

Detección del virus del papiloma humano en la neoplasia escamosa de la superficie ocular por histopatología y estudio molecular

Detection of human papilloma virus in ocular surface squamous neoplasia by histopathology and molecular methods

Eréndira Ruiz-Galindo

Oftalmóloga, Unidad de Oftalmología, Hospital General de México, Ciudad de México, México

Marco A. Durán-Padilla, Departamento de Patología, Hospital General de México, Ciudad de México, México

Gerardo Muñoz-Gutiérrez, Oftalmólogo, Unidad de Oftalmología, Hospital General de México, Ciudad de México, México

Acceda a este artículo en siicsalud

Código Respuesta Rápida (Quick Response Code, QR)



www.siicsalud.com/dato/arsic.php/128899

Recepción: 25/4/2013 - Aprobación: 1/6/2013
Primera edición, www.siicsalud.com; 1/7/2013
Segunda edición, ampliada y corregida: 21/2/2014

Enviar correspondencia a: Eréndira Ruiz Galindo, Servicio de Oftalmología, Hospital General de México O.D., Ciudad de México, México
ereruga53@yahoo.com

Especialidades médicas relacionadas, producción bibliográfica y referencias profesionales de los autores.

Abstract

Detection of human papillomavirus (HPV) type 16 and 18 and koilocytosis in ocular surface squamous neoplasia. Methods: Archival paraffin-embedded tissue from 35 ocular surface squamous neoplasias was analysed for the presence of HPV by polymerase chain reaction (PCR), and DNA sequencing. Histological sections of the 34 neoplasias were evaluated for the presence of koilocytosis. Results: No histopathological changes characteristic of HPV infection (Koilocytosis) were observed. HPV-DNA was present in 13 of 26 (50%) beta globin positive neoplasias. HPV type 18 was not found, while HPV type 16 was found in 13 of 26 investigated neoplasias. In addition, the HPV59 genotype was identified in two samples by DNA sequencing, and the HPV35 genotype was identified in one. A double infection with HPV16 and 35 was identified in a single neoplasia, and in two others with HPV16 and 59. Conclusion: There is a strong association between HPV and ocular surface squamous neoplasia, with HPV16 being the most common. Double infection by HPV35 and 59 was also identified. The sensitivity of koilocytosis as an indicator of HPV is low compared with PCR.

Key words: ocular surface squamous neoplasia, human papillomavirus, polymerase chain reaction, koilocytosis

Resumen

Objetivo: Identificar la presencia del virus del papiloma humano (HPV, por su sigla en inglés) genotipos 16 y 18 en la neoplasia escamosa de la superficie ocular (NESO) y la coilocitosis, que es el dato histopatológico en infecciones por este virus. *Métodos:* Se estudiaron 35 muestras en parafina de NESO en busca de infección por HPV por histopatología, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación. *Resultados:* No se encontraron cambios histopatológicos característicos de la infección por HPV (coilocitosis). El ADN del HPV fue detectado en 13 de las 26 muestras (50%) que amplificaron beta globina. Las 13 muestras fueron negativas para HPV18 y positivas para HPV16, en dos muestras además se identificó el genotipo 59 y en una, el genotipo 35 por secuenciación. Tres muestras presentaron doble infección, una por HPV16 y 35, y dos por HPV16 y 59. *Conclusiones:* En este estudio mostramos una relación significativa de la NESO con el HPV; el genotipo 16 fue el más común. También se presentaron infecciones dobles por los genotipos 35 y 59. La PCR es una prueba de mayor sensibilidad que el estudio histopatológico para la detección del HPV.

Palabras clave: neoplasia escamosa de la superficie ocular, virus del papiloma humano, reacción en cadena de la polimerasa, coilocitosis

Introducción

El carcinoma de células escamosas invasor de la conjuntiva ocupa el segundo lugar en frecuencia entre los tumores oculares malignos,¹ se diferencia del carcinoma *in situ* porque rompe la lámina basal del epitelio, lo que ocasiona que la proliferación neoplásica invada el corion subyacente, pudiendo incluso penetrar en el globo ocular y extenderse a la cavidad orbitaria.² La edad de presentación más frecuente es en la sexta década de la vida,^{3,4} pero también se ha observado en pacientes jóvenes con antecedentes de xeroderma pigmentario e inmunosupresión (infección por VIH),⁵ se presenta como una tumoración conjuntival nodular o en placa que puede estar o no pigmentada, de aspecto gelatinoso, con vasos superficiales papiliformes (apariencia papilar) localizada en la región interpalpebral.^{1,3,4} Existen varias opciones terapéuticas que incluyen resección quirúrgica, crioterapia y radiación,⁶ y otras formas de tratamiento como la quimioterapia tópica, interferón, drogas antivirales y la terapia fotodinámica.^{1,4,7-9}

La recurrencia es variable, Murat y colaboradores señalan un 4.5% para el carcinoma *in situ* y un 5.3% carcinomas para invasores.¹⁰ La recurrencia general se estima en 4%.¹¹ Se ha descrito la exposición a los rayos ultravioleta como el factor de riesgo más importante de esta neoplasia.^{3,12-14} Newton y colegas encontraron que la incidencia del carcinoma de células escamosas de la conjuntiva disminuía aproximadamente un 49% por cada 10° de incremento en la latitud.¹⁵ También se relaciona con la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), pues es una neoplasia frecuente en estos enfermos^{13,16} y con la infección por el virus del papiloma humano (HPV), principalmente los serotipos 16 y 18.

