ambiente durante 24-48 horas mejora los resultados, eliminando parcialmente la fluorescencia residual<sup>20</sup>. En caso de realizarse el estudio de inmunofluorescencia sobre una lesión ampollosa, los depósitos inmunes pueden estar distorsionados por la separación tisular o pueden haber sido degradados por la

respuesta inflamatoria, con lo que se obtendría un resultado falsamente negativo<sup>17</sup>. Así, como se puede deducir, los mejores resultados del estudio de inmunofluorescencia en enfermedades ampollosas se obtienen realizándolos sobre piel sana perilesional. Esto es igualmente válido en el caso de la dermatitis herpetiforme. En cambio, en el caso de lupus eritematoso se recomienda la realización de la biopsia en la zona eritematosa<sup>21</sup>. Respecto a las epidermólisis ampollosas, algunos autores han recomendado inducir la formación de una ampolla mediante frotamiento con la goma



**Figura 7** Vasculitis leucocitoclástica de pequeño vaso, así como necrosis incipiente de la epidermis. La IFD confirmó depósitos de IgA permitiendo realizar el diagnóstico de vasculitis de Schönlein-Henoch.

**Tabla 1** Biopsia de piel adecuada para la realización de inmunofluorescencia directa

Medidas adecuadas	Problemas / circunstancias a evitar
Procesamiento de la muestra en las primeras 24 horas	Retraso en el procesamiento de la muestra
Biopsias tomadas del borde de las lesiones	Desección de la muestra o envío de la misma fijada en formaldehído
Un tercio de la biopsia debe contener piel sana perilesional	Toma de la muestra en la región ulcerada o en el centro de una ampolla
Uso de medio de transporte adecuado: medio de Michel o suero salino fisiológico (sólo en circunstancias especiales gasa y hielo)	

de un lápiz justo antes de la biopsia en los casos severos, o instruyendo a los padres para realizar dicha técnica hasta conseguir eritema de la zona a biopsiar en casos menos severos<sup>22</sup>.

Es importante saber que el tejido utilizado para realizar la técnica de inmunofluorescencia directa (IFD) no debe ser fijado en formol, sino que debe ser enviado en una gasa empapada en suero salino fisiológico. Una alternativa es el uso de medio de Michel, que permite conservar la reactividad del tejido durante al menos 10 días<sup>15,23</sup> y posiblemente hasta 6-8 semanas<sup>22</sup>.

Además, en algunas enfermedades como el penfigoide ampolloso, el área corporal biopsiada influye en el resultado del estudio de inmunofluorescencia, que es con más frecuencia negativo cuando se realiza en lesiones localizadas en los miembros inferiores<sup>24</sup>.

Por último, comentar que los resultados obtenidos mediante inmunofluorescencia pueden complementarse con la realización de otros métodos de diagnóstico en enfermedades ampollasas, como son la inmunofluorescencia indirecta y el análisis de antígenos mediante ELISA o Western Blot<sup>25</sup>. En la **tabla 1** se observa un resumen de las medidas a tener en cuenta para la correcta realización de la técnica de IFD.

### Biopsia para el diagnóstico de problemas capilares

Para el estudio de las dermatosis que producen alopecia es imprescindible una correcta historia clínica, un examen físico completo, una cuantificación de la pérdida de cabello, una prueba de tracción y el reconocimiento de las aperturas foliculares<sup>26</sup>. A continuación se explicarán algunas de las más utilizadas.

En la exploración física deben buscarse signos de inflamación, descamación, eritema y cicatrices en el cuero cabelludo. Así mismo debe prestarse atención a la presencia de aperturas foliculares<sup>27</sup>. Puede realizarse también una prueba de tracción, la prueba del pellizco (cuando

hay alopecia cicatricial el cuero cabelludo se puede pellizcar con facilidad), dermatoscopia del cuero cabelludo y un tricograma<sup>28</sup>.

En cuanto al uso del microscopio para el estudio de estas dermatosis, aparte de la toma de biopsia para su estudio, que comentaremos a continuación, puede realizarse microscopía óptica del tallo piloso sobre los tallos pilosos desprendidos tras tracción suave (se fijan a un portaobjetos, se hidratan 10 minutos y se analiza la morfología del pelo y la fase del ciclo en que se encuentra).

Las principales indicaciones de la biopsia de cuero cabelludo son la sospecha de alopecia cicatricial/permanente, la presencia de tumores en el cuero cabelludo, las enfermedades inflamatorias de cuero cabelludo de etiología no clara y los casos en los que se requiera conocer el potencial de crecimiento de los folículos presentes.

En el estudio de la alopecia no hay pruebas de laboratorio estándar, sino que debe individualizarse en función de la orientación clínica<sup>29,30</sup>.

