

# Criocirugía

María Soledad Aluma Tenorio

Luz Marina Gómez Vargas

## RESUMEN

**L**A CRIOCIRUGÍA es una técnica quirúrgica que tiene como principio básico el congelamiento para destruir tejido no deseado, y que se considera una opción en cirugía por ser mínimamente invasiva, fácil y rápida de realizar. Se hace una revisión que presenta varios tópicos sobre el tema, incluyendo mecanismos bioquímicos y biofísicos utilizados en la crioterapia, técnicas de monitoreo, técnicas básicas, usos clínicos y complicaciones.

**Palabras clave:** criocirugía, criobiología, tratamiento.

## CRIOCIRUGÍA

En dermatología, la criocirugía se define como la aplicación de frío sobre la piel para producir una destrucción local del tejido de forma eficaz y controlada.<sup>1</sup> Los términos criocirugía y crioterapia son sinónimos; sin embargo, el término más apropiado es el de criocirugía, puesto que la crioterapia se usa para disminuir una inflamación, aliviar un dolor o disminuir una hemorragia, y no para destruir tejidos.

La historia de este método terapéutico se remonta a Egipto, 2500 años a.C. Posteriormente, Hipócrates (470-370 a.C.) la usó para disminuir el dolor. El barón Dominique Jean Lorrey, en la época de Napoleón, logró atenuar con hielo las hemorragias producidas por las amputaciones. Arnot, un médico inglés, utilizó la crioterapia para manejar la

neuralgia y para el tratamiento paliativo de algunos tipos de cáncer.<sup>2</sup> Sin embargo, se considera que la cuna de la criocirugía es Nueva York. En 1899, White sumergió un aplicador en aire líquido para tratar verrugas, nevus, queratosis y neoplasias malignas en la piel. En 1948, Allington empezó a utilizar el nitrógeno líquido como criógeno. En 1969, Zaccarian desarrolló un termo con *spray* que servía como contenedor para el nitrógeno líquido, permitiendo así la evolución y comercialización de este método.<sup>3</sup> Desde 1988 se considera que la crioterapia es el segundo procedimiento más realizado en dermatología en los Estados Unidos.<sup>4</sup>

## CRIOBIOLOGÍA

La congelación puede producir lesión en las células por medio de dos mecanismos de acción que se interrelacionan; el primero es el efecto directo que genera el frío sobre la célula, y el segundo es la estasis vascular. A su vez, la congelación de la célula puede realizarse de forma rápida o lenta, lo que genera cambios fisiológicos diferentes.<sup>5</sup>

El efecto directo de la congelación rápida lleva a los siguientes cambios: al disminuir la temperatura del tejido se produce un enlentecimiento de los procesos químicos y físicos en la célula. Cuando la temperatura llega al rango entre  $-10^{\circ}\text{C}$  y  $-15^{\circ}\text{C}$  se empieza a formar hielo extracelular, lo que se conoce como superenfriamiento. En este período la membrana celular intacta impide que los cristales de hielo entren al interior de la célula. A medida que la temperatura continúa bajando a más de  $-15^{\circ}\text{C}$ , se reduce el solvente intracelular, lo que aumenta la concentración de solutos y disminuye el punto de congelamiento. Con pérdidas mayores de temperatura se forma más hielo extracelular, y empieza a formarse hielo intracelular por la solidificación de los solventes y los solutos; esto se conoce como punto eutéctico.<sup>5</sup>

Desde el punto de vista molecular, la congelación rápida produce alteración de la membrana celular por el efecto mecánico de la formación de cristales, cambios en el pH por la concentración anormal de electrolitos intra y extracelulares, daño de la estructura y función de las organelas,

María Soledad Aluma Tenorio, RII Dermatología, Universidad Pontificia Bolivariana Medellín, Colombia.

Luz Marina Gómez Vargas, Dermatóloga-Asesora Universidad Pontificia Bolivariana, Departamento de Dermatología, Medellín.

Correspondencia: María Soledad Aluma Tenorio, Carrera 77 No. 35-54, teléfono: 411 0453 Medellín. E-mail: msalumat@yahoo.com

principalmente lipoproteínas, enzimas, mitocondrias y retículo endoplásmico rugoso, con inhibición de la síntesis de DNA. Todo esto lleva finalmente al shock térmico con muerte de la célula.<sup>7</sup>

A diferencia de lo anterior, cuando se realiza la congelación de forma lenta se produce hielo extracelular, que aumenta a medida que la temperatura disminuye paulatinamente. Esto hace que se reduzca el solvente por fuera de la célula y que se incremente la concentración de solutos. Se crea, entonces, una fuerza osmótica que arrastra el agua que hay en el interior de la célula y produce deshidratación. Aunque no se forma hielo intracelular en el congelamiento lento, ni se lesiona la membrana celular, los cambios osmóticos pueden ser lo suficientemente significativos como para generar efectos deletéreos. Por lo anterior, se concluye que el congelamiento rápido produce daños más graves a la célula.<sup>2,5</sup>

Luego del período de congelación viene una etapa de descongelación. En esta fase pasan solutos al plano intracelular, buscando lograr un equilibrio osmótico. Con ellos se arrastra el agua del exterior, con producción de edema y finalmente la ruptura de la célula. Esto se conoce como efecto de solución. El otro fenómeno que se presenta cuando la descongelación se hace de forma lenta es el de recristalización. Al descongelarse los cristales, resultan formas pequeñas que hacen agregación, y forman grandes estructuras que pueden lesionar la célula de forma mecánica. Este evento se observa cuando el tiempo de descongelación duplica al de congelación. Es claro, entonces, que el descongelamiento lento produce daños más graves, y que el tiempo de congelación debe ser dos veces el tiempo de descongelación.<sup>2,5,6</sup>

El otro mecanismo de acción por el cual la crioterapia lesiona la célula es el de estasis vascular. El frío produce daño directo en el endotelio; esto hace que se aumente la permeabilidad vascular, lo que genera edema en el espacio intersticial. Como consecuencia, se reduce la presión hidrostática y se disminuye la velocidad del fluido intravascu-

lar, lo que facilita la agregación plaquetaria y la formación de microtrombos. Al ocluirse los vasos se produce entonces reducción del aporte de oxígeno a los tejidos, con posterior isquemia y necrosis. Los cambios fisiológicos de este período incluyen una vasoconstricción inmediata en el momento de la congelación, una vasodilatación refleja que inicia en el período de descongelación, y que puede durar entre 20 y 30 minutos, y finalmente la formación de microtrombos, con oclusión completa, que persiste por 30 a 40 minutos. Por consiguiente, la estasis vascular se desarrolla en forma lenta y se completa a los 40 minutos. El fallo de la microcirculación asegura la destrucción celular.<sup>6</sup>

Cuando se repite el ciclo de congelación-descongelación se producen eventos físicos similares a los revisados previamente, con la diferencia que ya hay un condicionamiento y alteración del tejido que facilita los cambios térmicos, disminuyendo el calor y la vascularización, y aumentando la zona de congelamiento. En general, el intervalo entre ciclo y ciclo debe ser de tres a cuatro minutos. Se postula que la repetición del ciclo incrementa la letalidad del proceso.<sup>5</sup>

No todas las células responden de igual forma al frío. Los tejidos más susceptibles son los folículos pilosos y las glándulas sebáceas, seguidos por los queratinocitos y los melanocitos. Por esto en ocasiones se pueden obtener como complicaciones la alopecia y la hipopigmentación. En cambio, los fibroblastos y el perineuro son resistentes al frío, lo que contribuye a la cicatrización y a que los cambios sensoriales que puedan presentarse después de la crioterapia sean transitorios. Por el contrario, las células tumorales y algunos virus como el PVH requieren de temperaturas muy bajas para su destrucción, pues pueden sobrevivir en el nitrógeno.<sup>8</sup>(Cuadro 1).