En 1956, Koss introdujo el término coilocitosis para describir una célula escamosa de tipo intermedio, con un halo claro alrededor del núcleo, núcleos irregulares, indentados, vesiculosos y binucleados, actualmente se sabe que estos cambios son el resultado de la infección por el HPV; las células coilocíticas son el hallazgo histológico más importante y característico de la infección por este virus.¹⁷

El virus del papiloma humano pertenece a uno de los grupos virales más frecuentes en el mundo (Papillomaviridae) que afectan la piel y las mucosas del cuerpo; está asociado a lesiones premalignas y malignas de estos tejidos. Según su poder oncogénico los serotipos del HPV se clasifican como de alto y bajo riesgo.¹⁷ Los tipos de alto riesgo más conocidos son: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82. En un 95% los serotipos 16 y 18 son reconocidos como agentes etiológicos del cáncer cérvico-uterino y están asociados a lesiones premalignas y malignas del tracto anogenital, boca, laringe, faringe, colon y ojos. Los HPV de bajo riesgo se encuentran asociados con lesiones benignas, como los papilomas de la conjuntiva, y los serotipos más frecuentes son el 6 y el 11.¹⁷⁻²⁰ Algunos autores han detectado la presencia de HPV en lesiones premalignas de la conjuntiva, no así en lesiones malignas;^{12,21} otros investigadores han logrado detectar la presencia del HPV, serotipos 16, 18 y 33, en lesiones malignas, con una frecuencia que varía entre el 50% y 100%, y en conjuntivas normales en un 32%.²¹ Desde 1980 se ha observado un aumento en el número de casos de neoplasia escamosa de la superficie ocular (NESO) principalmente en África y en los Estados Unidos, y se han atribuido a la infección por VIH, el riesgo para esta neoplasia en individuos VIH positivos aumenta 10 veces.^{22,23} Inicialmente, se propuso que el HPV que infecta mucosas estaba asociado a NESO; sin embargo, informes recientes de casos y controles en África muestran que son los serotipos que infectan la piel los que están relacionados con esta neoplasia.^{20,22,24}

El objetivo de este trabajo es estudiar la relación existente entre HPV y NESO, proponer el método más sensible para detectar el virus y conocer los tipos virales asociados a esta tumoración en la población mexicana.

Material y métodos

Muestra

Se estudiaron 35 muestras histopatológicas de NESO incluidas en parafina, obtenidas entre 2002 y 2010, de los archivos de Patología del Hospital General de México. El criterio de inclusión fue la confirmación histopatológica de NESO. Los bloques de parafina se manejaron estrictamente para evitar contaminación, de cada bloque se cortaron cuatro secciones para la confirmación histopatológica de la infección por HPV y para la extracción del ADN.

Extracción de ADN

Para desparafinar, se colocaron las secciones de parafina en tubos de 1.5 ml con 200 μ l de xilol por 20 minutos a 55°C, se hicieron lavados con etanol al 100% y al 75% durante 5 minutos a 55°C, y dos lavados con agua por 5 minutos a 55°C.

Se continuó con la extracción del ADN con el kit *Healthcare Illustra blood genomic Prep Mini Spin Kit* (GE), con las condiciones recomendadas, que consisten en resuspender el *pellet* en 180 μ l de *buffer* de digestión y 20 μ l de proteinasa K e incubar durante toda la noche a 55°C, centrifugar por tres minutos a 11 000 rpm (centrífuga 5415D, Eppendorf) y transferir el sobrenadante a un tubo nuevo, agregar 400 μ l de *buffer* de lisis e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente, el lisado se coloca en una columna y se centrifuga por un minuto a 11 000 rpm, se agregan a la columna 500 μ l de *buffer* de lisis y se centrifuga, 500 μ l de *buffer* de lavado y se centrifuga, la columna se transfiere a un tubo nuevo y se agregan 150 μ l de *buffer* de elución, se centrifuga y la muestra

de ADN se corre en un gel de agarosa al 1%. El ADN se cuantificó por espectrofotometría a 260 y 280 nm y se preservó a -20°C.

Amplificación del ADN por PCR

Cada reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se efectuó en un termociclador Applied Biosystems 2720, en un volumen total de 25 μ l, conteniendo 500 ng en 13 μ l de ADN.