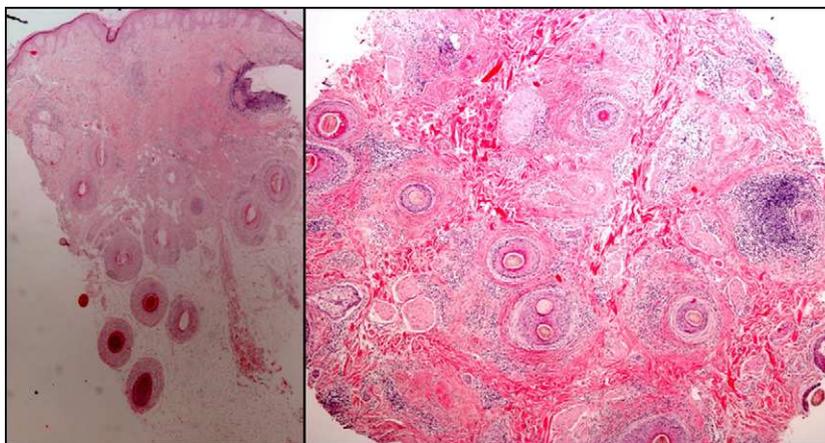
Conviene rasurar la zona a biopsiar previamente y emplear vaselina o cinta aislante para fijar los cabellos. La biopsia debe realizarse siguiendo la dirección de implantación del cabello, y no de manera perpendicular a la superficie cutánea, para evitar seccionar de forma artificial los folículos. Existen en el mercado unos sacabocados, denominados sacabocados tipo Orentreich, que aunque han sido utilizados principalmente para la realización de trasplante capilar, son especialmente adecuados para biopsiar esta zona por permitir la realización de biopsias más profundas para un mismo diámetro<sup>31</sup>. Es frecuente un sangrado importante debido a la rica vascularización del cuero cabelludo. Para conseguir una hemostasia óptima resulta útil la infusión de anestésicos locales con adrenalina. Algunos autores consideran que una biopsia de 4 mm es suficiente<sup>30,32</sup>. En nuestra experiencia las biopsias de dicho tamaño muchas veces no contienen suficiente tejido subcutáneo y no permiten estudiar más que algún folículo aislado, dificultando un diagnóstico concreto. Como la mayoría de dermatopatólogos evalúan cortes longitudinales y transversales, que ayudan a depurar el diagnóstico, se pueden realizar dos biopsias tipo punch de 3-4 mm o una de 6 mm y dividirla (**fig. 8**).

En el caso de dermatosis de cuero cabelludo que cursen con brotes de lesiones pustulosas, también es útil realizar además un estudio microbiológico para excluir infecciones bacterianas y fúngicas (**fig. 9**).

Ante una sospecha de alopecia cicatricial se enviará otra muestra para la realización de técnicas de inmunofluorescencia.

En alopecias cicatriciales (principalmente lupus eritematoso cutáneo y líquen plano pilaris) la biopsia debe realizarse en un margen activo, procurando elegir el borde de la lesión o áreas con presencia de eritema, evitando áreas ya cicatriciales (idealmente no más de un tercio de la superficie biopsiada debe corresponder a zona cicatricial). Es útil en nuestra opinión la realización de cortes seriados de la pieza, así como tinción de fibras elásticas, azul alcian, PAS, e incluso, en algunos casos, de Ziehl-Neelsen<sup>33</sup>.

El dermatopatólogo debe reconocer un mínimo de signos histológicos: densidad y estructura capilar (se deben observar unos 30 folículos terminales en las secciones transversales en un punch de 4 mm<sup>31</sup>), afectación anexial, cambios epiteliales, patrón, grado y localización de fibrosis, alteraciones



**Figura 8** Hematoxilina-eosina x4. A. Corte trasversal. B. Corte longitudinal. Biopsias punch de cuero cabelludo en paciente con liquen plano pilaris.

de la interfase dermoepidérmica y, por último, distribución y célula predominante en el infiltrado (fig. 10).

### Biopsia del aparato ungueal

La biopsia ungueal está especialmente indicada en caso de alteraciones ungueales de difícil diagnóstico con el empleo de la clínica, la radiología u otras técnicas de laboratorio.

Desgraciadamente es una de las áreas del tegumento en que es más frecuente la realización de un diagnóstico erróneo, pese a suponer hasta el 10% de los motivos de consulta<sup>34</sup>.

Su principal indicación es el diagnóstico de neoplasias, tanto benignas como malignas, y especialmente del

melanoma, que en esta área se puede presentar clínicamente como una melanoniquia longitudinal. También es útil en enfermedades de la piel inflamatorias que pueden afectar exclusivamente al aparato ungueal (liquen plano, psoriasis vulgar), para el diagnóstico de infecciones (principalmente onicomicosis y muy raramente parásitos) en las que el agente no se identifica mediante métodos microbiológicos y como método diagnóstico-terapéutico en casos de cambios ungueales dolorosos<sup>35,36</sup>.

