

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE  
LA SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

**EXPRESIÓN DE GD2 EN LCR COMO MARCADOR DE METÁSTASIS EN SISTEMA NERVIOSO  
CENTRAL EN RETINOBLASTOMA**

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS**

PRESENTA:  
**HUMBERTO PEÑA DEL CASTILLO**

TUTOR  
**DRA. MARTA ZAPATA TARRES**  
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

**CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO 2019**



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.

## Índice

1. Pregunta de Investigación .....	4
2. Antecedentes.....	4
2.1 . Elección de GD2	
3. Planteamiento del problema .....	8
4. Justificación .....	8
5. Objetivo General .....	8
6. Hipótesis .....	8
7. Material y Métodos.....	8
7.1 Diseño del estudio	
7.2 Población	
7.3 Criterios de Inclusión y Exclusión	
7.4 Definiciones Operacionales	
7.5 Metodología de la toma de la muestra	
7.6 Análisis estadístico	
8. Tamaño de la muestra .....	12
9. Ética .....	12
10. Bioseguridad .....	13
11. Presupuesto .....	15
12. Limitaciones .....	15
13. Cronograma .....	16
14. Bibliografía .....	16
15. Anexos .....	18
15.1 Carta de consentimiento informado	
15.2 Técnica de RT-PCR	
15.3 Seguimiento en Oncología	
15.4 <b>Estudio descriptivo.</b> Características clínico-patológicas de pacientes con retinoblastoma metastásico a sistema nervioso central en un centro de referencia de tercer nivel en México.	

## **Resumen Estructurado**

**Antecedentes.** El retinoblastoma (Rb) es un tumor maligno de la retina neural y representa la neoplasia maligna intraocular más frecuente en pediatría. El diagnóstico de Rb extraocular resulta en alrededor del 5% de todos los pacientes con Rb en países desarrollados, siendo hasta de 50% en países en vías de desarrollo. La diseminación a sistema nervioso central (SNC) es la causa más común de muerte en estos pacientes con Rb. El diagnóstico se hace cuando tienen síntomas neurológicos lo que coincide con enfermedad visible por estudios de imagen (tomografía cerebral, resonancia magnética). Cuando es así el paciente está desahuciado. Otra opción es el estudio histopatológico del líquido cefalorraquídeo que tiene una capacidad de detección menor al 60% y no nos permite tomar acciones.

**Planteamiento del problema.** El evaluar la utilidad de la expresión de gangliósido GD2 en líquido cefalorraquídeo por medio de RT PCR para enfermedad metastásica en SNC en pacientes con Rb extraocular pudiera resultar una herramienta diagnóstica útil y de forma más temprana.

**Objetivo.** Comparar la expresión de gangliósido GD2 por RT PCR en LCR con la citología de LCR para el diagnóstico de metástasis en SNC en pacientes con Rb extraocular.

**Material y Métodos.** Se trata de un estudio longitudinal, descriptivo, observacional, prospectivo. Se realizará con pacientes del Servicio de Oncología del Instituto Nacional de Pediatría con diagnóstico de Rb extraocular. Se determinará la expresión por RT PCR para GD2 en LCR y se dará seguimiento para evaluar la evolución de estos pacientes.

**Análisis estadístico.** Se evaluarán las variables cuantitativas con estadística descriptiva. Para la comparación de los resultados cualitativos se utilizará test exacto de Fisher o chi cuadrada. Se compararán las proporciones de pacientes con prueba G2 por RT PCR positiva en comparación con aquellos con estudio histopatológico con células de Rb respecto a la progresión o recaída a SNC.

## 1. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Es la expresión de gangliósido GD2 por RT PCR en LCR más útil que la citología de LCR para el diagnóstico de metástasis en SNC en pacientes con Rb extraocular?

## 2. ANTECEDENTES

El retinoblastoma (Rb) es un tumor maligno de la retina neural y representa la neoplasia maligna intraocular más frecuente en pediatría, que predominantemente afecta a lactantes y preescolares. El 80% se diagnostica antes de los 3 años de vida, con una media de edad al diagnóstico de 2 años. Tiene una tasa de crecimiento variable, pudiendo originarse de uno o múltiples sitios, en uno o ambos ojos, y ser evidente en un solo ojo antes de manifestarse en el otro.<sup>1,2</sup> Esta enfermedad ha servido de modelo para entender la genética y herencia del cáncer infantil, describiendo su factor hereditario desde 1986.<sup>3</sup>

La incidencia reportada en Estados Unidos de América es de hasta 11 casos por cada millón de población menor de 5 años, ó 1 en 18,000 recién nacidos vivos.<sup>4,5</sup> En México existen reportes que colocan el Rb como el segundo tumor sólido más frecuente únicamente por debajo de tumores del SNC.<sup>6</sup> En 2014, en un estudio multicéntrico se reportó una incidencia de 5.8 casos por cada millón en menores de 18 años, con un total de 539 casos nuevos en un periodo de 6 años (2007-2012).<sup>7</sup>

La presentación confinada al globo ocular es al diagnóstico la más común; sin embargo la diseminación de este tumor durante su evolución puede ocurrir al momento del diagnóstico o posteriormente. Este proceso se explica por 4 vías de diseminación metastásica:

1. Infiltración directa o bien a través del nervio óptico al cerebro; o a través de la coroides en los tejidos blandos y huesos de la órbita.
2. Dispersión de las células tumorales a través del espacio subaracnoideo del nervio óptico o a través del líquido cefalorraquídeo (LCR), con o sin presencia detectable del Rb en el margen quirúrgico del nervio óptico.
3. Diseminación hematológica secundaria a la invasión de la órbita o cuando la invasión linfática llega a los ganglios linfáticos, y otros sitios como hueso, cerebro, hígado y pulmón.
4. Diseminación linfática en los tumores que se propagan hacia delante en la conjuntiva y párpados o aquellos que se extienden hacia los tejidos extraoculares. Los vasos linfáticos y tejido linfático están ausentes en la órbita y en los tejidos intraoculares. En la región ocular solamente la conjuntiva y la piel tienen vasos linfáticos, por ello primero deben llegar a estas zonas y luego lograr extenderse a los ganglios.<sup>8</sup>

La supervivencia global en los pacientes con diagnóstico temprano, es decir, cuando la enfermedad se encuentra limitada al ojo, es superior al 95%. Sin embargo, la supervivencia con enfermedad avanzada se empobrece inclusive hasta presentar mortalidad del 100%, siendo la principal causa la afectación a (SNC). Es por ello que desde la década de los 80's se han

descrito múltiples sistemas para estadificar a éstos pacientes, algunos de ellos propuestos por una sola institución (St. Jude Children's Research Hospital Staging System, Grabowski-Abramson Staging System) o en otros casos por grupos cooperativos (American Joint Committee on Cancer TNM, International Retinoblastoma Staging System; IRSS); donde los estadios avanzados son aquellos que presentan enfermedad no limitada al globo ocular, es decir, extraocular. De este modo dirigir terapias intensas a los grupos con estadios avanzados.<sup>9,10</sup>

En la actualidad el diagnóstico de Rb extraocular se describe en alrededor del 5% de todos los pacientes con retinoblastoma en países desarrollados, siendo mucho más frecuente en países en vías de desarrollo, 50% de los casos en algunas de éstas regiones.<sup>11-14</sup> En el 2002 se publicaron las estadísticas del servicio de Oncología en el Instituto Nacional de Pediatría donde se reportan 552 casos en 15 años, de los cuales 252 se encontraban en estadios extraoculares con o sin metástasis, 174 y 78, respectivamente; representando el 45% de los pacientes.<sup>15</sup> Actualmente se diagnostican un promedio de 50 pacientes al año, de los cuales el 30% se encuentran con enfermedad extraocular al diagnóstico. Sin embargo, a pesar de un alto porcentaje con diagnóstico de Rb extraocular metastásico, existe 30% de aquellos pacientes extraoculares no metastásicos al diagnóstico que progresan durante los primeros 6 meses o recaen a SNC de forma temprana (dos meses posterior a concluir el tratamiento), relacionado con una baja detección al diagnóstico por los métodos actuales.

Siendo la diseminación a SNC la causa más común de muerte en pacientes con Rb extraocular, pudiendo estar presente al diagnóstico u ocurrir como evento no diagnosticado al inicio de la enfermedad, es vital su abordaje inicial. En éstos niños la diseminación leptomeníngea es el sitio más común de enfermedad. La evaluación por estudio histopatológico del líquido cefalorraquídeo, con la detección de células neoplásicas, es hasta el momento la herramienta diagnóstica estándar para determinar que el paciente tiene enfermedad en SNC.

Debido a que las lesiones metastásicas en SNC por este tumor son claramente visibles en estudios de resonancia magnética (RM), la exactitud diagnóstica esperada es alta. Basado en lo anterior, existen pocos estudios para evaluar la utilidad como herramienta para diagnóstico de metástasis a SNC por RM, con muestras pequeñas de pacientes, que presenta una sensibilidad que van desde el 94 al 100%.<sup>16,17</sup> Debemos tomar en cuenta que la evaluación por éste método es de forma tardía al contar los pacientes con sintomatología por lo cual no es posible ser usado como método de diagnóstico inicial/oportuno pre-sintomático.

El estudio del LCR para la búsqueda de células neoplásicas por histopatología es el estándar de referencia actual para el diagnóstico de metástasis en SNC en Rb; donde la presencia de una sola célula tumoral es suficiente para el diagnóstico de Rb metastásico. Sin embargo, cada vez es más cuestionado su utilidad para un diagnóstico certero y temprano en muchos de estos tipos de cáncer,<sup>18</sup> debido que en la actualidad, en los padecimientos oncológicos, se han agregado nuevos marcadores, bien definidos y establecidos como criterios diagnósticos en conjunto o de forma independiente al estudio histopatológico del LCR. Un claro ejemplo son los linfomas no Hodgkin donde la nueva clasificación internacional incluye la evidencia

citomorfológica, inmunohistoquímica, citogenética y de biología molecular, como herramientas diagnósticas contundentes de enfermedad con extensión a SNC, incrementando la detección temprana (antes de que suceda la progresión a este sitio) de enfermedad metastásica de un 60% por estudio histopatológico hasta un 85% por estudio molecular.<sup>19</sup> El estudio histopatológico del LCR en Rbes la única forma de corroborar la presencia de enfermedad en SNC. Sin embargo, un 30-40% de pacientes con estudio negativo al diagnóstico progresarán a este nivel, explicando un porcentaje de estas progresiones por una estadificación incompleta inicial, como el caso de linfomas y leucemias.<sup>20,21</sup>

Dada la importancia de identificar al diagnóstico inicial a todos los pacientes realmente metastásicos a SNC, la detección oportuna mejoraría los esfuerzos terapéuticos de curación en una población, donde la probabilidad en este momento es de 0%. En el caso de otras neoplasias en oncología pediátrica, como leucemia aguda linfoblástica y neuroblastoma, se han estudiado métodos de detección de enfermedad residual mínima (ERM) para identificar estos componentes que predicen algún factor de recaída o terapéutica insuficiente. Es por esto que técnicas inmunológicas o de biología molecular puedan ser aplicadas como marcadores específicos de tumores para lograr la identificación de enfermedad no visible por los métodos diagnósticos actuales, disminuyendo el subdiagnóstico inicial de pacientes metastásicos.

