



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**Instituto Mexicano del Seguro Social  
UMAE Hospital de Pediatría Dr. Silvestre Frenk Freund  
Centro Médico Nacional “Siglo XXI”**

**ASOCIACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE C-KIT (CD117) CON LA SOBREVIVENCIA  
DE PACIENTES CON RETINOBLASTOMA**

**TESIS**

PARA OBTENER EL GRADO DE SUB-ESPECIALISTA EN:

**PATOLOGÍA PEDIÁTRICA**

PRESENTA:

**Dr. José Rodrigo Alcántara Dzib**

Tutor de Tesis

**Dra. Alicia Georgina Siordia Reyes**

Jefa del servicio de Anatomía Patológica HP CMN SXXI  
e-mail: georginasiordia@imss.gob.mx Tel: 5532242128

Asesor Metodológico

**Dr. Mario Enrique Rendón Macías**

Médico adscrito al servicio de Pediatría HP CMN SXXI  
e-mail: drmariorendon@gmail.com Tel: 5554129208

Colaboradores

**Dr. Marco Antonio Rodríguez Florido**

Médico adscrito al servicio de Anatomía Patológica HP CMN SXXI  
e-mail: mar-florido@hotmail.com Tel: 5544419079

**Dra. Patricia Piña Sánchez**

Médico adscrito a la UMAE Hospital de Oncología CMN SXXI  
e-mail: patricia\_1307@yahoo.com.mx Tel: 5534555564



CIUDAD DE MÉXICO

2020.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.



Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud **3603**.  
HOSPITAL DE PEDIATRIA, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

Registro COFEPRIS 17 CI 09 015 042  
Registro CONBIOÉTICA **CONBIOETICA 09 CEI 032 2017121**

FECHA **Viernes, 22 de noviembre de 2019**

M.C. Alicia Georgina Siordia Reyes

**PRESENTE**

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **ASOCIACION DE LA EXPRESIÓN DE C-KIT (CD177) CON LA SOBREVIVENCIA DE PACIENTES CON RETINOBLASTOMA** que sometió a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **APROBADO**:

Número de Registro Institucional

R-2019-3603-080

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

  
Dr. HERMILO DE LA CRUZ YÁÑEZ

Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3603

[Imprimir](#)

**Instituto Mexicano del Seguro Social  
UMAE Hospital de Pediatría Dr. Silvestre Frenk Freund  
Centro Médico Nacional “Siglo XXI”  
Dirección de Educación e Investigación en Salud**

**AUTORIZACIÓN  
COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD  
R-2019-3603-080**

En virtud de haber terminado de manera satisfactoria su tesis y contar con el aval de su director de tesis para obtener el grado de Sub-especialista en:

**PATOLOGÍA PEDIÁTRICA**

SE AUTORIZA LA IMPRESIÓN DE TESIS DEL ALUMNO

**JOSÉ RODRIGO ALCÁNTARA DZIB**

ASOCIACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE C-KIT (CD117) CON LA SOBREVIVENCIA DE PACIENTES CON RETINOBLASTOMA

DIRECTOR DE TESIS  
**Dra. Alicia Georgina Siordia Reyes**

---

JURADO

PRESIDENTE  
**Dra. Alicia Georgina Siordia Reyes**

---

SECRETARIO  
**Dra. Floribel Ferman Cano**

---

VOCAL  
**Dra. Martha Valdés Sánchez**

---

**Dra. Amanda Idaric Olivares Sosa**  
**ENCARGADA DEL ÁREA DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD,**  
**UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA DR. SILVESTRE FRENK FREUND**  
**CENTRO MÉDICO NACIONAL “SIGLO XXI”**

**Dra. Alicia Georgina Siordia Reyes**  
**PROFESORA TITULAR DEL CURSO UNIVERSITARIO**  
**EN PATOLOGÍA PEDIÁTRICA, UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA**  
**DR. SILVESTRE FRENK FREUND CENTRO MÉDICO NACIONAL “SIGLO XXI”**

**Dr. José Rodrigo Alcántara Dzib**  
**MÉDICO RESIDENTE DE LA SUB-ESPECIALIDAD EN PATOLOGÍA**  
**PEDIÁTRICA, UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA DR. SILVESTRE FRENK**  
**FREUND CENTRO MÉDICO NACIONAL “SIGLO XXI”**

**No. De Registro: R-2019-3603-080**

## INDICE

RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
ANTECEDENTES CIENTÍFICOS.....	8
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
JUSTIFICACIÓN.....	18
OBJETIVOS.....	19
HIPÓTESIS.....	20
MATERIAL Y MÉTODO.....	21
VARIABLES.....	26
ASPECTO ÉTICOS.....	30
RESULTADOS.....	32
DISCUSIÓN.....	39
CONCLUSIONES.....	42
BIBLIOGRAFÍA.....	43
ANEXOS.....	46

## RESUMEN

**INTRODUCCION:** El retinoblastoma, suele ser fatal si no se trata, la sobrevida reportada a 5 años es de 95% en menores de 5 años; los factores histológicos son los indicadores con mayor influencia en el comportamiento de esta neoplasia. La mutación de C-kit se ha descrito en cerca del 52.38% de los casos de retinoblastoma, lo cual podría ser una alternativa terapéutica que mejore aún más la sobrevida de los pacientes.

**MATERIAL Y METODOS:** Se realizó una cohorte histórica, retrospectiva, analítica y longitudinal que incluyó todos los casos de retinoblastoma diagnosticados de enero de 2010 a diciembre de 2014, se re-evaluaron las laminillas para describir las características histopatológicas, para posteriormente determinar por inmunohistoquímica si la mutación de c-kit es un factor asociado a menor sobrevida, se aplicó una prueba de logaritmo rango Chi Cuadrada, considerando estadísticamente significativo valor de  $p < 0.05$  con IC del 95%.

**RESULTADOS:** Se analizaron un total de 26 casos con diagnóstico de retinoblastoma, el 62% (n=16) tuvieron una inmuno-expresión positiva para C-Kit. Se encontró que la inmuno-expresión de C-Kit no se asocia a menor sobrevida global a 5 años ( $p=0.08$ ), únicamente se halló que la presencia de metástasis ganglionar al momento del diagnóstico es el factor asociada a una menor sobrevida global a 5 años ( $p=0.0001$ ).

**CONCLUSION:** La inmuno-expresión de C-Kit en productos de enucleación de niños con diagnóstico de retinoblastoma no se asocia a menor sobrevida global a 5 años. La presencia de metástasis ganglionar al momento del diagnóstico siempre debe ser valorado, ya que le confiere una menor sobrevida a este grupo de pacientes.

**PALABRAS CLAVE:** Retinoblastoma, sobrevida, C-kit, inmunohistoquímica.

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Retinoblastoma, is usually fatal if it is not treated, the reported survival at 5 years is 95% in children under 5 years; Histological factors are the indicators with the greatest influence on the behavior of this neoplasm. The C-kit mutation has been described in about 52.38% of retinoblastoma cases, which could be a therapeutic alternative and furtherly reduce patient survival.

**METHODS:** A historical, retrospective, analytical and longitudinal cohort was carried out, which included all cases of retinoblastoma diagnosed from January 2010 to December 2014, the sheets were reevaluated for the description of histopathological characteristics, for the last determination by immunohistochemistry. If the c-kit mutation is a factor associated with shorter survival, a chi-square rank logarithm test was applied, a statistically significant value of  $p < 0.05$  with 95% CI.

**RESULTS:** A total of 26 cases with a diagnosis of retinoblastoma were analyzed, 62% ( $n = 16$ ) had a positive immuno-expression for C-Kit. It was found that the immuno-expression of C-Kit is not associated with a lower overall survival at 5 years ( $p = 0.08$ ), specifically the presence of lymph node metastasis at the time of diagnosis was found to be the factor associated with a lower overall survival at 5 years ( $p = 0.0001$ ).

**CONCLUSIONS:** Immuno-expression of C-Kit in enucleation products of children diagnosed with retinoblastoma is not associated with a lower overall survival at 5 years. The presence of lymph node metastases at the time of diagnosis should always be evaluated, since it confers a shorter survival on this group of patients.

**KEY WORDS:** Retinoblastoma, survival, prognosis, C-kit, immunohistochemistry

## ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

El retinoblastoma (RB), un tumor que surge de la capa nuclear interna de la retina, es la neoplasia maligna intraocular primaria más común en la infancia. La incidencia se estima en aproximadamente 1 de cada 15,000 a 20,000 nacidos vivos. El RB representa el 3% de todos los cánceres infantiles. <sup>1</sup> En México, se ha encontrado que el RB representa de 2.5% hasta 9.6% de todas las neoplasias infantiles, informado por Fajardo et. Al. en 2011, donde describen las neoplasias más frecuentes en niños mexicanos. <sup>2</sup> Un análisis de 1452 casos con diagnóstico de retinoblastoma, encontró que la edad media de los pacientes al momento del diagnóstico es 1,44 años. El tumor es unilateral en 71.0% de los casos y bilateral en 29.0%. Los pacientes con tumores bilaterales se suelen diagnosticar a edad más temprana (0,46 años) que los pacientes con enfermedad unilateral (1,77 años;  $p < 0,0001$ ). El RB bilateral (90,3% en la supervivencia global a los 10 años) se asoció con disminución de la supervivencia general que el retinoblastoma unilateral (96,1% a la supervivencia general a los 10 años). <sup>3,4</sup>

El RB es mortal, si no se trata. El reflejo ocular blanco, también conocido como leucocoria, es el signo más común, seguido del estrabismo. Los pediatras tienen un papel muy importante en el diagnóstico de este tumor relativamente raro, pero fácilmente detectable. El tratamiento del RB ha evolucionado gradualmente durante las últimas décadas, con una simulación magnética, un tratamiento de emergencia, radioterapia, fotocoagulación con láser y cirugía, todo con una función importante. La quimioterapia intravenosa ha sido el pilar del tratamiento en las últimas dos décadas. Los recientes avances en la ingeniería genética y la retina también ayudan a mejorar el manejo clínico general de esta enfermedad maligna. <sup>5</sup>

El RB es causado por mutaciones de novo en el gen RB1. A menudo, estas mutaciones están presentes como mutaciones de mosaico que no pueden detectarse mediante la secuenciación de Sanger. La secuenciación de próxima generación permite la detección inequívoca de las mutaciones. El uso de la tecnología de secuenciación de próxima generación aumenta la sensibilidad de la detección de mutaciones en el mosaico de la línea germinal en el gen RB1. Este hallazgo tiene implicaciones significativas para mejorar el diagnóstico clínico, el asesoramiento genético, la vigilancia y el manejo del RB. <sup>6</sup>

