



Universidad de Valladolid



AUTORIZACIÓN DEL TUTOR PARA LA EXPOSICIÓN PÚBLICA DEL TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

(Art. 6.2 del Reglamento de la UVA sobre la Elaboración y Evaluación del Trabajo Fin de Máster)

D. / Dña. Dr. Miguel José Maldonado López

y D. / Dña. Amalia Enríquez de Salamanca

en calidad de Tutor/es del estudiante

D. / Dña Dra. María Carmen Piñeyro Garza

Del Máster en: Oncología Ocular, Órbita y Oculoplástica.

Curso académico: 2011/2012

AUTORIZA la presentación del Trabajo de Fin de Máster titulado:

“Características histopatológicas de retinoblastomas recibidos y analizados en el IOBA
provenientes de pacientes originarios de Angola”

para su exposición pública en la convocatoria de Julio.

(indicar julio o septiembre)

En Valladolid a 05 de Julio de 2012

Vº Bº

Vº Bº

Fdo.:

El/La Tutor/a

Fdo.:

El/La Tutor/a



Universidad de Valladolid



TRABAJO DE FIN DE MÁSTER
MASTER EN ONCOLOGÍA OCULAR, ÓRBITA Y
OCULOPLÁSTICA
CURSO 2011-2012

**“CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS DE
RETINOBLASTOMAS RECIBIDOS Y ANALIZADOS EN EL
IOBA PROVENIENTES DE PACIENTES ORIGINARIOS DE
ANGOLA”**

Carmen Piñeyro Garza

Tutores: Dr. Miguel Maldonado López

Dra. Amalia Enríquez de Salamanca

INDICE

	Pag.
1. Introducción _____	4
2. Hipótesis _____	15
3. Objetivos _____	15
4. Materiales y Métodos _____	15
5. Resultados _____	19
6. Discusión _____	26
7. Conclusiones _____	28
8. Bibliografía _____	28

1. INTRODUCCION

El retinoblastoma es, junto con la leucemia y el neuroblastoma, una de las neoplasias más frecuentes de la infancia, la más frecuente de las neoplasias intraoculares en este rango de edad, y la tercera en frecuencia de los tumores intraoculares a cualquier edad, siendo la metástasis en coroides de tumores extraoculares y el melanoma uveal la primera y segunda en frecuencia respectivamente. Tiene una incidencia de 1:18000 nacidos vivos en Estados Unidos [1], y por año de 3.8 por millón [2]. En África la incidencia es mayor, se estiman 20 casos por millón en menores de 5 años en Malawi [3] 9.3 casos por millón en Guinea Conakry [4] y evidencia reciente sobre Zambia, sugiere que ha aumentado su incidencia por razones desconocidas [5].

El retinoblastoma ocurre igualmente en el ojo derecho o en el izquierdo y no existe predilección por raza o género. Se presenta en forma hereditaria (25-30%) y no hereditaria (70-75%). La forma hereditaria se define por la presencia de antecedentes familiares positivos, un retinoblastoma multifocal o una mutación identificada de la línea germinal del gen RB1, el cual se encuentra en el brazo largo del cromosoma 13 en el locus 14 (13q14). La mutación de esta línea germinal puede estar presente en aquellos pacientes con antecedente familiar positivo (25%) o se ha podido presentar *in utero* en el momento de la concepción, en aquellos pacientes con enfermedad esporádica (75%). La mayoría de los pacientes con enfermedades unilaterales no tienen la forma hereditaria de la enfermedad, mientras se presume que todos los niños con enfermedades bilaterales, tienen la forma hereditaria de la enfermedad, aunque sólo un 20% tiene un padre afectado. En el retinoblastoma hereditario, los tumores tienden a presentarse a una edad más temprana que la forma no hereditaria de la enfermedad. El retinoblastoma unilateral en niños menores de 1 año deberá despertar la sospecha de la enfermedad hereditaria, mientras que los niños mayores con un tumor unilateral tienen una probabilidad más alta de padecer la forma no hereditaria de la enfermedad [6]. El retinoblastoma trilateral es un síndrome bien reconocido que se presenta en 5 a 15% de los pacientes con la forma hereditaria del retinoblastoma y que se define mediante la

