

Biopsias intraoculares

Intraocular biopsies

M. Asencio-Duran, B. Vicandi Plaza, JM. Viguer García-Moreno

Resumen

La biopsia implica la extracción quirúrgica de una muestra de tejido para su examen anatomopatológico. La mayoría de los tumores intraoculares se pueden diagnosticar mediante la exploración clínica o con técnicas diagnósticas no invasivas. Sin embargo, en un pequeño porcentaje de tumores el diagnóstico puede ser difícil, y se requiere una biopsia tisular para establecer el diagnóstico definitivo y planificar el tratamiento preciso. A continuación, se van a repasar las técnicas de diagnóstico citológico tumoral intraocular: desde la aspiración de fluidos oculares y la vitrectomía diagnóstica hasta la punción aspiración con aguja fina (PAAF).

La técnica más utilizada es la PAAF, tiene una seguridad diagnóstica y un rendimiento elevados, por lo que está ganando popularidad en el diagnóstico conservador del globo ocular y en el pronóstico genético de estos pacientes. La técnica e instrumentación necesaria para realizarla varía en cada caso, dependiendo de la localización anatómica (la retina, la coroides, el espacio subretiniano, el vítreo, y el acuoso), el diagnóstico de sospecha, el tamaño, la presencia de desprendimiento de retina y la transparencia de los medios oculares. El citopatólogo tiene un papel determinante en el diagnóstico, y su ayuda juega un papel clave en la dirección y la planificación del tratamiento.

Resum

La biòpsia implica l'extracció quirúrgica d'una mostra de teixit per l'examen anatomopatològic. La majoria del tumors intraoculars es poden diagnosticar mitjançant l'exploració clínica i/o amb tècniques diagnòstiques no invasives. Malgrat tot, en un petit percentatge de tumors el diagnòstic pot esdevenir difícil i es necessita una biòpsia tissular per establir el diagnòstic definitiu i planificar el tractament precís. Repassem les tècniques de diagnòstic citològic tumoral intraocular: des de l'aspiració de fluids oculars, la vitrectomia diagnòstica fins a la punció-aspiració amb agulla fina (PAAF).

La més utilitzada, la PAAF té un rendiment i una seguretat diagnòstiques elevades, per això està guanyant popularitat en el diagnòstic conservador de l'ull i en el pronòstic genètic d'aquests pacients. La tècnica i instrumentació necessària per realitzar-la varia depenent de la localització anatómica (retina, coroides, espai subretinià, l'humor vitri, i l'humor aquós), el diagnòstic de sospita, el tamany, la presència de desprendiment de la retina, i de la transparència dels mitjans oculars. El citopatòleg té un paper determinant en el diagnòstic i la seva ajuda té un paper clau en la direcció i planificació del tractament.

Abstract

Biopsy implies the surgical extraction of a sample for histopathologic examination. The majority of intraocular tumors can be diagnosed by means of clinical evaluation with or without non-invasive diagnostic technologies. Nevertheless, in a small percentage of tumors the diagnosis can be difficult a biopsy tissue can be mandatory to establish the definitive diagnosis and to plan the precise treatment. We revise the techniques for cytological diagnosis of intraocular tumour: from aspiration of ocular fluids, diagnostic vitrectomy, to fine needle aspiration biopsy (FNAB).

FNAB is the most used technique and is gaining popularity in the conservative diagnosis of the eyeball and in genetic prognosis of these patients. The technology and instrumentation necessary for FNAB depends on the anatomical location (retina, choroid, subretinal space, vitreous humor, and aqueous humor), diagnosis of suspicion, size, presence of retinal detachment, and transparency of ocular media. The citopathologist has a determinant role in the diagnosis and has key paper in the direction and planning of the treatment.

4.8. Biopsias intraoculares

Intraocular biopsies

M. Asencio-Duran¹, B. Vicandi Plaza², JM. Viguer García-Moreno²

¹Departamento de Oftalmología. Hospital Universitario La Paz. Madrid

²Citopatología Clínica. Departamento de Anatomía Patológica. Hospital Universitario La Paz. Madrid

Correspondencia:

Mónica Asencio Duran

E-mail: masedur@hotmail.com

Introducción

La biopsia implica la extracción quirúrgica de una muestra de tejido para la evaluación anatomopatológica. La mayoría de los tumores intraoculares se diagnostican de forma fiable con la exploración clínica y las técnicas diagnósticas no invasivas, pero en un pequeño porcentaje de los casos se requiere la biopsia del tejido, para establecer el diagnóstico definitivo y planificar el tratamiento preciso.