Por esta razón, en general se permite un ciclo para la destrucción de lesiones benignas, exceptuando las verrugas, que pueden requerir tres ciclos. Para las lesiones malignas se recomienda de 2 a 3 ciclos.<sup>9</sup> Sin embargo, para Kuflik y Gage todas las lesiones tumorales, benignas o malignas, deberían tratarse mínimo con dos ciclos.<sup>10</sup>

**Cuadro 1. Temperatura necesaria para producir destrucción tisular.**

Folículos Pilosos	Glándulas Sebáceas	Queratinocitos	Melanocitos	Fibroblastos	Perineuro	Células tumorales
0°C a 30°C	0° a -30°C	-30°C	-20 a -40°C	Resistentes	Resistentes	-50 a -60°C

La lesión cutánea resultante de la crioterapia, o lesión criogénica, pasa por diferentes estadios: el primero es una zona blanca que corresponde a la zona congelada. Inmediatamente después, por la liberación de histamina, se produce una lesión urticariforme. El edema se crea por la respuesta inflamatoria y la permeabilidad capilar, y éste aparece en el sitio tratado a las 12 a 24 horas, llegando a su máximo en el plazo de dos a cuatro días. El edema puede ser más prominente en zonas de piel laxa como los labios y los genitales, en la frente y en la región periorbitaria. A las 12 a 24 horas pueden formarse vesículas y ampollas situadas en la unión dermo-epidérmica. Dependiendo del daño vascular, éstas pueden ser seróticas o con contenido hemorrágico. Teóricamente son asintomáticas, posiblemente por el daño temporal del nervio periférico. Las ampollas y las vesículas se rompen aproximadamente a las 48 horas, y dejan una zona de exudación y esfacelación que posteriormente se cubre con una costra que empieza a retraerse en 10 a 14 días.<sup>11</sup>

En general la crioterapia se acompaña de una cicatrización favorable, pues la resistencia de las fibras de colágeno al frío ayuda al proceso reparativo. Los resultados cosméticos se relacionan con la profundidad de la lesión. La cicatriz resultante suele ser blanda, pequeña, sin retracción, y las cicatrices hipertróficas son inusuales. Puede haber cambios en la pigmentación, principalmente hipopigmentación, por la sensibilidad de los melanocitos al frío; sin embargo, se han descrito algunos casos de hiperpigmentación reactiva en la periferia. El tiempo que tarda la cicatrización es mayor que en una cicatrización primaria, y varía entre 2 y 14 semanas. Se considera que cuanto más alejada esté la lesión del rostro, más tardará en cicatrizar.<sup>12</sup>

Los conceptos sobre crioinmunología no son concluyentes. Hay dos fenómenos que han llamado la atención: el primero es que al tratar de forma parcial verrugas vulgares se logró obtener el aclaramiento completo, aun de las lesiones que estaban a distancia, y el segundo, que al tratar lesiones tumorales malignas se consiguió, en algunos casos, la resolución de las metástasis. Esto llevó a considerar que el congelamiento podía actuar como un estímulo antigénico que genera una respuesta inmunológica específica de tipo humoral y celular, todavía no muy bien elucidada, similar a la aplicación de una vacuna; así se originó el término crioinmunización. Con este concepto se ha tratado de desarrollar la crioinmunoterapia como una alternativa para manejar tumores malignos; sin embargo, los estudios posteriores no han logrado mostrar desaparición de las metástasis.<sup>6,13</sup>

Los hallazgos histopatológicos que se observan en la crioterapia se presentan desde los quince minutos posteriores al congelamiento, y consisten en cambios vasculares con aglomeración de eritrocitos en la luz del vaso, con posterior extravasación masiva a toda la dermis. La epidermis inicia un proceso de degeneración cavitaria que se completa a las cuatro horas. Los queratinocitos presentan núcleo picnótico con citoplasma vacuolado, mientras las células de la periferia presentan núcleo basófilo y citoplasma eosinófilo. Hay degeneración leve del colágeno que se resuelve a las dos semanas. El infiltrado inflamatorio inicial es de predominio de polimorfonucleares y eosinófilos, y después es reemplazado por linfocitos y plasmocitos. A los treinta minutos hay edema y necrosis de las células endoteliales; a las dos horas, edema intersticial y necrosis en la hipodermis, que también se resuelve a las dos semanas. A las cuatro horas se observa la destrucción de los melanocitos. A las siete horas se forman las ampollas intraepidérmicas, inicialmente con contenido seroso, y al primer día con material eritrocitario. A las 48 horas se presenta pérdida de la arquitectura de los anexos pilosebáceos y sudoríparos.<sup>12</sup>

## EQUIPO

Los criógenos son sustancias con capacidad de congelación. Se ha utilizado nitrógeno líquido, óxido nitroso, dióxido de carbono e hidrocarburos fluorinados. De éstos, el que tiene mayor capacidad de congelamiento es el nitrógeno líquido, con un punto de ebullición de -95.8°C. A esta temperatura es un líquido incoloro, no inflamable. Actualmente es el criógeno que más se utiliza para realizar la crioterapia. Otro criógeno que aún se comercializa es el dióxido de carbono, en forma de nieve carbónica.<sup>14</sup>

El nitrógeno líquido debe ser almacenado en tanques de doble pared; son sistemas abiertos para permitir la evaporación de este gas, disminuir la presión y evitar la explosión que se generaría en un recipiente totalmente sellado. Los tanques de almacenamiento vienen en diferentes tamaños que van desde los 2 a los 50 litros. Para evitar la evaporación permanente del nitrógeno líquido se han creado unos adaptadores para los tanques, con válvulas de presurización, que tienen además un filtro que limpia el nitrógeno líquido antes de ser envasado en los termos manuales. La limitación de este producto es el costo.<sup>15</sup>

Hay varios métodos para aplicar el nitrógeno líquido: aplicadores de algodón, *spray* o rociador y probetas de contacto.