formación de un tumor neuroblástico de la línea media intracraneal, típicamente hasta más de 20 meses después del diagnóstico del retinoblastoma. [7,8]. La edad promedio al momento del diagnóstico de retinoblastoma es de 4 meses si hay una historia familiar conocida de retinoblastoma, de 14 meses en enfermedad bilateral y 24 meses en la unilateral. El 90% de los casos se diagnostican antes de los 3 años de edad. Los pacientes con la forma hereditaria de retinoblastoma presentan un marcado aumento en la frecuencia de neoplasias malignas secundarias [9] las tasas son de cerca de 9,4% en los pacientes no irradiados y de cerca del 30,4% en aquellos irradiados. [10]. La mayoría de las neoplasias malignas secundarias son osteosarcomas, sarcomas de tejido blando o melanomas.

Las manifestaciones clínicas más frecuentes son la leucocoria y el estrabismo. Fig1. Las lesiones tempranas pueden manifestarse con disminución de la visión, estrabismo o ser asintomático. Las lesiones moderadas se pueden presentar con leucocoria, inflamación, rubeosis iridis o ptisis bulbi, y las más avanzadas pueden presentarse con proptosis, metástasis o ambas. El retinoblastoma empieza como un tumor intra-retiniano translúcido, de blanco a grisáceo, alimentado por vasos retinianos dilatados y tortuosos, Fig 2. Conforme va creciendo el tumor, se desarrollan focos de calcificación que le dan esa apariencia blanquecina caseosa característica. El patrón de crecimiento puede ser exofítico, cuando el tumor crece detrás de la retina y suele haber desprendimiento exudativo de la misma; endofítico, cuando el tumor crece delante de la retina y hay más riesgo de siembra vítrea; mixto, que es una combinación de ambas formas, o infiltrante difuso, donde no se percibe ninguna tumoración y crece difusamente en toda la retina.



Figura 1. Paciente con diagnóstico de retinoblastoma con signos de leucocoria y estrabismo convergente.

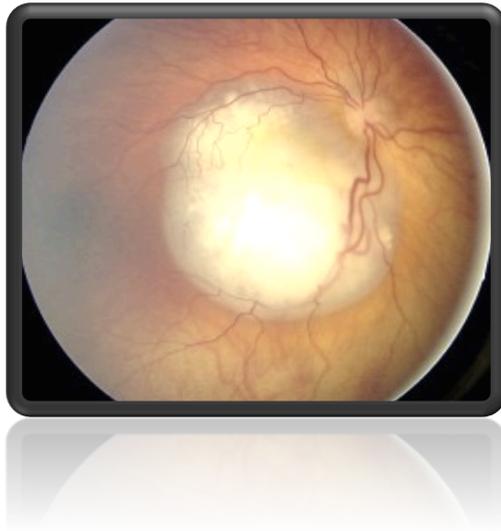


Figura 2. Imagen del fondo de ojo de un paciente con retinoblastoma exofítico situado en el polo posterior de la retina.

El diagnóstico de retinoblastoma se realiza con una historia y exploración clínica completa, el ultrasonido es útil para confirmar la presencia de las calcificaciones características de retinoblastoma, una imagen por Resonancia Magnética sirve para evaluar el nervio óptico, la órbita y el cerebro. La Tomografía Computarizada no se utiliza actualmente para evitar la exposición a radiaciones que puedan ser dañinas en este tipo de pacientes. Se realiza una evaluación de metástasis sistémica, como punción lumbar y de médula ósea solo si el paciente manifiesta alteraciones neurológicas o si hay evidencia de extensión extraocular. Los padres y hermanos también se deben evaluar para evidenciar una enfermedad hereditaria. Antes de decidir el tratamiento se realiza un examen bajo anestesia para valorar la extensión del tumor. El diagnóstico diferencial incluye a todas aquellas patologías que clínicamente simulan un retinoblastoma. La mayoría de ellas pueden excluirse con un buen exámen clínico, entre ellas se encuentra la enfermedad de Coats, persistencia de vasculatura fetal, toxocariasis ocular y astrocitoma retiniano entre otras.