El ADN obtenido fue amplificado con *primers* para betaglobina, un fragmento de 268 pb, con el objeto de asegurar su integridad, las muestras que no amplificaron fueron eliminadas del estudio.

Las reacciones de PCR con los *primers* universalmente aceptados GP5/GP6, L1C1/L2C2 y MY9/MY11, que amplifican fragmentos de 150, 240-250 y 450 pb, respectivamente, de la región L1 del HPV, se llevaron a cabo con un ciclo inicial de desnaturalización a 94°C por 3 minutos para los oligos MY y L1, y por 5 minutos para GP, un ciclo de extensión final a 72°C por 5 minutos para los tres, y 40 ciclos intermedios con desnaturalización a 94°C por 1 minuto para GP y por 30 segundos para MY y L1, *annealing* a 55°C por 30 segundos para MY, 45°C por 30 segundos para L1 y 40°C por 2 minutos para GP, extensión a 72°C por 30 segundos para MY y L1 y 90 segundos para GP. Las muestras que amplificaron con estos *primers* fueron sometidas a otra PCR con *primers* específicos para HPV 16 y 18, con fragmentos de 96 y 98 pb, respectivamente, de la región E6, un ciclo inicial de desnaturalización a 94°C por 2 minutos, un ciclo de extensión final a 72°C por 7 minutos y los 40 ciclos intermedios con desnaturalización a 94°C por 30 segundos, *annealing* a 60°C por 30 segundos, extensión a 72°C por 20 segundos. La interpretación positiva o negativa del resultado de las PCR fue comparada con controles positivos (ADN-HeLa) y negativos (agua destilada). Las muestras que amplificaron con *primers* universales fueron secuenciadas, para tal propósito los productos de la PCR fueron purificados con ExoSAP-IT (USB Corporation, Ohio, EE.UU.) y sujetos al ciclaje de secuenciación señalado por ABIPRISM Big Dye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.), las reacciones de secuenciación se corrieron en el Applied Biosystems 3130 Genetic Analyser Systems. El servidor BLAST se usó para comparar todas las secuencias disponibles en el GenBank.

Análisis estadístico

Todas las comparaciones para significación se hicieron con la prueba no paramétrica de chi al cuadrado y fueron consideradas significativas al 5% ($p = 0.05$).

Resultados

De las 35 muestras incluidas en parafina, una fue eliminada por ausencia de tejido, y 8 porque no amplificaron betaglobina, de las 26 muestras restantes que amplificaron betaglobina (Figura 2), 10 muestras correspondieron a carcinoma invasor y 16 a carcinoma *in situ* (Figura 1), estas muestras fueron de pacientes con edad entre 60 y 81 años, edad promedio de 70 años y sin antecedentes de infección por VIH.

De las 26 muestras, 10 amplificaron GP5/GP6, 7 de carcinoma *in situ* (1, 2, 4, 8, 19, 31, 35), y 3 de carcinoma invasor (12, 13, 24), 7 amplificaron L1C1/L2C2, 7 de carcinoma *in situ* (1, 2, 14, 18, 28, 31, 35). Ninguna muestra amplificó MY, esto fue atribuido a la mala calidad del ADN obtenido de los bloques de parafina, que permitió amplificar fragmentos hasta de 300 pb pero no el fragmento de MY, que es más grande (Figura 3).

Tabla 1. Resumen de los resultados.

Muestra	Histología	PCR			Secuencia L1			
		Betaglobina	GP5/GP6	L1C1/L2C2	HPV16 E6	TF (°C)	Tipo Viral	% Homología
1	in situ	+	+	+	+	79.3	HPV35	89%
2	in situ	+	+	+	+	79.2		
4	in situ	+	+	-	+	79.3		
8	in situ	+	+	-	+	79.5		
12	invasor	+	+	-	+	79.5		
13	invasor	+	+	-	+	79.5		
14	in situ	+	-	+	+	79.5		
18	in situ	+	-	+	+	79.3	HPV59	95%
19	in situ	+	+	-	+	79.3		
24	invasor	+	+	+	+	79.5		
28	in situ	+	-	+	+	79.5		
31	in situ	+	+	+	+	79.5		
35	in situ	+	+	+	+	79.5	HPV59	82%
5	in situ	+	-	-				
6	in situ	+	-	-				
7	in situ	+	-	-				
9	invasor	+	-	-				
10	invasor	+	-	-				
15	invasor	+	-	-				
20	invasor	+	-	-				
21	invasor	+	-	-				
25	in situ	+	-	-				
29	invasor	+	-	-				
30	in situ	+	-	-				
32	invasor	+	-	-				
33	in situ	+	-	-				