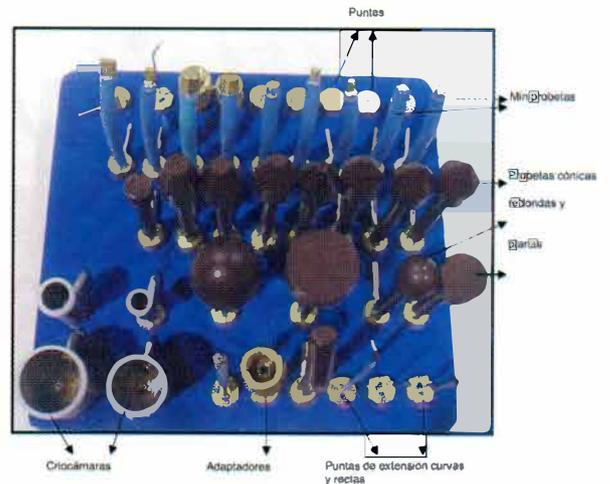
Los aplicadores de algodón son la forma más sencilla y barata de aplicar el nitrógeno líquido, aunque tienen varias desventajas como la incapacidad para obtener bajas temperaturas que permitan la destrucción tisular, la evaporación de buena parte del gas antes de llegar a la lesión, y la transmisión de virus y partículas infectantes. Por estas razones, sólo debe tenerse en cuenta para el manejo de algunas lesiones benignas pequeñas.<sup>4,14</sup>

Para aplicar el nitrógeno líquido con *spray* o rociador se han diseñado dos instrumentos: los recipientes manuales o termos y los equipos automáticos. De éstos, los recipientes manuales son los más utilizados.

Los termos están constituidos por una cavidad de acero inoxidable de doble pared, con un aislamiento térmico al vacío. En la parte superior tienen una tapa con cierre de rosca, una válvula de presión, un gatillo de control y una rosca intercambiadora de puntas. Hay múltiples marcas de termos disponibles en el mercado.<sup>16</sup> (Figura 1). Las características de los equipos manuales se presentan en el Cuadro 2.

Las puntas de *spray* se clasifican por pulgadas. Hay desde la A hasta la F, siendo la A más grande, y la F, más pequeña. En general, las puntas más utilizadas son la B y la C. Una nueva punta es la doble A, que se utiliza principalmente para lesiones inflamatorias de acné y para el crio peeling.<sup>15</sup>

Además de las puntas tradicionales están las puntas de extensión, cuya principal utilidad es en el manejo de lesiones de difícil acceso, como condilomas perianales, rectales o vaginales. Las hay rectas y curvas; estas últimas tienen mayor precisión y alcance, porque permiten rotar 360°.<sup>15</sup>



**Figura 1. Partes de las que están conformados los termos utilizados para crioterapia.**

Además de las puntas para insertar directamente en el termo, existen extensiones anguladas que se pueden ajustar a cualquier punta de *spray*, criocámara o probeta. Tienen la ventaja de permitir cambiar el ángulo de disparo, manteniendo la unidad vertical, lo que facilita tratar con más comodidad a los pacientes que están acostados. Algunas son maleables.

También hay dos tipos de adaptadores: unos permiten poner en su parte superior agujas para el tratamiento de lesiones pequeñas como siringomas, y otros se ajustan a la unidad para prevenir el flujo intermitente que se crea por la formación de microcristales al utilizar puntas pequeñas como la E o la F.

**Cuadro 2. Características de los recipientes manuales.**

Descripción	Capacidad (cc)	Altura (mm)	Peso vacío (g)	Peso lleno (g)	Duración (horas)
Grande: > capacidad y duración	500	286	580	988	20 - 24
Pequeño: > facilidad para trabajar	300	235	485	757	10 - 12

Las criocámaras son elementos que se utilizan también en la técnica con *spray* para confinar el nitrógeno líquido y de esta forma lograr una destrucción precisa y profunda de la lesión. Se recomiendan para el tratamiento de verrugas vulgares, carcinomas basocelulares y escamocelulares. Al utilizarlas, de preferencia deben estar ajustadas a puntas de extensión de ángulo recto o maleables.<sup>14,15</sup>

La otra forma de aplicar el nitrógeno líquido es con las probetas de contacto. Las hay de varias formas: las probetas de contacto planas tienen como principal utilidad el manejo de lesiones vasculares. Las probetas con punta redonda son de elección para tratar tumores ulcerados o grandes, lesiones sobre superficie ósea o lesiones con apariencia en domo localizadas en tejidos blandos. Las probetas cónicas se usan principalmente en áreas ulceradas, porque aumentan de forma importante el área de superficie de congelación. Las miniprobetas tienen la ventaja de dar excelente visibilidad y precisión; se utilizan para lesiones pequeñas cerca del ojo o en el canal auditivo, hiperplasias sebáceas, lentiginos y verrugas pequeñas con poca queratina.<sup>14,15</sup> (Figura 2).

Como accesorios de protección para la crioterapia están los crioconos, que permiten, en la técnica con *spray*, hacer un confinamiento de las lesiones. Están disponibles en neopreno y en plástico. Los crioplatos tienen la misma función que los conos; por ser transparentes proporcionan una mejor delimitación de las lesiones. Accesorios de pro-

tección más sencillos incluyen: bajalenguas, retractor de Jaeger, cucharas, algodón y cintas adhesivas alrededor de la lesión con la ventaja que el margen pigmentario está menos delimitado que al utilizar crioconos, lo que permite obtener mejores resultados cosméticos.<sup>14,15</sup>