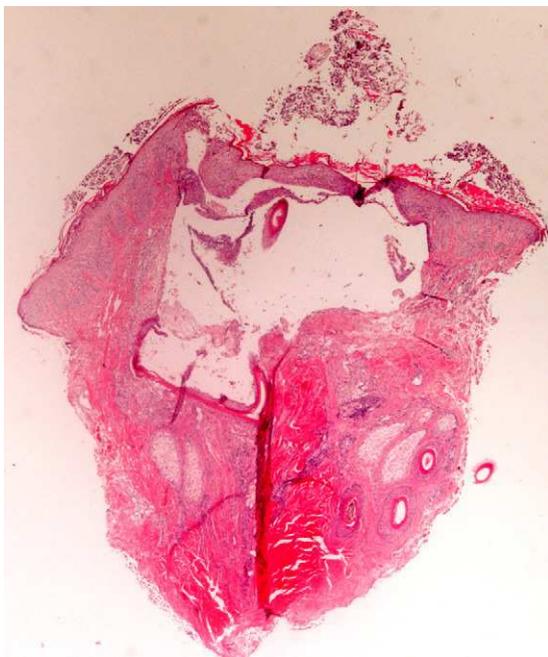
La orientación de la biopsia de la matriz ungueal debe ser paralela al eje longitudinal de la uña. La extracción ungueal se realiza con mucha frecuencia y supone un traumatismo de la matriz ungueal, así como del lecho ungueal. Por ello sus indicaciones deben ser seleccionadas<sup>37</sup> y debe ser realizada en condiciones estériles, con anestesia local, preferiblemente locorregional, y tras la realización de técnicas que mejoren la hemostasia. Son muy útiles los bloqueos digitales, periungueales o la combinación de ambos, así como la realización previa de un torniquete digital para conseguir una isquemia adecuada y facilitar la visualización del campo quirúrgico<sup>34</sup>. La realización de un baño del dedo en agua jabonosa durante 10 minutos puede facilitar la biopsia al ablandar la placa ungueal<sup>37</sup>.

Al igual que con las biopsias de cuero cabelludo, es frecuente encontrar artefactos debidos a pinzamiento. Para evitarlos, en la extracción de la pieza se pueden emplear instrumentos sofisticados<sup>38</sup>: gancho de Joseph delicado, gancho de Gillies, o una sencilla aguja de jeringa doblada como gancho quirúrgico<sup>39</sup>.

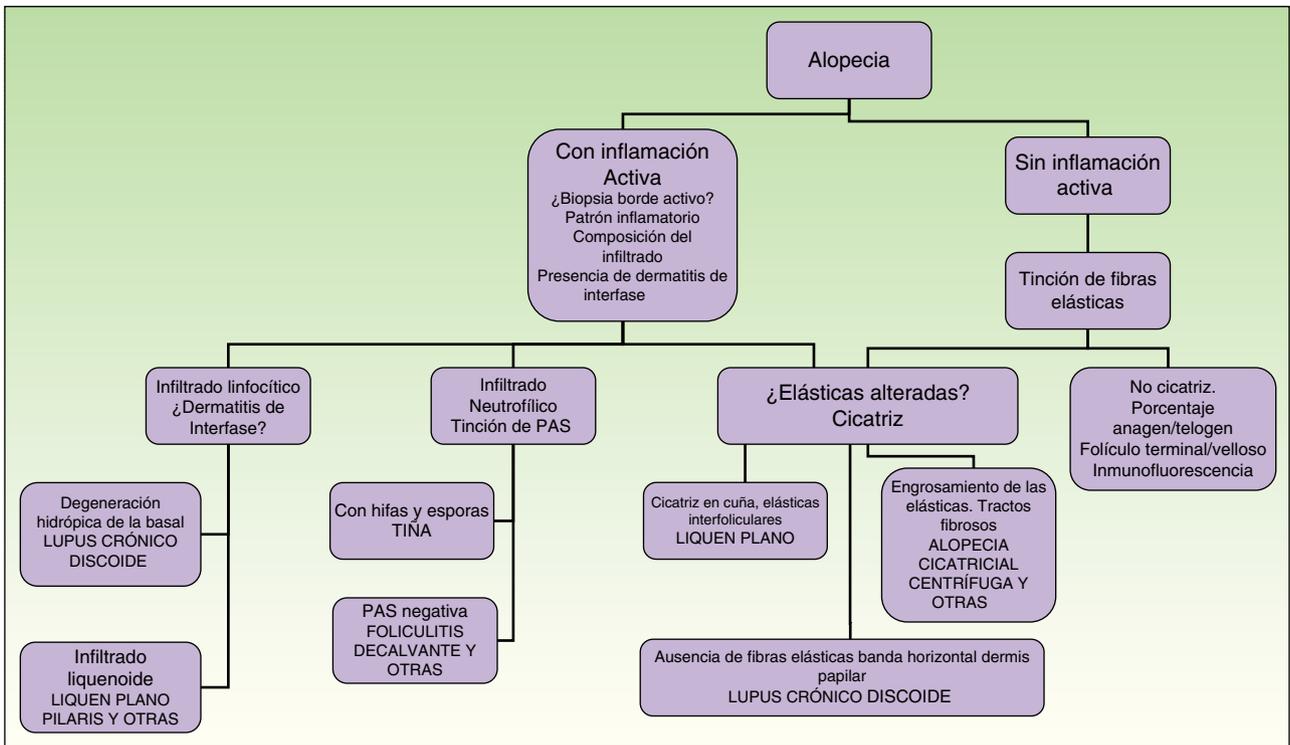
Para conseguir un resultado óptimo es útil el conocimiento de la compleja anatomía y fisiología del aparato ungueal y, para evitar distrofia ungueal posquirúrgica, las biopsias del área de la matriz deberían ser realizadas por personal entrenado.