El RB es una enfermedad genética debido a la inactivación de ambos alelos del gen RB1. La enfermedad puede ser categorizada como hereditaria (25-35%) y no hereditario o esporádico (65-75%). El RB hereditario es una enfermedad autosómica dominante. En el subtipo hereditario el 85% de los tumores son de aparición temprana, bilaterales y multifocales; en tanto el subtipo no hereditario o esporádicos suelen ser de presentación tardía, unilaterales y unifocales. El gen RB1 se encuentra en cromosoma 13 en la región del brazo q 14. Se extiende por aproximadamente 180 kb de longitud, teniendo 27 exones. <sup>4, 7, 8</sup>

El RB se manifiesta típicamente como una lesión de la retina en forma de cúpula unifocal o multifocal, bien circunscrita, con vasos retinianos dilatados. Aunque inicialmente puede ser transparente y difícil de visualizar, se vuelve opaco y con presencia de leuocoria. Cuando es pequeño, el tumor es esencialmente intrarretiniano. A medida que aumenta, crece en un plano tridimensional, que se aleja de la cavidad vítrea (exofítica) o hacia ella (endofítica). <sup>9</sup>

El RB se deriva de células de origen neuroectodérmico, y si supera el suministro vascular a 90-110  $\mu\text{m}$  del canal vascular central, experimenta necrosis

isquémica y puede contener áreas de calcificación distrófica, lo que produce una apariencia calcárea o de requesón muy visible. Citológicamente, el RB está constituido por células azules, pequeñas y redondas. El RB puede mostrar una diferenciación que se hace menos evidente con la edad, estos signos de diferenciación, incluyen las rosetas de Homer Wright o Flexner-Wintersteine. El grado de diferenciación en el RB está determinado por la presencia de dichas rosetas, el menos diferenciado es la roseta de Homer Wright, que también se puede observar en otros tumores del sistema nervioso central embrionario como el pineoblastoma y el meduloblastoma; la roseta de Flexner-Wintersteiner es el tipo más diferenciado que imitan las características citológicas y arquitectónicas de las células sensoriales y cónicas fotosensibles, que son evidencia de una mayor diferenciación de fotorreceptores. La parte central de la roseta de Homer Wright está llena de neuropilo, en comparación con el centro claro de las rosetas Flexner - Wintersteiner atribuibles a una recapitulación de la membrana externa de la retina.

4. <sup>10</sup> El término RB trilateral se refiere al retinoblastoma bilateral en asociación con un tumor embrionario primario de la pineal, que generalmente muestra diversos grados de diferenciación neuronal y fotorreceptora. <sup>11</sup>

Las características histopatológicas de alto riesgo se hallan hasta en 32% de los ojos enucleados por retinoblastoma (extensión extraocular, invasión de la cámara anterior, iris, cuerpo ciliar, la coroides (> 3 mm) y/o nervio óptico); el RB de alto riesgo no tratado conlleva al menos 24% de riesgo de enfermedad metastásica que suele ocurrir en los primeros 12 meses posteriores a la enucleación. La quimioterapia postenucleación con vincristina, etopósido y carboplatino ha demostrado eficacia en la prevención de metástasis hasta en 100% de los casos.

En los países con atención médica avanzada, la incidencia de metástasis en niños con RB es menor del 10%.<sup>12</sup>

La supervivencia general después de la enucleación a 5 años es de aproximadamente 97%, las tasas de supervivencia son más bajas para los ojos con hallazgos histopatológicos de mayor riesgo que demuestra que invade más allá de la lámina cribrosa del nervio óptico y / o que se localizan de manera masiva en la coroides. La enucleación primaria para el retinoblastoma unilateral da como resultado una baja tasa de muerte metastásica, pero aún se asocia con probabilidad de metástasis del 3.9% dentro del primer año de la enucleación. Si no hay enfermedad metastásica a los 5 años después del tratamiento, el paciente generalmente se considera curado.<sup>12, 13</sup>

La Clasificación Internacional de Retinoblastoma Intraocular establece un sistema de acuerdo al éxito de la quimioterapia, con tasa de recuperación del 90% para los ojos de los grupos A, B y C y 47% para los ojos del grupo D; los ojos del grupo E usualmente son enucleados debido al daño ocular irreversible. (Tabla 1) La elección del tratamiento primario para el RB debe sopesarse cuidadosamente, ya que las características histopatológicas de alto riesgo son un factor potencial para la recurrencia y/o metástasis. En la mayoría de los casos, la metástasis se produce en el sistema nervioso central (SNC), hueso y médula ósea. La metástasis se produce de una de las tres formas: mediante la diseminación directa en el SNC a través del nervio óptico, la invasión coroidea y la diseminación hematógena, o la extensión orbital con afectación de los ganglios linfáticos. La metástasis ósea, que generalmente involucra los huesos largos o los huesos craneofaciales, causa una masa palpable no sensible. La citología del líquido cefalorraquídeo, la evaluación

de la médula ósea y estudios de imagen se realizan en todos los casos de RB metastásico para la estadificación de la enfermedad.<sup>14</sup>

Clásicamente se han utilizado diferentes sistemas de estadificación, incluyendo la de Grabowski-Adamson propuesta por el Hospital de Investigación Infantil de St. Jude, la de la American Joint Commission for Cancer (AJCC) y la Clasificación Internacional del Retinoblastoma (IRSS). (Tabla 2, 3 y 4). El AJC y la IRSS parecen ser los más confiables para agrupar pacientes según su riesgo de recaída extraocular.<sup>11, 15</sup>

En un estudio retrospectivo en donde se incluyeron a 519 pacientes con diagnóstico de RB intervenidos con enucleación primaria con finalidad de determinar la correlación entre la clasificación internacional del retinoblastoma y los hallazgos histopatológicos de alto riesgo para metástasis la muerte ocurrió en 4% de todos los pacientes.<sup>12</sup>

La quimioterapia anterior a la enucleación puede reducir la evidencia patológica del riesgo de extensión extraocular y, por lo tanto, un manejo inadecuado por no recibir la quimioterapia adyuvante necesaria. Los tumores mal diferenciados se asociaron con una mayor riesgo de recurrencia que los tumores bien / moderadamente diferenciados.<sup>16</sup> El manejo del RB se encuentra basado en el riesgo que presenta debido a la extensión de la enfermedad intraocular, la lateralidad y la edad del niño en el momento del diagnóstico. El riesgo de enfermedad recurrente y la diseminación extraocular aún existen para pacientes con enfermedad avanzada que presentan alguna característica histopatológicas de alto grado, en particular, la invasión coroidea masiva, lo que subraya la importancia de este hallazgo histopatológico.<sup>17</sup>

El desarrollo de fármacos para inhibir específicamente los oncogenes ha sido uno de los principales objetivos de la investigación del retinoblastoma. La identificación de los objetivos intracelulares apropiados es fundamental para este proceso, algunos de los oncogenes activados implicados en la patogénesis y la progresión de la malignidad son las tirosinquinazas, enzimas que transfieren fosfato de trifosfato de adenosina a aminoácidos específicos en proteínas de sustrato. La fosforilación de estas proteínas conduce a la activación de las vías de transducción de señales, que tienen un papel crítico en una variedad de procesos biológicos, incluido el crecimiento celular, la diferenciación y la muerte. Varias enzimas tirosinquinazas están desreguladas y sobreexpresadas en los cánceres humanos y, por lo tanto, son blancos atractivos para los inhibidores farmacológicos selectivos.<sup>18, 19</sup> La inhibición de estas enzimas, especialmente C-kit y PDGFR-a y -b, puede aumentar sinérgicamente el daño por radiación en las células neoplásicas, ya que se sabe que ambos están relacionados con la reparación del daño del ADN inducido por la radiación.<sup>20</sup>

Las proteínas tirosinquinazas desempeñan funciones importantes en los mecanismos celulares, como la diferenciación, la proliferación, los procesos reguladores y la transducción de señales. A medida que se desarrollan nuevos agentes terapéuticos, estas tirosinquinazas han sido objeto de una mayor atención y ahora son el foco de muchas nuevas estrategias de tratamiento. Desde la introducción del mesilato de imatinib, un inhibidor de la proteína tirosinquinasa, C-kit ha surgido como una diana terapéutica interesante, asociando su expresión, valorada por tinciones de inmunohistoquímica, con una sobrevida general más pobre en una amplia variedad de tumores malignos humanos, como el osteosarcoma,

carcinoma colorrectal, carcinoma de mama, tumor phyllodes, carcinomas renales, carcinomas de ovario, tumores del estroma gastrointestinal y leucemia mieloide crónica, dichas neoplasias se benefician con el empleo de inhibidores de la tirosinquinasa induciendo respuesta citogenética superior a los tratamientos habituales, sin asociarse a efectos tóxicos tardíos aumentando la sobrevida de los pacientes.<sup>19-22</sup> en cuanto a la leucemia mieloide crónica aquellos pacientes en los que se determina la mutación de c-kit y por lo tanto son candidatos a recibir tratamiento con inhibidores de la tirosinquinasa (imatinib) se ha visto que la media de supervivencia en años es mayor;<sup>23</sup> de forma similar se ha estudiado la expresión de c-kit en la supervivencia libre de recurrencia en pacientes con tumores del estroma gastrointestinal (GIST), encontrando que el 80.4% de los pacientes con GIST expresaron c-kit y por lo tanto fueron candidatos a recibir imatinib, concluyendo en sus observaciones que aquellos paciente tratados tuvieron una sobrevida mayor a largo plazo y se redujeron el número de recurrencias de la enfermedad.<sup>24</sup>

La expresión de C-kit se ha estudiado en diversos tumores pediátricos, como: el sarcoma sinovial, osteosarcoma, sarcoma de Ewing, neuroblastoma y tumores de Wilms; en el caso del retinoblastoma se han estudiado características histopatológicas positivas asociados con la expresión de c-kit: invasión al nervio óptico, coroides, así como el grado de diferenciación de la neoplasia, que podrían proponer el uso de este fármaco y así mejorar la sobrevida de estos pacientes.<sup>25</sup>

C-kit (CD117, receptor del factor de células madre) es una proteína transmembrana tirosinquinasa de 145 kDa que actúa como un receptor de tipo III. El protooncogén C-kit, ubicado en el cromosoma 4q11-21, codifica la proteína C-kit,

cuyo ligando es el factor de células madre (SCF; factor de acero, kit-ligando, factor de crecimiento de mastocitos). Juega un papel importante en varios procesos celulares importantes como la proliferación, diferenciación, apoptosis, apego y migración.<sup>25, 26</sup> El papel del C-kit y su sobreexpresión ha surgido como un posible objetivo terapéutico después del reciente desarrollo del mesilato de imatinib compuesto (STI571, Gleevec; Novartis Pharma AG, Basilea, Suiza), que inhibe específicamente los receptores de tirosinquinasa: Bcr-Abl, Ckit y receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas. El uso de imatinib ha sido aprobado por la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos para tratar los tumores del estroma gastrointestinal con KIT positivo y la leucemia mieloide crónica.<sup>18, 25</sup>