El retinoblastoma se compone principalmente de células anaplásicas indiferenciadas de origen neuroblástico de las capas nucleares de la retina, específicamente de los fotorreceptores, recientemente sugerido por los resultados

de estudios inmunohistoquímicos donde las células tumorales tiñen positivamente para enolasa específica neuronal, para antígeno S específico de segmento externo de bastones y para rodopsina; también las células tumorales secretan una sustancia extracelular conocida como proteína retinoide de unión interfotorreceptor, secretada normalmente por los fotorreceptores; y en los resultados de cultivos celulares de retinoblastoma, han mostrado expresión de genes de ftopigmentos rojo y verde, así como subunidades alpha de transducina de conos. La histología muestra similitudes al neuroblastoma y al meduloblastoma, y consiste en células con núcleos redondos, ovoides o en forma de huso, que son aproximadamente el doble de tamaño de los leucocitos. Los núcleos son hipercromáticos rodeados de una cantidad casi imperceptible de citoplasma. La actividad mitótica suele ser elevada. Conforme va expandiéndose, forma un patrón característico de necrosis, y es frecuente encontrar calcificaciones en estas áreas. Se acumulan grupos de células alrededor de vasos sanguíneos y se observan áreas de necrosis a 90-120 μm . Las rosetas de Flexner – Wintersteiner, son formaciones altamente organizadas, características del retinoblastoma y son indicativas de diferenciación celular. Estas son grupos de células alrededor de una luz central alineados por una estructura que corresponde a la membrana limitante externa de la retina y representa los sitios de unión entre fotorreceptores y células de Müller. La roseta se caracteriza por una hilera simple de células columnares con citoplasma eosinófilo y el núcleo situado en la periferia. Otras rosetas encontradas frecuentemente son las de Homer-Wright, que también se pueden encontrar en otros tumores neuroblásticos, en éstas, la luz central contiene un material eosinófilo pálido; y los floretes que son estructuras similares a una flor compuestas de cúmulos de segmentos internos de conos y bastones, y expresan un grado mayor de diferenciación celular. Fig 3

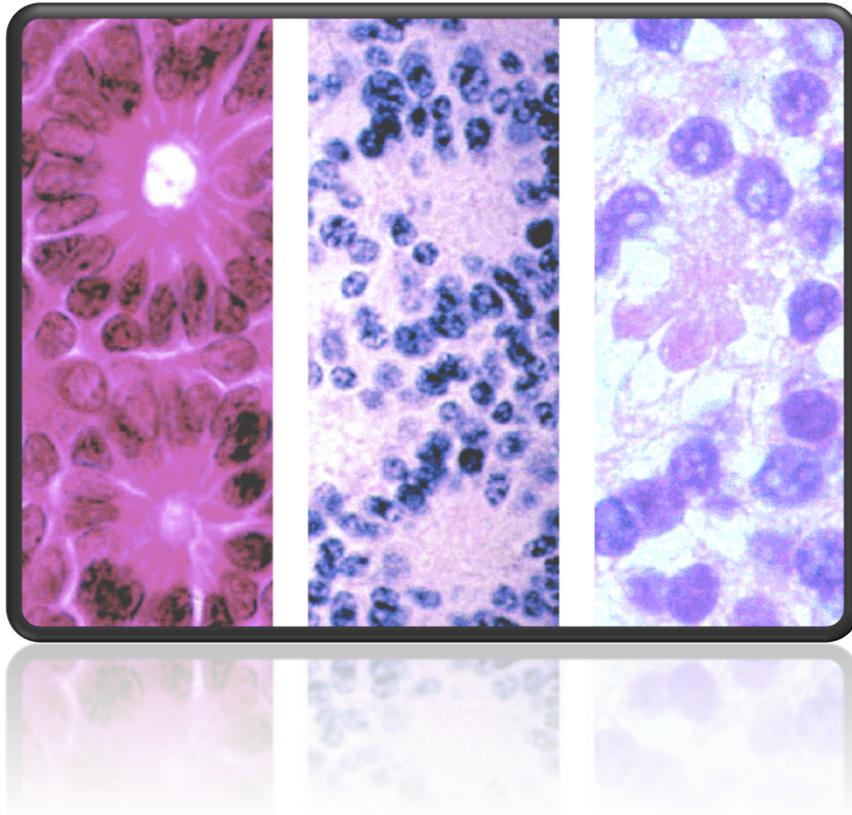


Figura 3. A la izquierda se observan rosetas de Flexner-Wintersteiner, en el centro rosetas de Homer-Wright, y a la derecha floretes.