Indicaciones, contraindicaciones y limitaciones

Indicaciones

Existen casos dudosos donde la clínica y las pruebas diagnósticas no son capaces de proporcionar el diagnóstico, lo cual ocurre solo en el 2,5% de los casos¹: presentaciones atípicas, opacidad de medios, sospecha de metástasis sin tumor primario conocido y la petición expresa de un diagnóstico citogenético por parte del paciente.

Contraindicaciones

- Masa o masas coroideas con un diagnóstico bien establecido.

- Diagnóstico diferencial de las lesiones melanocíticas pequeñas (con menos de 2,5 mm de espesor).
- Lesiones en las que se planea su resección.
- El retinoblastoma es una contraindicación relativa, debido al riesgo de diseminación extraocular.

Limitaciones

- Que la muestra sea insuficiente debido a la celularidad limitada obtenida, o falso negativo (-), a causa de la heterogeneidad celular del tumor, lo cual no debe ser considerado de forma inequívoca como prueba de ausencia de malignidad.
- Que sea falso positivo (+), lo cual puede suceder en el melanocitoma y en el nevus epitelioides², debido a la presencia de células epitelioides, consideradas malignas de manera tradicional, en algunos de estos casos.

Técnicas e instrumentaciones

Desde la excisión quirúrgica hasta la punción aspiración con aguja fina (PAAF), se han publicado varias técnicas en la literatura. A continuación, se van a abordar las técnicas básicas de diagnóstico citológico en los tumores intraoculares: la aspiración de fluidos oculares (acuoso, vítreo), la vitrectomía diagnóstica y la PAAF.

La técnica empleada dependerá del tejido afectado, del diagnóstico de sospecha, del tamaño y la localización de la masa, y de la presencia del desprendimiento de la retina asociado o de la opacidad de medios. El citopatólogo tiene un papel muy importante para ayudar en el diagnóstico y pronóstico de estos pacientes.

Tumores de iris

Para el aspirado de acuoso se emplea una aguja de 26 a 30 G, a través de la córnea y el limbo, mediante un ángulo de 45-90° sobre la superficie del tumor, se aspiran unos 0,5 mL de acuoso³. Aunque otros autores abogan por la inserción directa sobre el tumor, cuando lo que se pretende es realizar una PAAF⁴ (Figura 1).

Por lo general, en toda PAAF, el aspirado celular se realiza manteniendo la presión negativa en la jeringa, conectada a la aguja hasta que esta se extrae del ojo. En las neoplasias que simulan uveítis o infecciones en la cámara anterior, es más común la realización de un aspirado o paracentesis (Figura 2), mientras que en otros casos, es posible usar un abordaje a través de la vitrectomía. En casos de sospecha de retinoblastoma atípico, se debe realizar con extrema precaución, para evitar la diseminación extraocular⁵.

Tumores de segmento posterior

- *Abordaje transescleral*: indicado en tumores del cuerpo ciliar o en la coroides anterior. Se utiliza una aguja de calibre fino (25/26/27 G), conectada o no a una vía alargadera (recomendable para evitar que la tracción ejercida por el ayudante cuando realiza el vacío en la

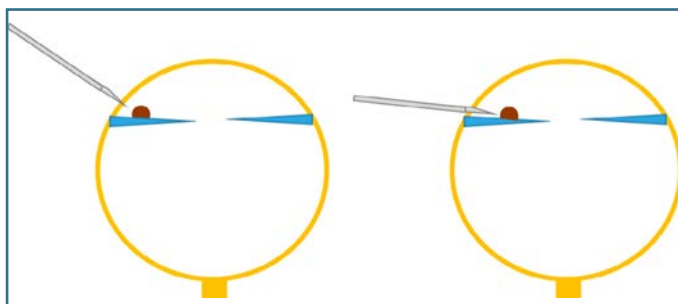


Figura 1. (A) Técnica de citología de acuoso (aspirado), para tumores iridianos. La punción se realiza por la córnea, con una angulación de 45° sobre la zona donde asienta la tumoración. **(B)** Técnica de PAAF en un tumor iridiano. Cuando lo que se pretende es practicar una PAAF directa sobre el tumor, la entrada se realiza por el limbo, de forma paralela al plano de iris, a 90° del meridiano del tumor, y sin llegar a la pupila, para evitar traumatismos del cristalino.