Se ha observado expresión de c-kit en los casos de retinoblastoma de hasta 52.38% (33 de 63 RB), dicha expresión se ha visto que se encuentra asociada a un comportamiento biológico más agresivo, con mayor expresión en tumores que se extienden más allá de la retina. De igual forma se ha reportado que la angiogénesis es un evento crucial para el desarrollo de esta neoplasia, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es un factor de crecimiento angiogénico potente y específico que participa en la formación del estroma del tumor vascular.<sup>27, 28</sup>

La tinción de inmunohistoquímica para C-kit en el RB ayuda a obtener una información valiosa de la mutación presente en este tipo de tumor, dicha tinción se toma como positiva cuando la membrana de las células neoplásicas es inmunorreactiva al anticuerpo empleado. Se describen hallazgos histopatológicos del RB asociados con la expresión de C-kit, el 62% de los casos que presentaron invasión del nervio óptico y/o coroides expresan dicha inmunorreacción; por otra

parte el grado de diferenciación del RB se correlaciona con la expresión de C-kit, reportándose que 56% de los RB bien y moderadamente diferenciados tienen una expresión positiva para C-kit.<sup>28</sup>

Con relación a la morbilidad significativa y la mortalidad potencial asociada con las terapias actuales en el tratamiento del RB, se están investigando nuevas modalidades terapéuticas. El oncogén C-kit ha recibido una amplia atención debido al desarrollo de nuevas terapias inhibitorias eficaces, como el mesilato de imatinib, y al tratamiento exitoso de tumores como los GIST, que se sabe que sobreexpresan el receptor en más del 95% de los casos. En cuanto al seguimiento de los pacientes con diagnóstico de RB, una serie de 56 casos seguidos por 4 años, únicamente el 3.57% (n=2) de los casos fallecieron debido a la extensión extra ocular y metástasis intracraneal de la enfermedad a los 5 y 9 meses posteriores al diagnóstico, después de la enucleación, la quimioterapia adyuvante y a pesar del tratamiento de la metástasis del sistema nervioso central. Estos dos pacientes revelaron invasión combinada del nervio óptico y coroides, así como expresión positiva de C-kit. La expresión de C-kit es una característica del retinoblastoma más agresiva, con aumento de la expresión en tumores que se extienden más allá de la retina, se ha sugerido que la vía molecular C-kit puede ser importante en el crecimiento del RB, y apunta a su uso como objetivo para el tratamiento con mesilato de imatinib.<sup>27-29</sup>

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Poco se sabe acerca de la expresión de c-kit en la sobrevida de pacientes con retinoblastoma, se ha descrito que la dicha característica está presente en hallazgos histopatológicos de pronóstico adverso para el retinoblastoma como la invasión al nervio óptico y/o coroides, sin embargo, se desconoce la implicación directa que puede ejercer sobre la sobrevida en estos pacientes que en un futuro pueden beneficiarse de terapia adyuvante específica para este tumor; este beneficio se ha visto en otro tipo de neoplasias como la leucemia mieloide crónica y el tumor del estroma gastrointestinal, en donde independientemente de los factores histopatológicos hallados en el tumor la expresión de C-kit es un hallazgo determinante en el tratamiento y sobrevida de estos pacientes.

**¿La expresión de c-kit se asocia con menor sobrevida en pacientes con retinoblastoma?**

## JUSTIFICACIÓN

En los Estados Unidos la incidencia de retinoblastoma se estima un caso por cada 18,000 nacidos vivos; en México representa el 4.3% de los cánceres en niños, constituyendo la segunda neoplasia más común en menores de un año y la tercera en los de 1 a 4 años de edad. En nuestro hospital es la primera causa de enucleación. Hasta ahora existen datos limitados en la literatura sobre la expresión de C-kit en retinoblastoma, la cual podría ser de utilidad para posibles terapias blanco que aumenta la sobrevida de los pacientes. La mortalidad se ve influenciada por los factores pronósticos que se desprenden de los reportes histopatológicos al analizar la pieza quirúrgica, ya que es fundamental para la toma decisiones de su seguimiento. Recientemente ha tomado relevancia la mutación de C-kit como factor pronóstico que debería ser determinado. En la población en general se ha estimado frecuencia de positividad para la mutación del gen C-kit del 52.38% de los casos de retinoblastoma. No existen estudios previos reportados en población mexicana sobre la prevalencia de la mutación de C-kit asociada con retinoblastoma, por lo que este estudio pretende encontrar la frecuencia de la mutación y si este es un factor asociado a una menor sobrevida en pacientes que presentaron enucleación por retinoblastoma diagnosticados en el servicio de Anatomía patológica del Hospital de Pediatría “Dr. Silvestre Frenk Freund” del C.M.N. Siglo XXI durante el periodo Enero 2010 a Diciembre 2014 y su relación con los parámetros histopatológicos que se han reportado de mal pronóstico. El análisis mutacional tendrá utilidad clínica no solo para la estratificación del riesgo y pronóstico, sino por la existencia de terapia blanco que requieren su determinación.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar si existe asociación entre la expresión de c-kit con la sobrevida de pacientes con retinoblastoma.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Conocer los factores demográficos y clínicos de la población afectada por retinoblastoma.
- Determinar los factores pronósticos histológicos del retinoblastoma.
- Identificar la sobrevida de la enfermedad a 5 años del diagnóstico de retinoblastoma.
- Analizar la expresión de c-kit y los factores pronósticos histológicos contra la sobrevida del retinoblastoma a 5 años del diagnóstico.

## **HIPÓTESIS**

Hi: La expresión de c-kit se asocia a menor sobrevida en pacientes con retinoblastoma.

Ho: La expresión de c-kit no se asocia a menor sobrevida en pacientes con retinoblastoma.

## **MATERIAL Y MÉTODO**

Diseño de estudio: Cohorte histórica, retrospectiva, analítica y longitudinal.

Universo de estudio: Registro de reportes del servicio de Anatomía Patológica del Hospital de Pediatría “Dr. Silvestre Frenk Freund” del C.M.N. Siglo XXI del período de enero de 2010 a diciembre de 2014.

Población de estudio: Reportes de pacientes con diagnóstico de retinoblastoma del Hospital de Pediatría “Dr. Silvestre Frenk Freund” del C.M.N. Siglo XXI que cuenten con los criterios de selección.

### **Tamaño de la muestra:**

No probabilística de casos consecutivos.

## **CRITERIOS DE SELECCIÓN**

### ***Criterios de Inclusión:***

- Reportes histopatológicos con diagnóstico de retinoblastoma durante el período de enero 2010 a diciembre 2014 en el servicio de anatomía patológica de la UMAE Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI.
- Reportes histopatológicos de pacientes con diagnóstico de retinoblastoma con expediente completo.

### ***Criterios de Exclusión***

- Reportes histopatológicos con diagnóstico de retinoblastoma de pacientes con tratamiento previo a base de inhibidores de la tirosin-quinasa.
- Reportes histopatológicos con diagnóstico de retinoblastoma de pacientes con antecedente de algún tratamiento previo, incluida quimioterapia o radioterapia sistémica, intraarterial o intravítrea antes de la enucleación, incisión y/o exanteración.

### ***Criterios de Eliminación***

- Reportes histopatológicos con diagnóstico de retinoblastoma con laminillas y bloques de parafina dañados, no permitiendo obtener la información a recabar o llevar a cabo la técnica de inmunohistoquímica.

## DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTO

Se realizó una búsqueda en el sistema del servicio de Anatomía Patológica del Hospital de Pediatría “Dr. Silvestre Frenk Freund”, del C.M.N Siglo XXI para obtener los reportes histológicos correspondientes al producto de enucleación, exenteración y /o escisión seleccionando a los pacientes con diagnóstico de retinoblastoma.

Se buscaron laminillas y bloques de parafina en el archivo, para el caso de la laminillas se re-analizaron los parámetros histológicos que son objeto de estudio en el presente protocolo; esta valoración estuvo a cargo de dos médicos patólogos con más de cinco años de experiencia profesional en el área de patología pediátrica y neuropatología, certificados antes el Consejo Mexicano de Patólogos A. C. con número 546 Dra. Alicia Georgina Siordia Reyes y con número 1054 Dr. Marco Antonio Rodríguez Florido, con la finalidad de garantizar la concordancia intra e interobservador de cada caso evaluado.

De los bloques de parafina se seleccionó el representativo de la lesión y se realizaron micro-arreglos de cada caso, para posteriormente conocer el estado mutacional de C-Kit por el método de inmunohistoquímica (ver anexo, técnica de preparación de micro-arreglos e inmunohistoquímica).

Finalmente, con los resultados y una vez contando con el análisis estadístico, se procedió a realizar la discusión de los resultados, confrontándolos con la evidencia del marco de referencia.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se formaron dos grupos de pacientes, uno con expresión de C-Kit y otro sin dicha expresión, analizando en todos los casos los factores pronósticos histológicos antes mencionados, así como su sobrevida global a 5 años, registrada en los expedientes clínicos del hospital.

Para determinar si la mutación de C-Kit está asociada con las características histopatológicas halladas en cada caso se realizó una prueba de Chi Cuadrada, y para el calculo de la sobrevida en pacientes con retinoblastoma asociada a la expresión de C-kit se realizó la prueba logaritmo rango, se tomó como un valor estadísticamente significativo valor de  $p < 0.05$ , aplicando un intervalo de confianza del 95%.

En el procesamiento de la información se elaboró una base de datos en Excel de Microsoft y el análisis estadístico se realizó con el paquete computacional SPSS versión 23.

## **FACTIBILIDAD, RECURSOS HUMANOS, FISICOS Y FINANCIEROS**

En el servicio de Anatomía Patológica de la UMAE Hospital de Pediatría “Dr. Silvestre Frenk Freund” del C.M.N. Siglo XXI se revisaron los reportes, laminillas y bloques de parafina. La determinación de la expresión de c-kit, por el método de inmunohistoquímica, se llevo a cabo en el área de inmunohistoquímica del servicio, contando con la infraestructura, material y recurso técnico para poder ser realizada.

Las características histopatológicas así como la expresión de c-kit fueron evaluadas por dos médicos patólogos con más de cinco años de experiencia profesional en el área de patología pediátrica y neuropatología, certificados ante el Consejo Mexicano de Patólogos A. C. con número 546 Dra. Alicia Georgina Siordia Reyes y con número 1054 Dr. Marco Antonio Rodríguez Florido, con la finalidad de garantizar la concordancia intra e interobservador de cada caso evaluado. En ambos procedimientos no se implicaron modificaciones en la operación habitual del servicio.

