



DRA. VERÓNICA ESCALANTE GÓMEZ
MÉDICO ADSCRITO DEL DEPARTAMENTO DE ORBITA, PARPADOS Y VÍA
LAGRIMAL F.H.N.S.L, I.A.P.

MC. ATZÍN ROBLES CONTRERAS.
CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMEDICA F.H.N.S.L, I.A.P.

DR. ALEJANDRO BABAYÁN SOSA
JEFE DE ENSEÑANZA F.H.N.S.L, I.A.P.

DR. JAIME LOZANO ALCÁZAR
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIDAD F.H.N.S.L, I.A.P.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS.

En primer lugar quiero agradecer a Dios por llenarme de bendiciones y oportunidades que espero saber aprovechar.

A mi madre quien ha sido un continuo ejemplo de valor, fuerza, coraje, trabajo, entrega, amor y amistad. Gracias por brindarme apoyo incondicional y enseñarme a ser un mejor ser humano día a día.

A mi padre que hasta en sus últimos momentos se preocupó por mí y mi futuro, dándome las armas e impulso para seguir adelante y alcanzar mis metas pese a cualquier adversidad.

A mi abue Carmen por enseñarme que los límites se los pone uno mismo y demostrarme que siempre podemos un poco más.

A Víctor Cerino por permitirme crecer a su lado, por enseñarme algo nuevo cada día, por la comprensión, paciencia, dedicación y por hacerme sentir tan especial siempre.

A mis Hermanas por la linda compañía, risas y gratos momentos que le dan sentido a todo lo demás.

Gracias al Dr. Alejandro Babayan, Oscar Baca y Jaime Lozano por haberme abierto las puertas de uno de los centros oftalmológicos más reconocidos del país, permitiéndome así, alcanzar una de mis metas en la vida.

CONTENIDO.

• RESUMEN.....	4
• RESUMEN INGLES.....	6
• ANTECEDENTES.....	8
• OBJETIVOS.....	16
• PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
• JUSTIFICACIÓN.....	17
• HIPÓTESIS.....	18
• MATERIAL Y MÉTODOS.....	18
• RESULTADOS.....	20
• DISCUSIÓN.....	27
• CONCLUSIÓN.....	27
• REFERENCIAS.....	29

EXPRESIÓN DEL MARCADOR TUMORAL Ki-67 EN PACIENTES CON CARCINOMA EPIDERMOIDE DE LA CONJUNTIVA DE ACUERDO A SU GRADO DE MALIGNIDAD Y RECURRENCIA.

RESUMEN.

El carcinoma epidermoide de la conjuntiva (CSCC) es el proceso maligno más frecuente de la superficie ocular. La cirugía como tratamiento único tiene una recurrencia > 50%, siendo en ocasiones, necesario acudir a alternativas terapéuticas adicionales. La recidiva se observa en casos con alta malignidad, bordes difusos, gran extensión, índice de proliferación alto (Ki-67 score) y márgenes positivos de la biopsia. Ki-67 es una proteína indispensable para la proliferación celular, se ha estudiado como indicador en diferentes neoplasias malignas, demostrando su valor pronóstico para recurrencia y supervivencia. La expresión de Ki-67 es considerada por la 7ª edición del American Joint committee on cáncer para la estadificación del CSCC, sin embargo, no se ha establecido una relación concreta entre esta y el grado de malignidad del carcinoma.

Objetivo: Identificar patrones de tinción específicos por la expresión de Ki-67, de acuerdo al grado de malignidad del CSCC.

Metodología: Se realizó inmunofluorescencia a muestras de pacientes con CSCC teñidas con Ki-67; se analizó la intensidad de expresión y disposición del biomarcador y se estableció la relación con el grado de malignidad de las muestras.

Resultados: Se encontraron patrones de tinción diferentes de Ki-67 en cada estadio, donde, a mayor grado de malignidad de CSCC, mayor fue la expresión de Ki-67.

Conclusión: Existe una relación entre el nivel de expresión de Ki-67 y el estadio del CSCC. Es posible determinar el grado de malignidad del carcinoma de acuerdo al patrón de tinción específico por la expresión de ki-67.

Palabras clave: Carcinoma epidermoide de la conjuntiva (CSCC), expresión de Ki-67, recidiva.

TUMOR MARKER Ki-67 EXPRESSION IN PATIENTS WITH SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE CONJUNCTIVA ACCORDING TO ITS MALIGNANCY GRADE AND RECURRENCE.

SUMMARY.

Conjunctival squamous cell carcinoma (CSCC) is the most common malignancy of the ocular surface. Surgery as only treatment have a recurrence > 50%, and sometimes necessary to resort to alternative therapies such as chemotherapy. Recurrence was observed in patients with highly malignant, diffuse edges, large size, high proliferation index (Ki-67 score) and positive biopsy margins. Ki-67 is a protein required for cell proliferation, which has been studied as an indicator in different malignancies, demonstrating its prognostic value for recurrence and survival. Ki-67 expression is considered by the American Joint Committee on Cancer 7th edition staging for CSCC, but not set a specific relationship between this and the degree of malignancy of the carcinoma.

Objective: To identify specific staining patterns by Ki-67 expression, according to the degree of malignancy of the CSCC.

Methodology: We did immunofluorescence for Ki-67 marker to samples from patients with CSCC; intensity of biomarker expression was analyzed, and established the relation with the degree of malignancy of the samples.

Results: There was a different arrangement of Ki-67 in each malignant grade, the greater degree of malignancy, greater expression of ki-67.

Conclusion: There is a relation between the level of expression of Ki-67 and stage of the CSCC. It is possible to determine the degree of malignancy of carcinoma according to the pattern of specific staining for the expression of Ki-67.

Keywords: Squamous cell carcinoma of the conjunctiva, biomarker Ki-67, recurrence.

ANTECEDENTES.

El carcinoma epidermoide de la conjuntiva (CSCC por sus siglas en ingles) es el proceso maligno más frecuente en la superficie ocular. ¹ Sin embargo es una lesión infrecuente, su prevalencia varia de 0.02 – 3.5 por cada 100, 000 habitantes al año. ² Es más frecuente encontrarlo en hombres (78%), mayores de 60 años y caucásicos (90%). Se ha reportado con mayor frecuencia en climas tropicales, cercanos al ecuador con latitudes de 30 – 45°.