Cuatro muestras amplificaron tanto GP5/GP6 como L1C1/L2C2 (1, 2, 31, 35). La secuenciación solo pudo realizarse en las muestras que fueron positivas para L1, se identificó HPV59 en dos muestras (18, 35) (7.5%) con una similitud del 95% y del 82%, respectivamente, y HPV35 en una (1) (3.8%) con una similitud del 89%, y las tres muestras correspondieron a carcinoma *in situ*, se identificó HPV16 con homologías menores del 95% en las cuatro muestras restantes, pero no se identificó HPV18. Las 13 (50%) muestras que amplificaron ADN del HPV con *primers* universales fueron examinadas por PCR con *primers* específicos para HPV16 y HPV18, las 13 muestras fueron positivas para HPV16 (4) y negativas para HPV18. Las 13 muestras positivas para HPV16 fueron examinadas por curvas de fusión, obteniendo en cada una de las muestras un pico único con temperaturas de 79.0°C +.02-.05°C. Tres de las 26 muestras (1, 18, 35) presentaron una doble infección, la muestra 1, con HPV16 y 35, y las muestras 18 y 35 con HPV16 y 59. El estudio histopatológico no demostró la presencia de coilocitosis en ninguna de las 34 muestras. En la Tabla 1 se resumen los resultados del estudio.

Discusión

A diferencia del cáncer cervico-uterino, donde el papel etiológico del HPV está bien establecido,²⁵⁻²⁷ en las NESO los informes en la literatura son contradictorios, lo que estimuló el interés para investigar que ocurre en la población mexicana.

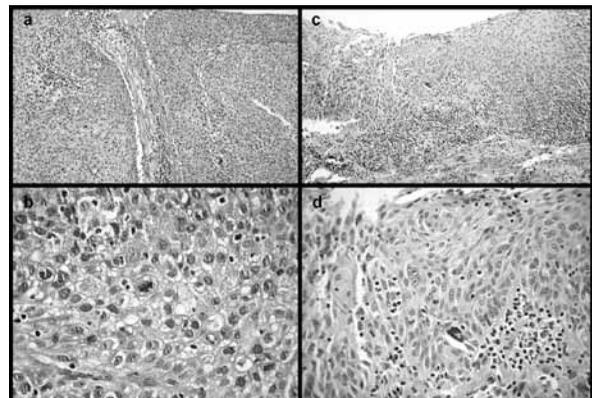


Figura 1. Carcinoma invasor: a) células neoplásicas dispuestas en un patrón sólido que invade el estroma; b) células de gran tamaño con citoplasma vacuolado, núcleos pleomórficos con nucléolos prominentes y figuras de mitosis anormales. Carcinoma *in situ*: c) pleomorfismo celular, membrana basal íntegra, d) células atípicas con pérdida de la maduración celular epitelial, algunas células muestran pleomorfismo nuclear.

En los casos estudiados no había antecedente de infección por VIH, es importante señalarlo pues actualmente se informa que la tumoración conjuntival ha aumentado en frecuencia y se presenta a más temprana edad porque han aumentado los casos de infección por VIH,^{16,22,23,28,29} dato que no se observó en esta población.

En el estudio histopatológico de esta serie de muestras no se encontró la presencia de coilocitosis, lo que está en relación con lo informado por Nakamura y colaboradores,¹⁸ quienes señalan que la coilocitosis puede ser de di-

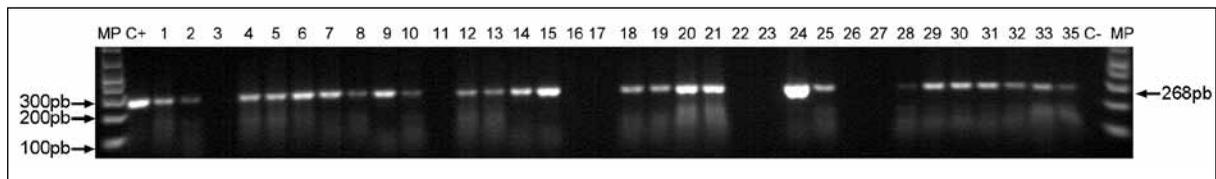


Figura 2. Gel de agarosa con productos de PCR de betaglobina, en el primero y el último carril, el marcador de peso molecular (PM); en el carril 2, el control positivo (C+) (ADN de linfocitos humanos); en el penúltimo carril, el control negativo (C-) (agua destilada), y en el resto de los carriles, los amplificados considerados positivos, porque la banda es del tamaño esperado, y negativos, porque no hay amplificado.