## VARIABLES

Nombre de la variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición	Indicador
Expresión de C-kit	Independiente	Determinación de la expresión de c-kit por inmunohistoquímica.	En bloque de parafina representativo del tumor se realizará la tinción de inmunohistoquímica para c-kit, considerando positividad cuando el 100% de las células neoplásicas muestren inmunorreacción al anticuerpo y negativa en caso contrario.	Nominal dicotómica	1. Positivo 2. Negativo
Sobrevida Global	Dependiente	Sobrevida de la enfermedad: meses libres de actividad tumoral a 5 años posteriores al diagnóstico.	Se buscará en los expedientes clínicos de cada paciente con diagnóstico de retinoblastoma en seguimiento de cada caso.	No categórica discreta	Meses
Metástasis ganglionar	Dependiente	Diagnóstico de retinoblastoma extraocular después de la enucleación.	Se buscará en el archivo de patología reportes subsecuentes de cada paciente durante el periodo de 5 años.	Nominal dicotómica	1. Si 2. No

Patrón de crecimiento	Dependiente	Determinación del patrón de crecimiento con relación al globo ocular, en corte teñido con Hematoxilina-eosina.	En laminillas de cada caso seleccionado se clasificará el patrón de crecimiento.	Nominal dicotómica	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Endofítico.</li> <li>2. Exofítico.</li> </ol>
Grado de diferenciación	Dependiente	Componentes histológicos que conforman la totalidad del tumor en relación con la formación de rosetas.  (Parámetro CAP).	En laminillas representativas de la neoplasia se realizará la medición del eje mayor tumoral en milímetros.	Ordinal	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. No Determinado</li> <li>2. Indiferenciado</li> <li>3. Diferenciado</li> </ol>
Lateralidad del tumor	Dependiente	Determinar la localización anatómica del tumor.  (Parámetro CAP).	En la relación de cortes incluidos del reporte histopatológico de la piza quirúrgica se buscará la localización anatómica del tumor.	Nominal	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ojo derecho</li> <li>2. Ojo izquierdo</li> <li>3. Bilateral</li> </ol>

Invasión a la coroides	Dependiente	Determinación de la invasión a la capa coroides del ojo.  (Parámetro CAP).	En las laminillas representativas de la neoplasia se determinará la presencia de invasión a la capa coroides.	Nominal dicotómica	1.Presente 2.Ausente
Invasión al nervio óptico	Dependiente	Determinación de la invasión al nervio óptico.  (Parámetro CAP).	En las laminillas representativas de la neoplasia se determinará la presencia de invasión al nervio óptico.	Nominal dicotómica	1.Presente 2.Ausente
Extensión extraocular	Dependiente	Determinación de la extensión extraocular a tejidos blandos  (Parámetro CAP).	En las laminillas representativas de la neoplasia se buscará la extensión al tejido extraocular.	Nominal dicotómica	1.Presente 2. Ausente
Necrosis	Dependiente	Alteraciones morfológicas que se producen después de la muerte celular.	En las laminillas representativas de la neoplasia se buscará la presencia o ausencia de necrosis.	Nominal dicotómica	1.Presente 2. Ausente

Calcificaciones	Dependiente	Depósito de calcio en el tejido tumoral.	En las laminillas representativas de la neoplasia se buscará la presencia o ausencia de calcificaciones.	Nominal dicotómica	1. Presente 2. Ausente
Edad	Demográfica	Tiempo de vida de una persona desde su nacimiento hasta el momento actual.	Según años cumplidos al momento del diagnóstico.	No categórica discreta	Años
Sexo	Demográfica	Hombre/mujer. Diferencia en la forma del cuerpo y en la constitución física de un individuo que distingue al hombre de la mujer.	Según sexo biológico	Nominal dicotómica	1. Hombre 2. Mujer

## **ASPECTOS ÉTICOS**

De acuerdo al reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación, en su artículo 17 se consideran tres categorías de riesgo ante la probabilidad de que los sujetos de investigación sufran algún daño como consecuencia inmediata o tardía del estudio (investigación sin riesgo, con riesgo mínimo y con riesgo mayor que el mínimo); el presente estudio se consideró sin riesgo, ya que emplea técnicas y métodos de investigación documental retrospectivo que no intervienen o modifican las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio, además que los procedimientos planteados se apegan a las normas éticas en materia de investigación en seres humanos y a la Declaración de Helsinki vigentes.

Con base a la guía de ConBioética 2018 en su apartado número 14 que aborda las consideraciones éticas para el uso de material biológico en investigaciones, se expone que el presente estudio fue para el beneficio de la sociedad mexicana y en especial para la población pediátrica, en cada uno de los expedientes existe consentimiento informado de la obtención y procesamiento de la muestra biológica obtenida para su estudio histopatológico normada por el Instituto Mexicano del Seguro Social, garantizando de esta manera la confidencialidad y privacidad de los datos; dicho material biológico fue inactivado con formaldehído al 10% y resguardado en bloques de parafina a temperatura ambiente (15-25°C) en las instalaciones del laboratorio de Anatomía Patológica de la UMAE Hospital de pediatría del CMN Siglo XXI, el material biológico sobrante se conservó en dichos bloques de parafina y fueron manejados con las mismas condiciones descritas

previamente para su posterior uso y/o consulta; en el caso de los residuos propios del proceso del material biológico, estos fueron conservados y trasladados en contenedores especiales para su eliminación adecuada de acuerdo al Manual de procedimientos para el manejo y control de residuos biológico-infecciosos tóxico-peligrosos en Unidades de Atención Médica implementada en el Instituto Mexicano del Seguro Social, con lo cual este estudio no representó riesgo para el personal de salud ni para los sujetos de investigación, cumpliendo con las normas de bioseguridad establecidas.

Se realizó asignación aleatoria de un folio a cada uno de los casos, para no emplear nombres, apellidos o cualquier dato que fuera vinculable con el paciente; el investigador principal fue el único que conoció dicha información, la cual fue resguardada durante todo el estudio, para así garantizar que la información obtenida no sea utilizada para un fin diferente al planteado de manera inicial.

Los resultados de la inmunoeexpresión de esta investigación fueron anexados a cada uno de los expedientes como adendum al reporte histopatológico previamente emitido del material biológico recabado en el departamento de Anatomía Patológica, con la finalidad de ser informados a cada paciente en sus citas subsecuentes. Tipo de estudio de acuerdo al riesgo: Investigación sin riesgo.

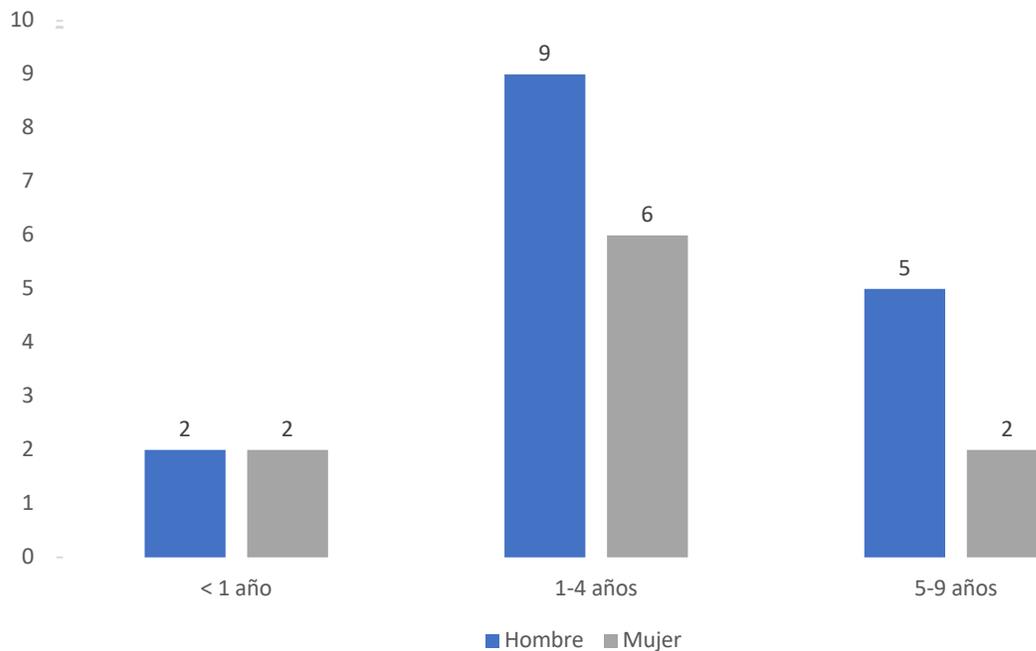
El presente estudio fue aprobado por el comité local de ética e investigación de la UMAE Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI con número de registro institucional R-2019-3603-080.

## RESULTADOS

En el presente estudio se analizaron un total de 26 pacientes con diagnóstico de retinoblastoma durante el período de enero de 2010 a diciembre de 2014, con la finalidad de identificar como la expresión de C-Kit se asocia a la supervivencia global a 5 años del grupo de pacientes antes mencionados. La mayoría de los pacientes (62%) corresponden al sexo masculino. El promedio de edad fue de 3.6 años al momento del diagnóstico, con una desviación estándar (DE)  $\pm 4.5$  años. 4 pacientes tuvieron menos de 1 año de edad al momento del diagnóstico, 15 pacientes de 1 a 4 años y 7 pacientes de 5 a 9 años de edad (gráfica 1). Todos los casos revisados (n=26) corresponden a productos de enucleación.

□

Gráfica 1. Distribución por edad y sexo de niños con diagnóstico de retinoblastoma (n=26).

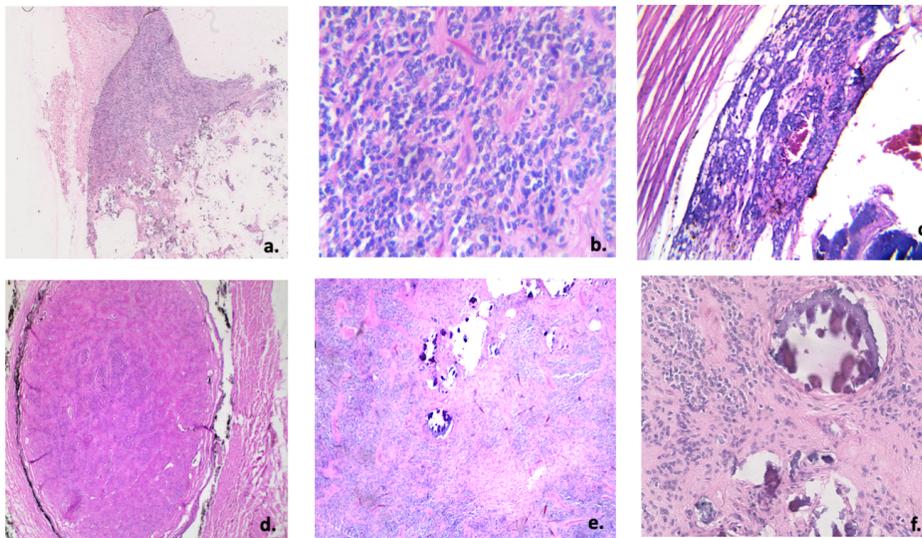


En 54% (n=14) de los casos revisados se localizaron en el ojo derecho y el resto en el izquierdo (46%), no se identificó ningún caso de retinoblastoma bilateral o trilateral al momento del diagnóstico.