Como factores de riesgo se han identificado: la exposición a luz ultravioleta, radiación ionizante, Virus del Papiloma Humano (VPH), inmunosupresión (VIH), neoplasia extraocular, tabaquismo, polvo, viento, exposición química y a productos del petróleo, queratoconjuntivitis atópica, piel o iris claros y xeroderma pigmentoso. ³ Sin embargo numerosos reportes aseguran que, por mucho, el factor de riesgo por excelencia es la exposición a rayos UV A ó B y en segundo lugar el VPH (serotipos 6, 11,16 y 18).

Los pacientes que presentan esta lesión suelen referir sensación de cuerpo extraño, ojo rojo e irritación ocular. El tiempo de evolución es muy variable, que va desde 2 semanas hasta más de 5 años.

Clínicamente el CSCC tiene diferentes formas de presentación, como son: nodular, gelatinosa, leucoplasica o difusa; este se manifiesta como una lesión elevada, no pigmentada, móvil sobre la esclera, con vasos sanguíneos

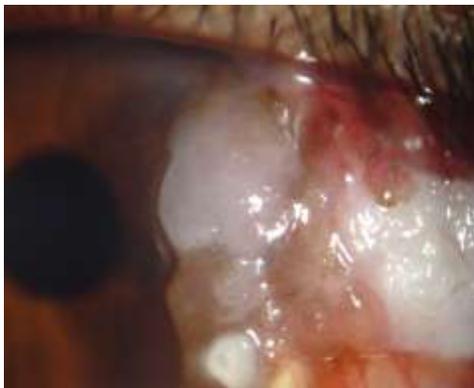
nutricios dispuestos en mechones característicos (en cola de cochino o tirabuzón), de nacimiento yuxtalimbal, en el área interpalpebral. 4-5



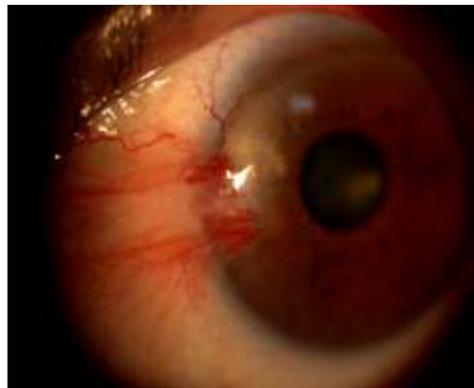
CSCC Gelatinoso.



CSCC Nodular.



CSCC Leucoplásico.



CSCC Difuso.

Es una neoplasia lentamente progresiva, con un bajo potencial maligno, con un espectro que va de displasia intraepitelial a carcinoma invasivo de células escamosas. 6

La lesión preinvasiva se conoce como neoplasia conjuntival intraepitelial (NIC), la cual se encuentra limitada al epitelio. Por otro lado la lesión invasiva es conocida como carcinoma de células escamosas (SCC) y este infiltra mas allá de la membrana basal del epitelio y sustancia propia. ⁷

En los casos de enfermedad invasiva, el CSCC puede afectar por contigüidad a la cornea, párpados, orbita, estructuras intraoculares y senos paranasales adyacentes, asociándose a un pobre pronóstico con probabilidad de metastatizar a cerebro, ganglios linfáticos regionales y otros órganos. ⁸ A pesar de ello la metástasis sistémica es sumamente rara (< 1%). ⁹

En contraste con la descripción clásica de un curso clínico lento y relativamente benigno, los CSCC relacionados con inmunodeficiencia (VIH) presentan un crecimiento rápido con gran tendencia a la invasión y muy altas tasas de recurrencia. ¹⁰

El diagnostico del CSCC se realiza por medio de citología exfoliativa o con citología de impresión, sin embargo ésta no permite diferenciar entre un carcinoma *in situ* y uno invasivo. Dicha distinción puede ser evaluada únicamente mediante el estudio histopatológico de tejido biopsiado. ¹¹

En cuanto a los tipos histológicos podemos encontrar carcinoma espino celular (más frecuente), mucoepidermoide (mayor capacidad de invasión), células claras y células epidermoides (menos frecuente).

Su diagnóstico diferencial debe realizarse con pterigion, pingüecula, papiloma, melanoma conjuntival, nevo, pannus, enfermedad actínica, disqueratosis intraepitelial, queratinización del epitelio corneal, hiperplasia pseudoepiteliomatosa. ¹²⁻¹³

El tratamiento del CSCC es complicado debido a su alto índice de recurrencias y el daño que se produce a estructuras adyacentes. ¹⁴

La cirugía como único tratamiento tiene tasas de recurrencia mayores al 50%. La mayoría de los tumores tienen gran tropismo por las células limbares, generando gran riesgo de remover células stem del limbo al momento de la escisión de la lesión, con la consiguiente afección de la superficie ocular; en el afán de evitar dicha situación el cirujano se enfrenta a altas posibilidades de dejar partículas subclínicas de CSCC en el tejido del paciente. ¹⁵

Por tales motivos el tratamiento tradicional involucra la escisión del tumor completo, acompañada la mayoría de las veces de la aplicación de crioterapia a los márgenes quirúrgicos y el análisis histopatológico de los márgenes del tejido biopsiado. ¹⁶ La crioterapia reduce la recurrencia en 11%. No obstante en tumores difusos que involucran la cornea, la crioterapia suele ser de ayuda limitada. ¹⁷

Diferentes alternativas terapéuticas se han estudiado como terapia única o adjunta a la biopsia escisional, la mayoría de ellas son agentes tópicos como la Mitomicina C, 5- fluorouracilo, interferón alfa-2b, ciclosporina A y Cidofovir. ¹⁸ Otras terapias sugeridas son queratectomía foto terapéutica con láser

excimer (PTK) y la Radioterapia (RU – 106), todas aplicadas en tumores primarios y recidivantes. ¹⁹

Estas terapias se han reportado como efectivas en magnitud variable para la resolución y prevención de la recurrencia con baja morbilidad de la superficie ocular. ²⁰