Determinados cambios en la morfología ungueal (hiperqueratosis, discromía, onicólisis, pits ungueales, dedos en palillo de tambor, etc.) pueden ser clasificados en función de la región ungueal afectada.

Se pueden realizar biopsias de la lámina ungueal, del lecho ungueal o de la matriz, en función de la sospecha clínica (tabla 2). La biopsia del lecho ungueal se realiza tras la avulsión de la lámina ungueal, con una biopsia elíptica de no más de 3 mm de anchura o mediante la técnica del doble



**Figura 9** Hematoxilina-eosina x2. Biopsia muy artefactada en que se observa foliculitis, zona central vacía (artefacto de pinzamiento) y zona inferior esclerosada (artefacto de compresión).



**Figura 10** Algoritmo de orientación de las alopecias mediante su estudio histopatológico. Modificada de Harries MJ et al<sup>27</sup> y Hermes B et al<sup>29</sup>.

punch. En cuanto a la de matriz requiere escindir un colgajo del pliegue ungueal proximal para poder visualizar la matriz y biopsiarla, tratando siempre de evitar su zona proximal para minimizar el riesgo de distrofia ungueal<sup>34</sup>. La piel periungueal se puede biopsiar como el resto del tegumento o mediante una biopsia longitudinal lateral.

Sería interesante disponer de un registro de melanomas subungueales, que tienen su origen en la matriz ungueal. Se ha considerado que el retraso diagnóstico en el diagnóstico de los melanomas en esta localización conlleva un mal pronóstico con frecuencia. El melanoma subungueal se localiza

principalmente en el primer dedo del pie y suele presentarse clínicamente como melanoniquia, y más raramente como una masa exofítica no pigmentada, una distrofia ungueal o una ulceración. En dichas situaciones la biopsia de la matriz ungueal es esencial para la realización del diagnóstico y para la decisión del abordaje terapéutico posterior en función del espesor del tumor<sup>40</sup>.

Conviene recordar que la biopsia ungueal es el método diagnóstico de onicomycosis más sensible, permitiendo demostrar las hifas incluso en casos en los que el cultivo ha sido repetidamente negativo<sup>41</sup>.

**Tabla 2** Biopsia ungueal

Localicación	Indicaciones	Procedimiento
Del lecho ungueal	Tumores, onicólisis de etiología incierta, hiperqueratosis sin antecedentes claros de psoriasis vulgar u onicomycosis, pigmentaciones de etiología incierta, lecho ungueal doloroso (tumor glómico, metástasis, granuloma piogénico, tumor osteocartilaginoso, verruga vulgar, absceso subungueal)	Biopsia de 2 a 3 milímetros. Con o sin retirada previa de lámina ungueal. En forma de huso preferiblemente. Incisional o excisional
De piel periungueal	Paroniquia persistente, tumores, masas de etiología incierta en inflamación periungueal, quiste mixoide digital, otras dermatosis	Biopsia excisional. Excisión en bloque preferible en quistes o en lesiones tumorales. Aplanamiento en lesiones muy superficiales
De matriz ungueal	Neoplasia, melanoniquia longitudinal de etiología incierta, distrofia ungueal	Biopsias en ojal excisionales o incisionales
De lámina ungueal	Depósito de pigmento, onicomycosis, distrofias metabólicohereditarias	Biopsia en sacabocados o corte de la porción distal

Modificada de<sup>34,35</sup>.

**Tabla 3** Biopsia de piel como ayuda diagnóstica de enfermedades neurológicas

Enfermedad	Hallazgo
<i>Enfermedad de Lafora</i> CADASIL	Cuerpos de Lafora en glándulas apocrinas <sup>55</sup> Cuerpos densos granulados al microscopio electrónico. Material osmiofílico en músculo liso vascular <sup>43</sup>
<i>Enfermedad de depósito de glucosaminoglucanos</i> <i>Enfermedad de Unverricht-Lundborg</i>	Depósitos de material en diversa localización según enfermedad Presencia de vacuolas de contenido claro en las glándulas ecrinas <sup>56</sup>
<i>Neuropatía periférica</i>  Neuropatía diabética <sup>57</sup> Neuropatía sensorial Neuropatía idiopática sensorial	Recuento del número de fibras nerviosas marcadas mediante inmunohistoquímica <sup>45</sup>
<i>Rabia</i>	Mediante uso de un anticuerpo específico o mediante R-PCR <sup>49</sup>

### Biopsia cutánea en el estudio de enfermedades neurológicas

En 1969 Decloux y Friederici comunicaron 6 pacientes con mucopolisacaridosis en los que los cambios histopatológicos encontrados en la biopsia cutánea y en el tejido nervioso eran comparables<sup>42</sup>. Pese al tiempo transcurrido desde entonces, la realización de biopsias cutáneas para el estudio de enfermedades neurológicas se realiza en raras ocasiones, y entre ellas se distinguen varios tipos en función de la distribución de productos derivados de un metabolismo patológico y de la localización intracelular o extracelular.