Se identificó patrón de crecimiento endofítico fue el más frecuente (figura 1.a) con 50% (n=13), seguido de patrón exofítico con 38% (n=10) y mixto con 12% (n=3); de acuerdo al grado de diferenciación (figura 1.b): el retinoblastoma de tipo diferenciado estuvo presente en 31% (n=8) de los casos, indiferenciado en 55% (n=14) y no determinado en 14% (n=4).

La invasión a coroides (figura 1.c) estuvo presente en 58% de los casos al momento del diagnóstico (n=15) y en todos ellos la invasión fue menor a 3 mm de longitud. La invasión al nervio óptico (figura 1.d) únicamente fue positiva en 23% (n=6) de los productos de enucleación analizados; tanto la extensión extraocular y la metástasis se determinó en 8% (n=2) de ojos enucleados.

La necrosis (figura 1.e) se halló en 92% (n=24) y estuvo ausente sólo en 8% (n=2); la metástasis ganglionar se identificó en 4% (n=1); en 73% (n=19) de los casos se observó calcificaciones (figura 1.f). El 62% de los productos de enucleación por retinoblastoma (n=16) tuvieron una inmuno-expresión positiva en el citoplasma de las células neoplásicas para C-Kit en tanto el 15% no expresaron este marcador de inmunohistoquímica (n=4) y en 23% no fueron valorables (n=6).

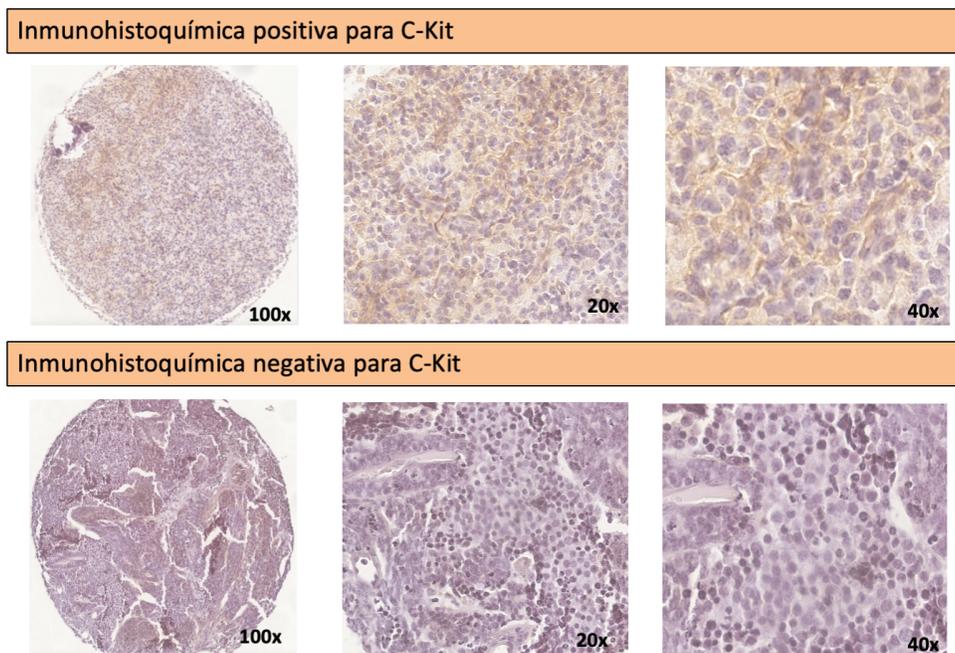


**Figura 1. Características histopatológicas halladas en los casos de retinoblastoma, tinción de hematoxilina y eosina: a. Patrón de crecimiento (100x), b. Grado de diferenciación (20x), c. Invasión a coroides (40x), d. Invasión a nervio óptico (40x), e. Necrosis (40x), f. Calcificaciones (20x).**

Las características histopatológicas determinadas en cada uno de los casos, fueron asociadas a la expresión de C-Kit, encontrando que la invasión al nervio óptico ( $p=0.047$ ) y la presencia de metástasis ( $p=0.014$ ) presentaron una asociación estadísticamente significativa con la expresión de C-Kit tomando como significativo un valor de  $p < 0.05$  (Tabla I).

De los veintiséis pacientes diagnosticados con retinoblastoma en el período de estudio antes mencionado sólo cuatro fallecieron (15%), por lo que a partir de estos datos descriptivos se procedió a realizar un análisis estadístico para determinar su asociación de las diferentes variables clínicas e histopatológicas con sobrevida global a 5 años de los 26 pacientes incluidos en este estudio, 15 pacientes con sobrevida global mayor o igual a 5 años presentaron inmuno-expresión positiva a C-kit en el citoplasma de las células neoplásicas (figura 2), dato que representa al

58% de los pacientes, mientras que solo un paciente del grupo de pacientes fallecidos presentó dicha inmunorreacción (4%). Aplicando la prueba logaritmo rango se encontró que la inmuno-expresión de C-Kit en productos de enucleación de pacientes con diagnóstico de retinoblastoma no se asocia a menor sobrevida global a 5 años,  $p=0.08$  (gráfica 2), sin embargo, analizado los demás hallazgos únicamente se halló que la presencia de metástasis al momento del diagnósticos es el único factor asociada a una menor sobrevida global a 5 años en este grupo de pacientes,  $p=0.0001$  (gráfica 3).



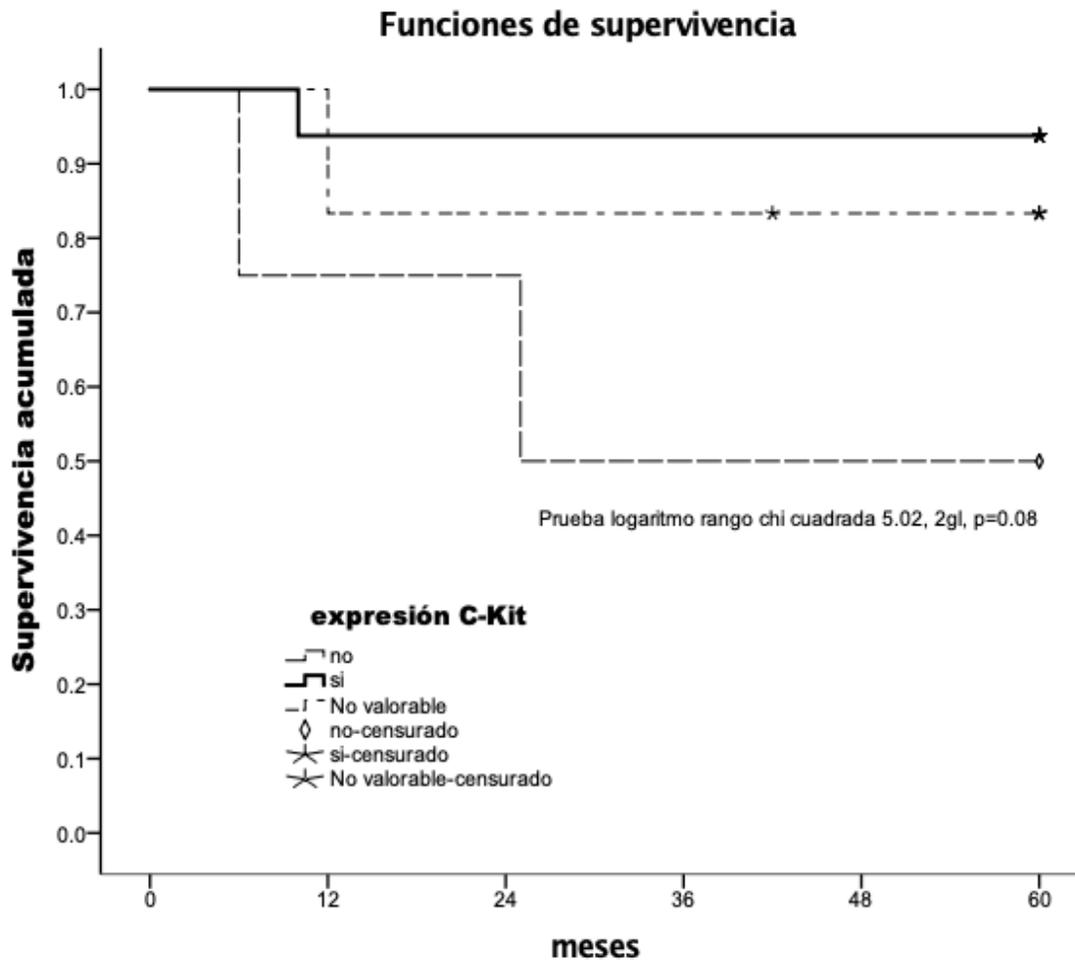
**Figura 2. Inmuno-expresión de C-Kit: en las tres fotografías superiores se observa un caso positivo con inmunorreacción presente en el citoplasma de las células neoplásicas, comparado con un caso negativo (fotografías inferiores).**

**Tabla I. Características clínico-patológicas asociadas con la inmuno-expresión de C-Kit en casos de retinoblastoma (n=26)**