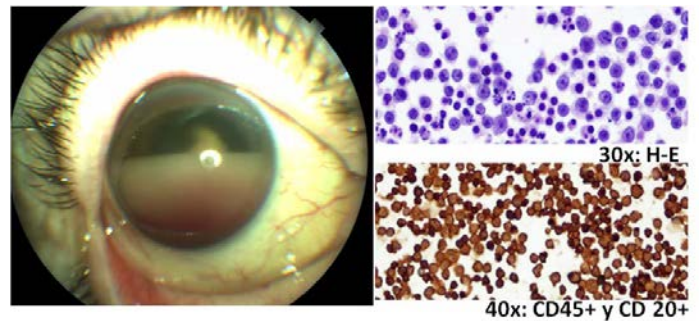
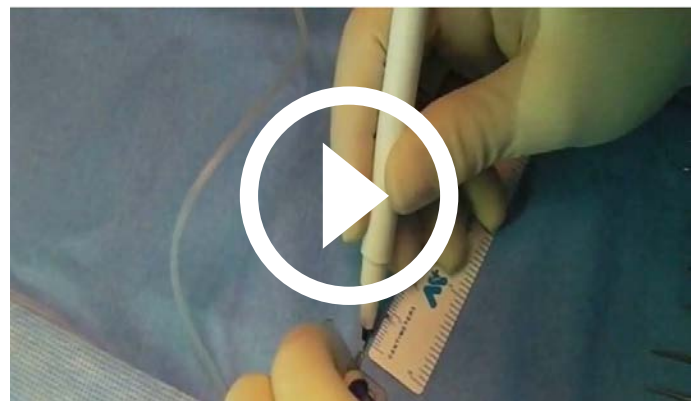


Figura 2. Caso clínico. **(A)** Mujer de 69 años con síndrome de mascarada, a la que se le habían realizado lavados previos de la cámara anterior (-) para microbiología. **(B)** Derecha Superior. En la citología realizada mediante paracentesis, se aprecia una gran celularidad monomorfa, con un núcleo redondo y un nucléolo patente. **(C)** Derecha inferior. La tinción inmunocitoquímica confirma la positividad de todas las células frente a un antígeno común leucocitario CD45 y para estirpe linfocítica CD20, que son compatibles con un linfoma de células B.



Vídeo 1. Abordaje transescleral.

jeringa no se traduzca en un movimiento de la aguja indeseado dentro del tumor). Se realiza un *flap* escleral de 3 mm², de 80% de profundidad, y se practica la incisión con la aguja en su lecho⁶ (Figuras 3 y 4). Se recomienda marcar previamente en la aguja, con un rotulador dérmico, el espesor tumoral mayor, para evitar traspasar la retina, aunque existen agujas de 25 G marcadas milimétricamente que pueden cumplir esta función⁷ (Vídeo 1). Es preferible presuturar el *flap* antes de realizar la PAAF, para poder cerrar inmediatamente después y evitar la diseminación (Figura 4). También es recomendable realizar dicha técnica justo antes del implante de placa de braquiterapia y, en este caso, se deben tener las suturas de la placa preparadas antes de la punción.