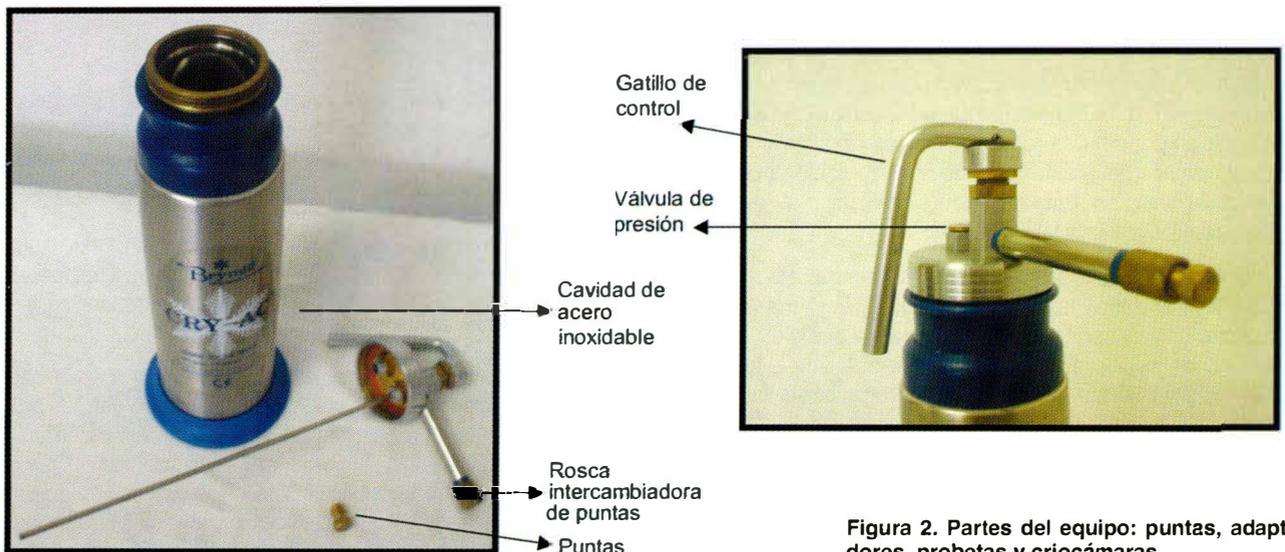
**TÉCNICA**

Para obtener un resultado exitoso con la crioterapia se debe seleccionar la mejor técnica, hacer un congelamiento rápido, alcanzar la temperatura apropiada en el tejido, permitir un descongelamiento completo, repetir el ciclo, incluir un margen de tejido normal y revisar la congelación, en general por inspección y palpación.<sup>2</sup>

La criocirugía puede hacerse mediante sistema cerrado, utilizando probetas, o por sistema abierto con *spray*, aplicadores o pinzas.<sup>14</sup>

El sistema cerrado se hace por medio de una probeta de cobre que es enfriada por el nitrógeno líquido; el gas restante sale por una línea de retorno. Las ventajas que tiene el sistema cerrado sobre el *spray* directo son que el congelamiento es más controlado y que se logra mayor profundidad al hacer mayor presión.<sup>17</sup>

Para realizar la técnica cerrada se debe seleccionar una probeta que en lo posible tenga el mismo tamaño que la lesión. La probeta debe enfriarse previamente para que el gradiente de temperatura entre el tejido y la probeta sea



**Figura 2. Partes del equipo: puntas, adaptadores, probetas y criocámaras.**

mayor, y para que no se apliquen temperaturas subóptimas. Como la piel está seca, se mejora el contacto utilizando agua o un lubricante entre el tejido y la probeta. La excepción son las lesiones que están sobre estructuras nerviosas ya conocidas; en este caso la probeta se aplica directamente sobre la piel sin enfriarla previamente y se hace la congelación para que la probeta se adhiera a la piel; de esta forma se tracciona el tejido y se termina la congelación sin lastimar el nervio. Se debe hacer compresión para aumentar la profundidad de la congelación. Al llegar a cero grados no debe moverse la probeta para no romper la columna de hielo que se está formando. Debe esperarse hasta la descongelación, de otra forma podría correrse el riesgo de lastimar la epidermis.<sup>17</sup>

La otra técnica usada en criocirugía es la del sistema abierto. Ésta puede realizarse en forma directa con *spray*, aplicadores o pinzas, o de forma confinada con crioconos, crioplatos o crioámaras<sup>14</sup>.

La ventaja que tiene la técnica directa con *spray* es la versatilidad para tratar diversas lesiones; las desventajas son la dispersión sobre tejidos sanos y la insuflación subcutánea de nitrógeno líquido que se presenta al congelar zonas cruentas o laxas como el área periorbitaria.<sup>11</sup>

Para la técnica abierta se debe seleccionar la punta del *spray* que más se acomode a la lesión, generalmente las puntas B o C. Preferiblemente se debe delinear la lesión antes de congelar para evitar la dispersión del gas. La distancia del rociador a la piel es de 1 a 2 cm.

En general, en ambas técnicas (cerrada y abierta) se debe congelar la lesión, incluyendo un margen de tejido sano que es de aproximadamente 3 mm para lesiones benignas y 5 mm a 8 mm para lesiones malignas, aunque en algunas lesiones benignas no se recomienda dejar margen.<sup>9</sup> Es importante saber que la extensión de la congelación por fuera de los márgenes es más importante que ser muy riguroso en la medida del tiempo.

La lesión se puede rociar de forma continua o intermitente, obteniéndose mayor efectividad con la primera y mejor control con la segunda. Igualmente, la posición del rociador puede ser perpendicular o tangencial a la lesión. De nuevo, con la primera forma se obtendrá un congelamiento más efectivo, y con la segunda mejor control.

La Figura 3 ilustra que el movimiento que se hace con la mano que sujeta el termo puede ser puntual, lo que permite un mejor congelamiento; rotatorio o en espiral, cuando las lesiones son extensas, o en brocha cuando son exten-

sas y superficiales. Cuando se tienen lesiones mayores de 2 cm puede dividirse la lesión en cuadrantes para ser tratados de forma separada, o como alternativa se utilizarán las otras dos técnicas previamente descritas, si la lesión lo permite.<sup>17</sup>



**Figura 3. Movimientos con el rociador.**

El uso de aplicadores hace parte también de la técnica abierta. Actualmente no hay protocolos definidos para su utilización, pues son múltiples las variantes que pueden hacer esta práctica inefectiva, como la temperatura ambiente, la presión que se ejerce y la distancia que debe recorrer el apósito para tocar la lesión. En caso de decidir utilizarla, se debe escoger un aplicador más pequeño que la lesión a tratar. Éste debe sumergirse en un recipiente aparte que contenga una pequeña cantidad de nitrógeno líquido, para que el resto no se contamine. Se debe escurrir el apósito sobre las paredes del recipiente para evitar salpicar en la piel sana, y rápidamente colocar sobre la lesión haciendo presión. Tanto el aplicador como el recipiente deben desecharse después de ser utilizados.<sup>18</sup>

El uso de aplicadores tiene la ventaja de ser una técnica sencilla y económica, que puede dejarse para algunas lesiones muy pequeñas, benignas y superficiales como verrugas con poco diámetro y queratina, y queratosis delgadas. La principal desventaja que limita su uso es la posibilidad de transmitir infecciones virales como PVH, herpes, hepatitis y VIH. Además, que no alcanzan una temperatura menor de 20°C ni una profundidad mayor de 2 mm a 3 mm, por la evaporación rápida del nitrógeno.<sup>18</sup>

Otra forma de hacer crioterapia con técnica abierta es usando pinzas quirúrgicas. Puede realizarse con las pinzas de Adson o con un portaaguja, que deben enfriarse previamente sumergiendo la punta del instrumental en un recipiente de nitrógeno líquido hasta que haya congelación del metal; inmediatamente después se debe sujetar la base de la lesión hasta congelarla. Esta técnica puede utilizarse con

lesiones pequeñas, superficiales, que sean pedunculadas o filiformes. En teoría esta práctica tendría las mismas desventajas que el uso de aplicadores.<sup>19</sup>