## **2.1 Elección de Gangliósido G2**

Los glicolípidos son biomoléculas que contienen uno o más residuos de carbohidratos unido a un lípido mitad hidrofóbico. Los glicolípidos que contienen una cerámida o un esfingoide así como ese resto lipídico hidrófobo se denomina glicoesfingolípidos. Los glucoesfingolípidos poseen una alta heterogeneidad y diversidad de estructuras moleculares en sus cadenas de carbohidratos y región lipídica. Basadas en su estructura de carbohidratos, estos se clasifican en las series, ganglio-, isoganglio-, lacto-,neolacto-, lactoganglio-, globo-, isoglobo-, muco-, neogala-, molu-, artro- series.

Los glucoesfingolípidos, que juegan un rol importante en la transducción de señales así como en la adhesión y reconocimiento celular, se han observado incrementados en ciertos tumores neuroectodérmicos como el neuroblastoma, especialmente gangliósido GD<sub>2</sub>, usándose inclusive como blanco terapéutico. Es por ello que esta molécula se ha establecido como candidato blanco de identificación en pacientes con tumores neuroectodérmicos, pudiendo ser aplicado a los pacientes con Rb como marcador de enfermedad.<sup>22,23</sup>

Los glicoesfingolípidos ácidos que contienen uno o más residuos de ácido siálico en su componente de carbohidrato se denominan especialmente gangliósido. Los gangliósidos se encuentran en todos los tejidos y fluidos corporales, y son expresados más abundantemente en el SNC. En las células se encuentra predominantemente adherida a la membrana externa de la superficie celular. De la familia de los gangliósidos, descritos desde 1942, se encontró el gangliósido GD<sub>2</sub> expresado en células madre neurales, células madre mesenquimales y progenitores simpaticoadrenérgicos periféricos, relacionado ampliamente con la proliferación y diferenciación de estos progenitores celulares. Posterior al nacimiento, la expresión de GD<sub>2</sub>

se restringe exclusivamente al SNC, predominantemente en cuerpos de células neuronales, así como en nervios periféricos y melanocitos de la piel en bajos niveles. A raíz de los estudios en tumores neuroendocrinos, como neuroblastoma, se detectó la sobreexpresión significativamente mayor en las células tumorales de GD2 tanto de adultos como de pacientes pediátricos, incluyendo astrocitomas, sarcoma de Ewing, rhabdomyosarcoma, melanoma, cáncer de mama y Rb. Desde la década de los 90's se observó la sobreexpresión de GD2 en las líneas celulares de Rb como un marcador molecular de interés en investigación preclínica (no en pacientes). El gangliósido GD2, como marcador tumoral, cuenta con grandes ventajas por su gran densidad en células del tumor y su restricción en la expresión de tejidos normales postnatales. Actualmente se encuentra clasificado como el doceavo antígeno cancerígeno más importante por el programa piloto para la priorización de los antígenos cancerígenos del Instituto Nacional de Cáncer de Estados Unidos de América, basado en sus funciones terapéuticas, inmunogenicidad, su rol oncogénico, especificidad y nivel de expresión.<sup>24</sup>

En el ámbito clínico la detección de gangliósido GD2 en LCR de un solo paciente con Rb se realizó mediante ensayos de inmunofenotipo por citometría de flujo.<sup>25</sup> Recientemente la optimización de la detección molecular por medio de RT PCR de ARNm de GD2 en una línea celular de Rb ha sido descrita; constituyendo esta técnica molecular más precisa para su detección. Sin embargo, hasta el momento ningún estudio clínico ha sido realizado en pacientes con enfermedad extraocular, sin contar con puntos de corte para este marcador. Al ser reportado como positivo o negativo no conocemos ni el impacto de la presencia o ausencia con el desenlace del paciente, es decir, curación, progresión o recaída. (Tabla 1)<sup>26,27</sup>

**Tabla 1. Reportes en la literatura de detección de GD2 en pacientes/línea celular de Rb.**

	Número Pacientes	Pacientes	Método de detección GD2	Muestra
<b>Shen H, 2012</b>	1 paciente	Rb con sospecha de metástasis a SNC	Inmunofenotipo	LCR
<b>Laurent V.E, 2013</b>	6 pacientes	Rb metastásicos a SNC, Hígado, Hueso	RT PCR	LCR
<b>Laurent V.E, 2010</b>	Línea celular de Rb	-	RT PCR	Línea Celular

El hecho de que en países desarrollados no cuenten con tanta frecuencia Rb en estadios avanzados con mayor riesgo de afectación a SNC ha sido un obstáculo para el estudio de éstos pacientes con enfermedades avanzadas y/o metastásicas. El uso de quimioterapia intensa, radioterapia cerebral y trasplante autólogo son las herramientas terapéuticas con la que actualmente contamos para intentar prevenir un desenlace fatal, persistiendo la recaída a sistema nervioso central en una proporción de éstos pacientes en los 6 meses posterior al diagnóstico.



### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La frecuencia de Rb con presentación extraocular en nuestro país continúa siendo elevada, lo que condiciona un desenlace fatal frecuente. Lograr la detección más temprana de infiltración a SNC lograría dirigir las terapias específicas y así mejorar su supervivencia. Hasta el momento el estudio histopatológico es la prueba diagnóstica estándar para el diagnóstico de metástasis a SNC en Rb, sin embargo, cuenta con un porcentaje hasta de 40% de pacientes que finalmente son metastásicos no detectados, que son aquellos que progresan o recaen durante el tratamiento. No se conoce la expresión de este marcador tumoral en LCR de pacientes con Rb extraocular.

### **4. JUSTIFICACIÓN**

El diagnóstico temprano de cáncer en pediatría, y en especial de Rb, en México es deficiente. La poca frecuencia de casos avanzados de Rb en países desarrollados disminuye su enfoque en establecer diagnósticos y establecer terapias para este grupo de pacientes. Nuestro Instituto, como centro de referencia de ésta neoplasia, cuenta con un alto porcentaje de pacientes con enfermedad avanzada. GD2 sería un biomarcador de enfermedad en SNC lo que permitiría mejorar el diagnóstico de los pacientes logrando incrementar su supervivencia al ofrecer terapias dirigidas desde el inicio del tratamiento, disminuyendo costos secundario a recaídas o progresión que pudieran ser evitadas.

Es por ello que al evaluar la utilidad de la detección de gangliósido GD2 en LCR por medio de RT PCR para enfermedad metastásica en SNC en pacientes con Rb extraocular, pudiera resultar una herramienta diagnóstica más útil que su estándar actual.

### **5. OBJETIVO GENERAL**

Comparar la expresión de gangliósido GD2 por RT PCR en LCR con la citología de LCR para el diagnóstico de metástasis en SNC en pacientes con Rb extraocular.

### **6. HIPÓTESIS**

La expresión de GD2 por RT PCR en LCR es más útil que la citología de LCR para el diagnóstico de metástasis en SNC en pacientes con Rb extraocular.

### **7. MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **7.1 Diseño del estudio y selección de pacientes.**

Es un estudio longitudinal, descriptivo, observacional, prospectivo que se planea llevar a cabo a partir de noviembre de 2017 a febrero del 2019 en el Instituto Nacional de Pediatría (INP). A cada paciente ingresado al estudio se dará seguimiento por 6 meses posterior al diagnóstico, tiempo donde se describe el desenlace de progresión o recaída a SNC.

Se incluirán a todos los pacientes con Rb extraocular a los que se tomarán LCR en menores de 18 años. Se informará a los padres y/o tutores de los pacientes candidatos a participar en el protocolo sobre el mismo y aquellos que acepten participar.

El protocolo se registrará en el Comité de Investigación del INP y se obtendrá el consentimiento informado de cada uno de los responsables de los pacientes incluidos en el estudio.

- Sitio del estudio: INP. Ciudad de México, México.

### 7.2. Población

- POBLACIÓN OBJETIVO: Pacientes pediátricos con diagnóstico de Rb extraocular.
- POBLACIÓN ELEGIBLE: Pacientes que acudieron al INP a partir noviembre del 2017 a febrero de 2019.

Se realizará un muestreo no probabilístico de casos consecutivos.

### 7.3. Criterios de Inclusión y Exclusión

Criterios de Inclusión:

- Pacientes diagnosticados con Rbextraocular en el periodo de noviembre de 2017 a febrero de 2019.
- Pacientes sin tratamiento previo con quimioterapia, radioterapia o ambos.
- Pacientes menores de 18 años.
- Pacientes que acepten participar en el estudio y firmen la carta de consentimiento informado.

Criterios de exclusión

- Muestra de LCR inadecuadas para la técnica de RT PCR

Criterios de eliminación

### 7.4 Definiciones operacionales

RbEXTRAOCULAR: diagnóstico clínico por el oftalmólogo pediatra experto o por RM al diagnóstico de la enfermedad.

ESTADO DEL SNC: Sistema de clasificación empleado para definir la presencia o ausencia de Rb en sistema nervioso central y que tiene implicación en el tratamiento y pronóstico.

Se definen 2 estados.

Positivo:

1. LCR que resulta positivo para la presencia de retinoblastos en la citocentrífuga, independientemente del recuento de glóbulos blancos.

Negativo.

1. LCR que resulta negativo para la presencia de retinoblastos en la citocentrífuga, independientemente del recuento de glóbulos blancos.

LIQUIDO CEFALORRAQUÍDEO POSITIVO: Todos los LCR clasificados como positivos con un solo retinoblasto.

LIQUIDO CEFALORRAQUÍDEO NEGATIVO: Todos los LCR clasificados como negativos sin un solo retinoblasto.

GD2 POSITIVO EN LCR: Todos los LCRs que en el estudio de RT-PCR expresen GD2 en la población celular.

GD2 NEGATIVO EN LCR: Todos los LCRs que en el estudio de RT-PCR no expresen GD2 en la población celular.

VARIABLE DE DESENLACE.

- PROGRESIÓN A SNC. Detección de células de Rb en LCR por medio del estudio de referencia de histopatología por medio de punción lumbar diagnóstica o estudio de imagen con datos de infiltración leptomeníngea o tumor intraparenquimatoso, no detectada al diagnóstico.
- RECAÍDA A SNC. Posterior a inicio de vigilancia (término de esquema de tratamiento programado) presencia de células de Rb en LCR por medio del estudio de referencia de histopatología por medio de punción lumbar diagnóstica o estudio de imagen con datos de infiltración leptomeníngea o tumor intraparenquimatoso, no detectada al diagnóstico.