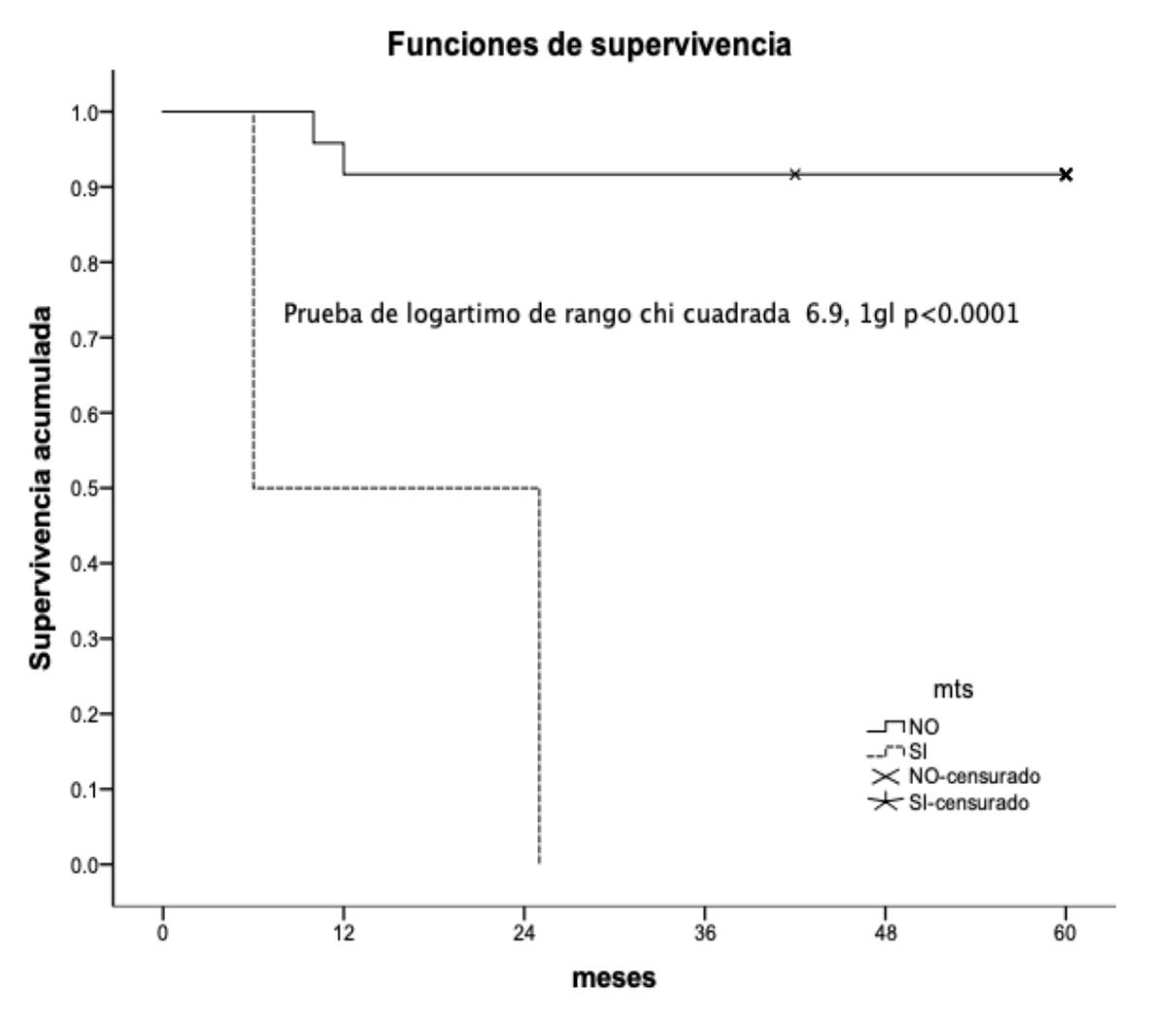
Variable	n (%)	Expresión de C-Kit		
		Positivo n=16 (%)	Negativo n=4 (%)	NV n=6 (%)
Edad media	3.6 ± 4.5			
Grupos de edad				
• < 1 año	4 (15.4)	4 (25.0)	0 (0)	0 (0)
• 1-5 años	15 (57.7)	9 (56.3)	3 (75)	3 (50)
• 5-9 años	7 (26.9)	3 (18.8)	1 (25)	3 (50)
Sexo				
• Hombre	16 (62)	7 (43.8)	3 (75)	6 (100)
• Mujer	10 (38)	9 (56.3)	1 (25)	0 (0)
Lateralidad del tumor				
• Unilateral	26 (100)			
○ Ojo derecho	14 (53.8)	8 (50)	2 (50)	4 (66.7)
○ Ojo izquierdo	12 (46.2)	8 (50)	2 (50)	2 (33.3)
Patrón de crecimiento				
• Endofítico	13 (50.0)	7 (43.8)	3 (75)	3 (50)
• Exofítico	10 (38.5)	6 (37.5)	1 (25)	3 (50)
• Mixto	3 (11.5)	3 (18.8)	0 (0)	0 (0)
Grado de diferenciación				
• Diferenciado	8 (30.8)	7 (43.8)	0 (0)	1 (16.4)
• Indiferenciado	14 (53.8)	6 (37.5)	3 (75)	5 (83.3)
• No determinado	4 (15.4)	3 (18.8)	1 (25)	0 (0)
Invasión a coroides				
• Presente	15 (57.7)	8 (50)	2 (50)	5 (83.3)
○ < 3 mm	15/15			
○ > 3 mm	0/15			
• Ausente	11 (42.3)	8 (50)	2 (50)	1 (16.7)
Invasión a nervio óptico				
• Presente	6 (23.1)	2 (12.5)	3 (75)	1 (16.7)
• Ausente	20 (76.9)	14 (87.5)	1 (25)	5 (83.3)
Extensión extraocular				
• Presente	2 (7.7)	1 (6.3)	1 (25)	0 (0)
• Ausente	24 (92.3)	15 (93.7)	3 (75)	6 (100)
Metástasis ganglionar				
• Presente	2 (7.7)	0 (0)	2 (50)	0 (0)
• Ausente	24 (92.3)	16 (100)	2 (50)	6 (100)
Necrosis				
• Presente	24 (92.3)	14 (87.5)	4 (100)	6 (100)
• Ausente	2 (7.7)	2 (12.5)	0 (0)	0 (0)
Calcificaciones				
• Presente	19 (73.1)	11 (68.8)	3 (75)	5 (83.3)
• Ausente	7 (26.9)	5 (31.3)	1 (25)	1 (16.7)
Estado del paciente				
• Vivo	22 (84.6)	15 (93.8)	2 (50)	5 (83.3)
• Fallecido	4 (15.4)	1 (6.3)	2 (50)	1 (26.7)

n=número de casos (porcentaje), NV= No valorable, \* Prueba de Chi cuadrada por razón de máxima verosimilitud.

Gráfica 2. Función de supervivencia según expresión de C-Kit en niños con retinoblastoma.



**Gráfica 3. Función de supervivencia según presencia de metástasis ganglionar en niños con retinoblastoma**



## DISCUSIÓN

El retinoblastoma tiene una tasa de curación muy alta, los recientes avances en el manejo del retinoblastoma y un enfoque multidisciplinario lo han hecho eminentemente curable: el pronóstico de supervivencia global a 5 años es de alrededor del 98%, con 90% de recuperación ocular y 80% de recuperación de la visión, de acuerdo al tratamiento empleado; <sup>5, 13, 15</sup> en nuestro estudio se encontró un porcentaje de supervivencia similar con cerca del 85% de los pacientes vivos a 5 años posterior al diagnóstico; cabe mencionar que la distribución por sexo fue predominantemente para el sexo masculino con 62% de los casos (n=15), situación similar a la descrita en estudios previos por Andreoli et. al. En 2017, analizó 1452 casos de retinoblastoma. <sup>3</sup>

La edad promedio de los pacientes que se incluyeron en este estudio fue de 3.6 años al momento del diagnóstico, con una desviación estándar (DE)  $\pm$  4.5 años, este dato resulta ser diferente al expuesto en varios estudios en donde el promedio de edad oscilaba entre 1.44 y 2.38 años de edad al momento del diagnóstico con una DE  $\pm$  2.4 años y  $\pm$  3.1 años, respectivamente. <sup>3, 13</sup> De lo anterior se comparten datos similares con los descritos en la literatura en relación a la edad de presentación que se describe en menores a los 5 años. <sup>14, 29</sup> El 100% de los casos analizados en este estudio corresponden a retinoblastomas unilaterales, situación diferente a la hallada en otros estudios en donde del 71% hasta el 89% de los casos corresponden a retinoblastoma unilaterales. <sup>3, 14, 17, 29</sup>

El patrón de crecimiento endofítico tuvo mayor prevalencia con 50% de los casos analizados en este estudio, Fabián et. al y Kaliki et. al. refieren, en sus

respectivas series, dicho patrón del 20% hasta el 23% de los casos, <sup>12, 14</sup> sin embargo, fue más parecido al hallazgo de Yousef et. al. en donde este tipo de crecimiento se encontró en 42%. <sup>16</sup> El retinoblastoma de tipo indiferenciado se encontró en 54% (n=14), dato superior al descrito en otras series del 8% hasta el 12%. <sup>3, 12</sup>

La invasión a coroides estuvo presente en 58% y en todos ellos fue menor a 3 mm de longitud, porcentaje superior al encontrado por Yousef et. al en su análisis de 50 casos de retinoblastoma en donde halló dicha característica histopatológica en 44% <sup>16</sup> y al de Brennan et. al. con 56%; <sup>17</sup> sin embargo, fue inferior al porcentaje reportado por Youssef et. al. con 62.5% de los casos positivos para invasión a coroides. <sup>29</sup>

La invasión al nervio óptico es quizás uno de los parámetros quirúrgicos e histopatológicos más valorados en el pronóstico de un paciente con diagnóstico de retinoblastoma, en este estudio, dicha invasión fue positiva en el 23% (n=6) de los productos de enucleación analizados; este porcentaje es inferior al encontrado por Yousef et. al. con 46% <sup>16, 29</sup> y Brennan et. al. con 84%. <sup>17</sup> La metástasis ganglionar estuvo presente en 4% (n=1) de ojos enucleados, cifra mayor a la descrita por Brennan et. al. con un 3%, <sup>16</sup> pero menor a la descrita por Rodríguez-Galindo et. al. y a Kaliki et. al. con 15% y 24% respectivamente. <sup>12, 15</sup>

El 62% de los productos de enucleación por retinoblastoma incluidos en el presente estudio (n=16) tuvieron una inmuno-expresión positiva en el citoplasma de las células neoplásicas para C-Kit en tanto el 15% no expresaron este marcador de inmunohistoquímica y un 23% fueron casos no valorables, este hallazgo, punto

fundamental de esta investigación, fue superior al encontrado por Barry et. Al, en donde 33 de sus 63 casos estudiados, de retinoblastoma, fueron positivos para la C-Kit, <sup>28</sup> así como a los descritos en estudios previos en donde se halló un porcentaje superior al 48%. <sup>16, 29</sup>

Otro hallazgo importante fue la asociación estadísticamente significativa que se encontró entre algunas características histopatológicas y la expresión de C-Kit (invasión al nervio óptico  $p=0.047$  y presencia de metástasis ganglionar  $p=0.014$ ), hallazgo similar al de Barry et. al, donde se encontró asociación estadísticamente significativa entre la expresión de C-Kit y la invasión al nervio óptico  $p < 0.02$  pero diferente en cuanto a la invasión a coroides, ya que Barry et. al. Reporta una  $p < 0.01$  para esta característica histopatológica mientras que en nuestro estudio no hubo significancia ( $p=0.32$ ). <sup>28</sup>

De los veintiséis pacientes, sólo cuatro fallecieron (15%), porcentaje un poco superior al descrito en otras series, <sup>1, 5, 13</sup> sin embargo, el número de casos incluidos en este estudio puede estar asociado con dicho porcentaje. Aplicando la prueba logaritmo rango se encontró que la inmuno-expresión de C-Kit en productos de enucleación de pacientes con diagnóstico de retinoblastoma no se asocia a menor sobrevida global a 5 años,  $p=0.08$  (gráfica 2), por otro lado, analizado los demás hallazgos se halló que la presencia de metástasis ganglionar al momento del diagnóstico es el único factor asociada a una menor sobrevida global a 5 años en este grupo de pacientes,  $p=0.0001$  (gráfica 3), estos hallazgos pueden estar determinados por el tamaño de la muestra y el número de casos no valorables.