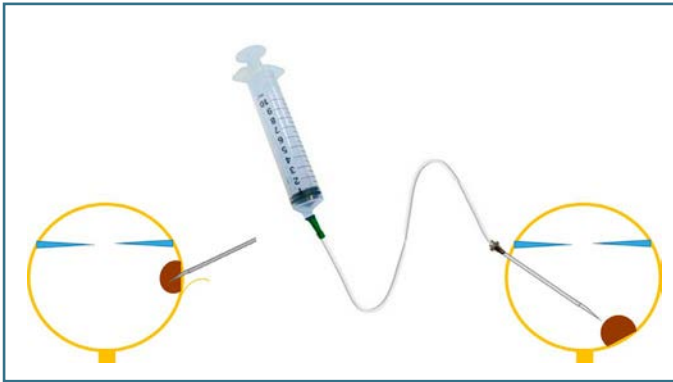


Figura 3. Técnica de PAAF para citología de tumores de segmento posterior. **(A)** (izquierda) Abordaje transescleral. Indicado en tumores por delante del ecuador del ojo, realizada mediante una ventana o *flap* escleral. **(B)** (derecha) Abordaje transvítreo. Indicado en tumores por detrás del ecuador. La punción no requiere de ventana escleral y se realiza a 4 mm del limbo esclerocorneal. La visualización del trayecto de la aguja se puede realizar a través de la pupila dilatada, por vía de oftalmoscopia indirecta (se ve la imagen invertida, lo cual le añade mayor dificultad), o mediante microscopio quirúrgico y sistema de inversión de imagen. La aspiración del material celular se puede realizar de manera manual mediante una jeringa y una alargadera, como se puede apreciar en la imagen (recomendable), o mediante un sistema de aspiración automatizada como la del vitrectomo.

- *Abordaje transvítreo*: indicado en tumores posteriores. Se utiliza una aguja 25 a 30 G larga, conectada a una alargadera (Figura 3). Se incide desde el lado contrario a 180° y a 4 mm del limbo, mediante el control bajo oftalmoscopia indirecta o microscopio quirúrgico⁸. En el caso de los tumores planos, se puede doblar la aguja 90°, para permitir una entrada tangencial en el tumor, aunque se debe evitar la técnica en las lesiones que sean poco elevadas. Una vez que la aguja se ha insertado en el tumor, bajo control visual, se puede rotar alrededor de su eje para obtener más material, y una vez aspirada la cantidad celular necesaria, se debe mantener la presión negativa en la jeringa, hasta que la aguja salga del ojo, para que no se produzca una diseminación. La extracción de la aguja se tiene que realizar con un movimiento rápido, con el objetivo de evitar la hipotonía (Video 2). Si esta se produce, se puede inyectar una solución salina balanceada en la cavidad vítrea.
- *Vitrectomía*: este abordaje se realiza mediante una vitrectomía estándar de tres puertos, con sistemas de microincisión (a ser posible, 25 y 27 G) y cánulas valvuladas. Después de realizar una vitrectomía completa, se

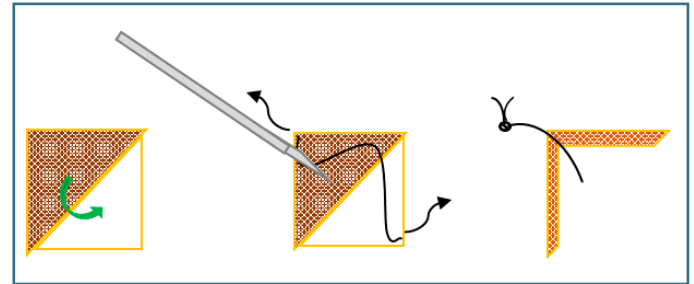


Figura 4. Detalle del procedimiento de realización de la ventana o *flap* escleral, que es de una profundidad del 80% de la esclera **(A)** (izquierda). Hay que presuturar antes de hacer la punción **(B)** (Centro) y se debe suturar inmediatamente tras la extracción de la muestra mediante la PAAF **(C)** (Derecha).