A pesar de que hay varios sistemas de estadificación disponibles para el retinoblastoma, para los fines de tratamiento, el retinoblastoma se categoriza como enfermedad intraocular y extraocular. Cuando es intraocular, el tumor se concentra en el ojo y puede estar limitado a la retina o se puede diseminar e involucrar otras estructuras tales como el coroides, el cuerpo ciliar, la cámara anterior y la cabeza del nervio óptico. El retinoblastoma intraocular, sin embargo, no se extiende más allá del ojo en los tejidos alrededor del ojo o hasta otras partes del cuerpo. La supervivencia sin enfermedad a 5 años en estos casos es $>90\%$ a diferencia del tumor extraocular, donde la supervivencia sin enfermedad a 5 años es $<10\%$. El retinoblastoma extraocular (metastásico) se disemina más allá del ojo. Puede estar limitado a los tejidos alrededor del ojo o diseminado al sistema nervioso central, la médula ósea o los ganglios linfáticos.

Reese y Ellsworth formularon un sistema de clasificación para el retinoblastoma

intraocular que mostró tener importancia pronóstica en el mantenimiento de la vista y el control de la enfermedad local en un momento en que la cirugía y la radioterapia de haz externo (RHE) eran las únicas opciones de tratamiento. Cuadro 1.

Cuadro 1. Clasificación de Reese-Ellsworth

Grupo I: muy favorable a la conservación de la visión

1. Tumor solitario, más pequeño que 4 diámetros de disco (DD), localizado en el ecuador o atrás del mismo.
2. Tumores múltiples, ninguno mayor que 4 DD, todos localizados en el ecuador o atrás del mismo.

Grupo II: favorable a la conservación de la visión

1. Tumor solitario, de 4 a 10 DD localizados en el ecuador o detrás del mismo.
2. Tumores múltiples, de 4 a 10 DD localizados detrás del ecuador.

Grupo III: es posible la conservación de la visión

1. Cualquier lesión localizada adelante del ecuador.
2. Tumor solitario, mayor de 10 DD detrás del ecuador.

Grupo IV: desfavorable a la conservación de la visión

1. Tumores múltiples, algunos mayores de 10 DD.
2. Cualquier lesión que se extiende anterior a la ora serrata.

Grupo V: muy desfavorable a la conservación de la visión

1. Tumores masivos que afectan más de la mitad de la retina.
2. Diseminación vítrea.

La clasificación internacional para el retinoblastoma intraocular del Children's Oncology Group que se usa en los estudios sobre tratamientos actuales, así como en algunos estudios institucionales, ha mostrado servir en la predicción de quienes tienen más probabilidad de curarse sin necesidad de enucleación o de RHE. Cuadro 2.

Cuadro 2. Clasificación Internacional de Retinoblastoma

Grupo A: tumores intraretinianos pequeños fuera de la foveola y la papila óptica.

Todos los tumores miden 3 mm o menos en su dimensión mayor, y están limitados a la retina y

Todos los tumores se ubican a más de 3 mm de la foveola y de 1,5 mm de la papila óptica.

Grupo B: todos los tumores aislados restantes están limitados a la retina.

Todos los demás tumores limitados a la retina que no están en el Grupo A.

El líquido subretiniano relacionado con el tumor está a menos de 3 mm del tumor, sin diseminación subretiniana.

Grupo C: enfermedad local discreta aislada, con diseminación subretiniana o vítrea mínimas.

Tumor(es) aislado(s).

Líquido subretiniano, presente o pasado, sin diseminación que comprometa hasta un cuarto de la retina.

Diseminación vítrea local fina, podría estar presente cerca de un tumor aislado.

Diseminación subretiniana local menos de 3 mm (2DD) del tumor.

Grupo D: enfermedad difusa con diseminación vítrea o subretiniana importante.

Tumor(es) puede(n) ser sólido(s) o difuso(s).