En especial los tratamientos tópicos han demostrado efectividad en la curación de CSCC teniendo como ventaja sobre la escisión quirúrgica la capacidad de tratar todas las células anormales de la superficie ocular mientras conserva relativamente las células limbales. ²¹⁻²²

Por mucho el quimioterapéutico tópico mas estudiado ha sido la Mitomicina C, recientes publicaciones hacen referencia acerca de su eficacia para el tratamiento de CSCC en particular en su forma in situ. ²³ La Mitomicina C es un agente antimitótico que aplicado de forma tópica puede brindar buen control tumoral, sin embargo genera disrupción de las células madre limbales generando alteraciones crónicas de la superficie ocular. Algunos autores mencionan que solo se ha registrado toxicidad moderada con su uso, la cual es fácilmente controlada con un ciclo corto de esteroides. ²⁴ El uso de interferón alfa-2b intralesional ha demostrado ser efectivo para el tratamiento de carcinomas epidermoides y basocelulares primarios pequeños, sin efectos tóxicos. En varios reportes se ha referido éxito con el uso de interferón alfa 2b tópico en lesiones recurrentes. ²²

La recurrencia se observa en las formas con gran malignidad, bordes difusos, lesiones extensas, alto índice de proliferación (Ki-67 score) y márgenes positivos en el tejido biopsiado, siendo los dos últimos, los factores que ofrecen mayor predictibilidad de recidiva.¹¹ Las tasas de recurrencia reportadas son del 5 - 33% en casos con márgenes limpios y mayor a 56% en casos con margen quirúrgico positivo.¹⁹ A 5 y 10 años la recurrencia encontrada es entre 5 – 26% y 42 - 56 % respectivamente.²⁰

La impresión citológica es la herramienta más útil para la detección temprana de recidiva.

El antígeno Ki-67 es una proteína nuclear de 345 a 395 kD que se encuentra expresada en todas las partes activas del ciclo celular (G1, S, G2 y mitosis) y está ausente en células en reposo (G0), no es detectable, tampoco, en procesos de reparación de ADN. La presencia de Ki-67 es estrictamente asociada al ciclo celular sugiriendo un rol importante en el mantenimiento y regulación de la división celular, es decir es una proteína necesaria para la proliferación celular.²⁵

Durante la interfase, Ki-67 puede ser exclusivamente detectado dentro del núcleo celular, en mitosis la mayoría de las proteínas son reubicadas en la superficie de los cromosomas.²⁶

Esta proteína nuclear es codificada en humanos por el gen MK167 y es identificada por el anticuerpo monoclonal MIB1, el cual se utiliza para determinar

el índice de expresión de Ki-67. Una de sus principales ventajas respecto al anticuerpo original Ki-67, es que puede ser fijado con formalina – parafina.

El antígeno Ki-67 es un excelente marcador para conocer el crecimiento y la proliferación de una determinada población de células. La fracción de Ki-67 positiva para células tumorales casi siempre se relaciona con el curso clínico del cáncer.

La tasa de proliferación celular (Ki-67 score) se ha utilizado como un indicador pronóstico en numerosas neoplasias malignas como: cáncer prostático, cerebral, mama, tiroides, Linfoma no Hodgkin, Glioma y Sarcoma de tejidos blandos. En estos casos, la medición de Ki-67 como pronóstico para la supervivencia y recurrencia del tumor, ha sido repetidamente probada en análisis multivariados. ²⁷

Ki – 67 Ha sido empleado también para diferenciar tumores benignos de malignos.

La expresión del biomarcador Ki-67 ha sido considerada por el sistema de estadificación de carcinoma epidermoide de conjuntiva de la American Joint committee on cáncer 7^a edición, como uno de los factores a evaluar al estadificar esta neoplasia. (Tabla1)

TABLA 1. Sistema de estadificación del carcinoma epidermoide de la conjuntiva.

(American Joint Committee on Cáncer, 7ª edición).

Tamaño del tumor (T)	<p>TX Tumor primario no puede ser evaluado.</p> <p>T0 Sin evidencia de tumor primario.</p> <p>Tis Carcinoma in situ.</p> <p>T1 Tumor de 5mm o menos.</p> <p>T2 Tumor mayor a 5mm, sin invasión de estructuras adyacentes.*</p> <p>T3 Tumor que invade estructuras adyacentes (excepto la órbita).</p> <p>T4 Tumor que invade la órbita con o sin extensión a otros tejidos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • T4a: tumor que invade la órbita y tejidos suaves, sin invasión a hueso. • T4b: Tumor que invade hueso. • T4c: Tumor que invade senos paranasales. • T4d: Tumor que invade cerebro.
Nódulos linfáticos regionales (N)	<p>NX Nódulos linfáticos regionales no pueden ser evaluados.</p> <p>N0 Sin metástasis a nódulos linfáticos regionales.</p> <p>N1 Metástasis a nódulos linfáticos regionales.</p>
Metástasis a distancia (M)	<p>MX Metástasis a distancia no puede ser evaluada.</p> <p>M0 Sin metástasis a distancia.</p> <p>M1 Metástasis a distancia.</p>
Clasificación histopatológica. (solo aplica para carcinoma de la conjuntiva)	<ul style="list-style-type: none"> • NIC, carcinoma de células escamosas in situ. • Carcinoma de células escamosas. • Carcinoma mucoepidermoide. • Carcinoma de células en huso. • Carcinoma de glándulas sebáceas incluyendo diseminación pagetoide (conjuntival). • Carcinoma de células basales.
Grado histológico (G)	<p>GX El grado no puede ser evaluado.</p> <p>G1 Bien diferenciado.</p> <p>G2 Moderadamente diferenciado.</p> <p>G3 Poco diferenciado.</p> <p>G4 Indiferenciado.</p>
Biomarcador. Ki-67 fracción de crecimiento.	<ul style="list-style-type: none"> • Fracción de crecimiento Ki-67 < 5%. • Fracción de crecimiento Ki-67 de 5 - <10%. • Fracción de crecimiento Ki-67 del 10 - <20%. • Fracción de crecimiento Ki-67 del 20 - 50%. • Fracción de crecimiento Ki-67 > 50%.
<p>NIC = Neoplasia intraepitelial conjuntival.</p> <p>*Estructuras adyacentes son: Cornea, compartimentos intraoculares, conjuntiva tarsal, puntos lagrimales, canalículos, carúncula, pliegue semilunar, lamela posterior y anterior de los párpados, bordes libres palpebrales.</p> <p>AJCC Cancer Staging Manual. 7th ed. New York, New York Springer. ¹¹</p>	

OBJETIVOS.