En la mayoría de los casos se trata de enfermedades metabólicas que afectan el sistema nervioso y que producen alteraciones bioquímicas y genéticas que pueden ser identificadas prenatalmente. En ellas la microscopía electrónica permite, por ejemplo, demostrar ultraestructuralmente la presencia de depósitos lisosomales.

Las siguientes enfermedades neurológicas se pueden diagnosticar mediante biopsia cutánea (tabla 3).

La enfermedad de Lafora o lipofuscinosis es responsable de una epilepsia con mioclonías que se asocia con un síndrome cerebeloso y demencia progresiva. En ella se encuentran depósitos patológicos homogéneos, los llamados cuerpos de inclusión de Lafora de localización paranuclear. Dichos cuerpos de inclusión se corresponden a gránulos de glucógeno y se acumulan de manera especial en las glándulas apocrinas de la piel. Por ello, es especialmente rentable la toma de la muestra de la región axilar, zona rica en glándulas apocrinas.

En el CADASIL (del inglés: *Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy*) se encuentran con microscopía electrónica gránulos de material osmiofílico en estrecho contacto con músculo liso vascular de pequeñas arteriolas. Dichos depósitos están presentes tanto en el cerebro como en los nervios y en la dermis<sup>43</sup>.

En algunas neuropatías del sistema nervioso periférico, con afectación de las fibras nerviosas sensitivas de pequeño calibre en la biopsia de la piel, también se encuentran hallazgos que ayudan al diagnóstico<sup>44</sup>. De hecho, en enero de 2010 se estableció una Guía de consenso que considera recomendable la realización de biopsia cutánea en la región

distal de los miembros inferiores con una cuantificación de la densidad de fibras nerviosas que debe ponerse en relación con los valores estandarizados por edad<sup>45</sup>. La mayoría de artículos publicados sobre el tema consideran que una neuropatía de pequeñas fibras puede ser diagnosticada en pacientes con signos y síntomas sensitivos, pero con estudio de conducción del nervio sural normal.

Centrándonos en la técnica de la biopsia sería suficiente con realizar una biopsia en sacabocados de 3-4 mm de diámetro y 6-8 mm de profundidad que incluye glándulas ecrinas y folículos pilosos<sup>45</sup>. La zona cutánea a biopsiar es la región distal de la pierna, unos 10 centímetros por encima del maléolo o, en algunos casos, la zona laterosuperior del muslo (20 centímetros bajo la espina ilíaca anterior)<sup>45</sup>. Para procesar la muestra esta debe congelarse en el momento, mantenerse 24 horas a 4 °C y posteriormente incubarse con anticuerpo de conejo policlonal anti-PGP 9.5 en una solución de paraformaldehído-lisina-peryodato al 2%<sup>45</sup>. Posteriormente se cortará con un criostato para su estudio mediante microscopía de fluorescencia o confocal (según técnicas).

Dada la variabilidad encontrada en el recuento de fibras nerviosas de piel normal entre diferentes laboratorios, se requiere adaptación de las tablas estandarizadas en cada centro, así como un correcto entrenamiento del personal que interprete las muestras. No es una técnica estándar, y sólo es realizada en un pequeño número de centros de referencia mundiales.

En cuanto a la cuantificación de fibras nerviosas autonómicas se han propuesto varios métodos de visualización, y aunque no hay una metodología estándar algunos autores han comprobado correlación entre escalas de neuropatía y densidad de nervios pilomotores, si bien las densidades de estas últimas no se correlacionan con las de fibras nerviosas sensitivas de pequeño tamaño comentadas previamente<sup>46</sup>.

Además de los diversos métodos de visualización de los nervios periféricos a nivel cutáneo, el desarrollo de las técnicas destinadas a la extracción de proteínas a partir de una biopsia cutánea han ampliado el campo de investigación en neuropatías periféricas, permitiendo estudiar citocinas involucradas en la patogénesis del dolor neuropático que son difícilmente visualizables mediante técnicas inmunohistoquímicas<sup>47</sup>.

La expresión de distrofina en la musculatura lisa de la piel, es decir, en los músculos erectores del pelo, también puede ser útil en el diagnóstico de la distrofia muscular de Duchenne y en la variante de Becker. En estas enfermedades neuromusculares, mediante IHQ, se demuestra una disminución o ausencia de expresión de distrofina en la musculatura erectora del pelo, aun antes de la aparición de sintomatología clínica<sup>48</sup>.