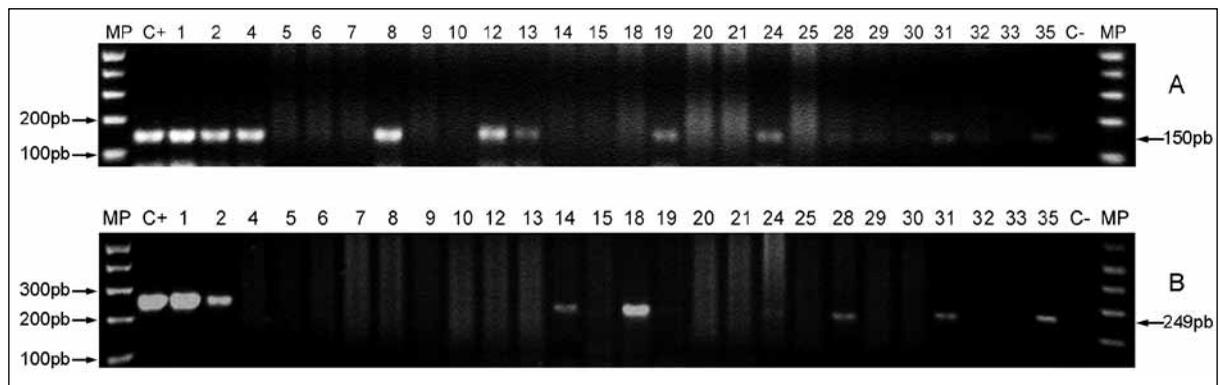


Figura 3. Gel de agarosa con los productos de PCR de GP5/GP6 (A) y de L1C1/L2C2 (B). Marcador del peso molecular (PM), los C+ (ADN-HeLa) y C- (agua destilada), así como las diferentes muestras tanto positivas como negativas. Muestras positivas para GP5/GP6: 1, 2, 4, 8, 12, 13, 19, 24, 31 y 35. Muestras positivas para L1C1/L2C2: 1, 2, 14, 18, 28, 31 y 35. Los amplificados considerados positivos porque la banda es del tamaño esperado.

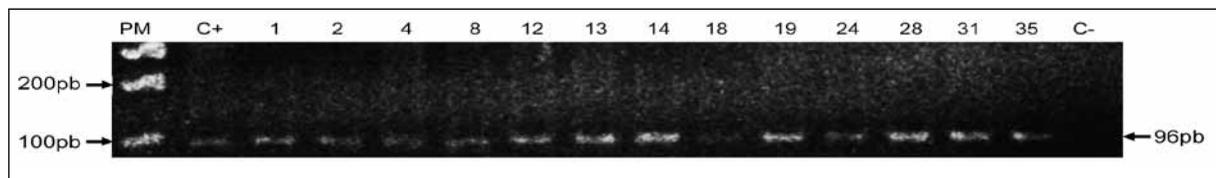


Figura 4. Gel de agarosa con los productos de PCR con iniciadores específicos para HPV16. Marcador de peso molecular (PM), C+ (ADN-HeLa), C- (agua destilada), y los amplificados considerados positivos porque la banda es del tamaño esperado.

fácil detección. En un estudio previo realizado en este mismo hospital, con 39 pacientes con diagnóstico de NESO tratados quirúrgicamente, sólo en un caso con carcinoma *in situ* el estudio histopatológico señaló la presencia de coilocitosis (infección por papilomavirus).⁶

En los casos estudiados, el ADN del HPV fue detectado por PCR con iniciadores universales en 13 muestras de las 26 que amplificaron betaglobina (50%), y las 13 muestras fueron positivas para HPV16, se identificó que la temperatura de fusión para este virus es de 79.0 a 79.05°C. Además, en una muestra se identificó HPV35 y en dos muestras el tipo HPV59, estos dos últimos tipos virales no han sido mencionados con anterioridad en las lesiones tumorales de la conjuntiva. A diferencia de los resultados de este estudio, algunos autores, como Hock-Liew y colaboradores,¹⁹ no encontraron asociación entre la infección por HPV y lesiones neoplásicas de la conjuntiva en 20 casos analizados por PCR; estos autores plantean que el virus no desempeña un papel determinante en la aparición del cáncer de la conjuntiva y que es la exposición a la luz ultravioleta el factor etiológico más importante. Del mismo modo, Tuppurainen y colegas³⁰ no demostraron esta relación en neoplasias de la conjuntiva usando PCR e hibridación *in situ*; Tulvatana y colaboradores¹⁴ tampoco encontraron esta asociación en su estudio de 30 casos de NESO y 30 controles. En el trabajo de Guthoff y col.³¹ las 31 muestras de NESO analizadas fueron negativas para HPV, y 21 muestras presentaron elastosis solar. Man-

derwad y cols,³² en un estudio de 57 neoplasias de la superficie ocular de pacientes de la India, no demostraron la presencia de HPV16 y HPV18. Por el contrario, otros investigadores, como Scott y colaboradores,³³ y Ríos Hernández y colegas,³⁴ señalan la relación del HPV tipo 16 y 18 con la NESO; estos últimos autores también encontraron estos tipos virales en lesiones premalignas, como pterigion y leucoplaca, y sugieren que el virus puede tener un papel determinante en la transformación maligna de estas lesiones.