Video 2. Abordaje transvítreo.

selecciona un área elevada y avascular del tumor, que se incide con el mismo vitrectomo en modo de corte o con un miringotomo o cuchillito MVR. Con el vitrectomo, se penetra en el tumor, por lo general, con una tasa de corte baja (aproximadamente 100 cortes por minuto)⁹ (Video 3). El material se extrae del vitrectomo o por vía retrógrada, mediante la infusión de aire con una jeringa por la vía de aspiración de este. Hay que dejar gotear el material por la punta del vitrectomo a un recipiente estéril, o directamente, mediante una jeringa, desde la vía de aspiración del vitrectomo. También está indicada en tumores posteriores y, de forma específica, en el linfoma vitreoretiniano primario (LVRP)¹⁰. Permite obtener muestras más celulares que las obtenidas con la PAAF, pero tiene más complicaciones. Es especialmente útil en el caso de que sea necesaria la extirpación del vítreo. La retinotomía producida por la punción es pequeña, y por lo general no requiere taponamiento con gas ni tratamiento con fotocoagulación¹¹.



Vídeo 3. Biopsia mediante vitrectomía + endotermoterapia.

Complicaciones

La PAAF es una técnica establecida para el diagnóstico de tumores intraoculares desde que Jakobiec publicara una serie en 1979. Actualmente se obtienen unas tasas de entre el 61 y el 95% de seguridad y fiabilidad, tanto con el abordaje transescleral como con el transvítreo^{12,13}. Sin embargo, la principal causa de la baja utilización de la biopsia intraocular es su carácter invasivo y el riesgo de diseminación tumoral que conlleva¹⁴, que se ve disminuido cuando se realiza con manos expertas y un calibre de aguja fino.

Otras complicaciones locales son: la hemorragia en el sitio de punción (Figura 5), que típicamente aclara en pocos días; la hemorragia vítrea y subretiniana, que ocurre entre el 9 y el 13% de los casos con una disminución transitoria de la visión; y otras teóricas como el desprendimiento de retina, la endoftalmitis y la diseminación sistémica, con muy baja incidencia ($\leq 1\%$)^{12,15}.

Los métodos para evitar la potencial diseminación sistémica de la punción incluyen la aplicación de crioterapia o torunda de algodón, impregnada en alcohol absoluto en el punto de entrada escleral, y en el abordaje transescleral, la realización de la escotilla escleral y su sutura, preferiblemente, en el momento de la inserción de una placa radiactiva⁹.

Preparación citológica de las muestras

En el momento de extraer la aguja del tumor, se deben tener en cuenta las siguientes precauciones: mantener la presión negativa en la jeringa (evita el reflujo y la consecuente pérdida de células y su diseminación), el lavado profuso de la jeringa, la vía y la aguja para extraer todo el material posible, y su envío rápido al labora-

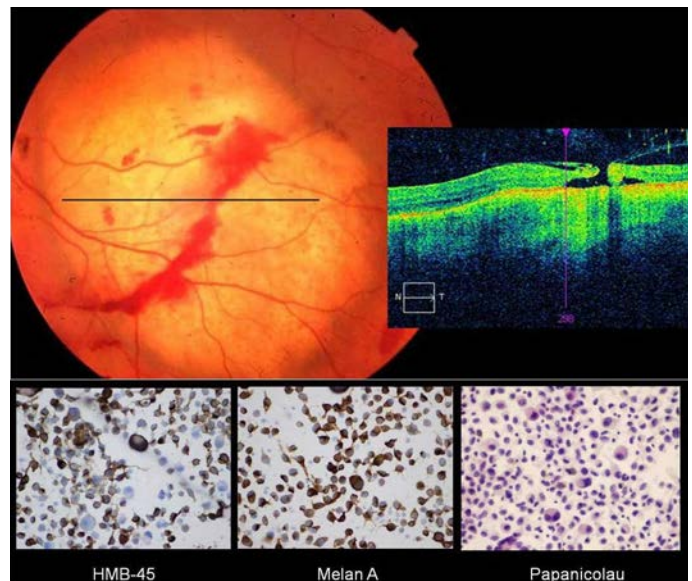


Figura 5. (Superior) **(A)** Complicaciones locales tras practicar una PAAF. Hemorragia local tras la PAAF transvítrea, en un paciente con sospecha de metástasis, sin tumor primario conocido, a pesar del estudio de extensión. En el corte realizado con la tomografía de coherencia óptica, se aprecia la retinotomía resultante de pequeño tamaño. (Inferior) **(B)** Aspirado celular obtenido después de realizar una PAAF transvítrea. Estudio citológico compatible con el diagnóstico de un adenocarcinoma pulmonar secretor oculto (corresponde al caso del vídeo del abordaje transvítreo, Vídeo 2).

torio (en especial, en el caso del linfoma cuyas células sobreviven poco tiempo). El material celular que se remite a citología puede ir:

- *En fresco*: en portas, mediante extensión directa, secados al aire.
- *Fijado*: en suspensión, en fluido de citología líquida, como Cytolyt® u otro medio de transporte (Figura 6).