Objetivos específicos.

- Valorar la expresión de biomarcador Ki-67 en carcinoma epidermoide de la conjuntiva.
- Correlacionar la expresión de Ki-67 con las características clínicas y de malignidad que presentan los pacientes con carcinoma epidermoide de la conjuntiva.
- Establecer el valor pronóstico de la expresión del marcador tumoral Ki – 67 para la recidiva de carcinoma epidermoide de la conjuntiva.

Objetivo General.

- Identificar patrones de tinción específicos por la expresión de Ki-67, de acuerdo al grado de malignidad del CSCC.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

¿Es diferente la expresión del biomarcador Ki-67 según el grado de malignidad del carcinoma epidermoide de la conjuntiva?

¿Es útil el biomarcador Ki-67 como predictor de recidiva de carcinoma epidermoide de la conjuntiva?

JUSTIFICACIÓN.

Las tasas de recidiva del carcinoma epidermoide de la conjuntiva reportadas en la literatura son muy altas. La recurrencia se observa con mayor frecuencia en las formas con alto grado de malignidad, bordes difusos, gran extensión, alto índice de proliferación (Ki-67 score) y márgenes positivos en la biopsia escisional.

La expresión del antígeno Ki-67 se ha tomado en cuenta en el sistema de estadificación del carcinoma epidermoide de la conjuntiva en la 7ª edición del American joint committee on Cancer. Sin embargo, no se ha estudiado de manera concreta si el grado de expresión de Ki-67 se relaciona con el estadio del carcinoma, ni se ha documentado la utilización del marcador tumoral Ki-67 como factor pronóstico de recidiva, de ahí la importancia de corroborar esta relación y valorar su futura utilización para la toma de decisiones al momento de establecer una conducta terapéutica ante este padecimiento.

HIPÓTESIS.

El antígeno Ki-67 es un excelente marcador para determinar el índice de proliferación celular, su expresión se ha relacionado con el curso clínico de algunos tipos de cáncer como el prostático, cerebral, linfoma no Hodgkin, glioma, sarcoma de tejidos blandos, tumores tiroideos y cáncer de mama. En estos casos, el valor pronóstico de Ki-67 para la supervivencia y la recurrencia del tumor ha sido repetidamente probado.

El patrón de expresión de Ki-67 debe ser diferente en cada estadio del carcinoma epidermoide de la conjuntiva. Es probable que a mayor expresión del biomarcador Ki-67, mayor sea el grado de malignidad y la tasa de recidiva.

MATERIAL Y METODOS.

Este estudio se llevo a cabo en el Hospital Fundación Nuestra Señora de la Luz, que es una institución de asistencia, docencia e investigación de alta especialidad en oftalmología, apoyados en su centro de investigación biomédica.

DISEÑO DEL ESTUDIO.

Es un estudio retrospectivo, observacional, transversal, comparativo.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN. Pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de la conjuntiva corroborado por análisis histopatológico, registrados en los libros de patología del hospital FHNSL en los años 2003 y 2004.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN. Pacientes con diagnóstico clínico o por citología de carcinoma epidermoide de la conjuntiva que no cuenten con el reporte histopatológico de la lesión, aquellos en los que el reporte de patología no refiera un diagnóstico claro o que no cuenten con el registro de datos completo.

METODOLOGÍA.

Se recabaron los datos de pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de la conjuntiva corroborado por estudio histopatológico con registro en los libros de patología de los años 2003 y 2004 de nuestra institución; se registraron el número de identificación, sexo, edad, localización, extensión de la lesión, diagnóstico histopatológico, grado de malignidad y actividad tumoral en el borde de la muestra. Se prestó especial atención en reportar si se trataba de un carcinoma primario o recidivante.

Una vez que el registro de pacientes se completó, recolectamos las muestras obtenidas por medio de biopsia escisional, las cuales se encontraban almacenadas en bloques de parafina, de donde se extrajo un corte de 4µm con muestra representativa del tejido biopsiado; dichos cortes fueron fijados en laminillas electrocargadas. Una vez que las muestras estaban fijadas, fueron

sometidas a un proceso de desparafinización, rehidratación de los cortes, tinción con reactivos para el marcador tumoral Ki-67 y una contratinción con DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole), finalmente se realizó un análisis por inmunofluorescencia.

Una vez preparadas todas las muestras se realizó un análisis estadístico descriptivo de la población estudiada, así como el análisis de la expresión y disposición del biomarcador Ki-67 en los tejidos, posteriormente se estableció la relación con el grado de malignidad de las muestras de acuerdo a su reporte de patología.

RESULTADOS.

Se recolectaron los datos de 33 pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de la conjuntiva, corroborado por estudio histopatológico y registrados en los libros de patología. En el año 2003 se registraron 16 pacientes y en el 2004 un total de 17 pacientes. Un paciente del año 2004 fue eliminado debido a que no se encontró su pieza de patología, quedándonos con 32 pacientes para el estudio y 33 muestras de patología, debido a que un paciente tuvo recidiva (2 muestras de un mismo paciente).

De los 32 pacientes con los que contábamos 50% (16 pacientes) fueron masculinos y 50% femeninos. El rango de edad fue 31 - 91 años, con una edad promedio de 61 años, el tiempo de evolución del padecimiento, referido por

los pacientes, iba de 1 mes a 7 años. Aunque la mayoría de los pacientes reportaron entre 2 meses y 1 año de evolución.

El grado de diferenciación según los reportes de patología fue 24.24% (8 muestras) bien diferenciados, 27.27% (9 muestras) moderadamente diferenciados y 12.12% (4 muestras) poco diferenciados. En el 36.36% (12 muestras) restante no era referido el grado de diferenciación. (Fig. 1)

De acuerdo al grado de invasión 45.45% (15 muestras) se reportaban *in situ* y el 24.24% (8 muestras) eran invasores, en el 30.30% (10 muestras) restante no se refería el grado de invasión. El 15.62% (5 pacientes) eran casos de carcinoma epidermoide recidivante. (Fig. 2)

De las 33 muestras el 81.2 % (27 muestras) se reportaban con tumoración en los bordes y tan solo el 18.8 % (6 muestras) con bordes libres de tumoración.