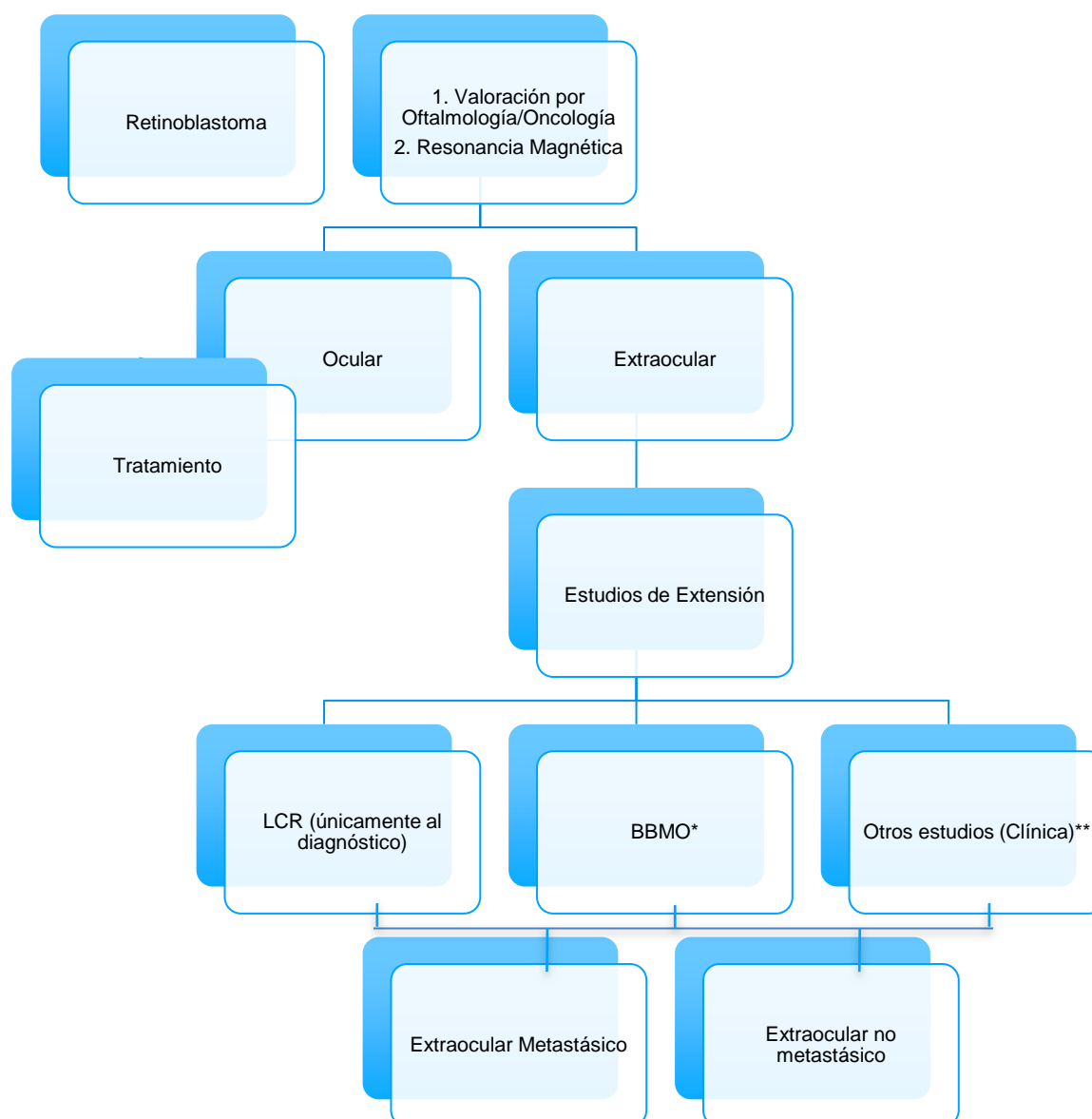
### **7.5 Metodología procedimiento para la toma de LCR y seguimiento de los pacientes**

Al ingreso al INP cada paciente con sospecha de Rb es valorado por oftalmología y Oncología. Al ser un diagnóstico clínico que no requiere estudio de biopsia. Se realizan estudios de extensión y se estadifica desde el diagnóstico. En la figura 1 se muestra el esquema de atención de todo paciente con Rb en el INP. La muestra del LCR se tomará en el momento de realizar los estudios de extensión para integrar el diagnóstico a los pacientes con diagnóstico de Rb extraocular.

Se tomarán 3 muestras en el momento de realizar la punción lumbar diagnóstica (realizada a todos los pacientes extraoculares), cada una de al menos 1 ml para estudios de citomorfología(laboratorios de hemato-oncología clínico y departamento de patología). La toma de la muestra de LCR no implicará ninguna maniobra invasiva adicional para los pacientes. La cantidad de LCR utilizada (1 ml) no representa ningún riesgo adicional para el paciente. En ningún caso se puncionará al paciente exclusivamente con el fin de tomar la muestra para el estudio y tampoco si la realización de la punción lumbar pudiera repercutir en

su estado de salud (por ejemplo, hipertensión intracraneana). Se tomarán dos muestras de LCR para el estudio citológico y 1 muestra de al menos 1 ml cada una para el análisis de RT PCR para gangliósido GD2. Todas las muestras se obtendrán mediante punción lumbar con aguja espinal tipo Quincke, No. 22 Ga 3 ½", en los quirófanos de medicina ambulatoria y general, bajo anestesia general inhalatoria o endovenosa de acuerdo a la decisión del médico anestesiólogo a cargo de la sala en la que se realiza el procedimiento.

**Figura 1. Esquema de Atención de pacientes con Rb en el INP**



\*BBMO. Biopsia bilateral de médula ósea.

\*\*Otros estudios. Estudios de medicina nuclear (gamagrama óseo, PET CT), tomografía abdominal, tomografía pulmonar. Únicamente en casos especiales.

El estudio de RT PCR de LCR será cegado al estudio por microscopía de luz (citomorfología). Se asignará un número consecutivo cronológico a cada paciente y sus LCRs. Técnica de RT PCR se encuentra en anexos.

No existen modificaciones al protocolo actual de tratamiento y seguimiento de estos pacientes, únicamente se detectará la variable de desenlace en estudio, progresión o recaída a SNC. Se anexa el protocolo de tratamiento y seguimiento de estos pacientes.

## **7.6 Análisis estadístico**

Para las variables cuantitativas sociodemográficas de tipo continuas se evaluará con estadística descriptiva, medidas de tendencia central (promedio, mediana) y medidas de dispersión (desviación estándar, cuartiles). En caso de ser posible con la obtención de valores cuantitativos de los valores de GD2 y buscar un punto de corte para este biomarcador por medio de Curvas ROC. El análisis está codificado como una variable dicotómica (positivo vs negativo); esto con la finalidad de poder dar una analogía con el resultado del estudio con los resultados de los valores obtenidos por histopatología. Para esta comparación de los resultados cualitativos se utilizará prueba exacta de Fisher o chi cuadrada. Se compararán las proporciones de pacientes con prueba G2 por RT PCR positiva en comparación con aquellos con estudio histopatológico con células de Rb respecto a la progresión o recaída a SNC a los 6 meses de seguimiento.

La definición de recaída o progresión a SNC son los eventos a definir para la supervivencia libre de evento (SLE) para el cálculo de las curvas de supervivencia por método de Kaplan-Meier con lo que se realizará una comparación por medio de Log Rank entre la SLE de aquellos con GD2 positivo vs histopatología positiva considerando estadísticamente significativo un valor de  $p < 0.05$ .

## **8. CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA**

Muestreo no probabilístico de casos consecutivos.

## **9. ÉTICA**

Se solicitará el consentimiento informado a los padres y/o tutores de los niños que se incluirán en el estudio ya que se trata de la toma de una muestra de tejido para realizar la prueba. (Anexos 3) El presente estudio cumple con lo estipulado en artículo 17, título segundo del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud. Según esta ley vigente, el estudio corresponde a la categoría II (Investigación con Riesgo Menor que el Mínimo) ya que el procedimiento quirúrgico a realizarse es parte del protocolo de extensión en todos los pacientes con nuevo diagnóstico de Rb extraocular; y la toma de 1 ml de LCR para nuestro estudio no representa ningún tipo de riesgo adicional al procedimiento. Así mismo el tratamiento no se modificará por el resultado de la prueba molecular al diagnóstico. A los familiares se les explicará las características y objetivos del estudio con la finalidad de obtener su consentimiento informado. La información obtenida de los pacientes durante el estudio se mantendrá con estricta confidencialidad por los investigadores participantes. No se considera

una carta de asentimiento ya que todos los pacientes descritos en la literatura tienen menos de 10 años

En caso de la detección de al menos dos casos de positividad de la prueba molecular RT PCR GD2 que presente el desenlace, progresión o recaída, se realizará un reporte preliminar y se tomará como estudio diagnóstico positivo de metástasis para ajustes en el tratamiento. A esos pacientes, en quienes se corrobore el diagnóstico de progresión o recaída por los métodos habituales (estudio histopatológico y/o resonancia magnética) se confirmará la positividad de GD2 por RT PCR nuevamente.

## **10. BIOSEGURIDAD**

El desarrollo de los experimentos, se apegarán a los estatutos de la Ley Federal de Salud en Materia de Bioseguridad. Durante los experimentos se considerará el empleo de equipo de protección tales como guantes de látex, anteojos protectores y bata de laboratorio para evitar el contacto directo con el material tóxico-biológico que sea empleado. Así mismo, el desecho de los residuos tóxico-biológicos y del material punzo-cortante se almacenarán en contenedores específicos para cada tipo de residuos. De acuerdo a la metodología descrita en el protocolo, se realizarán técnicas de biología molecular para la evaluación de un tejido biológico de los pacientes, por lo cual se anexa este apartado para establecer que el proceso del manejo del Líquido cefalorraquídeo, del cual, se espera obtener células neoplásicas de retina (si hay metástasis) y posteriormente los ácidos nucleicos, material base para la técnica de biología molecular, será bajo las normas adecuadas con estricta supervisión. Todo el personal involucrado en el estudio adoptará las medidas preventivas para su protección durante la toma, almacenamiento, transporte y manejo de las muestras de LCR; tomando en cuenta los requisitos que señalen las disposiciones generales aplicables en la materia, en particular la Norma Oficial Mexicana para la Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo, NOM-087-ECOL-SSA1-2002. En todo momento se cumplirá con las normas de buenas prácticas en laboratorio y se registrará cualquier incidencia ocurrida durante el análisis del procedimiento. Se explica detalladamente la obtención, rotulación, transporte, almacenaje y desecho de las muestras a continuación.