Por último, la técnica abierta puede confinarse utilizando conos, crioplatos y criocámaras. Al utilizar estos elementos se logra limitar y concentrar el flujo del nitrógeno, lo que aumenta la profundidad, disminuye el tiempo de congelación y genera menos malestar para el paciente. Para su realización debe seleccionarse un cono que se ajuste con la lesión. Los conos blandos de neopreno se pueden recortar en forma diagonal o moldear para ajustarse mejor a lesiones irregulares. Igual que con una probeta, debe mejorarse el contacto de la piel seca con agua o con un lubricante. El cono debe agarrarse por la apertura mayor para evitar el congelamiento de los dedos índice y pulgar durante el procedimiento, causa frecuente de suspensión prematura de la congelación y fracaso terapéutico. No deben adicionarse piezas al final del cono porque alteran la superficie de congelación. Se hace compresión, poniéndose el *spray* a 1 cm del cono. La congelación se realiza hasta obtener el margen deseado. Se retira el cono cuando el período de descongelación haya terminado.<sup>20</sup>

**TÉCNICAS DE MONITOREO**

La principal forma de monitorear la criocirugía es mediante parámetros clínicos de inspección y palpación. A la inspección se debe determinar el margen de congelación más allá de la lesión. La profundidad de la congelación podría estimarse de forma subjetiva, correlacionando el margen lateral con la profundidad de la lesión congelada. Así, por ejemplo, si el margen lateral corresponde a 3 mm, la bola de hielo se extiende hacia abajo cerca de 3 mm. Al palpar una lesión criogénica se debe determinar la fijación de la masa congelada al hueso o al cartílago subyacente; sin embargo, el juicio clínico puede tener errores. La temperatura del tejido congelado no se puede determinar por su apariencia, como tampoco se puede establecer la profundidad de congelamiento de forma directa, lo cual es en especial grave para las lesiones malignas. Por estas razones se utilizan otros métodos para dar más precisión al congelamiento, como termoagujas, medición de la impedancia o resistencia eléctrica de los tejidos, termografía, ultrasonografía, tomografía axial computarizada y resonancia magnética.<sup>21</sup>

En general, se considera que para lesiones benignas y pequeñas o superficiales malignas la evaluación clínica es suficiente.

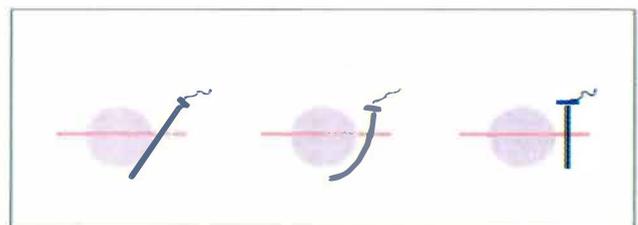
De los métodos no clínicos para monitorear, el de las termoagujas es el más utilizado comúnmente. Requiere la inserción de agujas a la piel; éstas se conectan a un pirómetro que evalúa la temperatura que se alcanzó y la profundidad del tejido congelado; además, monitorea la fase de descongelación y la temperatura del tejido adyacente a la lesión.

Como lo muestra el Cuadro 3, se tiene establecido que las diferentes células requieren una temperatura específica para su muerte. Lo ideal es alcanzar una temperatura de -25°C para las lesiones benignas y de -50°C para las lesiones malignas. Esto se debe a que las células tumorales malignas son más resistentes al frío, pues su alto grado de mitosis disminuye el agua intracelular y, por lo tanto, la congelación que se alcanza es menor.

**Cuadro 3. Temperatura requerida para producir la muerte celular.**

Piel y mucosas	-17°C y -20°C
Lesiones inflamatorias o no neoplásicas	-20°C a -30°C
Cáncer superficial no ulcerado	-30°C a -40°C
Cáncer ulcerativo, agresivo o recurrente	-50°C o más

Las termoagujas se pueden insertar de tres formas: diagonal, que es la forma más utilizada y permite evaluar profundidad; con aguja curva, que monitorea también la temperatura de la base; y en el borde de la lesión, poniendo la aguja en el límite del margen de congelamiento, con lo cual se determina el borde lateral de congelación y la profundidad de forma indirecta. Lo ideal es la colocación de varias termoagujas. Se considera que el error del equipo es de aproximadamente 1% a 2%, debido principalmente a la colocación inadecuada de las agujas. Una variación de 1 mm en la inserción puede representar una diferencia de 10°C a 15°C.<sup>22</sup> (Figura 4).



**Figura 4. Técnica para la colocación de termoagujas.**

Otros métodos de monitorización incluyen la termografía, que mide la radiación infrarroja de la superficie del cuerpo y la convierte en señales de video; logra un buen delineamiento de las lesiones en la piel, pero por costos no es muy utilizada. La ultrasonografía mide el tamaño e invasión de la lesión, tiene buena correlación histopatológica y permite monitorear todo el procedimiento. La tomografía axial computarizada es un método sensible, que tiene como principio la absorción de los rayos X proporcional al tejido, siendo el hielo hipodenso; igualmente se limita su uso por el costo. La resonancia magnética se considera que es superior a la ecografía y la TAC, porque proporciona una imagen en tercera dimensión en tiempo real, sin sombra acústica. Sin embargo, hasta ahora se ha utilizado principalmente para monitorear la crioterapia en tumores renales y hepáticos.<sup>23</sup>

## APLICACIONES CLÍNICAS

Una de las ventajas que tiene la criocirugía es que no se requiere anestesia local en la mayoría de lesiones a tratar, dado el efecto anestésico que tiene el mismo frío. Además, es fácil de utilizar, los costos son bajos, la cicatrización es mínima, y no necesita preparación preoperatoria; se pueden tratar múltiples lesiones en una sola sesión, y es rara la infección. Los mejores resultados cosméticos se obtienen en pacientes con piel clara; es fácil de utilizar y los costos son bajos.<sup>15</sup>

Las desventajas son las cicatrices hipopigmentadas, su uso restringido en áreas pilosas por la probabilidad de producir alopecia, y en zonas muy vascularizadas como el cuero cabelludo por el riesgo de fracasos. Además, las áreas tratadas pueden quedar con susceptibilidad a las quemaduras solares.<sup>15</sup>

Se considera que la criocirugía es útil en queratosis o verrugas en pieles con fototipo I y II, en situaciones clínicas como anticoagulación, alergia, individuos VIH positivos con verrugas, moluscos contagiosos o sarcoma de Kaposi, en quienes se les anticipa mala cicatrización, en pacientes con marcapaso, y como tratamiento paliativo de tumores que se consideren irreseccables, como aquellos que invaden cartílago y hueso, ya que este procedimiento tiene bajo riesgo intraoperatorio y pocos efectos secundarios.<sup>2</sup>