Líquido subretiniano presente o pasado sin diseminación, comprometiendo hasta la totalidad del desprendimiento de la retina.

Enfermedad vítrea difusa o sólida que puede incluir diseminación "grasosa" o masas tumorales avasculares.

Diseminación subretiniana difusa que puede incluir placas subretinianas o nódulos tumorales.

Grupo E: presencia de una o más de las siguientes características de pronóstico precario.

El tumor toca el cristalino.

Tumor anterior a la cara anterior vítrea comprometiendo el cuerpo ciliar o el segmento anterior.

Retinoblastoma infiltrante difuso.

Glaucoma neovascular.

Opacidad de los medios causada por hemorragia.

Necrosis tumoral con celulosis aséptica orbitaria.

Tuberculosis del globo ocular.

Es necesario que la planificación del tratamiento esté a cargo de un equipo multidisciplinario de especialistas en cáncer con experiencia en el manejo de tumores infantiles, incluyendo un oncólogo pediatra, un oftalmólogo y un radiooncólogo. [11]. La meta del tratamiento es triple: erradicar la enfermedad para salvar la vida del paciente, conservar la visión al máximo y reducir el riesgo de secuelas tardías relacionadas al tratamiento principalmente neoplasias malignas secundarias. El tipo de tratamiento requerido depende tanto de la extensión de la enfermedad dentro del ojo así como su diseminación por fuera del ojo, ya sea al sistema nervioso central o al resto del cuerpo. Actualmente se trata incorporando la combinación de diferentes modalidades terapéuticas, como enucleación, quimioterapia, fotocoagulación, crioterapia y placas de braquiterapia. La enfermedad metastásica se trata con quimioterapia intensiva, radiaciones y trasplante de médula ósea. Shields CL, et al han encontrado que la quimiorreducción como estrategia conservadora unida a terapias de tipo local, mejoran los resultados, además de evitar la radioterapia externa en el 90% de los casos y la enucleación en el 70%.

La ruta más común para que el tumor escape del globo ocular es a través del nervio óptico, las células tumorales se diseminan por las leptomeninges hasta llegar al sistema nervioso central. Una invasión uveal masiva, en teoría, aumenta el riesgo de diseminación hematológica. La extensión a ganglios linfáticos regionales puede verse cuando el tumor que involucra el segmento anterior del ojo, crece en la sustancia propia de la conjuntiva.

Hay cuatro factores independientes que se asocian al desarrollo de metástasis: [12]

- 1) Invasión en la línea de corte del nervio óptico. Riesgo de metástasis a 5 años de 67%.
- 2) Invasión del nervio óptico pero no en la línea de corte, el riesgo a 5 años es de 13%. Cuadro 3.
- 3) Invasión de coroides, riesgo a 5 años del 8%. La invasión de coroides es un riesgo de metástasis, especialmente si está asociada a neovascularización del iris, a aumento de presión intraocular o a invasión del nervio óptico.
- 4) Eucleación del globo ocular después de 120 días del diagnóstico inicial, riesgo a 5 años del 4%.

Cuadro 3. Invasión del Nervio Óptico [13,14]

Grado 0: Cuando el nervio óptico no está invadido, la mortalidad es de aprox. 8%

Grado I: cuando invade hasta la lámina cribosa sin afectar a la misma. Mortalidad de 10%

Grado II: si la invasión incluye la lámina cribosa, la mortalidad es del 29%

Grado III: cuando invade más allá de la lámina cribosa, pero no el margen quirúrgico, la mortalidad es de 42%

Grado IV: si invade en la línea de corte quirúrgico o posterior al punto de salida de la arteria central de la retina del nervio óptico, la mortalidad aumenta a 67%

Además, cuando la invasión a coroides es apenas aparente, parece no afectar en el pronóstico, pero si la invasión es masiva, la mortalidad es aproximadamente de 60%. La presencia de rubeosis iridis es un signo de mal pronóstico. El pronóstico clínico se determina por el tamaño y la localización del tumor. Probablemente solo los pacientes con retinoblastoma familiar o esporádico con mutación en los genes de

células germinales, tienen predilección a desarrollar segundo tumores malignos primarios. Pacientes con retinoblastoma bilateral tienen 26% de probabilidad de morir de una segunda neoplasia primaria después de 40 años. Este riesgo aumenta si fueron tratados con radioterapia. La segunda neoplasia primaria más común es el osteosarcoma. Otros incluyen, fibrosarcoma, carcinoma de piel, melanoma cutáneo, rabdomiosarcoma, entre otros. El carcinoma sebáceo de párpado puede ocurrir entre 5 y 15 años después de la radioterapia.