### **10.1. MANEJO DE LA MUESTRA**

Posterior a la toma de la muestra obtenida mediante punción lumbar con aguja espinal tipo Quincke, No. 22 Ga 3 ½", en los quirófanos de medicina ambulatoria y general, el LCR será colocado en un tubo tipo ependorf de 1.5ml. Las muestras estarán perfectamente etiquetadas con un código de identificación, en el que en ningún momento figurará el nombre del paciente, mientras que el contenedor de transporte tendrá una etiqueta con los datos del responsable de la investigación, los datos del responsable de transporte y los de contacto o localización; lo anterior de acuerdo con lo establecido en la NOM 087-SEMARNAT-SSA1-2002 y en la guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2009-2010 de la

Organización Mundial de Salud. El material utilizado será colocado en el RPBI correspondiente. Para punzocortantes como agujas jeringas, navajas, lancetas en el recipiente rígido de polipropileno (rojo). Mientras que, los residuos no anatómicos como: material de curación empapados en sangre, desechables que contengan algún tipo de fluido en bolsa de plástico roja.

#### Transporte y procesamiento de la muestra

Posterior a la toma del LCR se colocará en un temblok frío, y será transportada por C.D Israel Eleazar Pérez López adscrito al laboratorio de Oncología Experimental del INP. En el laboratorio de Oncología Experimental, inmediatamente la muestra será centrifugada a 2000 rpm por 20 min a 4°C. El sobrenadante será decantado, éste se inactivará con base a la NOM-003-SSA2-1993 se inactivarán con una solución de hipoclorito de sodio al 5% (v/v) por al menos una hora, posteriormente serán desechados a través de RPBI en el recipiente sólido con tapa hermética. Todo el material que estuvo en contacto con la muestra biológica será desechado a través de RPBI, para el caso de aquellas muestras líquidas serán en el recipiente sólido. Para los desechos anatómicos será en la bolsa plástica roja y para los punzocortantes en el recipiente rígido de polipropileno resistente a fracturas.

Al precipitado (células neoplásicas) se agregará 200 ul de trizol para la extracción de los ácidos nucleicos. Los ácidos nucleicos purificados serán almacenados a -70°C hasta su uso. Todas las sustancias corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas e inflamables (CRETI) derivadas del procedimiento, serán procesadas, almacenadas y desechadas de acuerdo con lo establecido en el Plan de Manejo de Materiales Peligrosos y Residuos Hospitalarios del Instituto Nacional de Pediatría y las NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, y NOM-052-SEMARNAT-2005. Verificando que en el caso de presentaciones comerciales y soluciones preparadas contengan la siguiente información: nombre de la sustancia, nombre, dirección completa, número de teléfono del fabricante, importador o distribuidor; mientras que, en los casos de soluciones preparadas, se incluirá el nombre del responsable de la preparación y fecha de elaboración, fecha de caducidad (cuando aplique), pictogramas de peligro reglamentarios. Los residuos de estas sustancias se colocan en frascos ambar correctamente etiquetados y almacenados temporalmente en el laboratorio de oncología experimental, hasta que el frasco este entre el 80-90% de su capacidad, bajo la campana de extracción en lo que se mueven al almacén temporal de residuos del INP de acuerdo al calendario de CRETÍ.

Los residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBI) que se generen en los diferentes procedimientos experimentales descritos, serán almacenados temporalmente en el Laboratorio en un lugar confinado para ello en los contenedores respectivos, hasta su

recolección, de acuerdo con en el Plan de Manejo de Materiales Peligrosos y Residuos Hospitalarios del Instituto Nacional de Pediatría.

#### 10.2 TÉCNICA DE RT PCR

- Extracción de RNA

1 ml de LCR extraído a cada paciente se colectará directamente en 4.5 ml de 6M GTC buffer. A 4°C con método de extracción TRIzol (TRIzol LS Reagent Invitrogen) de acuerdo a las instrucciones de manufactura. La muestra de RNA será suspendida en un volumen final de 30µl de DEPC tratado con agua y almacenado a -70°C hasta su uso el cual puede ser inmediato o en un tiempo no mayor a 7 días, durante los cuales se mantendrá en el congelador perteneciente al laboratorio de oncología experimental ubicado en la torre de investigación.

Posterior a realizar la técnica de RT-PCR se procederá a desactivar el material por medio de autoclave para su posterior desecho en contenedores con bolsa roja ubicados en el laboratorio.

### 11. PRESUPUESTO

Al tratarse de un padecimiento oncológico en población pediátrica los gastos del diagnóstico y tratamiento se encuentran cubiertos por seguro de gastos catastróficos del seguro popular, donde se incluye el procedimiento de punción lumbar y el estudio de histopatología. Se cuenta con fondos de CONACYT en el laboratorio de Oncología Experimental de \$300,000.00 pesos mexicanos para el análisis de muestras de LCR y tejido tumoral.

Rubro	Precio Unitario	Cobertura
Punción Lumbar	\$10,055.00	Seguro Popular
Estudio Histopatológico de LCR	\$1,577.00	Seguro Popular
RT PCR de LCR	\$1,815.00	Oncología Experimental
<b>TOTAL</b>	<b>\$13,232.00</b>	<b>Real</b> <b>\$1,815.00</b>

Costos basados en la clasificación K, del Tabulador de Cuotas 2017, del Instituto Nacional de Pediatría.

### 12. LIMITACIONES

Una de las limitaciones de este estudio es el tiempo de seguimiento de 6 meses. Existe la posibilidad de que un bajo porcentaje de pacientes presente progresión o recaída a SNC después de este tiempo lo que nos daría una visión sesgada del problema.



### 13. CRONOGRAMA

	Octubre 2017	Noviembre– Febrero 2017/2018	Marzo – Agosto 2018	Septiembre – Febrero 2018/2019
Comités de Investigación y Ética	X			
Estandarización de la técnica RT PCR	X			
Recolección de muestras		X	X	
Procesamiento de muestras			X	X
Análisis de resultados				X
Redacción de manuscrito				X

### 14. BIBLIOGRAFÍA

1. Pizzo PA, Poplack DG. Principles and Practice of Pediatric Oncology. 7ª ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2015. 1457 p.
2. Abramson DH: Retinoblastoma in the 20th century: past success and future challenges, the Weisenfeld lecture. Invest Ophthalmol Vis Sci 46: 2683-2691, 2005.
3. Friend SH, Bernards R, Rogelj S, Weinberg RA, Rapaport JM, Albert DM and Dryja TP: A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma. Nature 323: 643-646, 1986.
4. Devesa S. The incidence of retinoblastoma. Am J Ophthalmol 1975;80:263–265.
5. Broaddus E, Topham A, Singh AD. Incidence of retinoblastoma in the USA: 1975–2004. Br J Ophthalmol 2009;93:21–23.
6. Leal-Leal C, Flores-Rojo M, Medina-Sanson A, et al. A multicentre report from the Mexican Retinoblastoma Group. Br J Ophthalmol 2004;88:1074–1077.
7. Rivera Luna R, Shalkow-Klinovstein J, Velasco Hidalgo L, et al. Descriptive Epidemiology in Mexican children with cancer under an open national public health insurance program. BMC Cancer 2014;14:790
8. Pizzo PA, Poplack DG. Principles and Practice of Pediatric Oncology. 7ª ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2015. 1498 p.
9. Grabowski EF, Abramson DH. Intraocular and extraocular retinoblastoma. Hematol Oncol Clin North Am. 1987;1:721-35
10. Chantada GL, Sampor C, Bosaleh A, Solernou V, Fandiño A, de Dávila MT. Comparison of staging systems for extraocular retinoblastoma: analysis of 533 patients. JAMA Ophthalmol. 2013;131:1127-34

11. Chantada GL, Dunkel IJ, Qaddoumi I, Antoneli CBG, Totah A, Canturk S, et al. Familial Retinoblastoma in developing countries. *Pediatr Blood Cancer* 2009;53:338–342
12. Chantada GL, Fandiño A, Manzitti J, Urrutia L, Schwartzman E. Late diagnosis of retinoblastoma in a developing country. *Arch Dis Child* 1999;80:171–174
13. de CB, de Oliveira SM, Rebelo MS, et al. Cancer incidence among children and adolescents in Brazil: first report of 14 population-based cancer registries. *Int J Cancer* 2009;126:715–720.
14. Agboola AO, Adekanmbi FA, Musa AA, et al. Pattern of childhood malignant tumours in a teaching hospital in south-western Nigeria. *Med J Aust* 2009;190:12–14.
15. Leal-Leal CA, Rivera-Luna R, Flores-Rojo M, Juarez-Echenique JC, Ordaz JC, Amador-Zarco J. Survival in extra-orbital metastatic retinoblastoma: treatment results. *Clin Transl Oncol* 2006;8(1):39–44.
16. de Jong MC, de Graaf P, Brisse HJ, Galluzzi P, Goricke SL, Moll AC, et al. The potential of 3T high-resolution magnetic resonance imaging for diagnosis, staging, and follow-up of retinoblastoma. *Surv Ophthalmol.* 2015;60:346-55
17. de Jong MC, de Graaf P, Brisse HJ, Galluzzi P, Goricke SL, Moll AC, et al. Diagnostic performance of magnetic resonance imaging and computed tomography for advanced retinoblastoma: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology.* 2014;121:1109-18.
18. Weston CL, Glantz MJ, Connor JR. Detection of cancer cells in the cerebrospinal fluid: current methods and future directions. *Fluids Barriers CNS.* 2011;8:14-8
19. Rosolen A, Perkins SL, Pinkerton CR, Guillerman RP, Sandlund JT, Patte C, et al. Revised International Pediatric Non-Hodgkin Lymphoma Staging System. *J Clin Oncol.* 2015;33:2112-8.
20. Greenberg ML, Goldberg L. The value of cerebrospinal fluid cytology in the early diagnosis of metastatic retinoblastoma. *Acta Cytol* 1977;21(6):735–8.
21. Glosová L, Malis J, Kodet R, Dimmerová D. Cerebrospinal fluid cytology in retinoblastoma--possibility of early detection of tumor dissemination into the CNS. *Cesk Slov Oftalmol.* 2000;56:311-3.
22. Lloyd KO, Furukawa K. Biosynthesis and functions of gangliosides: recent advances. *Glycocong J.* 1998;15:627-36.
23. Yu RK, Tsai YT, Ariga T, Yanagisawa M. Structures, biosynthesis, and functions of gangliosides--an overview. *J Oleo Sci.* 2011;60:537-44.
24. Navid F, Santana VM, Barfield RC. Anti-GD2 Antibody Therapy for GD2-expressing Tumors. *Curr Cancer Drug Targets.* 2010 Mar 1; 10(2): 200–209.
25. Shen H, Tang Y, Xu X, Tang H. Detection of the GD2+/CD56+/ CD45- Immunophenotype by Flow Cytometry in Cerebrospinal Fluids from a Patient with Retinoblastoma. *Pediatr Hematol Oncol* 2012;30(1):30–2.
26. Yamashita N, Nishiuchi R, Oda M, et al. Molecular detection of metastatic retinoblastoma cells by reverse transcription polymerase reaction for interphotoreceptor retinoid-binding protein mRNA. *Cancer* 2001;91(8):1568–73.
27. Laurent VE, Otero LL, Vazquez V, et al. Optimization of molecular detection of GD2 synthase mRNA in retinoblastoma. *Mol Med Rep* 2010;3(2):253–9.