Para el procesado, los portas secados al aire se tiñen mediante la técnica de Diff-Quick, mientras que la suspensión en el líquido fijador se somete a técnicas de concentración celular (citospin) y tinción con Papanicolaou y, si fuera necesario, se les realiza una inmunohistoquímica. Es fundamental la interpretación por un citopatólogo experimentado, debido al escaso rendimiento celular que se obtiene en ocasiones.

Diagnóstico citogenético en el melanoma uveal

La citología en el melanoma uveal muestra los característicos gránulos de melanina, que aparecen en casi el 80% de los casos,



Figura 6. (A) Extracción de la muestra celular de la aguja y la vía. Lavado retrógrado profuso de la aguja y la vía utilizadas en la punción mediante aire (cuando se requiere secado en porta) o mediante CytoLyt® media (cuando se requiere la muestra fijada). En cada procedimiento, se pueden requerir de una a más punciones para la muestra en fresco (porta) y una o más punciones para la muestra fijada (CytoLyt®). (B) Medio de transporte para el procesamiento, tinción y diagnóstico citológico usado en el centro del Hospital Universitario La Paz (CytoLyt®, Hologic Inc, Marlborough, MA, USA) (C) Portas con una muestra en fresco y frascos con muestra fijada en CytoLyt®.

y la atipia característica de las células malignas¹⁶. Existen tres tipos celulares, lo cual nos permite la clasificación del melanoma uveal en tres variantes: fusiforme, mixto y epitelioides (*clasificación modificada de Callender*).

El tipo epitelioides está relacionado con la metástasis a distancia y, según el porcentaje de células epitelioides presentes, nos ayuda en el pronóstico de estos pacientes¹⁷, aunque estas células solamente aparecen en menos del 2% de los casos¹⁶.

Mayor rentabilidad pronóstica en esta patología se obtiene mediante el estudio de estas células con un simple cariotipo. La monosomía del cromosoma 3 aparece en el 56% de los casos, y diferentes estudios demuestran que el 24% de los pacientes desarrollan metástasis al cabo de 3 años¹⁸. Otras malformaciones, como la pérdida del 8p o del 6q y la ganancia del 8q, se encuentran en

mayor riesgo de enfermedad metastásica. En general, estas alteraciones están relacionadas directamente con el tamaño tumoral¹⁸.

Otras técnicas moleculares más sofisticadas y comercialmente disponibles para el pronóstico del melanoma uveal son: la fluorescencia por hibridación *in situ* (FISH), la MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*), SNP array (*single-nucleotide polymorphism*) o, más recientemente, con gene expression profiling (GEP). Esta última técnica mide la expresión en ARN mensajero de múltiples genes y nos permite clasificar el melanoma uveal en dos subtipos: de clase 1 (con bajo riesgo de metástasis) y de clase 2 (con alto riesgo)¹⁹. Quizás las técnicas citogenéticas más rentables son la MLPA y el GEP, ya que ambas requieren menos de 200 células¹².

Diagnóstico inmunohistoquímico en los tumores intraoculares

Las técnicas inmunohistoquímicas, generalmente, solo son necesarias en el diagnóstico diferencial de las lesiones amelanóticas, sobre todo cuando se sospecha una metástasis coroidea. En estos casos, la biopsia tiene una correlación con la histología del 95%²⁰. Ante una posible metástasis coroidea, la morfología celular, la cohesión celular y la ausencia de melanina, suelen ser suficientes, pero en casos de ausencia de un tumor primario conocido, se debe priorizar la inmunohistoquímica (Tablas 1 y 2)^{20,21}.