Las contraindicaciones absolutas para realizar la crioterapia son compromiso vascular, fenómeno de Raynaud, crioglobulinemias y urticaria al frío.<sup>2</sup>

En 1994, la Academia Americana de Dermatología publicó unas guías sobre criocirugía, donde presentó las nue-

vas indicaciones para tratar lesiones benignas. En ellas se incluían lesiones tumorales, vasculares, quísticas, pigmentarias y cicatrizales, además de infecciosas, y una nueva lista de enfermedades inflamatorias que podían beneficiarse con este tratamiento.<sup>16</sup>

Las lesiones tumorales benignas que tienen una respuesta que va entre excelente a buena con la crioterapia son las queratosis seborreicas, los fibromas laxos y los dermatofibromas.<sup>16</sup>

Las lesiones vasculares que pueden tratarse con la crioterapia son angiomas en cereza, hemangiomas, linfangiomas, granuloma facial, granuloma telangiectásico y lagos venosos. En este último, los mejores resultados terapéuticos se obtienen con este tratamiento.<sup>16</sup>

Las lesiones quísticas benignas como mucocelo, quiste mixoide, quistes de milio y siringomas, tienen en general una respuesta que va entre excelente a buena.<sup>16</sup>

Las lesiones pigmentarias con mejores resultados con la criocirugía son las lentiginos, pero también pueden manejarse de esta forma el melasma, la hipomelanosis guttata, el nevus epidérmico verrucoso y los tatuajes.<sup>16</sup>

La criocirugía también es una buena opción en el tratamiento de cicatrices hipertróficas y queloides.<sup>16</sup>

Las infecciones que más se han tratado con crioterapia son las virales, incluyendo verrugas y moluscos contagiosos.<sup>16</sup>

En una revisión de la literatura que se hizo sobre la efectividad del tratamiento para verrugas anogenitales y moluscos contagiosos, publicada en la revista *Terapia Dermatológica* de 2004, se comparó a la crioterapia con diversas investigaciones que incluían ácido tricloroacético al 95%, podofilina al 20%, interferón, electrocauterización y láser de CO<sub>2</sub>. Los resultados mostraron una tasa de curación mayor con la criocirugía, excepto con las últimas dos formas de tratamiento, que parecen ser superiores. En algunos estudios, las tasas de recurrencias fueron menores con la electrocauterización y el ácido tricloroacético.<sup>24</sup> (Figura 5).

Un punto que debe tenerse en cuenta en el manejo de las verrugas es que la queratina conduce mal el frío, por lo que se requiere aplicar ácido salicílico o láctico una semana antes de realizar el procedimiento, afeitar la lesión antes de congelarla, o humedecerla por 10 a 15 minutos antes de realizar el tratamiento.<sup>25</sup>

Otras lesiones infecciosas que pueden tratarse son la leishmaniasis cutánea, y es de elección en pacientes que

## Criocirugía

no pueden recibir antimoniales, como mujeres embarazadas; también en cromoblastomycosis y larva migrans cutánea.<sup>16</sup> (Figura 6).



Figura 5. Tratamiento de condilomatosis en pacientes con VIH con criocirugía con spray.



Figura 6. Tratamiento de cromoblastomycosis con crioterapia. Lesión en fase de descongelación.

No se conoce claramente la razón por la cual la criocirugía es efectiva para ciertas lesiones inflamatorias. Se tiene como hipótesis que al producir un trauma por hipotermia, se obliga al tejido a desencadenar una respuesta inflamatoria para cicatrizar la quemadura que se produce; esto, a su vez, obliga a que se atenúe la inflamación inicial que estaba perpetuando la dermatosis. En este caso, la crioterapia actuaría como un inmunomodulador. Se han obtenido buenos resultados en el acné inflamatorio y cicatrizal, en la

rosácea, particularmente en los rinofimas y en la hidradenitis supurativa.<sup>27</sup>

Otras lesiones inflamatorias que pueden ser tratadas con esta técnica son el prurigo nodular, la neurodermatitis y el liquen plano hipertrófico. En estas condiciones, la crioterapia rompe el círculo vicioso del prurito por la quemadura que se produce. Además, puede alterar las fibras desmielinizadas delgadas que transmiten la sensación de prurito, por su alto contenido de agua. También pueden tratarse la amiloidosis macular y liquenoide, la alopecia areata, el lupus discoide y la psoriasis en placas. En el vitiligo se utiliza de forma conjunta con el trasplante de melanocitos<sup>27</sup> y en los casos de vitiligo universal para completar la despigmentación.<sup>28</sup>

La criocirugía también puede utilizarse en lesiones premalignas; es de elección en el tratamiento de la queratosis y de la queilitis actínica. Igualmente, es útil en el manejo del nevus sebáceo de Jadassohn, xeroderma pigmentoso, enfermedad de Bowen, eritroplasia de Queyrat, queratoacantoma y lentigo maligno.<sup>29</sup>

La lesión maligna más tratada con la criocirugía es el carcinoma basocelular, principalmente cuando sus variantes son nodulares o superficiales. Además, se pueden tratar con este método el carcinoma espinocelular y las formas macular y papular del sarcoma de Kaposi.

En un reciente estudio se evaluó la tasa de curación del cáncer de piel tratado con crioterapia durante 30 años. El estudio incluyó 2932 pacientes con carcinomas basocelulares, escamocelulares y basoescamosos. La tasa de curación fue del 98.6%. Sólo 62 pacientes tuvieron recurrencia.<sup>30</sup>

Un resumen de las indicaciones clínicas previamente citadas se encuentra en el Cuadro 4.

### MANEJO POSOPERATORIO

El manejo posoperatorio de la crioterapia no está bien protocolizado y aún existen puntos que generan controversia. Se dice que el edema que se produce en general no es doloroso, y que no responde a los antiinflamatorios no esteroideos. Algunos sugieren que podría disminuirse utilizando esteroides orales o tópicos, 24 a 48 horas antes de realizar el procedimiento,<sup>31</sup> o dando antihistamínicos después del tratamiento. En general se indica sólo el uso de compresas frías. Es controvertido si la lesión resultante debe o no cubrirse con una gasa seca.