## 15. ANEXOS

### 15.1. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título: EXPRESIÓN DE GD<sub>2</sub> EN LCR COMO MARCADOR DE METÁSTASIS EN SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN RETINOBLASTOMA

Se me ha invitado, para que mi hijo(a) \_\_\_\_\_ participe en el estudio clínico EXPRESIÓN DE GD<sub>2</sub> EN LCR COMO MARCADOR DE METÁSTASIS EN SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN RETINOBLASTOMA

Estudio No: \_\_\_\_\_

Investigadores: Dra. Marta Zapata Tarrés; Dr. Carlos Leal Leal. Departamento de Oncología  
Dirección del estudio

Avenida de los Insurgentes Sur 3700 letra C

Coyoacán, Insurgentes Cuicuilco, 04530

Ciudad de México

¿Cuál es el propósito de esta carta de consentimiento?

Se le invita a participar en un estudio para niños con retinoblastoma. El objetivo de esta carta de consentimiento es darle información sobre el estudio para que usted pueda decidir si quiere participar o no. Su participación es voluntaria y usted tiene la libertad de retirarse en cualquier momento.

¿Por qué se está llevando a cabo esta investigación?

Los niños que se enferman de retinoblastoma tienen en ocasiones invadido el cerebro por las células malignas. Los métodos para detectar estas células no son perfectos por lo que se está tratando de encontrar nuevos estudios que se piensan son mejores que el actual. Estos nuevos métodos se llaman reacción en cadena de la polimerasa. El propósito es que en un futuro, si este método resulta mejor, sepamos a quien administrar tratamiento más dirigido y con mayor intensidad.

¿Cuántos niños participarán en el estudio?

Se calcula que se estudiarán 10 niños a los cuales se les tomará la muestra de líquido cefalorraquídeo que se toma de manera habitual para estadificación.

¿Qué implica participar en el estudio?

Una vez que acepte que su hijo participe en el estudio se procederá a registrar en su expediente que fue incluido en el estudio. Al diagnóstico, como parte de la estadificación, se realizará una punción lumbar para obtener líquido cefalorraquídeo y se dividirá la muestra para ser enviada para la revisión en patología y al laboratorio de la torre de investigación para la reacción en cadena de la polimerasa. Los resultados de los estudios se sabrán en 24 horas. Usted podrá conocer el resultado del estudio de su hijo.

¿Cuáles son los riesgos del estudio?

Los riesgos del estudio van en relación a dos situaciones: una es la punción que se realiza en la espalda (punción lumbar) y otra es la cantidad de líquido que se extrae. Los riesgos del primero

son dolor en el sitio de la punción, posible sangrado y en casos raros formación de un canal entre la piel y el espacio donde se aloja el líquido. Las complicaciones por el retiro de mucho o poco líquido son dolor de cabeza y sensación de mareo. También puede haber complicaciones por la anestesia que se aplica para que los niños no tengan dolor. Todas estas complicaciones existen en todos los niños que tiene retinoblastoma de alto riesgo.

¿Tiene beneficio participar en este estudio?

Usted personalmente puede beneficiarse o no con la participación en este estudio ya que el resultado de ambas técnicas puede ser diferente y en ese caso se tomará en cuenta para el seguimiento de la enfermedad de su hijo. En caso de no beneficiarse personalmente podrá beneficiar a otros pacientes contribuyendo a tener información para describir un mejor método diagnóstico.

¿Qué pasa si decido no participar en este estudio?

Su participación en este estudio es voluntaria. Tiene derecho a negarse a participar en este estudio de investigación sin sanciones ni pérdidas de beneficios que de cualquier modo tiene derecho. Si decide participar en el estudio y/o decide retirarse más adelante no habrá ni sanciones ni perderá ningún beneficio.

¿Cuáles son los costos?

No le pagarán por participar en el estudio, ni tendrá que pagar por la realización de los métodos diagnósticos. El costo de la anestesia, el procedimiento, el medicamento será el mismo si participa o no en el estudio.

¿Cuáles son sus derechos?

Las muestras del estudio son confidenciales y serán utilizadas únicamente para fines de esta investigación. No se le otorgará ningún beneficio económico, ni derecho de propiedad que puedan resultar de este estudio.

¿A quién llamo en caso de duda o problema?

Si tiene alguna duda o inquietud respecto a esta investigación deberá comunicarse con la Dra. Marta Zapata Tarrés o con el Dr. Carlos Leal Leal a los teléfonos 55 1084 0900 extensión 1342 o 1343.

Me han explicado los investigadores responsables que:

1. Si acepto que mi hijo participe, conozco que el estudio consiste en la toma de una muestra de LCR de 3 ml para la realización del estudio molecular la cual se tomará junto con la toma de otro producto necesario para el paciente.

2. Se me ha explicado que la toma de esta muestra no modificará el tratamiento del paciente y que la información que resulte de este estudio se mantendrá en forma confidencial. El nombre de mi hijo(a) no aparecerá en ninguna publicación o presentación de datos. He tenido la oportunidad de hacer preguntas al equipo del estudio sobre la investigación y me han contestado satisfactoriamente.

Queda entendido que la participación de su hijo(a) en el estudio es voluntaria y que puede declinar la participación o salir del estudio en cualquier momento, sin ninguna penalización o pérdida de los beneficios a los que tiene derecho. Su participación puede terminarse sin mi consentimiento, si el médico tratante decide que es lo más conveniente para la seguridad de mi hijo(a).

Sé que el estudio seguirá los Lineamientos Internacionales para Investigación Biomédica en seres Humanos (CIOMS-WHO.1993), los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos de la Asociación Médica Mundial (Declaración Helsinki, Asamblea 2000), además de haber sido previamente aprobado por los Comités de Ética e Investigación del Instituto Nacional de Pediatría.

Declaro ser mayor de 18 años (padre / madre o tutor legal del menor) y que otorgo mi consentimiento para que mi hijo participe en este estudio.

Ciudad de México, a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 2017

Nombre y Firma del Representante Legal del niño

\_\_\_\_\_

Nombre y Firma del Investigador

\_\_\_\_\_

Nombre y Firma del Testigo

\_\_\_\_\_

Nombre y Firma del Testigo

### 15.2 RT PCR

Se realizara técnica de dos pasos usando primers de 347 bases de pares para GD2. En el primer paso Ready To Go™ RT PCR Bead Kit (GE Healthcare) 1ml de hexámeros de pd(N)6 (12pmol/ml) a 43°C. En el segundo paso, 1 ml de primer fue añadido. La amplificación será por 60 ciclos a 63.7C.

El ciclo para la primera ronda de amplificación será de la siguiente manera:

- Transcripción reversa, 1 hora a 43C
- Desnaturalización inicial, 5 min a 95C
- Amplificación (60 Ciclos), 1 min a 95C, 1 min a 63.7C y 30 seg a 72C
- Extensión final, 10 min a 72C

El segundo ciclo consistirá en:

- Desnaturalización inicial, 1 min a 95C
- Amplificación (30 ciclos), 30 seg a 95C, 30 seg a 60.2C y 30 seg a 72C.

- Extensión final, 5 min a 72C.

**15.3**Seguimiento basal de los pacientes con Rb extraocular en el servicio de oncología durante el tratamiento.

	Tiempo	Descripción
Consulta Oncológica	Cada 21 días	*Interrogatorio dirigido y exploración física completa. *Revisión de paraclínicos
Quimioterapia Sistémica	Cada 21 días	*Ingreso hospitalario para tratamiento con quimioterapia sistémica *Pueden existir retrasos por toxicidad hematológica/infecciones
Estudios de laboratorio	Cada 21 días	*Biometría hemática, pruebas de funcionamiento hepático y renal *Biometría hemática en caso de toxicidad hematológica
Estudios de Imagen	Al diagnóstico y al concluir el tratamiento	*Resonancia magnética *Puede requerir estudio de imagen si existe alguna indicación clínica detectada en el interrogatorio o la exploración (diagnóstico de progresión/recaída)
Estudio histopatológico	Al diagnóstico	*Punción lumbar para búsqueda de retinoblastos *Puede requerir estudio histopatológico si existe alguna indicación clínica detectada en el interrogatorio o la exploración (diagnóstico de progresión/recaída)

**Anexo 15.4**

**Estudio descriptivo.** Características clínico-patológicas de pacientes con retinoblastoma metastásico a sistema nervioso central en un centro de referencia de tercer nivel en México.



**CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS DE  
PACIENTES CON RETINOBLASTOMA METASTÁSICO A  
SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN UN CENTRO DE  
REFERENCIA DE TERCER NIVEL EN MÉXICO.**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**ALUMNO**

**DR. HUMBERTO PEÑA DEL CASTILLO**

**TUTOR**

**DRA. MARTA ZAPATA TARRES  
DEPARTAMENTO DE ONCOLOGÍA  
INSITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**ASESORES**

**DR. CARLOS A. LEAL LEAL**

**DR. SERGIO JUÁREZ MENDEZ**

**DRA. VANESSA BOSCH CANTO**



## **INDICE**

<b>RESUMEN.....</b>	<b>25</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>26</b>
<b>PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>32</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>32</b>
<b>JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>33</b>
<b>OBJETIVO.....</b>	<b>33</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>33</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>37</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>40</b>
<b>CONCLUSIÓN.....</b>	<b>41</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>43</b>

## RESUMEN

**Introducción.** El retinoblastoma es el cáncer ocular de la infancia más frecuente que, detectado en etapas tempranas puede conseguir sobrevida prolongada e incluso, la preservación del o los ojos afectados. En México, es un tumor frecuente que generalmente se detecta en estadios avanzados, disminuyendo la sobrevida global y que requiere como parte del tratamiento curativo la enucleación del o los ojos afectados. La diseminación a SNC la causa más común de muerte en pacientes con retinoblastoma,

**Objetivo.** Describir las características clínicas e histopatológicas de los pacientes con diagnóstico de retinoblastoma metastásico a sistema nervioso central en el Instituto Nacional de Pediatría

**Material y Métodos.** Estudio retrospectivo, observacional, retrolectivo, y descriptivo. Pacientes pediátricos con diagnóstico de retinoblastoma metastásico a sistema nervioso central diagnosticados y/o tratados en el Instituto Nacional de Pediatría en el periodo de 1986 a 2012.

**Resultados.** Se obtuvieron 46 expedientes de pacientes. La edad media al diagnóstico fue de 37 meses (DE  $\pm$ 20). La relación H:M fue de 2:1. Todos los pacientes contaron con nervio óptico positivo corroborado por patología. La afectación a cribosa fue del 90.9%. Únicamente 3 pacientes sobrevivieron con tratamiento multidisciplinario.