La rabia, enfermedad causada por un *Lyssavirus*, también puede ser detectada *ante mortem* mediante técnicas de inmunofluorescencia usando un anticuerpo específico o mediante R-PCR en biopsias cutáneas<sup>49</sup>. A medida que avanza la infección el virus prolifera en los axones de los nervios craneales, y por tanto en los nervios cutáneos de la región facial y del cuero cabelludo. Como hay un mayor número de fibras nerviosas en las zonas perifoliculares, suele ser preferible realizar una biopsia de al menos 3 mm de diámetro de la región occipital<sup>50</sup>.

Hasta ahora los autores de este artículo no tienen una experiencia propia en esta área que puedan compartir, ya que estas técnicas sólo se realizan en centros de referencia.

### La biopsia cutánea y el diagnóstico prenatal

Se pueden examinar mediante IHQ y microscopía electrónica biopsias cutáneas realizadas en el segundo trimestre del embarazo y guiadas ecográficamente<sup>51-53</sup>.

Las genodermatosis más frecuentemente diagnosticables prenatalmente son la epidermolisis ampollosa congénita, el albinismo oculocutáneo y algunas ictiosis.

El estudio histopatológico convencional resulta especialmente útil en casos en los que las alteraciones que produce la enfermedad son conocidas, pero no se conoce el gen o la mutación causante<sup>51</sup>. No obstante tiene riesgos, entre ellos entre el 1-3% de pérdidas fetales, escapes de líquido amniótico o cicatrices fetales<sup>51</sup>. Con ellas se pueden también estudiar defectos enzimáticos o mutaciones en los genes de las queratinas<sup>52</sup>. La biopsia de corion y la amniocentesis, que permiten estudiar ADN fetal, constituyen otro modo de abordaje<sup>52</sup>.

También es posible realizar un diagnóstico preimplantacional del embrión cuando se realizan técnicas de fertilización *in vitro*<sup>53</sup>. En este caso se estudia del ADN de los blastos de un embrión de hasta 6 células y se escoge para la implantación en el útero un embrión libre de la enfermedad.

Por último, se puede realizar un estudio cariotípico de queratinocitos aislados a partir de la biopsia cutánea, técnica útil en dermatosis como la hipomelanosis de Ito, la hipermelanosis lineal y en remolinos o en el síndrome de McCune Albright, en el que el estudio cariotípico de linfocitos no tiene por qué presentar alteraciones<sup>51,54</sup>.

Un paso más sería el diagnóstico de determinadas patologías fetales en hematíes nucleados procedentes del feto y presentes en pequeñas cantidades en la sangre materna, que constituiría un procedimiento mucho menos invasivo<sup>53</sup>.

Con la caracterización reciente de los defectos genéticos causales de gran parte de estas enfermedades se han disminuido el número de biopsias cutáneas fetales a favor de técnicas de estudio del ADN fetal, obtenidas mediante amniocentesis o punción de las vellosidades coriónicas<sup>51</sup>.

A pesar de los avances científicos este ámbito despierta importantes problemas sociopolíticos y éticos y, con la expansión de las posibles técnicas diagnósticas, requieren además de un equipo multidisciplinar (pediatra, genetista, ginecólogo, dermatólogo) y de una correcta comunicación con los padres.

Como dermatólogos debemos conocer que las principales indicaciones del diagnóstico prenatal son la presencia de estas enfermedades genéticamente determinadas en la familia o en anteriores hijos de la pareja. Un correcto estudio requiere de la toma de muestras de ambos progenitores y de los familiares afectos para caracterizar la mutación y descartar mutaciones *de novo*, disomías uniparentales o mosaicismos en las células germinales<sup>51</sup>.

### Conclusión: el informe dermatopatológico

Como hemos comentado en la introducción, la biopsia cutánea es un procedimiento tanto diagnóstico como terapéutico en enfermedades cutáneas y sistémicas. En las enfermedades inflamatorias es importante la elección de una lesión de poco tiempo de evolución para que la biopsia sea lo más rentable posible. El tejido se tiene que extraer correctamente y fijarse en un medio adecuado. Como las enfermedades inflamatorias de la piel presentan un número limitado de patrones de reacción morfológica, es recomendable por parte del dermatopatólogo la realización de una correcta descripción microscópica, así como un listado de los diagnósticos diferenciales más probables, de manera ordenada. A veces las diferencias o las imágenes histológicas de algunas dermatosis no son muy llamativas (alteraciones de la pigmentación, reacciones medicamentosas) e incluso unas dermatitis pueden imitar a otras (dermatosis ampollosas, dermatitis de contacto/ eccema numular/ eccema dishidrótico, reacciones ide, eccemas). Así, el uso del término «compatible con» resulta de utilidad en caso de hallazgos histopatológicos no completamente específicos, pero que pueden encontrarse en biopsias de la dermatosis sospechosa. Por otra parte, el término «sugestivo de» indica una mayor especificidad de los hallazgos dermatopatológicos. Por tanto, por parte del clínico, cuanto más precisa sea la descripción de la configuración de las lesiones, su cronología y periodicidad, sintomatología acompañante, factores precipitantes y fármacos implicados, más preciso será el diagnóstico histopatológico del dermatopatólogo. Por ello, para aumentar la precisión diagnóstica, se requiere de una estrecha colaboración entre clínicos y dermatopatólogos.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### Bibliografía

1. Mehregan AH, Alberta E, Pinkus H. Artifacts in dermal histopathology. *Arch Dermatol*. 1966;94:218-25.
2. Hoss DM, Gross EG, Grant-Kels JM. Histopathology of an adverse reaction to a eutectic mixture of the local anesthetics lidocaine and prilocaine. *J Cutan Pathol*. 1999;26:100-4.