## CONCLUSIONES

- La edad promedio de los pacientes incluidos en este estudio fue de 3.6 años al momento del diagnóstico.
- El sexo masculino represento el mayor número de casos con 62%.
- La presencia de metástasis ganglionar se asoció a menor sobrevida global a 5 años en niños con retinoblastoma.
- La frecuencia de la inmuno-expresión de C-Kit en nuestra población de estudio fue del 62%.
- La inmuno-expresión de C-Kit en retinoblastomas, podría no asociarse, en nuestros casos, con menor sobrevida global a 5 años.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kivela T. The epidemiological challenge of the most frequent eye cancer: Retinoblastoma, an issue of birth and death. *Br J Ophthalmol*. 2009; 93: 1129-31.
2. Fajardo-Gutiérrez A, Rendón-Macías ME, Mejía-Arangué JM. Epidemiología del cáncer en niños mexicanos. Resultados globales. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2011; 49 (Supl 1): S43-S70.
3. Andreoli MT, Chau FY, Shapiro MJ, Leiderman YI. Epidemiological trends in 1452 cases of retinoblastoma from the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) registry. *Can J Ophthalmol*. 2017 Dec;52(6):592-598.
4. Mendoza PR, Grossniklaus HE. The Biology of Retinoblastoma. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2015;134:503-16.
5. Rao R, Honavar SG. Retinoblastoma. *Indian J Pediatr*. 2017 Dec;84(12):937-944.
6. Chen Z, Moran K, Richards-Yutz J, Toorens E, Gerhart D, et. Al. Enhanced sensitivity for detection of low-level germline mosaic RB1 mutations in sporadic retinoblastoma cases using deep semiconductor sequencing. *Hum Mutat*. 2014 Mar;35(3):384-91.
7. Jagadeesan M, Khetan V, Mallipatna A. Genetic perspective of retinoblastoma: From present to future. *Indian J Ophthalmol*. 2016 May;64(5):332-6.
8. Soliman SE, Racher H, Zhang C, MacDonald H, Gallie BL. Genetics and Molecular Diagnostics in Retinoblastoma--An Update. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2017 Mar-Apr;6(2):197-207.
9. Shields J, Shields C. Retinoblastoma: introduction, genetics, clinical features, classification. In: Shields J, Shields C, editors. *Atlas of Intraocular Tumors*, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott, Wolters Kluwer; 2016. p. 311–4.
10. Eagle RC Jr. The pathology of ocular cancer. *Eye (Lond)*. 2013 Feb;27(2):128-36.
11. Ortiz MV, Dunkel IJ. Retinoblastoma. *J Child Neurol*. 2016 Feb;31(2):227-36.)

12. Kaliki S, Shields CL, Shah SU, Eagle RC Jr, Shields JA, et. Al. Postenucleation adjuvant chemotherapy with vincristine, etoposide, and carboplatin for the treatment of high-risk retinoblastoma. *Arch Ophthalmol*. 2011 Nov;129(11):1422-7.
13. Lu JE, Francis JH, Dunkel IJ, Shields CL, Yu MD, et. Al. Metastases and death rates after primary enucleation of unilateral retinoblastoma in the USA 2007-2017. *Br J Ophthalmol*. 2018 Oct 25. pii: bjophthalmol-2018-312915.
14. Fabian ID, Stacey AW, Chowdhury T, Duncan C, Karaa EK, et. Al. High-Risk Histopathology Features in Primary and Secondary Enucleated International Intraocular Retinoblastoma Classification Group D Eyes. *Ophthalmology*. 2017 Jun;124(6):851-858.
15. Rodriguez-Galindo C, Orbach DB, VanderVeen D. Retinoblastoma. *Pediatr Clin North Am*. 2015 Feb;62(1):201-23.
16. Yousef YA, Hajja Y, Nawaiseh I, Mehyar M, SultanI, et. Al. A histopathologic analysis of 50 eyes primarily enucleated for retinoblastoma in a tertiary cancer center in Jordan. *Turk Patoloji Derg*. 2014;30(3):171-7.
17. Brennan RC, Qaddoumi I, Billups CA, Free TL, Haik BG, et. Al. Comparison of high-risk histopathological features in eyes with primary or secondary enucleation for retinoblastoma. *Br J Ophthalmol*. 2015 Oct;99(10):1366-71.
18. Savage DG, Antman KH. Imatinib mesylate—a new oral targeted therapy. *N Engl J Med* 2002; 346(9): 683–693.
19. Medinger M, Kleinschmidt M, Mross K, Wehmeyer B, Unger C, et. Al. c-kit (CD117) expression in human tumors and its prognostic value: an immunohistochemical analysis. *Pathol Oncol Res*. 2010 Sep;16(3):295-301.
20. Zhao F, Chen Y, Wu Q, Wang Z, Lu J. Prognostic value of CD117 in cancer: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014 Feb 15;7(3):1012-21.

21. Tan WJ, Thike AA, Tan SY, Tse GM, Tan MH, et. Al. CD117 expression in breast phyllodes tumors correlates with adverse pathologic parameters and reduced survival. *Mod Pathol*. 2015 Mar;28(3):352-8.
22. Miettinen M, Lasota J. KIT (CD117): a review on expression in normal and neoplastic tissues, and mutations and their clinicopathologic correlation. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2005 Sep;13(3):205-20.
23. Hochhaus A, Larson RA, Guilhot F, et al. Long-Term Outcomes of Imatinib Treatment for Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2017;376(10):917–927.
24. Joensuu H, Wardelmann E, Sihto H, et al. Effect of KIT and PDGFRA Mutations on Survival in Patients With Gastrointestinal Stromal Tumors Treated With Adjuvant Imatinib: An Exploratory Analysis of a Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol*. 2017;3(5):602–609.
25. Filho JP, Correa ZM, Odashiro AN, et al. Histopathological features and Pglycoprotein expression in retinoblastoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:3478–83.
26. Shields CL, Honavar SG, Meadows AT, et al. Chemoreduction plus focal therapy for retinoblastoma: factors predictive of need for treatment with external beam radiotherapy or enucleation. *Am J Ophthalmol* 2002;133:657–64.
27. Went P, Dirnhofer S, Bundi M, Mirlacher M, Schraml P, et. Al. Prevalence of KIT expression in human tumors. *J Clin Oncol* 2004;22:4514–22.
28. Barry RJ, de Moura LR, Marshall JC, Fernandes BF, Orellana ME, et. Al. Expression of C-kit in retinoblastoma: a potential therapeutic target. *Br J Ophthalmol*. 2007 Nov;91(11):1532-6.
29. Youssef NS, Said AM. Immunohistochemical expression of CD117 and vascular endothelial growth factor in retinoblastoma: possible targets of new therapies. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014 Aug 15;7(9):5725-37.

## ANEXOS

### HOJA DE CAPTURA DE DATOS

FOLIO: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_

Fecha de Nacimiento: \_\_\_\_\_

#### INFORMACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN:

VARIABLE	INDICADOR	RESULTADO
Sobrevida	Meses de vida, posterior a la fecha de diagnóstico de retinoblastoma.	
Presentó Metástasis	1. Si 2. No	
Mutación c-kit	1. Positivo 2. Negativo	
Patrón de crecimiento	1. Endofítico. 2. Exofítico. 3. Mixto.	
Grado de diferenciación	1. Diferenciado. 2. Indiferenciado. 3. No determinado.	
Lateralidad del tumor	1. Ojo derecho 2. Ojo izquierdo 3. Bilateral	
Invasión a la coroides	1. Presente ( ) mm 2. Ausente	
Invasión al nervio óptico	1. Presente 2. Ausente	
Extensión extraocular	1. Presente 2. Ausente	
Metástasis ganglionar	1. Presente 2. Ausente	
Necrosis	1. Presente 2. Ausente	
Calcificaciones	1. Presente 2. Ausente	

#### OBSERVACIONES:

---

---

**Tabla 1**

<b>Clasificación Internacional de Retinoblastoma (ICRB)</b>	
<b>Grupo A: Riesgo muy bajo. Pequeños tumores discretos que no amenazan la visión.</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Todos los tumores son de 3 mm o menos, limitados a la retina</li> <li>• Ubicados al menos a 3 mm de la foveola y a 1.5 mm del nervio óptico</li> <li>• No hay siembra vítrea o subretiniana</li> </ul>	
<b>Grupo B: Riesgo bajo. Sin siembra vítrea o subretiniana.</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumores de cualquier tamaño o ubicación que no estén en el Grupo A</li> <li>• Sin siembra vítrea o subretiniana</li> <li>• Líquido subretiniano a no más de 5 mm de la base del tumor</li> </ul>	
<b>Grupo C: Riesgo moderado siembra vítrea o subretiniana focal y tumores retinianos discretos de cualquier tamaño y ubicación</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Siembra local, fina y limitada</li> <li>• Tumores intrarretinales discretos de cualquier tamaño y ubicación</li> <li>• Hasta un cuadrante de líquido subretiniano</li> </ul>	
<b>Grupo D: Riesgo alto siembra vítrea difusa o subretiniana</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Enfermedad difusa intraocular diseminada</li> <li>• Siembra vítrea extensa o "grasa"</li> <li>• La siembra subretinal puede ser similar a una placa</li> <li>• Más de un cuadrante de desprendimiento de retina</li> </ul>	
<b>Grupo E: Riesgo muy alto Riesgo muy alto con uno o más de los siguientes.</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glaucoma neovascular irreversible</li> <li>• Hemorragia intraocular masiva</li> <li>• Celulitis orbitaria aséptica</li> <li>• Tumor anterior a la cara vítrea anterior</li> <li>• Tumor que toca la lente</li> <li>• Infiltración difusa Rb</li> <li>• Fisis</li> </ul>	

\* Yousef YA, Hajja Y, Nawaiseh I, Mehyar M, SultanI, et. Al. A histopathologic analysis of 50 eyes primarily enucleated for retinoblastoma in a tertiary cancer center in Jordan. Turk Patoloji Derg. 2014;30(3):171-7.