En cuanto a la expresión del marcador tumoral en estudio, se encontró una disposición diferente en cada estadio, donde, a mayor grado de malignidad, mayor fue la expresión de Ki-67. (Fig. 3, 4, 5 y 6)



Fig. 1

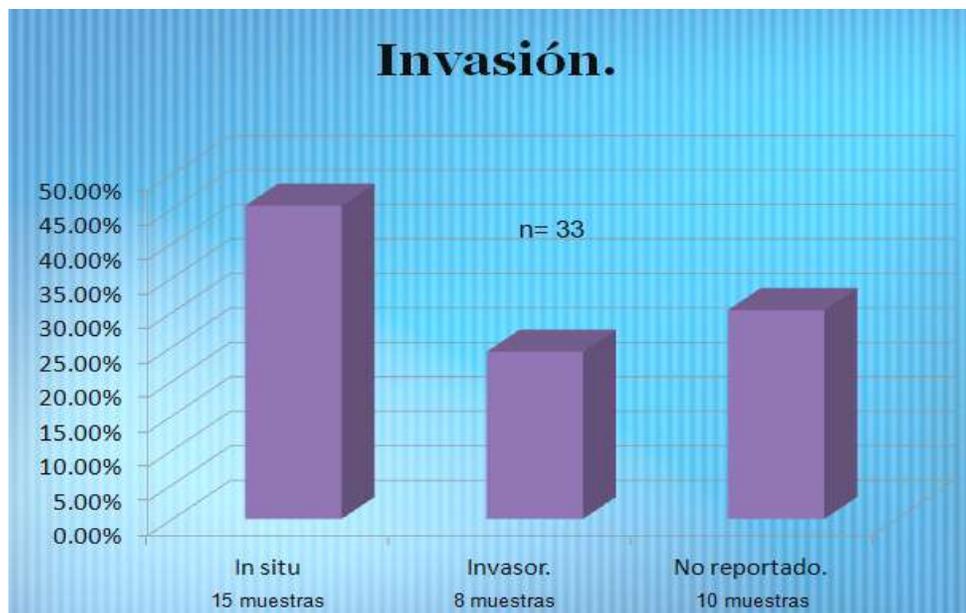


Fig. 2

DAPI

Ki67-FITC

DAPI-Ki67

Conjuntiva
sana.

In Situ

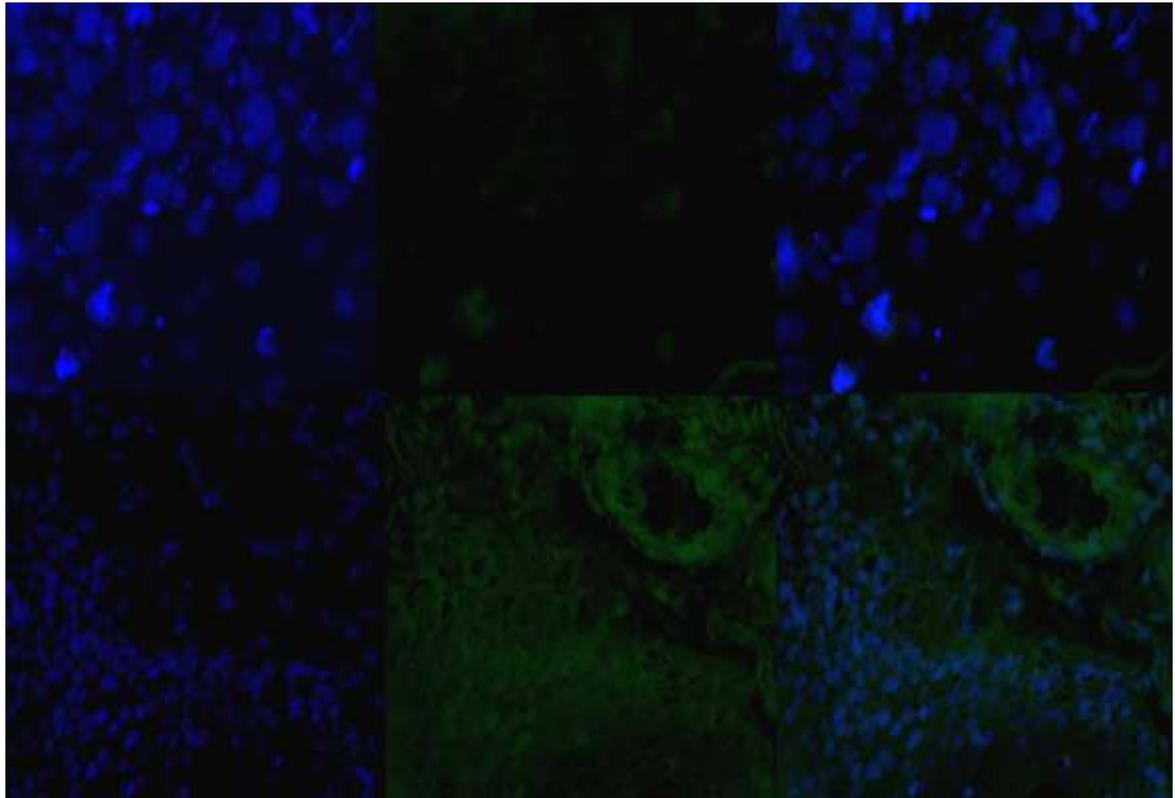
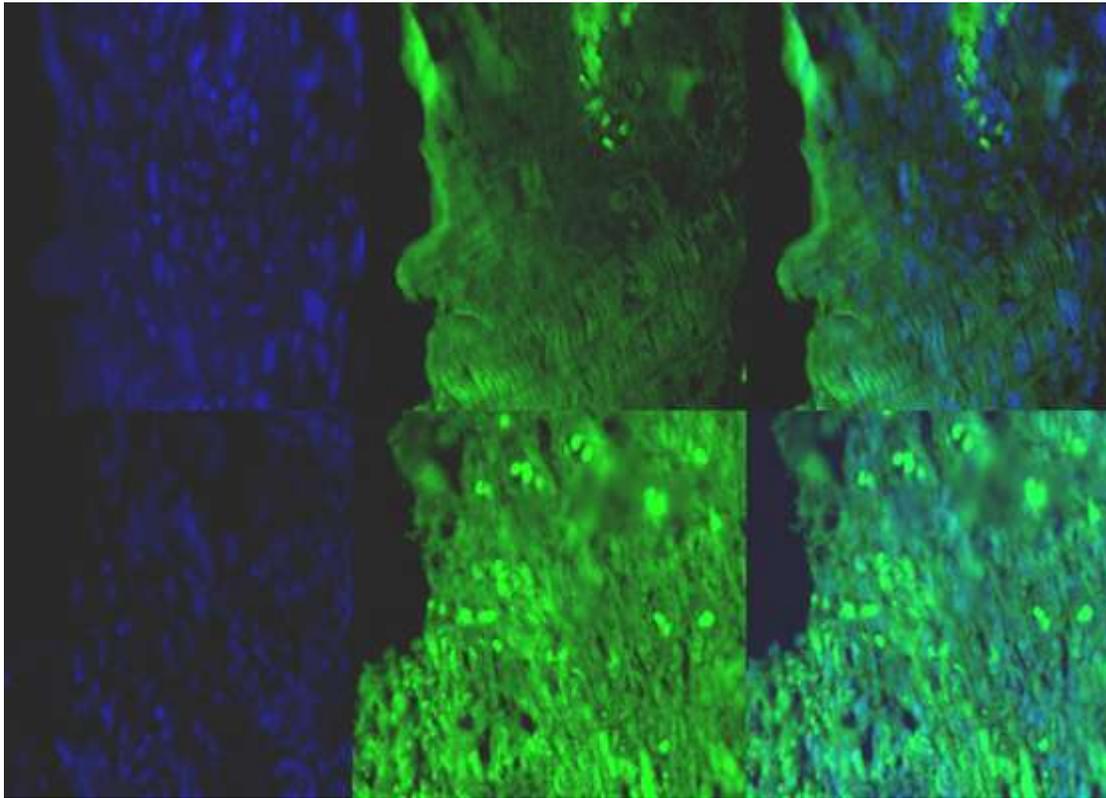