En la literatura revisada, los genotipos de HPV comunicados en las NESO son 16, 18 y 33, con una frecuencia del 50% y del 100%.^{14,17,21} No se han mencionado los genotipos 59 y 35 que se identificaron en este estudio, tampoco se ha señalado que la infección por HPV en esta neoplasia sea producida por dos tipos virales, como sucedió en tres de las muestras de este estudio. Peralta y colaboradores³⁵ encontraron ADN del HPV en ocho de 36 muestras de carcinoma de células escamosas de la conjuntiva en la población mexicana; el genotipo detectado fue el 16, este resultado coincide con el nuestro, pero nuestro porcentaje de detección de ADN del HPV fue mayor. Mc Donnell y col.³⁶ demostraron la presencia de HPV16 en 88.1% de displasias y carcinoma de la conjuntiva, aunque sugieren que un factor determinante es la luz ultravioleta. Zeynel y Tawfik²¹ encontraron la presencia de HPV16 y 18 en el 29% de carcinomas *in situ* de la conjuntiva y en 23% de carcinomas invasores, pero también fue

identificado en un 32% de conjuntivas normales. Otros autores han encontrado HPV en lesiones premalignas de la conjuntiva y su ausencia en lesiones malignas.¹² Reszcz y col.³⁷ demostraron ADN del HPV por inmunohistoquímica y por PCR-RFLP en lesiones benignas y malignas de párpados y conjuntiva, y concluyen que la infección por HPV no es un factor etiológico signifiante, como lo es la mutación de p53. Por otra parte, Asadi-Amoli y col.³⁸ encontraron ADN del HPV en 46 de 50 muestras de carcinoma de células escamosas de la conjuntiva, pero no fueron detectados los tipos 16, 18, 31 y 33, lo que pone en duda la participación de los tipos genitales del HPV en el carcinoma de la conjuntiva. Legrand³⁹ señala que la detección del HPV es mejor en biopsias congeladas que en bloques de parafina pues la parafina contiene inhibidores de la PCR y la formalina induce degradación del ADN; sin embargo, en la mayoría de los trabajos consultados, los estudios se efectuaron en bloques de parafina, al igual que en el nuestro, y se obtuvieron resultados confiables. El ADN obtenido de bloques de parafina para este trabajo estaba degradado, pero confirmamos su utilidad amplificando un gen constitutivo, que fue la betaglobina, en las muestras

que no amplificaron betaglobina y que fueron eliminadas para el estudio la cantidad de ADN fue menor de 15 ng/μl.

La sensibilidad y especificidad de los procedimientos de PCR en este estudio muestran una variación que puede depender principalmente de los iniciadores utilizados y del tamaño del producto obtenido. Sabemos que para alcanzar el éxito en los ensayos moleculares es necesaria la obtención de una muestra adecuada de ADN procedente del material biológico, en este estudio procedía de bloques de parafina y la calidad del ADN era escasa, pero fue validada con la amplificación del gen de betaglobina.

Conclusión

En el 38% de las muestras estudiadas, obtenidas de la población mexicana, se encontró la asociación de NESO con infección por HPV. El genotipo 16 del HPV fue confirmado en el 50% de las muestras que amplificaron betaglobina; además, se encontraron los genotipos 59 y 35, no mencionados en la literatura, y tres muestras con doble infección. Sugerimos que la PCR es una técnica de gran sensibilidad en la detección del HPV, en comparación con el estudio histopatológico.

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2014
www.siicsalud.com

Los autores no manifiestan conflictos de interés.

Lista de abreviaturas y siglas:

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana; HPV (en inglés): papiloma herpes virus; NESO: neoplasia escamosa de la superficie ocular; PCR (en inglés): reacción en cadena de la polimerasa; PM: peso molecular

Cómo citar este artículo: Ruiz-Galindo E, Durán-Padilla MA, Muñoz-Gutiérrez G. Detección del virus del papiloma humano en la neoplasia escamosa de la superficie ocular por histopatología y estudio molecular. *Salud i Ciencia* 20(4):351-356, Mar 2014.

How to cite this article: Ruiz-Galindo E, Durán-Padilla MA, Muñoz-Gutiérrez G. Detection of human papilloma virus in ocular surface squamous neoplasia by histopathology and molecular methods. *Salud i Ciencia* 20(4):351-356, Mar 2014.

Autoevaluación del artículo

El carcinoma de células escamosas invasor de la conjuntiva ocupa el segundo lugar en frecuencia entre los tumores oculares malignos.

¿Cuál de estas afirmaciones acerca del carcinoma de células escamosas invasor de la conjuntiva es correcta?

A, No compromete la lámina basal del epitelio; B, No se describe invasión del corion subyacente; C, Es más frecuente hacia la sexta década de la vida; D, Todas son correctas; E, Ninguna es correcta.