3. Yeh IT. *Atlas of microscopic artifacts and foreign materials*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1997.
4. Desciak EB, Maloney ME. Artifacts in frozen section preparation. *Dermatol Surg*. 2000;26:500-4.
5. Weyers W, Diaz C, Weyers I, Borghi S. The skin biopsy. *Hautarzt*. 1999;50:145-58.
6. Rapini RP. Specimen preparatio. En: Farmer ER, Hood AF, editores. *Pathology of the skin*. New York, St.Louis, London, Madrid, Sydney, Tokyo, Toronto: McGraw-Hill; 2000. p. 17-34.
7. Del Rosario RN, Barr RJ, Graham BS, Kaneshiro S. Exogenous and endogenous cutaneous anomalies and curiosities. *Am J Dermatopathol*. 2005;27:259-67.
8. Weyers W. Dermatología einmal anders. Die Biopsie des Melanoms. *Pink and Blue*. 2001;2:11-4.
9. Argenziano G, Fabbrocini G, Carli P, De Giorgi V, Delfino M. Clinical and dermoscopic criteria for the preoperative evaluation of cutaneous melanoma thickness. *J Am Acad Dermatol*. 1999;40:61-8.
10. Guitera P, Pellacani G, Crotty KA, Scolyer RA, Li LX, 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;130:2080-91.
11. Rigel DS, Russak J, Friedman R. The evolution of melanoma diagnosis: 25 years beyond the ABCDs. *CA Cancer J Clin*. 2010;60:301-16.
12. Witheiler DD, Cockerell CJ. Sensitivity of diagnosis of malignant melanoma: a clinicopathologic study with a critical assessment of biopsy techniques. *Exp Dermatol*. 1992;1:170-5.
13. Ackerman AB. Shave biopsies: the good and right, the bad and wrong. *Am J Dermatopathol*. 1983;5:211-2.
14. Lawley TJ, Kubota Y. Vasculitis. *Dermatol Clin*. 1990;8:681-7.
15. Elder D. *Lever's Histopathology of the Skin*. Philadelphia: Raven; 1997.
16. Hsiao PF, Wu YH. Distinct pattern of direct immunofluorescence in livedoid vasculopathy. *Am J Dermatopathol*. 2010;32:240-3.
17. Campos Domínguez M, Suárez Fernández R, Lázaro Ochoita P. Diagnostic methods in autoimmune subepidermal bullous diseases. *Actas Dermosifiliogr*. 2006;97:485-502.
18. Scott JE, Ahmed AR. The blistering diseases. *Med Clin North Am*. 1998;82:1239-83.
19. Morrison LH. When to request immunofluorescence: practical hints. *Semin Cutan Med Surg*. 1999;18:36-42.
20. Vodegel RM, de Jong MC, Meijer HJ, Weytingh MB, Pas HH, Jonkman MF. Enhanced diagnostic immunofluorescence using biopsies transported in saline. *BMC Dermatol*. 2004;4:10.
21. Mutasim DF, Adams BB. Immunofluorescence in dermatology. *J Am Acad Dermatol*. 2001;45:803-22; quiz 822-4. Review.
22. Intong LR, Murrell DF. How to take skin biopsies for epidermolysis bullosa. *Dermatol Clin*. 2010;28:197-200, vii. Review.
23. Piqué-Durán E, Palacios-Llopis S, de la Rosa-del Rey P, Recio-Anon C. Michel's transport medium for immunofluorescence. *Actas Dermosifiliogr*. 2007;98:376.
24. Weigand DA. Effect of anatomic region on immunofluorescence diagnosis of bullous pemphigoid. *J Am Acad Dermatol*. 1985;12:274-8.
25. Schmidt E, Zillikens D. Modern diagnosis of autoimmune blistering skin diseases. *Autoimmun Rev*. 2010;10:84-9.
26. Hillmann K, Blume-Peytavi U. Diagnosis of hair disorders. *Semin Cutan Med Surg*. 2009;28:33-8.
27. Harries MJ, Trueb RM, Tosti A, Messenger AG, Chaudhry I, Whiting DA, et al. How not to get scar(r)ed: pointers to the correct diagnosis in patients with suspected primary cicatricial alopecia. *Br J Dermatol*. 2009;160:482-501.
28. Llamas-Velasco M. Protocolo de alopecia. *Medicine*. 2010;48:2340-4.
29. Hermes B, Paus R. Scar forming alopecia. Comments on classification, differential diagnosis and pathobiology. *Hautarzt*. 1998;49:462-72.
30. Sperling L. Evaluation of hair loss. *Curr Probl Dermatol*. 1996;8:99-136.
31. Olsen EA. *Diagnosis and treatment. Disorders of hair growth*. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 67-8.
32. Trueb RM. Hair diseases: diagnosis and therapy. *Praxis (Bern 1994)*. 1997;86:977-8.