Fig. 3 Todos los núcleos celulares se observan de color azul brillante por la tinción con DAPI. En la conjuntiva sana no se detecto captación de Ki-67 (ausencia de núcleos verdes). En el CSCC *in situ* se observan algunos núcleos sanos (azul brillante) y otros con una tinción velada (azul blanquecino) indicando una captación débil de Ki-67.

DAPI

Ki67-FITC

DAPI-Ki67



Poco
diferenciado

Moderadamente
diferenciado

Fig. 4 Nótese la presencia de pocos núcleos sanos (azul brillante) y una cantidad considerable captando Ki-67 de forma discreta en un CSCC poco diferenciado. En el caso del CSCC modereadamente diferenciado, técnicamente no observamos núcleos sanos, todos los núcleos se perciben con una captación moderada de Ki-67 (verdosos).

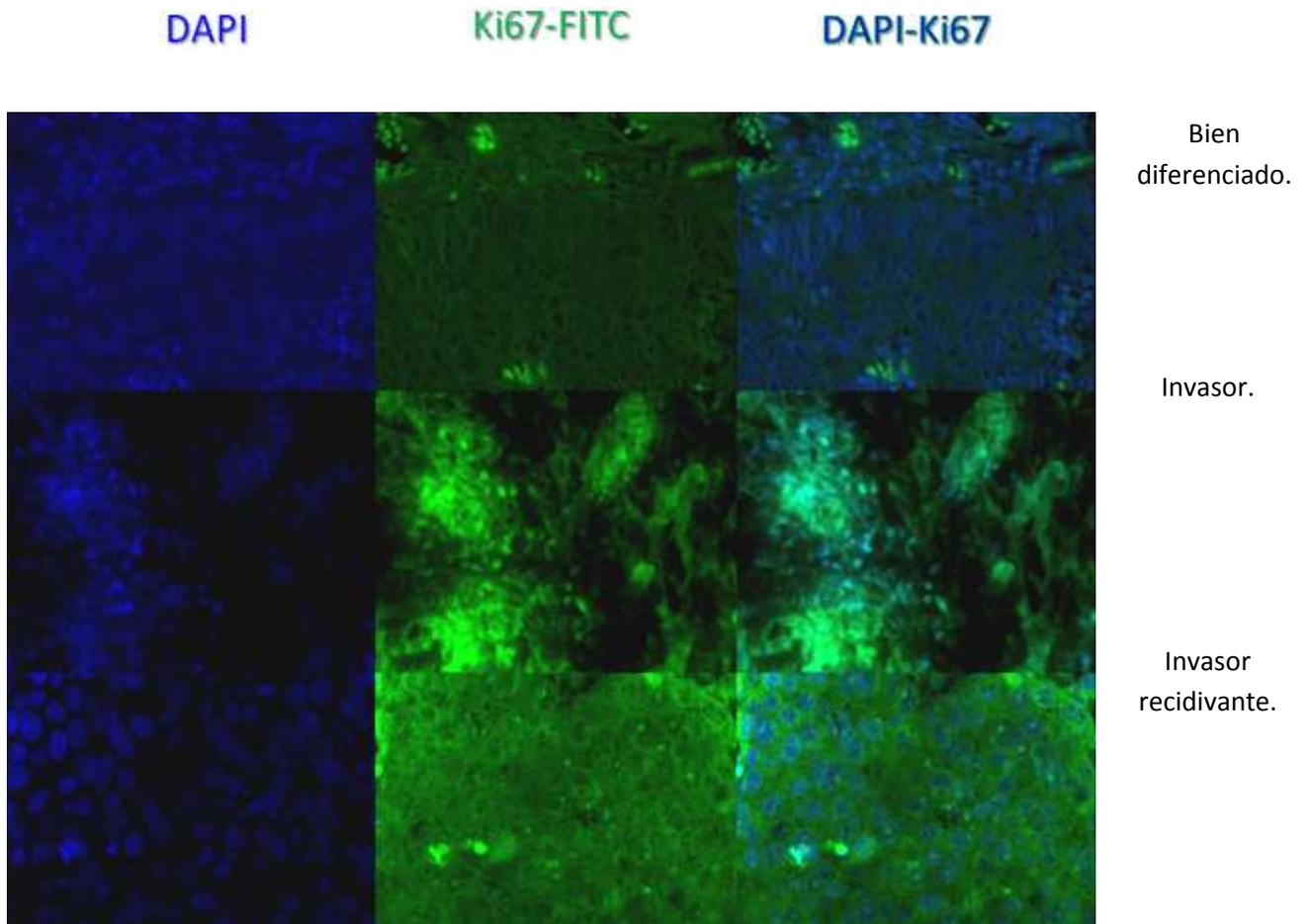
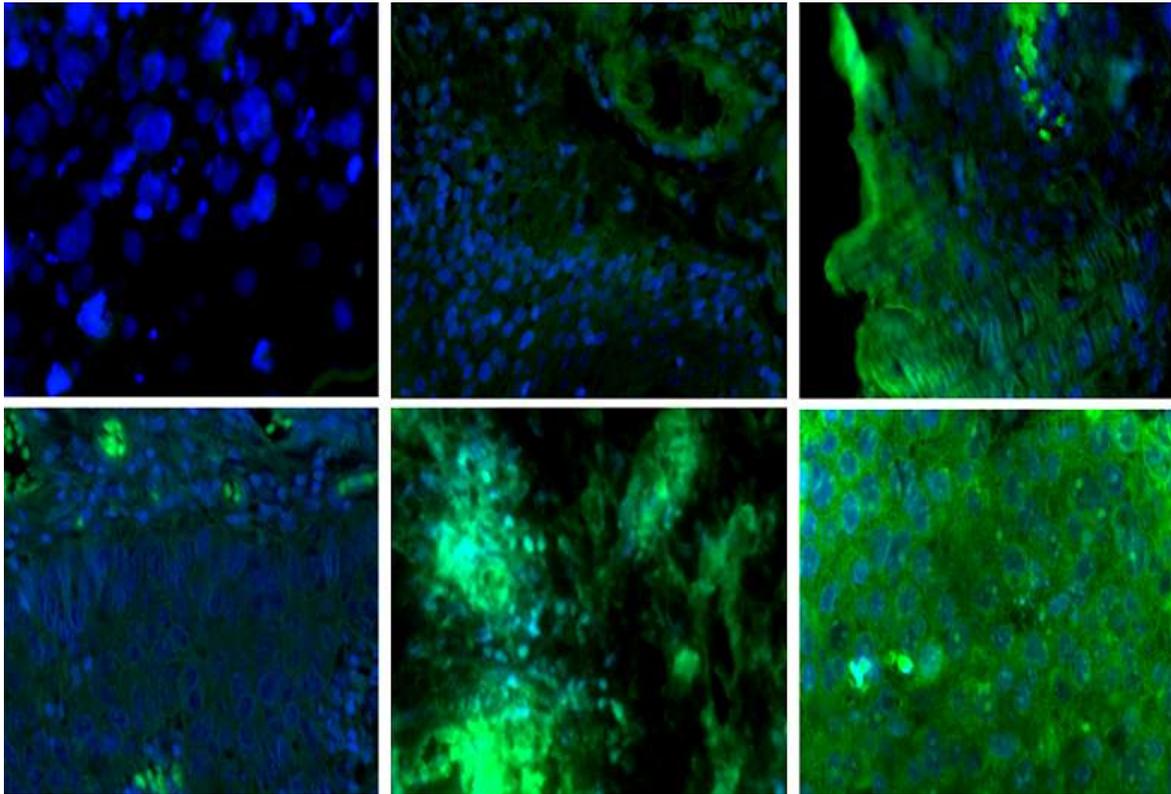


Fig. 5 En el caso del CSCC bien diferenciado los núcleos y paredes celulares han captado notablemente Ki-67, al igual que en el caso del carcinoma invasor, donde la tinción azul es casi nula. Las fotografías inferiores muestran un carcinoma invasor recidivante donde notamos la fuerte captación de ki-67 por núcleos y paredes celulares, sin presencia de núcleos sanos.

Conjuntiva sana.

in situ.

Poco diferenciado.



Bien diferenciado.

Invasor.

Invasor recidivante.

Fig. 6 Resumen. Tinción con DAPI – Ki-67 en diferentes estadios, observe como a mayor grado de malignidad hay menos núcleos sanos (azul brillante) y más núcleos y paredes celulares expresando Ki-67 (verdes) con intensidad marcada.