Se debe lavar la lesión con agua y jabón, inicialmente cuatro veces al día hasta que se forme tejido de granulación; a

**Cuadro 4.** Indicaciones clínicas para tratar con criocirugía (E: excelente; B: bueno; A: aceptable)

<b>Lesiones tumorales benignas</b>	<b>Tiempo de congelación</b>	<b>Resultado</b>
Queratosis seborreicas	10''	E - B
Hiperplasias seborreicas	10'' ( <i>spray</i> o probeta)	B - A
Fibromas laxos	10'' ( <i>spray</i> , pinzas o aplicadores)	E - B
Dermatofibromas	30'' ( <i>spray</i> o probeta)	E - B
<b>Lesiones vasculares</b>		
Angiomas en cereza	15 - 20'' (probeta)	B - A
Hemangiomas y linfangiomas	Mínimo 60'' (probeta)	B - A
Granuloma facial	30'' (probeta)	B - A
Granuloma telangiectásico	30'' (probeta o pinza)	B - A
Lagos venosos	15 - 25''	E - B
<b>Lesiones quísticas</b>		
Mucocele	10''	E - B
Quiste mixoide	20 - 40'' ( <i>spray</i> o probeta)	E - B
Quistes de milio	5 - 10'' ( <i>spray</i> , pinzas o aplicadores)	E - B
Siringomas	5''	E - B
<b>Lesiones pigmentarias</b>		
Lentiginos	10''	E - B
Melasma	10''	B - A
Hipomelanosis guttata	5''	B - A
Nevus epidérmico	30''	B - A
Tatuajes	30''	B - A
<b>Infecciones virales</b>		
Verruga vulgar	10 - 30''	B
Verruga plana	5 - 15''	B
Verruga plantar	20 - 40''	A
Moluscos contagiosos	10 - 15'' ( <i>spray</i> o aplicador)	E
<b>Otras infecciones</b>		
Leishmaniasis cutánea	30''	E - B
Cromblastomicosis	30'' - 4'	B - A
Larva migrans cutánea	5 - 7'' (probeta)	E - B
<b>Lesiones premalignas</b>		
Queratosis actínica	5 - 10''	E - B
Queilitis actínica	15''	E - B
Nevus organoide	30 - 40'' (probeta)	B - A
Enfermedad de Bowen	20''	E - B
Eritroplasia de Queyrat	15''	E - B
Queratoacantoma	30''	E - B
Lentigo maligno	60 - 120''	B - A

partir de este momento se debe disminuir la frecuencia del lavado a dos veces al día. La mayoría de los autores no recomiendan retirar la ampolla, excepto en las verrugas. El ungüento antibiótico se debe recomendar siempre, dos veces al día hasta que ocurra la cicatrización, para evitar la formación de costra y disminuir el riesgo de infección, aunque con la crioterapia la tasa de infección es muy baja. Los antibióticos orales profilácticos sólo se recomiendan en sitios con pobre circulación como piernas y orejas. Siempre se le debe explicar al paciente el tiempo aproximado en que la lesión cicatrizará.<sup>32</sup>

**COMPLICACIONES**

Las complicaciones de la crioterapia se dividen en inmediatas, posteriores, prolongadas y permanentes (Cuadro 5) (Figura 7). El edema subcutáneo sólo se produce en la técnica con *spray* directo, cuando se congelan lesiones cruentas o zonas de piel laxa. Para evitarse se usan los conos o crioplatos, o se congela primero la periferia de la lesión a tratar. Las hiperplasias pseudoepiteliomatosas pueden aparecer dos a cinco semanas después del procedimiento, y pueden confundirse con recidivas tumorales. Pueden persistir por seis a ocho semanas, pero no requieren tratamiento, porque por lo general desaparecen por completo de forma espontánea.

La complicación más frecuente e indeseada de la crioterapia es la hipopigmentación<sup>16</sup>.

Finalmente, la crioterapia es una técnica que no sólo se usa con frecuencia en la dermatología sino también en otras ramas de la medicina, como en ginecología, para el tratamiento de las displasias y el cáncer cervical; en urolo-



**Figura 7. Isquemia localizada posterior a manejo de verruga vulgar con crioterapia, durante tres sesiones de tres ciclos.**

gía para el manejo del cáncer de próstata; en oftalmología para el tratamiento de retinoblastomas, y en cirugía para el manejo paliativo de metástasis hepáticas.

**SUMMARY**

Cryosurgery is a surgical technique that employs freezing to destroy undesirable tissue. It is considered a fast, easy, and minimally invasive surgical technique. A review of several topics of cryosurgery is presented, including biochemical and biophysical mechanisms of tissue destruction during cryosurgery, monitoring techniques, standard techniques of freezing, clinical uses, and complications.

**Key words:** cryosurgery, cryobiology, treatment.

**Cuadro 5. Complicaciones de la crioterapia**

Inmediatas	Posteriores	Prolongadas	Permanentes
Dolor	Infección	Hiperpigmentación	Hipopigmentación
Cefalea	Fiebre	Milio	Atrofia
Edema subcutáneo	Tejido de granulación	Cicatrices hipertróficas	Alopecia
Hemorragia	Hemorragia	Daño nervioso	Ectró pion
Edema	Hiperplasia pseudoepitelio-matosa	Necrosis ósea	
Síncope		Artralgias	
Ampollas			