33. Bon AM, Gilardi S, Itin PH, Trüeb RM, De Viragh P, Wyss M. Check-listen zur Diagnostik und Therapie von Haarkrankheiten. *Dermatologica Helvetica*. 1999;6:11-31.
34. Barrera-Vigo MV, Tejera-Vaquero A, Mendiola-Fernández M, Cid J, Cabra-de Luna B, Herrera-Ceballos E. Diagnostic utility of nail biopsy: a study of 15 cases. *Actas Dermosifiliogr*. 2008;99:621-7.
35. Rich P. Nail biopsy. Indications and methods. *J Dermatol Surg Oncol*. 1992;18:673-82.
36. Guidelines of care for nail disorders. American Academy of Dermatology. *J Am Acad Dermatol*. 1996;34:529-33.
37. Haneke E. Excision and biopsy procedures. *Z Hautkr*. 1988;63 Suppl 2:17-9.
38. Krathen RA, Orenge IF. How I do it. In a pinch. *Dermatol Surg*. 2004;30:1599.
39. King DF, King LA. The 30-gauge needle: a versatile surgical instrument. *J Am Acad Dermatol*. 1986;14:280.
40. Banfield CC, Dawber RP. Nail melanoma: a review of the literature with recommendations to improve patient management. *Br J Dermatol*. 1999;141:628-32.
41. Grover C, Nanda S, Reddy BS, Chaturvedi KU. Nail biopsy: assessment of indications and outcome. *Dermatol Surg*. 2005;31:190-4.
42. DeCloux RJ, Friederici HH. Ultrastructural studies of the skin in Hurler's syndrome. *Arch Pathol*. 1969;88:350-8.
43. Ebke M, Dichgans M, Bergmann M, Voelter HU, Rieger P, Gasser T, et al. CADASIL: skin biopsy allows diagnosis in early stages. *Acta Neurol Scand*. 1997;95:351-7.
44. Corcia P, Martin L. Skin biopsy: a valuable aid for the diagnosis of rare neurologic disorders. *Ann Dermatol Venereol*. 1999;126:723-4.
45. Lauria G, Hsieh ST, Johansson O, Kennedy WR, Leger JM, Mellgren SI, et al., European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on the use of skin biopsy in the diagnosis of small fiber neuropathy. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society. *Eur J Neurol*. 2010;17:903-12, e44-49.
46. Nolano M, Provitera V, Caporaso G, Stancanelli A, Vitale DF, Santoro L. Quantification of pilomotor nerves: a new tool to evaluate autonomic involvement in diabetes. *Neurology*. 2010;75:1089-97.
47. Lauria G, Lombardi R, Camozzi F, Devigili G. Skin biopsy for the diagnosis of peripheral neuropathy. *Histopathology*. 2009;54:273-85.
48. Niiyama T, Higuchi I, Sakoda S, Matsumura T, Fukunaga H, Osame M. Diagnosis of dystrophinopathy by skin biopsy. *Muscle Nerve*. 2002;25:398-401.
49. Vázquez-Moron S, Avellón A, Echevarria JE. RT-PCR for detection of all seven genotypes of Lyssavirus genus. *J Virol Methods*. 2006;135:281-7.
50. Pérez AL, Werchniak AE. Antemortem diagnosis of rabies via nuchal skin biopsy. *Arch Dermatol*. 2007;143:663.
51. Luu M, Cantatore-Francis JL, Glick SA. Prenatal diagnosis of genodermatoses: current scope and future capabilities. *Int J Dermatol*. 2010;49:353-61.
52. Rugg EL, Baty D, Shemanko CS, Magee G, Polak S, Bergman R, et al. DNA based prenatal testing for the skin blistering

- disorder epidermolysis bullosa simplex. *Prenat Diagn.* 2000;20:371-7.
53. Shimizu H, Suzumori K. Prenatal diagnosis as a test for genodermatoses: its past, present and future. *J Dermatol Sci.* 1999;19:1-8.
54. Llamas-Velasco M, Eguren C, Arranz E, Renedo M, de Argila D, García-Díez A. Linear and whorled nevoid hypermelanosis and Axenfeld-Rieger anomaly: a novel association. *Acta Derm Venereol.* 2010;90:317-8.
55. White JW, Gomez MR. Diagnosis of Lafora disease by skin biopsy. *J Cutan Pathol.* 1988;15:171-5.
56. Cochius J, Carpenter S, Andermann E, Rouleau G, Nousiainen U, Kalviainen R, et al. Sweat gland vacuoles in Unverricht-Lundborg disease: a clue to diagnosis? *Neurology.* 1994;44:2372-5.
57. Polydefkis M, Hauer P, Griffin JW, McArthur JC. Skin biopsy as a tool to assess distal small fiber innervation in diabetic neuropathy. *Diabetes Technol Ther.* 2001;3:23-8.