Para el diagnóstico del LVRP, por lo general, en linfomas B de bajo grado, la colaboración con el citopatólogo debe ser muy estrecha, ya que el pronóstico vital de estos pacientes puede estar condicionado por la premura y eficacia diagnóstica de la citología ocular, y

Marcador	Tipo de anticuerpo	Función	Especificidad
Vimentina	Ac Monoclonal	Células mesenquimales	++/+++
Proteína S-100	Ac Policlonal	Tumores melanocíticos 1º y 2º	+++
HMB-45	Ac Monoclonal	Antimelanosomas	+++
Melan A	Antígeno	Proteína transmembrana en el 90% de melanomas	+++
Ki-67	Antisuero	Proteína de núcleos en proliferación	++
p53	Ac Monoclonal	Proteína de la mitosis (gen supresor)	+
Bcl-2	Ac Monoclonal	Proteína inhibidora de apoptosis (oncogén)	+
c-erb-B2	Ac Policlonal	Porción intracitoplásmica de la membrana celular	+

Tabla 1. Marcadores inmunohistoquímicos más utilizados en tumores melanocíticos²⁰.

Tinción	Tipo Ac	Detecta	Ejemplo
CD3	Ac Monoclonal	Pan marcador de células T, timocitos, natural T-killer	Neoplasias de células T
CD20 y PAX-5	Ac Monoclonal	Marcadores células B	Neoplasias de células B (Linfoma de Hodgkin)
CD138, MUM1/IRF4	Ac Monoclonal	Marcadores de células plasmáticas	Plasmocitoma-mieloma múltiple
CD 34, CD117	Ac Monoclonal	Blastos hematopoyéticos	LMA-Síndromes mielodisplásicos
CD68	Ac Monoclonal	Pan marcador macrófagos-monocitos	Estudio de macrófagos que infiltran una neoplasia
CK7, CK 20	Ac Monoclonal	Citoqueratinas	Útil para aproximar 1º en caso de metástasis (neopitelial: p. ej., mama)
TTF-1	Ac Monoclonal	Factor de transcripción tiroideo 1	80% de adenoCa pulm 1º y metastásico, neoplasia de tiroides
PSA	Ac Monoclonal	Ag específico prostático	Células 1º y metastásicas prostáticas
Actina - desmina	Ac Monoclonal	Marcadores de músculo liso	Leiomioma

Tabla 2. Marcadores inmunohistoquímicos más utilizados en tumores no melanocíticos²¹.

quizás sea necesaria la realización de pruebas de laboratorio más específicas, como la citometría de flujo²².

Generalmente la realización de estas técnicas especiales suele requerir reactivos y medios de transporte específicos que hay que coordinar antes de realizar la extracción de la muestra, para evitar la pérdida de las células y la necesidad de repetir el procedimiento. En algunas ocasiones, no están disponibles en el propio centro, por lo que hay que contactar previamente con el departamento que vaya a realizar las determinaciones.

Conclusiones

- Las biopsias intraoculares se deben realizar por personal experimentado y con la participación de un equipo coordinado. La técnica de la extracción de la muestra tiene que ser seleccionada con sumo cuidado. La muestra debe ser recogida de la manera adecuada y analizada por un citopatólogo experimentado.
- En el melanoma uveal, se debe tener especial cuidado cuando se realicen las técnicas de la biopsia tumoral diagnóstica y pronóstica, para obtener una muestra que sea lo más rentable posible, que ayude en el diagnóstico y pronóstico de estos pacientes.
- En otras lesiones tumorales no melanocíticas, si el estudio clínico y de extensión del paciente así lo indican,

la biopsia tumoral diagnóstica se puede realizar previa coordinación con los servicios de citopatología ocular y/o citometría de flujo, para evitar la realización de repetidos e innecesarios procedimientos al paciente.