**Bibliografía**

1. Castillo R, Morales M, Carrasco S. Guía de uso de la criocirugía en atención primaria. *Medicina de Familia*, 2002; 2:114-122.
2. Graham GF, Cernevy K, San Filippo J. Cryosurgery. En: *Fitzpatrick Dermatology in General Medicine*. 6a. ed., 2003, Vol. 2, chap. 278: 2575 - 2581.
3. Zacarian A. The Art and Science of Cryosurgery. *J Dermatol Surg Oncol* 1977; 3 (4): 401-402.
4. Kuwahara RT. Cryotherapy. Disponible en: <http://www.eMedicine.com>.
5. Kuflik E, Gage A. Cryobiology. *Cryosurgical Treatment for Skin Cancer*, 1990; (3): 35 - 51.
6. Dawber R. Historical and scientific basis of cryosurgery. En: *Cutaneous Cryosurgery Principles and Clinical Practice*. Ed.2, 1997. Chap. (2):15 - 25.
7. Rubinsky B. Cryosurgery. *Annual Reviews in Biomedical Engineering*, 2000.
8. Dawber R. Cold Kills. *Clinical and Experimental Dermatology*. 1988; 13 (3): 138 - 150.
9. Graham G et al. et al. Advances in cryosurgery during the past decade, *Cutis*, 1993 (52): 365 - 372.
10. Kuflik E and Gage A. Basic Technique. *Cryosurgical Treatment for Skin Cancer*, 1990; (3): 65 - 82.
11. Fernández J. Inconveniente, Efectos secundarios y contraindicaciones de la criocirugía, *Perlas Frías*, 1996; 3: 19 - 24.
12. Calvache R, Núñez R. Monografía Crioterapia, 1994: 6 - 28.
13. Zacarian S. Current concepts in cryoinmunology. En: *Cryosurgery for Skin Cancer and Cutaneous Disorders*. Ed.1, 1985. Chap. (17): 306 - 311.
14. Dawber R. Cutaneous Cryosurgery. En: *Principles and Clinical Practice*. Ed. 2, 1997. Chap. (3): 27 - 36.
15. Cryosurgical Products Catalog. Disponible en: <http://www.brymill.com>
16. Mantilla MS., Crioterapia. En: *Terapia Dermatológica*. Ed.2, 2003. Chap. (21): 219 - 229.
17. Drake LA, Ceilley RI, Cornelison RL, et al. Guidelines of care for cryosurgery. *J Am Acad Dermatol* 1994; 31(4):648-53.
18. Cryosurgery. Disponible en: <http://www.mdconsoult.com>
19. Goodheart H. Cryosurgery for warts. *J Dermatol Online* 2004; 9 (5): 34.
20. Kuwahara R, Rasberry R, Amonette R. Use of Disposable Otoloscope Specula in Cryotherapy *Dermatologic Surgery*, 2000; (26): 493.
21. Kuflik E, Gage A. Monitoring Techniques. En: *Cryosurgical Treatment for Skin Cancer*, 83 - 95.
22. Torre D. Cryosurgical Instrumentation and Depth Dose Monitoring. *Clinics in Dermatology*, 1990; (8): 48 - 60.
23. Harada J, Mogami T. Minimally invasive therapy under image guidance emphasizing MRI-guided cryotherapy. *Rinsho Byori*, 2004; 52(2):145-51.
24. Ting PT, Dytcot MT. Therapy of external anogenital warts and molluscum contagiosum: a literature review. *Dermatologic Therapy*, 2004; 17 (1): 68 - 101.
25. Pasquali P, Trujillo B. Criocirugía en niños. *Asoc Col Dermatol Cir Dermatol*, 2003; 11 (4): 315 - 321.
26. Seidel A. Criocirugía en dermatosis inflamatorias. *Asoc Col Derm Cir Dermat*, 2001; 9(2): 527 - 533.
27. Issa CM, Rehder J, Taube MB. Melanocyte transplantation for the treatment of vitiligo: effects of different surgical techniques. *Eur J Dermat* 2003; 34-9.
28. Radmanesh M. Depigmentation of the normally pigmented patches in universal vitiligo patients by cryotherapy. *J Eur Acad Dermat & Vener* 2000; 14: 149.
29. Dinehart SM. The treatment of actinic keratoses. *J Am Acad Dermatol* 2000 Jan; 42(1Pt2):25-8.
30. Kuflik E. Cryosurgery for Skin Cancer: 30-Year Experience and Cure Rates. *Dermatol Surg* 2004; 30: 297.
31. Hindson et al. Clobetasol propionate ointment reduces inflammation after cryosurgery. *Br J Dermatol*. 1985; 21: 599 - 602
32. Kuflik E. Deep Freeze TX. Disponible en: *Dermatology Times*, May 1, 2003.  
[Interview by Cheryl Guttman]. Available from: <http://www.dermatologytimes.com/dermatologytimes/article/articleDetail.jsp?id=56496>

**AGRADECIMIENTOS**

A la doctora Beatriz Orozco por la Figura 5.

A la doctora Luz Marina Gómez Vargas por las Figuras 6 y 7.

## Preguntas

1. **Una de las siguientes afirmaciones sobre criobiología es falsa. Señálela:**
  - a. En la congelación rápida se forma primero el hielo a nivel extracelular y luego dentro de la célula.
  - b. La congelación rápida inhibe la síntesis de DNA.
  - c. En la congelación lenta se rompe la membrana celular.
  - d. En la descongelación se produce el efecto de recristalización.
  - e. La estasis vascular se completa a los 40 minutos.
  
2. **Los siguientes eventos acompañan la lesión criogénica, excepto:**
  - a. Los cambios sensoriales son transitorios.
  - b. La hipopigmentación es frecuente por la sensibilidad de los melanocitos al frío.
  - c. Los fibroblastos se consideran resistentes al frío.
  - d. La cicatrización se completará en la primera semana.
  - e. Las ampollas pueden tener material hemático.
  
3. **En relación con el equipo utilizado en la crioterapia, señale lo correcto:**
  - a. El criógeno más frecuente es el nitrógeno líquido por tener un punto de ebullición de  $-98^{\circ}\text{C}$ .
  - b. Los tanques de almacenamiento deben ser sistemas cerrados para evitar la evaporación.
  - c. La punta de *spray*F se utiliza para el criopeeling.
  - d. El adaptador de flujo intermitente se utiliza de preferencia con puntas E o F.
  - e. Las criocámaras deben utilizarse de preferencia ajustadas a una punta de extensión.
  
4. **Respecto a la técnica utilizada en crioterapia, señale la falsa:**
  - a. La crioterapia puede hacerse con un sistema cerrado o abierto.
  - b. Siempre se debe enfriar la probeta previamente antes de poner sobre la lesión.
  - c. En todas las técnicas, el margen de congelación por fuera de la lesión es de 3 mm para lesiones benignas y 5 - 8 mm para lesiones malignas.
  - d. Al poner el rociador de forma continua y perpendicular sobre la lesión se obtiene mayor efectividad en la congelación.
  - e. Los aplicadores pueden servir como fomites para virus.
  
5. **Sobre monitorización en crioterapia, cuál de las siguientes afirmaciones es verdadera:**
  - a. La evaluación clínica es suficiente para las lesiones benignas.
  - b. Las termoagujas tienen un margen de error de  $20^{\circ}\text{C}$  por falta en la calibración del pirómetro.
  - c. La resonancia magnética tiene un amplio uso en la monitorización de cáncer de piel.
  - d. Al monitorear lesiones malignas se busca alcanzar una temperatura de aproximadamente  $30^{\circ}\text{C}$ .
  - e. Al monitorear lesiones benignas se busca alcanzar una temperatura de aproximadamente  $30^{\circ}\text{C}$ .

**6. Cuál de las siguientes afirmaciones acerca de las aplicaciones en crioterapia no es verdadera:**

- a. Puede utilizarse en el manejo de lesiones benignas, premalignas y malignas.
- b. Es útil en pacientes con marcapaso.
- c. Una contraindicación absoluta es la crioglobulinemia.
- d. Es útil en pacientes con sarcoma de Kaposi.
- e. La crioterapia es la terapia de elección para tratar lesiones benignas en cuero cabelludo.

**7. Cuáles de las siguientes afirmaciones no son verdaderas:**

- a. Las hiperplasias pseudoepiteliomatosas requieren el uso de esteroides intralesionales.
- b. La hipopigmentación continúa siendo la complicación más frecuente.
- c. El edema subcutáneo se obtiene sólo con la técnica del *spray* abierto.
- d. En la crioterapia el parámetro más importante es el tiempo de congelación.
- e. La crioterapia es una alternativa para carcinoma basocelular de tipo sólido y superficial.

**8. Las cuatro contraindicaciones absolutas de la crioterapia son:**

- a. \_\_\_\_\_
- b. \_\_\_\_\_
- c. \_\_\_\_\_
- d. \_\_\_\_\_

**RESPUESTAS AL CUESTIONARIO DEL VOLUMEN 13, NÚMERO 2:**

1. d   2. c   3. a   4. a   5. b   6. c   7. c   8. c   9. a   10. d