**Tabla 2**

<b>Grupo de Reese-Ellsworth para la idoneidad para el tratamiento del retinoblastoma mediante radioterapia</b>
Grupo I. Muy favorable. Ia: tumor solitario más pequeño que 4 dd en o detrás del ecuador Ib: tumores múltiples, ninguno más grande que 4 dd, todos en o detrás del ecuador
Grupo II. Favorable IIa: tumor solitario de 4 a 10 dd, en o detrás del ecuador IIb: tumores múltiples de 4 a 10 dd, en o detrás del ecuador
Grupo III. Dudoso IIIa: cualquier lesión anterior al ecuador IIIb: tumor solitario mayor de 10 dd detrás del ecuador
Grupo IV. Desfavorable IVa: tumores múltiples, algunos mayores de 10 dd IVb: cualquier lesión que se extienda anteriormente a la ora serrata
Grupo V. Muy desfavorable. Va: tumores masivos que afectan a más de la mitad de la retina Vb: siembra vítrea

\* Abreviatura: dd, diámetro del disco (1,5 mm). De Reese AB, Ellsworth RM. La evaluación y concepto actual de la terapia de retinoblastoma. Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol 1963; 67: 164–72.

**Tabla 3**

IRSS
Etapa 0. Pacientes tratados de forma conservadora.
Etapa I. Ojo enucleado, completamente resecao histológicamente.
Etapa II. Ojo enucleado, tumor residual microscópico.
Etapa III. Extensión regional. a. Enfermedad orbital manifiesta segundo. Extensión preauricular o de los ganglios linfáticos cervicales
Etapa IV. Enfermedad metastásica a. Metástasis hematogena (sin afectación del sistema nervioso central [SNC]) 1. Lesión única 2. Lesiones múltiples. segundo. Extensión del SNC (con o sin otro sitio de enfermedad regional o metastásica) 1. Lesión prechiasmática. 2. Masa del SNC 3. Enfermedad leptomeníngea y LCR.

\*De Chantada G, Doz F, Antonelli CB, et al. Una propuesta para un sistema internacional de estadificación del retinoblastoma.

Pediatr Blood Cancer 2006; 47: 801-5.

## Sistema de estadificación AJCC

Clasificación clínica (estadificación tumor-nodo-metástasis por examen clínico [cTNM])

### **Tumor primario (T)**

TX: no se puede evaluar el tumor primario.

T0: no hay evidencia de tumor primario.

T1: tumores no más de dos tercios del volumen del ojo sin siembra vítrea o subretiniana.

T1a: notumor en ojo es mayor que 3 mm. La dimensión más grande está ubicada a menos de 1,5 mm del nervio óptico o fovea.

T1b: al menos 1 tumor tiene más de 3 mm en la dimensión más grande o está ubicado a menos de 1,5 mm del nervio óptico o fovea. No hay desprendimiento de retina o líquido subretinal a más de 5 mm de la base del tumor.

T1c: al menos 1 tumor es mayor que 3 mm en la dimensión más grande o está ubicado a menos de 1,5 mm del nervio óptico o fovea, con desprendimiento de retina o líquido subretiniano a más de 5 mm de la base del tumor.

T2: tumores de no más de dos tercios del volumen del ojo con siembra vítrea o subretiniana. Puede tener desprendimiento de retina.

T2a: propagación mínima del tumor al espacio vítreo y / o subretiniano. Está presente la siembra vítrea focal y / o subretiniana de agregados finos de células tumorales, pero no grandes grupos o bolas de nieve de células tumorales.

T2b: tumor masivo extendido al espacio vítreo y / o subretiniano. Se presenta una siembra vítrea y / o subretiniana masiva, definida como grupos difusos o bolas de nieve de células tumorales.

T3: enfermedad intraocular grave.

T3a: el tumor llena más de dos tercios del ojo.

T3b: 1 o más complicaciones presentes, que pueden incluir glaucoma neovascular o de ángulo cerrado asociado a tumor, extensión tumoral en el segmento anterior, hifema, hemorragia vítrea o celulitis orbital.

T4: enfermedad extraocular detectada por estudios de imagen.

T4a: invasión del nervio óptico.

T4b: invasión de la órbita.

T4c: extensión intracraneal no más allá del quiasma.

T4d: extensión intracraneal del quiasma.

### **Ganglios linfáticos regionales (N)**

NX: no se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales.

N0: no hay afectación de ganglios linfáticos regionales.

N1: afectación de los ganglios linfáticos regionales (preauricular, submandibular o cervical).

N2: afectación ganglionar distante.

### **Metástasis a distancia (M)**

M0: sin metástasis a distancia.

M1: metástasis sistémica.

M1a: lesión única en sitios distintos del SNC.

M1b: lesiones múltiples en sitios distintos al SNC.

M1c: lesiones del SNC prechiasmáticas.

M1d: lesiones del sistema nervioso central poschiasmáticas.

M1e: afectación leptomenígea y / o LCR.

Clasificación patológica (estadificación tumor-nodo-metástasis por patología [pTNM])

**Tumor primario (pT)**

pTX: no se puede evaluar el tumor primario.

pT0: no hay evidencia de tumor primario.

pT1: tumor confinado al ojo sin nervio óptico o invasión coroidea.

pT2: tumor con mínimo nervio óptico y / o invasión coroidea.

pT2a: el tumor invade superficialmente la cabeza del nervio óptico pero no se extiende más allá de la lámina cribrosa o el tumor muestra una invasión coroidea focal.

pT2b: el tumor invade superficialmente la cabeza del nervio óptico pero no se extiende más allá de la lámina cribrosa y muestra una invasión coroidea focal.

pT3: tumor con importante nervio óptico y / o invasión coroidea.

pT3a: el tumor invade el nervio óptico a través de la lámina cribrosa pero no a la línea de resección quirúrgica o el tumor muestra una invasión coroidea masiva.

pT3b: el tumor invade el nervio óptico a través de la lámina cribrosa pero no a la línea de resección quirúrgica y muestra una invasión coroidea masiva.

pT4: el tumor invade el nervio óptico a la línea de resección o muestra una extensión extraocular en otro lugar.

pT4a: el tumor invade el nervio óptico en la línea de resección, pero no se identifica una extensión extraocular.

pT4b: el tumor invade el nervio óptico a la línea de resección y se identifica la extensión extraocular.

**Ganglios linfáticos regionales (pN)**

pNX: no se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales.

pN0: no hay afectación de ganglios linfáticos regionales.

pN1: afectación ganglionar regional (preauricular, cervical).

N2: afectación ganglionar distante.

Metástasis a distancia (pM)

cM0: sin metástasis.

pM1: metástasis a sitios distintos del SNC.

pM1a: lesión única.

pM1b: lesiones múltiples.

pM1c: metástasis del SNC.

pM1d: masas discretas sin participación leptomenígea y / o LCR.

pM1e: afectación leptomenígea y / o LCR.

Desde el AJCC. Retinoblastoma. En: Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al, editores. Manual de estadificación del cáncer AJCC. 7ª edición. Nueva York: Springer; 2010. p. 562–63.

## TÉCNICA DE MICRO-ARREGLOS E INMUNOHISTOQUÍMICA

I. Se realizaron los siguientes pasos para la técnica de micro-arreglo tisular:

1.- Obtención de muestras cilíndricas de 0.6 ó 1 mm de diámetro y 3-4 mm de longitud de todos los tumores o zonas de interés a partir de los bloques de parafina.

2.- Todos los cilindros obtenidos se incorporaron a un bloque de parafina receptor, que a su vez fue cortado en múltiples secciones para llevar a cabo ensayos mediante técnicas inmunohistoquímicas.

II. Posteriormente, se realizaron los siguientes pasos para la técnica de inmunohistoquímica (IHQ):

1.- Cortes en parafina de 1.5 micras.

2.- Desparafinización a 60° por treinta minutos.

3.- Hidratación con: xilol, alcohol absoluto-xilol, alcohol absoluto, alcohol a 96° y aguda destilada.

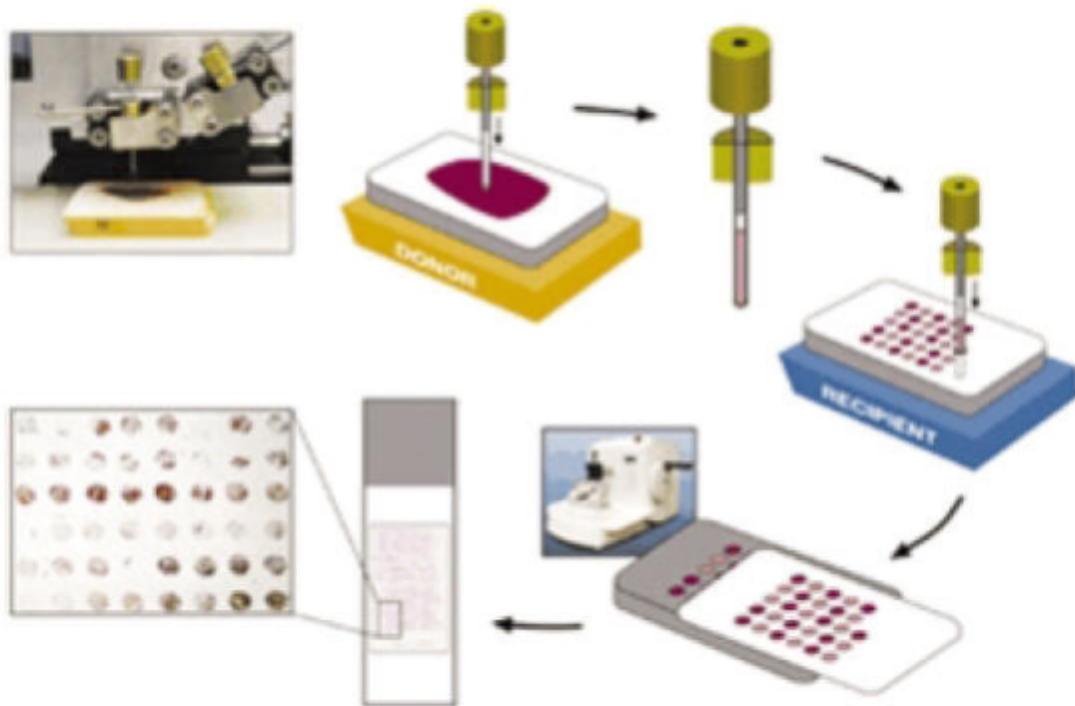
4.- Recuperación antigénica con citratos en olla de presión durante diez minutos, a la presión más alta.

5.- Bloqueo con peroxidasa durante 5 minutos y enjuague con solución buffer con TBS a pH de 7.5.

6.- Incubación con el anticuerpo primario durante 30 minutos, C-kit (Bio SB, 1:300, Santa Bárbara, CA) y enjuague con TBS.

7.- Revelado como sistema de detección el complejo de avidina-estreptavidina (Inmunodetector, Bio SB, Santa Bárbara, CA). Se utilizó diaminobenzidina (DAB), de Bio SB como cromógeno para revelar la reacción antígeno-anticuerpo y la contra tinción con hematoxilina de Harris.

8.- Observación en microscopía de luz.



Esquema del proceso de obtención de un bloque de micro-arreglos tisulares y técnica de inmunohistoquímica