Verifique su respuesta en: www.siicsalud.com/dato/evaluaciones.php/128899

Bibliografía

- Cervantes G, Rodriguez AA Jr, Leal AG. Squamous cell carcinoma of the conjunctiva: clinicopathological features in 287 cases. *Can J Ophthalmol* 37:14-20, 2002.
- Kiire CA, Srinivasan S, Karp CL. Ocular surface squamous neoplasia. *Int Ophthalmol Clin* 50:35-46, 2010.
- McKelvie PA, Daniell M, McNab A, Loughnan M, Santamaria J.D. Squamous cell carcinoma of the conjunctiva: a series of 26 cases. *Br J Ophthalmol* 86:168-173, 2002.
- Alves LF, Fernandes BF, Burnier JV, Zoroquiain P, Eskenazi DT, Burnier Jr MN. Incidence of epithelial lesions of the conjunctiva in a review of 12,102 specimens in Canada (Quebec). *Arq Bras Oftalmol* 74:21-23, 2011.
- Newton R, Ziegler J, Ateenyi-Agba C, Bousarghim L, Cassabonne D, Beral V, et al. The epidemiology of conjunctival squamous cell carcinoma in Uganda. *Br J Cancer* 87:301-308, 2002.
- Orrostieta V, Ruiz E, Muñoz G. Correlación clínico-patológica en neoplasia escamosa de la superficie ocular. Estudio de 32 casos tratados quirúrgicamente. *Cir Ciruj* 76:461-465, 2008.
- Barbazetto IA, Lee TC, Abramson DH. Treatment of conjunctival squamous cell carcinoma with photodynamic therapy. *Am J Ophthalmol* 138:183-189, 2004.
- Yousef YA, Finger PT. Squamous carcinoma and dysplasia of the conjunctiva and cornea. *Ophthalmology* 119:233-240, 2012.
- Gupta A, Muecke J. Treatment of ocular surface squamous neoplasia with mitomycin C. *Br J Ophthalmol* 94:555-558, 2010.
- Tunc M, Char DH, Crawford B, Miller T. Intraepithelial and invasive squamous cell carcinoma of the conjunctiva: analysis of 60 cases. *Br J Ophthalmol* 83:98-103, 1999.
- Malhotra R, Huilgol SC, Huynh NT, Selva D. The Australian Mohs database: Periocular squamous cell carcinoma. *Ophthalmology* 111:617-623, 2004.
- Piras F, Moore PS, Ugalde J, Perra MT, Scarpa A, Sirigu P. Detection of human papillomavirus DNA in pterygia from different geographical regions. *Br J Ophthalmol* 87:864-866, 2003.
- Kiire CA, Dhillon B. The aetiology and associa-