Bibliografía

1. Bechrakis NE, Foerster MH, Bornfeld N. Biopsy in indeterminate intraocular tumors. *Ophthalmology*. 2002;109:235-42.
2. Ylagan LR. Intraocular pigmented proliferations in the context of cytologic evaluation. *Diagn Cytopathol*. 2009;37:853-64.
3. Grossniklaus HE. Fine-needle aspiration biopsy of the iris. *Arch Ophthalmol*. 1992;110:969-76.
4. Finger PT, Latkany P, Kurli M, Jacob C. The Finger iridectomy technique: Small incision biopsy of anterior segment tumours. *Br J Ophthalmol*. 2005;89:946-9.
5. Shields CL, Manquez ME, Ehya H, Mashayekhi A, Danzig CJ, Shields JA. Fine-needle aspiration biopsy of iris tumors in 100 consecutive cases: technique and complications. *Ophthalmology*. 2006;113:2080-6.
6. Gündüz K, Shields JA, Shields CL, Eagle RC Jr, Diniz W, Mercado G, et al. Transscleral choroidal biopsy in the diagnosis of choroidal lymphoma. *Surv Ophthalmol*. 1999;43(6):551-5.
7. Pelayes DE, Zárate JO, Biscotti CV, Singh AD. Calibrated needle for ophthalmic fine needle aspiration biopsy. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(8):1147-8.
8. Augsburger JJ, Shields JA. Fine needle aspiration biopsy of solid intraocular tumors: indications, instrumentation and techniques. *Ophthalmic Surg*. 1984;15:34-40.
9. Rishi P, Dhami A, Biswas J. Biopsy techniques for intraocular tumors. *Indian J Ophthalmol*. 2016;64(6):415-421.

10. Char DH, Ljung BM, Deschenes J, Miller TR. Intraocular lymphoma: immunological and cytological analysis. *Br J Ophthalmol*. 1988;72:905-11.
11. Sen J, Groenewald C, Hiscott PS, Smith PA, Damato BE. Transretinal choroidal tumor biopsy with a 25-gauge vitrector. *Ophthalmology*. 2006;113:1028-31.
12. Singh AD, Medina CA, Singh N, Aronow ME, Biscotti CV, Triozzi PL. Fine-needle aspiration biopsy of uveal melanoma: outcomes and complications. *Br J Ophthalmol*. 2016;100:456-62.
13. Chang MY, McCannel TA. Comparison of uveal melanoma cytopathologic sample retrieval in trans-scleral versus vitrectomy-assisted trans-vitreous fine needle aspiration biopsy. *Br J Ophthalmol*. 2014;98:1654-8.
14. Caminal JM, Sanz S, Carreras M, Català I, Arruga J, Roca G. Epibulbar seeding at the site of a transvitreal fine-needle aspiration biopsy. *Arch Ophthalmol*. 2006;124(4):587-9.
15. Bagger M, Smidt-Nielsen I, Andersen MK, Jensen PK, Heegaard S, Andersen KK, et al. Long-term metastatic risk after biopsy of posterior uveal melanoma. *Ophthalmology*. Epub 2018 Abr 25. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2018.03.047>
16. Medina CA, Biscotti CV, Singh N, Singh AD. Diagnostic cytologic features of uveal melanoma. *Ophthalmology*. 2015;122:1580-4.
17. Seddon JM, Albert DM, Lavin PT, Robinson N. A prognostic factor study of disease-free interval and survival following enucleation for uveal melanoma. *Arch Ophthalmol*. 1983;101(12):1894-9.
18. Shields CL, Say EM, Hasanreisoglu M, Saktanasate J, Lawson BM, Landy JE, et al. Cytogenetic abnormalities in uveal melanoma based on tumor features and size in 1059 Patients. The 2016 W. Richard Green Lecture. *Ophthalmology*. 2017;124:609-18.
19. Onken MD, Worley LA, Harbour JW. Association between gene expression profile, proliferation and metastasis in uveal melanoma. *Curr Eye Res*. 2010;35(9):857-63.
20. Shields JA, Shields CL, Ehya H, Eagle RC Jr, De Potter P. Fine-needle aspiration biopsy of suspected intraocular tumors. The 1992 Urwick lecture. *Ophthalmology*. 1993;100:1677-84.
21. Matilla Rodero M. *Caracterización patobiológica del melanoma uveal*. [Tesis doctoral]. Universidad de Málaga; 2003.
22. Asencio-Duran M, Vallejo-García JL, Pastora-Salvador N, Fonseca-Sandomingo A, Romano MR. Vitreous diagnosis in neoplastic diseases. *Mediators Inflamm*. 2012;2012:930704.