DISCUSIÓN.

Con este estudio hemos comprobado que la conjuntiva sana NO expresa al marcador Ki-67, también pudimos demostrar que el carcinoma epidermoide de la conjuntiva expresa a Ki-67 en todos sus estadios. Sin embargo el patrón y la intensidad de tinción con Ki-67 en cada estadio es diferente, donde, a mayor grado de malignidad, mayor será la expresión del marcador tumoral.

La inmunofluorescencia es un método muy subjetivo para calcular la expresión de Ki-67, por lo que nuestra perspectiva es realizar citometria de flujo para determinar el porcentaje de células que expresan Ki-67, eliminando así la subjetividad del estudio.

Se requieren más estudios para poder considerar al biomarcador Ki-67 un predictor de recidiva.

CONCLUSIONES.

Existe una relación entre el nivel de expresión de Ki-67 y el estadio del carcinoma epidermoide de la conjuntiva. Es posible determinar el grado de malignidad del carcinoma de acuerdo al patrón de tinción específico por la expresión de Ki-67.

El Ki-67 es un biomarcador útil en la valoración histopatológica del carcinoma epidermoide de la conjuntiva.

Se requiere realizar por citometría de flujo la cuantificación de expresión de Ki-67, para determinar el porcentaje de células que lo captan y la intensidad promedio de expresión de forma más objetiva. Son necesarios estudios complementarios para poder considerar el nivel de expresión de Ki-67 en carcinoma epidermoide de la conjuntiva como factor pronóstico de recidiva.

REFERENCIAS.