- tions of conjunctival intraepithelial neoplasia. *Br J Ophthalmol* 90:109-113, 2006.
14. Tulvatana W, Bhattarakosol P, Sansopha L, Sipiyarak W, Kowitdamrong E, Paisuntornsug T, et al. Risk factors for conjunctival squamous cell neoplasia: a matched case-control study. *Br J Ophthalmol* 87:396-398, 2003.
15. Newton R, Ferlay J, Reeves G, Beral V, Parkin DM. Effect of ambient solar ultraviolet radiation on incidence of squamous cell carcinoma of the eye. *Lancet* 347:1450-1451, 1966.
16. Newton R, Ziegler J, Beral V, Mbidde E, Carpenter L, Wabinga H, et al. A case-control study of human immunodeficiency virus infection and cancer in adults and children residing in Kampala, Uganda. *Int J Cancer* 92:622-627, 2001.
17. Sjö NC, Heegaard S, Prause JU, von Buchwald C, Lindeberg H. Human papillomavirus in conjunctival papilloma. *Br J Ophthalmol* 85:785-787, 2001.
18. Nakamura Y, Mashima Y, Kameyama K, Mukai M, Oguchi Y. Detection of human papillomavirus infection in squamous tumors of the conjunctiva and lacrimal sac by immunohistochemistry, in situ hybridization, and polymerase chain reaction. *Br J Ophthalmol* 81:308-313, 1997.
19. Hock-Liew E, Tsun-Mei L, Shiao-Yen C, Shing-Mian W, Wei-jen C. Failure to detect human papillomavirus DNA in malignant epithelial neoplasms of conjunctiva by polymerase chain reaction. *Am J Clin Pathol* 117:429-436, 2002.
20. Sjö NC, von Buchwald C, Cassonnet P, Norrild B, Prause JU, Vinding T, et al. Human papillomavirus in normal conjunctival tissue and in conjunctival papilloma: types and frequencies in a large series. *Br J Ophthalmol* 91:1014-1015, 2007.
21. Zeynel KA, Issa TM. Human papilloma virus in neoplastic and non-neoplastic conditions of the external eye. *Br J Ophthalmol* 81:595-598, 1997.
22. Ateenyi-Agaba C, Franceschi S, Wabwire-Mangen F, Arslan A, Othieno E, Binta-Kahwa J, et al. Human papillomavirus infection and squamous cell carcinoma of the conjunctiva. *Br J Cancer* 102:262-267, 2010.
23. Guech-Ongey M, Engels EA, Goedert JJ, Biggar RJ, Mbulaiteye SM. Elevated risk for squamous cell carcinoma of the conjunctiva among adults with AIDS in the United States. *Int J Cancer* 122:2590-2593, 2008.
24. de Koning MN, Waddell K, Magyezi J, Purdie K, Proby C, Harwood C, et al. Genital and cutaneous human papillomavirus (HPV) types in relation to conjunctival squamous cell neoplasia: a case-control study in Uganda. *Infect Agent Cancer* 3:12. [PMC free article] [PubMed], 2008.
25. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol* 11:1048-1056, 2010.
26. Wentzensen N, Schiffman M, Dunn T, Zuna RE, Gold MA, Allen RA, et al. Multiple human papillomavirus genotype infection in cervical cancer progression in the study to understand cervical cancer early endpoints and determinants. *Int J Cancer* 125:2151-2158, 2009.
27. del Mistro A, Salamanca H, Trevisan R, Bertorelle R, Parenti A, Bonoldi E, et al. Human papillomavirus typing of invasive cervical cancer in Italy. *Infect Agent Cancer* 1:9-12, 2006.
28. Nagaiah G, Stotler C, Orem J, Mwanda WO, Remick SC. Ocular surface squamous neoplasia in patients with HIV infection in sub-Saharan Africa. *Curr Opin Oncol* 22:437-442, 2010.
29. Spitzer MS, Batumba NH, Chirambo T, Bartz-Schmidt KU, Kayange P, Kalua K, et al. Ocular surface squamous neoplasia as the first apparent manifestation of HIV infection in Malawi. *Clin Exp Ophthalmol* 36:422-425, 2008.
30. Tuppurainen K, Raninen A, Kosunen O, Kankkunen JP, Kellokoski J, Syrjänen S, et al. Squamous cell carcinoma of the conjunctiva. Failure to demonstrate HPV DNA by in situ hybridization and polymerase chain reaction. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 70:248-254, 1992.
31. Guthoff R, Marx A, Stroebel P. No evidence for a pathogenic role of human papillomavirus infection in ocular surface squamous neoplasia in Germany. *Curr Eye Res* 34:666-671, 2009.
32. Manderwad GP, Kannabiran C, Honavar SG, Vemuganti GK. Lack of Association of high-risk human papillomavirus in ocular surface squamous neoplasia in India. *Arch Pathol Lab Med* 133:1246-1250, 2009.
33. Scott IU, Karp CL, Nuovo GJ. Human papillomavirus 16 y 18 expression in conjunctival intraepithelial neoplasia. *Ophthalmology* 109:542-547, 2002.
34. Rios HM, Melgares RM, Hernández MM, Joan FA. Carcinoma epidermoide de la conjuntiva, su posible asociación con el papilomavirus humano. *Rev Cubana Med* 43:8-16, 2004. Disponible en: <http://www.sld.cu/revistas/med/indice.htm>
35. Peralta R, Valdivia A, Estañol P, Villegas V, Pimenta C, Treviño E, et al. Low frequency of human papillomavirus infection in conjunctival squamous cell carcinoma of Mexican patients. *Infect Agent Cancer* 6:24-29, 2011.
36. McDonnell JM, McDonnell PJ, Mounts P, Wu TC, Green WR. Demonstration of papillomavirus capsid antigen in human conjunctival neoplasia. *Arch Ophthalmol* 104:1801-1805, 1986.
37. Reszec J, Zalewska R, Pepinski W, Skawronska M, Piotr B, Lech C. The evaluation of human papillomavirus and p53 gene mutation in benign and malignant conjunctiva and eyelid lesions. *Folia Histochem Cytobiol* 48:530-533, 2010.
38. Asadi-Amoli F, Heidari AB, Jahanzad I, Jabbarvand M. Detection of human papillomavirus in squamous cell carcinoma of conjunctiva by nested PCR: a case control study in Iran. *Acta Med Iran* 49:7070-714, 2011.
39. Legrand B, Mazancourt P, Durigon M, Khalifat V, Crainic K. DNA genotyping of unbuffered formalin fixed paraffin embedded tissues. *Forensic Sci Int* 125:205-211, 2002.

Curriculum Vitae abreviado de la autora

Eréndira Ruiz Galindo. Médica oftalmóloga, Doctorado en Biomedicina Molecular, Adscrita al Servicio de Oftalmología del Hospital General de México. Profesor de Oftalmología en la Escuela de Medicina del Instituto Politécnico Nacional.