**Discusión y Conclusión.** Ante la alta mortalidad ligada a este diagnóstico, deberá ser objeto de futuros estudios prospectivos la búsqueda de estas asociaciones a países en vías de desarrollo, como lo es aún México, que enfrentan aún estos diagnósticos de enfermedad avanzada.

## INTRODUCCIÓN

El retinoblastoma (Rb) es un tumor maligno de la retina neural y representa la neoplasia maligna intraocular más frecuente en pediatría, que predominantemente afecta a lactantes y preescolares. El 80% se diagnóstica antes de los 3 años de vida, con una media de edad al diagnóstico de 2 años. Tiene una tasa de crecimiento variable, pudiendo originarse de uno o múltiples sitios, en uno o ambos ojos, y ser evidente en un solo ojo antes de manifestarse en el otro.<sup>1,2</sup>

La incidencia reportada en Estados Unidos de América es de hasta 11 casos por cada millón de población menor de 5 años, ó 1 en 18,000 recién nacidos vivos.<sup>3,4</sup> En México no existen datos precisos sobre la incidencia de la enfermedad. El Grupo Mexicano de Retinoblastoma (RtbMex) realizó un estudio inicial refiriendo la presentación de 90 casos nuevos al año a nivel incluyendo 16 de los centros oncológicos del país. existen reportes que colocan el Rb como el segundo tumor sólido más frecuente únicamente por debajo de tumores del SNC.<sup>5</sup> En 2014, en un estudio multicéntrico realizado por el programa de Seguro Popular se reportó una incidencia de 5.8 casos por cada millón en menores de 18 años, con un total de 539 casos nuevos en un periodo de 6 años (2007-2012).<sup>6</sup>

En la actualidad el diagnóstico de Rb extraocular se describe en alrededor del 5% de todos los pacientes con retinoblastoma en países desarrollados, siendo mucho más frecuente en países en vías de desarrollo, 50% de los casos en algunas de éstas regiones.<sup>7-10</sup>

Esta enfermedad ha servido de modelo para entender la genética y herencia del cáncer infantil, describiendo su factor hereditario desde 1971.<sup>11</sup> La presentación bilateral se asocia a una mutación germinal en el gen retinoblastoma (RB1) reportada por Knudson, donde propone el modelo clásico del doble golpe, dos

eventos moleculares son responsables del desarrollo tumoral, lo que confiere susceptibilidad y, se puede presentar una segunda neoplasia años después. Estos pacientes incrementan el riesgo del desarrollo de cáncer si además de la mutación germinal reciben quimioterapia sistémica o radioterapia.<sup>12</sup>

El principal evento genético que se presenta en la célula tumoral del retinoblastoma, es la inactivación de ambas copias del gen RB1 en el locus cromosómico 13q14, debido a mutaciones/deleciones. El gen RB1 comprende 180 kb y se compone de 27 exones que codifican para una proteína nuclear de 110 kd de 928 aminoácidos. Esta proteína regula el ciclo celular en un punto de control entre G1 y la entrada a la fase S, por lo tanto, es un supresor de tumores. Cuando un alelo se ha inactivado desde la célula germinal (heredado del padre o madre) todas las células del cuerpo pueden presentar el riesgo de transformación maligna, en cuanto se inactiva el otro alelo. Si esto ocurre en la retina, se presentará retinoblastoma bilateral o hereditario (40% de los casos) además, otros tumores como osteosarcoma, sarcomas de tejidos blandos, pinealoblastomas, cáncer de mama, entre otros, se podrán presentar en cualquier momento de la vida. Si el primer evento de inactivación de un alelo de RB1 ocurre en un gameto o en estadios tempranos de la embriogénesis, puede presentarse retinoblastoma bilateral de las mismas características, sin la historia familiar presente. Cuando la presentación es unilateral o esporádica es debido a que en la célula de la retina en desarrollo se inactivan los dos alelos funcionales de RB1 (60% de los casos). Como la mutación es somática no existe el riesgo de presentar segundas neoplasias o heredar el gen inactivado. La importancia de la valoración de un genetista, para realizar la búsqueda de historia familiar positiva de este y otros tumores asociados a la inactivación de RB1, es de vital importancia para el consejo genético de estos pacientes.<sup>13</sup>

La principal manifestación clínica y la más frecuente es la leucocoria seguida del estrabismo y puede presentarse en uno o ambos ojos. El abordaje inicial incluye la realización de un ultrasonido ocular bilateral para realizar diagnóstico diferencial con enfermedad de Coats, enfermedad vascular fetal persistente o toxocariasis. Los estudios de imagen deben incluir la imagen por resonancia magnética para detectar enfermedad extraocular como infiltración a la órbita, nervio ocular o diseminación al sistema nervioso central. La Clasificación Internacional de Retinoblastoma Intraocular (IIRC por sus siglas en inglés) se desarrolló para la estadificación de la enfermedad intraocular tomando en cuenta la infiltración vítrea y siembras subretinianas y es actualmente la más usada (Tabla 1).<sup>14</sup> Cuando se realiza la enucleación del ojo afectado se utiliza la Clasificación de Grabowski (Tabla 2).<sup>15</sup>

La presentación confinada al globo ocular es al diagnóstico la más común; sin embargo la diseminación de este tumor durante su evolución puede ocurrir al momento del diagnóstico o posteriormente. Este proceso se explica por 4 vías de diseminación metastásica:

1. Infiltración directa o bien a través del nervio óptico al cerebro; o a través de la coroides en los tejidos blandos y huesos de la órbita.
2. Dispersión de las células tumorales a través del espacio subaracnoideo del nervio óptico o a través del líquido cefalorraquídeo (LCR), con o sin presencia detectable del Rb en el margen quirúrgico del nervio óptico.
3. Diseminación hematogena secundaria a la invasión de la órbita o cuando la invasión linfática llega a los ganglios linfáticos, y otros sitios como hueso, cerebro, hígado y pulmón.

4. Diseminación linfática en los tumores que se propagan hacia delante en la conjuntiva y párpados o aquellos que se extienden hacia los tejidos extraoculares. Los vasos linfáticos y tejido linfático están ausentes en la órbita y en los tejidos intraoculares. En la región ocular solamente la conjuntiva y la piel tienen vasos linfáticos, por ello primero deben llegar a estas zonas y luego lograr extenderse a los ganglios.<sup>16</sup>

Tabla 1: Clasificación Internacional de Retinoblastoma Intraocular (IIRC)

Grupo		Descripción
<b>A:</b>	Tumores intraretinianos pequeños fuera de la fóvea y la papila óptica.	Pequeños tumores confinados a la retina Tumor menor de 3mm Ningún tumor a menos de 2 DD (3mm) de la fóvea o a 1 DD (1.5mm) del nervio óptico Sin siembras vítreas Sin desprendimiento de retina
<b>B:</b>	Todos los tumores aislados que se limitan a la retina.	Tumor o tumores confinados a la retina en cualquier localización Sin siembras vítreas No hay desprendimiento de retina mayor de 5mm a partir de la base del tumor
<b>C:</b>	Enfermedad local aislada, con diseminación subretiniana o vítrea mínima.	Siembras vítreas finas, difusas o localizadas y/o Desprendimiento de retina mayor al grupo B o desprendimiento total No hay masa tumoral, cúmulos o bolas de nieve en el vítreo o espacio subretiniano
<b>D:</b>	Enfermedad difusa con diseminación vítrea o subretiniana importante.	Siembras vítreas masivas con bolas de nieve o masas no vascularizadas en el vítreo y/o Desprendimiento de retina mayor al grupo B o desprendimiento de retina total con tumor por debajo de la zona del desprendimiento
<b>E:</b>	Presencia de una o más de las siguientes características de pronóstico precario.	No hay potencial visual o alguna de las siguientes: Tumor en segmento anterior Tumor anterior a la cara anterior del vítreo Glaucoma neovascular Hemorragia vítrea que oscurece el tumor o hifema significativo Ptisis o preptisis ocular Presentación similar a celulitis orbitaria

Tabla 2. Clasificación Grabowski

<b>Estadio I: Tumor intraocular</b>
a. Enfermedad limitada a la retina
b. Extensión preliminar al nervio óptico
c. Extensión a la coroides
<b>Estadio II: Enfermedad orbitaria</b>
a. Orbita
1. Células episclerales sueltas
2. Masa tumoral
b. Nervio óptico
1. Sección distal del nervio, márgenes de resección y meninges libres de enfermedad
2. Tumor en la línea de resección o en las meninges
<b>Estadio III: Metástasis Intracraneal</b>
a. Líquido cefalorraquídeo positivo
b. Masa en sistema nervioso central
c. Ambas manifestaciones
<b>Estadio IV: Metástasis hematógenas</b>
a. Involucro a médula ósea
b. Lesión focal de hueso con o sin invasión a médula ósea
c. Invasión a otros órganos

El tratamiento del retinoblastoma se realiza a través de un equipo multidisciplinario donde se incluye al oftalmólogo, oncólogo, radioterapeuta, patólogo, pediatra, psico-oncólogo y genetista. El uso de terapias locales ablativas con fotocoagulación por láser, braquiterapia, crioterapia o termoterapia, quimioterapia intravítrea y administración de quimioterapia intra-arterial a la arteria oftálmica son utilizadas cuando la enfermedad se encuentra confinada al globo ocular, y en aquellos casos con enfermedad avanzada la quimioterapia sistémica con diversos esquemas, radioterapia y cirugía tienen un papel importante.

La supervivencia global en los pacientes con diagnóstico temprano, es decir, cuando la enfermedad se encuentra limitada al ojo, es superior al 95%. Sin embargo, la supervivencia con enfermedad avanzada se empobrece inclusive hasta presentar mortalidad del 100%, siendo la principal causa la afectación a (SNC).

Siendo la diseminación a SNC la causa más común de muerte en pacientes con retinoblastoma, pudiendo estar presente al diagnóstico u ocurrir como evento no diagnosticado al inicio de la enfermedad, es vital su abordaje inicial. En éstos niños la diseminación leptomeníngea es el sitio más común de enfermedad. La evaluación por estudio histopatológico del líquido cefalorraquídeo, con la detección de células neoplásicas, es hasta el momento la herramienta diagnóstica estándar para determinar que el paciente tiene enfermedad en SNC de forma temprana.

Debido a que las lesiones metastásicas en SNC por este tumor son claramente visibles en estudios de resonancia magnética (RM), la exactitud diagnóstica esperada es alta. Basado en lo anterior, existen pocos estudios para evaluar la utilidad como herramienta para diagnóstico de metástasis a SNC por RM, con muestras pequeñas de pacientes, que presenta una sensibilidad que van desde el 94 al 100%.<sup>17,18</sup> Debemos tomar en cuenta que la evaluación por éste método es de forma tardía al contar los pacientes con sintomatología por lo cual no es posible ser usado como método de diagnóstico inicial/oportuno presintomático.