1. Tunc M, Erbilgen E, Topical cyclosporine- A combined with Mitomycin C for conjunctival and corneal squamous cell carcinoma. *Am J ophthalmology* 2006;142: 673 – 675.
2. Ramasubramanian A, Shields C, Sinha N, et al. Ocular surface squamous neoplasia after corneal graft. *Am J ophthalmology* 2010;149: 62 – 65.
3. Shields C, Ramasubramanian A, Mellen P. Conjunctival Squamous cell carcinoma arising in immunosuppressed patients (organ transplant, Human immunodeficiency virus infection). *Ophthalmology* 2011; 118: 2133 – 2137.
4. Abou M, Karp C, Perez V, et al. Diagnosis and Management of conjunctival and corneal intraepithelial neoplasia using ultrahigh resolution optical coherence Tomography. *Ophthalmology* 2011; 118: 1531 – 1537.
5. Mahmood M, Al - Rajhi A, Riley F. Sclerokeratitis an unusual presentation of squamous cell carcinoma of the conjunctiva. *Ophthalmology* 2001; 108: 556 – 558.
6. Bohem M, Huang A. Treatment of recurrent corneal and conjunctival intraepithelial neoplasia with topical interferon alfa – 2b. *Ophthalmology* 2004; 111: 1755 – 1761.
7. Heindl L, Hofmann C, Adler W, et al. Tumor associated lymphangiogenesis in the development of conjunctival squamous cell carcinoma. *Ophthalmology* 2010;117: 649 – 658.

8. Naseripour M, Bahmani M, Jaber R, et al. Plaque Radiotherapy in recurrent or incomplete Excised conjunctival squamous cell carcinoma and melanoma. *Iranian Journal of Ophthalmology* 2008;20(3):19-23.
9. Tunc M, Char D, Crawford B, et al. Intraepithelial and invasive squamous cell carcinoma of the conjunctiva: analyses of 60 cases. *Br J Ophthalmol* 1999;83: 98 – 103.
10. Karcioğlu Z, Wagoner M. Demographics, etiology and behavior of conjunctival squamous cell carcinoma in the 21 st century. *Ophthalmology* 2009;116: 2045 – 2046.
11. Semenova E, Milman T, Finger P, et al. The diagnostic value of exfoliative cytology vs histopathology for ocular surface squamous neoplasia. *Am J ophthalmology* 2009;148(5): 772 – 778.
12. Shields C, Manchandia A, Subbiah R, et al. Pigment squamous cell carcinoma in situ of the conjunctiva in 5 cases. *Ophthalmology* 2008; 115: 1673 – 1678.
13. Schechter B, Koreishi A, Karp C, et al. Long term follow up conjunctival and corneal intraepithelial neoplasia treated with topical interferon alfa 2b. *Ophthalmology* 2008; 115: 1291 – 1296.
14. Barbazetto I, Lee T, Abramson D, et al. Treatment of conjunctival squamous cell carcinoma With photodynamic therapy. *Am J ophthalmology* 2004;138: 183 – 189.
15. Hirst L. Randomized controlled trial of topical mitomycin C for ocular surface squamous neoplasia. *Ophthalmology* 2007; 114: 976 – 982.

16. Schechter B, Koreishi A, Karp C, et al. Long term follow up conjunctival and corneal intraepithelial neoplasia treated with topical interferon alfa 2b. *Ophthalmology* 2008; 115: 1291 – 1296.
17. Yamamoto N, Ohmura T, Suzuky H, et al. Successful treatment with 5 – fluourouracil of conjunctival intraepithelial neoplasia refractive to Mitomycin C. *Ophthalmology* 2002; 109: 249– 252.
18. Mumtaz M, Altaf S. Conjunctival squamous cell carcinoma. *Professional med J.* 2008; 15: 455 -458.
19. Sturges A, Butt A, Lai E, et al. Topical interferon or surgical excision for the management of primary ocular surface squamous neoplasia. *Ophthalmology* 2008; 115: 1297 – 1302.
20. Naseripour M, Bahmani M, Jaber R, et al. Plaque Radiotherapy in recurrent or incomplete Excised conjunctival squamous cell carcinoma and melanoma. *Iranian Journal of Ophthalmology* 2008;20(3):19-23.
21. Karp C, Galor A, Chhabra s, et al. Subconjunctival/ perilesional recombinant interferon α 2b for ocular surface squamous neoplasia. *Ophthalmology* 2010; 117(12): 2241 – 2246.
22. Holcombe D, Lee G, Franzco. Topical interferon Alfa2b for the treatment of recalcitrant ocular surface squamous neoplasia. *Am J ophthalmology* 2006;142: 568 – 571.
23. Shields C, Naseripour M, Shields J. et al. Topical Mitomycin C for extensive, recurrent conjuntival - corneal squamous cell carcinoma. *Am J ophthalmology* 2002;133: 601 – 606.

24. Frucht J, Rozenman Y, Peér J. Topical mitomycin C for partially excised conjunctival squamous cell carcinoma. *Ophthalmology* 2002; 109: 548 – 552.
25. Briones F, Calderón M, Muñoz J, Venegas F y Araya N. El anticuerpo monoclonal Ki – 67 como elemento de valor pronóstico y diagnóstico en neoplasias mamarias caninas. *Rev. Chil. Anat.* 2002; 20(2):165-168.
26. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984;133: 1710 – 1715.
27. Brown D, Gatter K. Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology. *Histopathology* 1990;17: 489 – 503.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

FUNDACIÓN HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ, I.A.P.

DEPARTAMENTO DE ORBITA, PÁRPADOS Y VÍA
LAGRIMAL

EXPRESIÓN DEL MARCADOR TUMORAL KI-67 EN
PACIENTES CON CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE LA
CONJUNTIVA DE ACUERDO A SU GRADO DE MALIGNIDAD Y
RECURRENCIA.

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO OFTALMÓLOGO

PRESENTA

ALBA VERÓNICA SOLDÁN GRIFALDO.

ASESOR DE TESIS:

DRA. VERÓNICA ESCALANTE GÓMEZ.

MC. ATZÍN ROBLES CONTRERAS.



**HOSPITAL
de la LUZ**
FUNDACIÓN HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ, I.A.P.

CD. MÉXICO, D. F.

AGOSTO 2013