El estudio del LCR para la búsqueda de células neoplásicas por histopatología es el estándar de referencia actual para el diagnóstico de metástasis en SNC en Rb; donde la presencia de una sola célula tumoral es suficiente para el diagnóstico de Rb metastásico. Sin embargo, cada vez es más cuestionado su utilidad para un diagnóstico certero y temprano en muchos de estos tipos de cáncer,<sup>19</sup> debido que



en la actualidad, en los padecimientos oncológicos, se han agregado nuevos marcadores, bien definidos y establecidos como criterios diagnósticos en conjunto o de forma independiente al estudio histopatológico del LCR. Un claro ejemplo son los linfomas no Hodgkin donde la nueva clasificación internacional incluye la evidencia citomorfológica, inmunohistoquímica, citogenética y de biología molecular, como herramientas diagnósticas contundentes de enfermedad con extensión a SNC, incrementando la detección temprana (antes de que suceda la progresión a este sitio) de enfermedad metastásica de un 60% por estudio histopatológico hasta un 85% por estudio molecular.<sup>20</sup> El estudio histopatológico del LCR en Rb es la única forma de corroborar la presencia de enfermedad en SNC. Sin embargo, un 30-40% de pacientes con estudio negativo al diagnóstico progresarán a este nivel, explicando un porcentaje de estas progresiones por una estadificación incompleta inicial, como el caso de linfomas y leucemias. <sup>21,22</sup> Dada la importancia de identificar al diagnóstico inicial a todos los pacientes realmente metastásicos a SNC, la detección oportuna mejoraría los esfuerzos terapéuticos de curación en una población, donde la probabilidad en este momento es menor al 10%.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuáles son las características clínico-patológicas de los pacientes con diagnóstico de Retinoblastoma metastásico a Sistema Nervioso Central en el Instituto Nacional de Pediatría en el período de 1986 a 2012?

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En México, a diferencia de otros países, persiste un alto número de diagnósticos con neoplasias, como el retinoblastoma, en estadios avanzados al diagnóstico. El

Instituto Nacional de Pediatría es un centro oncológico de referencia para pacientes con retinoblastoma referidos al diagnóstico o posterior a un tratamiento no exitoso contando con un importante número de pacientes con enfermedad metastásica a sistema nervioso central en comparación a otros centros oncológicos a nivel internacional. Hasta el momento no hay descripción de las características clínicas e histopatológicas asociadas a la presentación metastásica a SNC en retinoblastoma.

### **JUSTIFICACION**

El reconocimiento de factores clínicos, de laboratorio o histopatológicos han modificado los tratamiento a lo largo del tiempo de distintas neoplasias. La posibilidad de conocer las características en un número amplio de pacientes con retinoblastoma metastásico a sistema nervioso central pudiera ayudar a dirigir la búsqueda de factores de riesgo o factores pronósticos desconocidos, direcciones el enfoque de los abordajes actuales y así mejorar los esfuerzos diagnósticos y terapéuticos de estos pacientes con baja probabilidad de curación.

### **OBJETIVO GENERAL**

Describir las características clínicas e histopatológicas de los pacientes con diagnóstico de retinoblastoma metastásico a sistema nervioso central en el Instituto Nacional de Pediatría

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

- Diseño del estudio. Estudio retrospectivo, observacional, retrolectivo y descriptivo
- Población Objetivo. Pacientes pediátricos con diagnóstico de retiboblastoma metastásico a sistema nervioso central.

- Población Elegible. Pacientes pediátricos con diagnóstico de retinoblastoma metastásico a sistema nervioso central diagnosticados y/o tratados en el Instituto Nacional de Pediatría en el periodo de 1986 a 2012. Fechas definidas debido a la disponibilidad de expedientes clínicos en el área de archivo clínico al ser expedientes completamente físicos.
  
- Criterios de Selección.
  - Inclusión. Expediente de pacientes con diagnóstico de retinoblastomametastásico a sistema nervioso central diagnosticados y/o tratados en el Instituto Nacional de Pediatría en el período de 1986 a 2012.
  
  - Exclusión. Expedientes de pacientes que no cuente con reporte oficial de patología y/o radiología del diagnóstico.
  
- Metodología.

Se revisaron los expedientes de pacientes que cumplieran con los criterios previamente descritos recolectando las variables clínicas e histopatológicas mencionadas en la tabla 3. Se realizó, para las variables cuantitativas sociodemográficas, clínicas e histopatológicas de tipo continuas, estadística descriptiva con medidas de tendencia central (promedio, mediana) y medidas de dispersión (desviación estándar, cuartiles). Se realizó curva de supervivencia global por método de Kaplan Meir. Toda los datos recolectados en la hoja de variables fueron codificadas al software IBM SPSS Versión 20.0 para su descripción y presentación en tablas y gráficas.

<b>Tabla 3. Variables recolectadas</b>			
<b>Variable</b>	<b>Definición</b>	<b>Tipo de variable</b>	<b>Categoría/Unidad</b>
<b>Edad al diagnóstico</b>	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo hasta el momento del diagnóstico confirmado por oftalmólogo	Cuantitativa continua	Meses
<b>Sexo</b>	Sexo biológico del paciente	Cualitativa Dicotómica	1. Masculino 2. Femenino
<b>Sitio de Origen</b>	Estado de la república donde radican el año previo al diagnóstico	Cualitativa nominal	Estado de la república mexicana
<b>Lateralidad</b>	Ojos comprometidos con retinoblastoma	Cualitativa Dicotómica	1. Unilateral 2. Bilateral
<b>Fecha del diagnóstico</b>	Fecha en la que se hace el diagnóstico de retinoblastoma	Cuantitativa discreta	dd/mm/aaaa
<b>Fecha de última consulta</b>	Fecha en la que el paciente ha sido atendido por última vez en el INP	Cuantitativa discreta	dd/mm/aaaa
<b>Desenlace clínico</b>	Estado vital al momento de la fecha de la última consulta	Cualitativa nominal	0. Vivo sin enfermedad 1. Muerte por actividad tumoral 2. Muerte por causas no relacionadas
<b>Metastasis a otros sitios</b>	Enfermedad tumoral diseminada más allá del sitio primario y SNC	Cualitativa Dicotómica	1. Si 2. No

<b>Tratamiento</b>	Uso de quimioterapia, cirugía y/o radioterapia para manejo de retinoblastoma	Cualitativa Dicotómica	1. Si 2. No
<b>Patología. Retina</b>	Estado de la retina en relación al tumor al momento de la valoración histopatológica	Cualitativa Dicotómica	1. Positivo 2. Negativo
<b>Patología. Vítreo</b>	Estado del vítreo en relación al tumor al momento de la valoración histopatológica	Cualitativa Dicotómica	1. Positivo 2. Negativo
<b>Patología Coroides</b>	Estado de la coroides en relación al tumor al momento de la valoración histopatológica	Cualitativa Dicotómica	1. Positivo 2. Negativo
<b>Patología. Cribosa</b>	Estado de la lámina cribosa en relación al tumor al momento de la valoración histopatológica	Cualitativa Dicotómica	1. Positivo 2. Negativo
<b>Patología. Nervio óptico</b>	Estado del nervio óptico en relación al tumor al momento de la valoración histopatológica	Cualitativa Dicotómica	1. Positivo 2. Negativo

<b>Líquido cefalorraquídeo</b>	Estudio de confirmación de metástasis a sistema nervioso central por medio de células neoclásicas confirmadas en LCR al diagnóstico	Cualitativa Dicotómica	1. Positivo 2. Negativo
<b>Estudio de imagen</b>	Estudio de confirmación de metástasis a sistema nervioso central por medio de imagen compatible por topografía o resonancia cerebral al diagnóstico	Cualitativa Dicotómica	1. Positivo 2. Negativo

## RESULTADOS

Se obtuvieron 46 expedientes de pacientes que cumplían con los criterios de selección para este estudio, de los cuales todos fueron referidos al Instituto Nacional de Pediatría por sospecha dirigida de retinoblastoma en su mayoría de Veracruz y Oaxaca, con 8 casos cada uno, seguidos de Guerrero (6), Estado de México (5), Chiapas (5), Puebla (3), Michoacan (2), Hidalgo (2), Chihuahua (2) y Ciudad de México, Guanajuato, Jalisco, Queretaro y Tlaxcala, con un caso. Las características demográficas y clínicas se describen en la tabla 4. Aunque la mayoría de los pacientes se diagnosticaron antes de los 4 años de edad (90%) existieron diagnósticos a edades avanzadas, 95 meses (7 años y 11 meses), relacionadas en un retraso en la atención médica con inicio de sintomatología al

menos 12 meses previos a su valoración inicial en el Instituto. La relación H:M fue de 2:1.

Tabla 4. Características clínicas e histológicas de los pacientes con Rb Metastásico a SNC		
Variable		N (%)
Edad Media (DE)	37 meses ( $\pm 20$ )	
Sexo	Masculino	31 (67.4)
	Femenino	15 (32.6)
Lateralidad	Unilateral	36 (78.3)
	Bilateral	10 (21.7)
Origen	Urbano	15 (32.6)
	Rural	31 (67.4)
Tratamiento quirúrgico	Si	33 (71.7)
	No	13 (28.3)
Tipo de Cirugía (n=33)	Enucleación	28 (84.8)
	Exenteración	5 (15.2)
Metástasis SNC	LCR	6 (13)
	Estudio de Imagen	20 (43.5)
	Ambios	20 (43.5)
<b>Metástasis otros Sitios</b>		
Metástasis Hueso	Si	10 (21.7)
	No	36 (78.3)
Metástasis Médula Ósea	Si	8 (17.4)
	No	38 (82.6)
Metástasis Ganglionar	Si	1 (2.2)
	No	45 (97.8)
Metástasis Hepáticas	Si	1 (2.2)
	No	45 (97.8)
<b>Histología n=33</b>		
Retina	Positivo	31 (93.9)
	Negativo	2 (6.1)
Vítreo	Positivo	29 (87.9)
	Negativo	4 (12.1)
Coroides	Positivo	31 (93.9)
	Negativo	2 (6.1)
Cribosea	Positivo	30 (90.9)
	Negativo	3 (9.1)
Nervio óptico	Positivo	33 (100)
	Negativo	0 (0)

\*DE. Desviación estándar

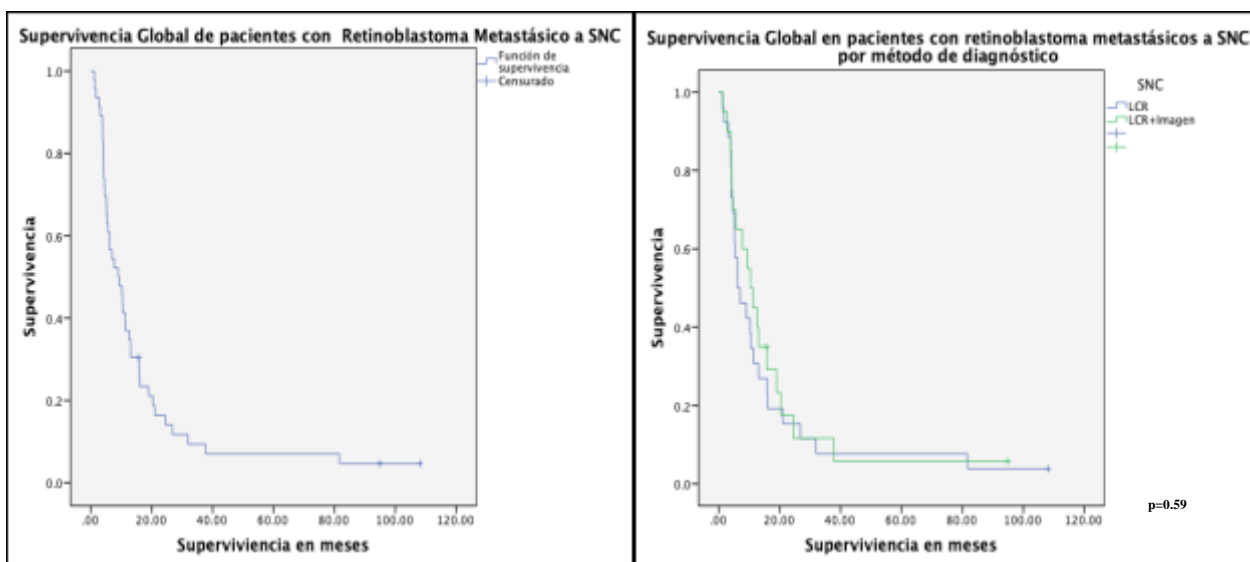
A todos los pacientes descritos se realizó el abordaje inicial para lograr una correcta estadificación, con toma de estudio de imagen (tomografía cerebral contrastada y/o resonancia magnética cerebral con gadolinio) y toma de líquido cefalorraquídeo por punción lumbar, excepto en dos pacientes que no fue posible realizar el procedimiento. Al ser una cohorte de pacientes con enfermedad avanzada por el hecho de ser metastásicos a SNC, un gran número de pacientes presentaba otras complicaciones relacionadas al diagnóstico oncológico que por sí solas deterioraban la calidad de vida del paciente (dolor, pérdida de la visión, alteraciones electrolíticas, crisis convulsivas, hidrocefalia, etc). Por estas condiciones, toxicidad a quimioterapia inicial o decisión de los padres al diagnóstico, 13 pacientes no fueron sometidos a tratamiento quirúrgico, sin obtener información histopatológica del tumor en relación al globo ocular y estructuras adyacentes.

Únicamente en 3 pacientes, con enfermedad unilateral, se logró la remisión de la enfermedad bajo esquema de tratamiento multimodal incluyendo cirugía, quimioterapia sistémica e intratecal y radioterapia. Dos pacientes con enfermedad metastásica con enucleación de ojo derecho, recibiendo quimioterapia sistémica con esquema de dos drogas (Cisplatino 100mgm<sup>2</sup>sc x 1 dosis y Etopósido 100mgm<sup>2</sup>sc x 3 dosis) por 9 y 7 ciclos, respectivamente, con aplicación 7 dosis de quimioterapia intratecal (Hidrocortisona 30mg + Metotrexate 12 mg) con negativización del LCR a células neoclásicas y radioterapia a cráneo 55Gy y 45Gy a neuroeje. Ambos pacientes con enfermedad metastásica a SNC confirmada por LCR y presencia de masa en SNC. El tercer paciente se realizó diagnóstico de enfermedad metastásica por estudio patológico de LCR únicamente, recibiendo mismo esquema de tratamiento por 9 ciclos, así como enucleación y radioterapia.



La supervivencia global de pacientes con Retinoblastoma metastásico a SNC a 15 meses fue del 23% reduciendo a tan solo 8% a los 5 años (gráfico 1); sin existir diferencia ante un diagnóstico por LCR o LCR y presencia de masa intracraneal por estudio de imagen (gráfico 2).

Gráficos. 1. Supervivencia global en pacientes con retinoblastoma Metastásico. 2. Supervivencia global comparada por método de diagnóstico de metástasis a SNC



## DISCUSIÓN

La forma de diseminación a SNC del Retinoblastoma a través de invasión por medio del nervio óptico pudiera explicar la totalidad de los casos metastásicos en nuestra serie por encontrar, en todos los pacientes que fueron sometidos a procedimiento quirúrgico, enfermedad neoplásica positiva al corte del nervio óptico en el estudio histopatológico. Sin embargo, existen 6 casos con metástasis confirmadas únicamente por LCR positivo donde la dispersión de células tumorales pudiera jugar un papel de diseminación importante. La mayoría, más del 90%, de nuestros casos cuentan con afectación a vítreo, retina, coroides y cribosa,

factores a los cuales se les ha dado un valor pronóstico en pacientes con estadios oculares. Uno de los primeros reportes, y con mayor número de pacientes, con descripción patológica en pacientes metastásicos a SNC fue realizado en los años 80's, incluyendo únicamente 20 pacientes con metástasis a SNC en un período de 50 años, donde 2 casos no presentaron invasión a coroides o nervio óptico; a diferencia de nuestra serie con 93.9% y 100%, respectivamente.<sup>23</sup> Aunque nuestra revisión solo incluyó aquellos pacientes con metástasis al SNC al diagnóstico, es necesario mencionar que existe un grupo de pacientes, cuya enfermedad no está diseminada más allá del globo ocular (con o sin nervio óptico positivo) al diagnóstico que progresaran a una enfermedad metastásica a SNC, de los cuales se deberán buscar nuevos marcadores como factores de riesgo y así lograr un tratamiento intenso y oportuno.

## **CONCLUSIONES**

El diagnóstico de enfermedad metastásica en pacientes con Retinoblastoma representa un reto terapéutico para el oncólogo pediátrico, sin embargo es aún un mayor para el médico de primer contacto, quien deberá de sospechar este padecimiento para lograr diagnósticos oportunos, logrando impactar en la supervivencia de estos pacientes. Ya que en la actualidad los países desarrollados cuentan con muy baja incidencia de pacientes con Retinoblastomametastásico, los factores clínicos, histopatológicos o inclusive nuevos marcadores moleculares no son prioritarios o motivo de estudio, sin contar con información reciente en la literatura internacional, siendo esta serie una de las más grandes reportadas en este tema. Ante la alta mortalidad ligada a este diagnóstico, deberá ser objeto de futuros estudios prospectivos la búsqueda de estas asociaciones a países en vías de

desarrollo, como lo es aún México, que enfrentan aún estos diagnósticos de enfermedad avanzada.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Pizzo PA, Poplack DG. Principles and Practice of Pediatric Oncology. 7a ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2015. 1457 p.
2. Abramson DH: Retinoblastoma in the 20th century: past success and future challenges, the Weisenfeld lecture. Invest Ophthalmol Vis Sci 46: 2683-2691, 2005.
3. Devesa S. The incidence of retinoblastoma. Am J Ophthalmol 1975;80:263–265.
4. Broaddus E, Topham A, Singh AD. Incidence of retinoblastoma in the USA: 1975–2004. Br J Ophthalmol 2009;93:21–23.
5. Leal-Leal C, Flores-Rojo M, Medina-Sanson A, et al. A multicentre report from the Mexican Retinoblastoma Group. Br J Ophthalmol 2004;88:1074–1077.
6. Rivera Luna R, Shalkow-Klincovstein J, Velasco Hidalgo L, et al. Descriptive Epidemiology in Mexican children with cancer under an open national public health insurance program. BMC Cancer 2014;14:790
7. Chantada GL, Dunkel IJ, Qaddoumi I, Antoneli CBG, Totah A, Canturk S, et al. Familial Retinoblastoma in developing countries. Pediatr Blood Cancer 2009;53:338–342
8. Chantada GL, Fandiño A, Manzitti J, Urrutia L, Schwartzman E. Late diagnosis of retinoblastoma in a developing country. Arch Dis Child 1999;80:171–174
9. de Camargo B, de Oliveira SM, Rebelo MS, et al. Cancer incidence among children and adolescents in Brazil: first report of 14 population-based cancer registries. Int J Cancer 2009;126:715–720.
10. Agboola AO, Adekanmbi FA, Musa AA, et al. Pattern of childhood malignant tumours in a teaching hospital in south-western Nigeria. Med J Aust 2009;190:12–14.

11. Friend SH, Bernards R, Rogelj S, Weinberg RA, Rapaport JM, Albert DM and Dryja TP: A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma. *Nature* 323: 643-646, 1986.
12. Knudson AG. Mutation and Cancer : Statistical Study of Retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1971;68(4):820-3.
13. Poulaki V, Mukai S. Retinoblastoma: genetics and pathology. *Int Ophthalmol Clin*. 2009;49(1):155-64.
14. Houston SK, Murray TG, Wolfe SQ, Fernandes CE. Current update on retinoblastoma. *Int Ophthalmol Clin*. 2011;51(1):77-91.
15. Grabowski EF, Abramson DH. Intraocular and extraocular retinoblastoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 1987;1(4):721-735
16. Pizzo PA, Poplack DG. Principles and Practice of Pediatric Oncology. 7a ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2015. 1498 p.
17. de Jong MC, de Graaf P, Brisse HJ, Galluzzi P, Goricke SL, Moll AC, et al. The potential of 3T high-resolution magnetic resonance imaging for diagnosis, staging, and follow-up of retinoblastoma. *Surv Ophthalmol*. 2015;60:346-55
18. de Jong MC, de Graaf P, Brisse HJ, Galluzzi P, Goricke SL, Moll AC, et al. Diagnostic performance of magnetic resonance imaging and computed tomography for advanced retinoblastoma: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2014;121:1109-18.
19. Weston CL, Glantz MJ, Connor JR. Detection of cancer cells in the cerebrospinal fluid: current methods and future directions. *Fluids Barriers CNS*. 2011;8:14-8
20. Rosolen A, Perkins SL, Pinkerton CR, Guillerman RP, Sandlund JT, Patte C, et al. Revised International Pediatric Non-Hodgkin Lymphoma Staging System. *J Clin Oncol*. 2015;33:2112-8.
21. Greenberg ML, Goldberg L. The value of cerebrospinal fluid cytology in the early diagnosis of metastatic retinoblastoma. *Acta Cytol* 1977;21(6):735-8

22. GlosováL, Malis J, Kodet R, Dimmerová D. Cerebrospinal fluid cytology in retinoblastoma--possibility of early detection of tumor dissemination into the CNS. *CeskSlovOftalmol.* 2000;56:311-3.
23. MacKay CJ, Abramson DH, Ellsworth RM. Metastatic patterns of retinoblastoma. *Arch ophthalmol.* 1984; 102:391-396.