Angola es un país situado al suroeste de África, su capital es Luanda, con una población total de 17.747.679 habitantes. Fue colonia portuguesa desde 1483 hasta independizarse en 1975 tras 14 años de guerra, mismo año en el que empieza una guerra civil que no cesaría hasta el año 2002.

En este país es común un bajo y deficiente nivel de niacina (vitamina B3). Las epidemias de cólera, la malaria, la rabia y las fiebres hemorrágicas africanas, como la fiebre hemorrágica de Marburg, son enfermedades comunes en varias partes del país. Muchas regiones del país tienen altas tasas de incidencia de la tuberculosis y altas tasas de prevalencia del VIH. Angola tiene una de las más altas tasas de mortalidad infantil (175.9 muertes cada 1000 nacimientos normales) y una de las expectativas de vida más bajas en el mundo. (38.76 años). Las principales causas de muerte infantil son malaria, desnutrición, neumonía, enfermedades neonatales y meningitis. [15]. Los servicios sanitarios en Angola son generalmente inadecuados, y el cuidado oftalmológico no es una excepción, existe un porcentaje considerable de enfermedades que conducen a la ceguera prevenibles y tratables en este ambiente. [16].

En 1983, la Comisión Mixta Hispano-Angoleña estableció la necesidad de cooperación entre ambos países para el “desarrollo de servicios de atención oftalmológica en la República de Angola a través de un programa de formación de personal y suministro de equipamientos, medicamentos y otros materiales fungibles, así como el envío de los especialistas españoles necesarios”. En 1993 se establecen los primeros contactos con la Universidad de Valladolid para el establecimiento de un convenio de colaboración científica que permitiera el intercambio de profesores, residentes y trabajos de investigación y publicaciones. También en ese año se solicita al Ministerio de Salud de Angola la autorización para

el ejercicio de la práctica privada en el IONA (Instituto Oftalmológico Nacional de Angola). Durante los últimos diez años, se han ido desarrollando actividades importantes, entre ellas, la resolución de los diagnósticos anatomopatológicos de las biopsias obtenidas en el IONA mediante el envío de las piezas a Valladolid, al laboratorio de patología ocular del IOBA. Los diagnósticos son devueltos vía correo electrónico al IONA.

Realizamos una búsqueda bibliográfica y nos comunicamos directamente con la Dra. Alda Rola, oftalmóloga del IONA (Instituto de Oftalmología Nacional de Angola), a pesar de ello no pudimos obtener datos epidemiológicos confiables sobre el retinoblastoma en Angola. Sin embargo obtuvimos la siguiente información: Luanda y su área metropolitana, con una población de 6.849.015 habitantes, tiene alrededor de 15 hospitales públicos y en todo el país hay alrededor de 20 oftalmólogos angoleños y 100 pediatras. Al IONA llegan pacientes referidos desde los Hospitales Generales de todo el país. Los pacientes con retinoblastoma primero acuden a un centro de salud donde los ve el médico de familia, éste los remite al Hospital General al servicio de pediatría y finalmente son enviados al IONA. Sin embargo, muchos de ellos primero van con médicos tradicionales o con curanderos donde les hacen todo tipo de tratamientos a base hierbas, tierra, saliva, etc., después van con enfermeras que tienen pequeñas clínicas en los barrios y cuando los paciente ya están en muy malas condiciones, acuden al hospital. Por otra parte también existe un problema de ignorancia de los profesionales de salud que los atienden por primera vez, ya que no le dan tanta importancia a los problemas oculares, para ellos lo más importante es tratar la diarrea, la malaria, las enfermedades respiratorias, etc. [17]

El laboratorio de patología del IOBA cuenta actualmente, gracias a esta colaboración hispano-angoleña, con un total de 13 especímenes de ojos con diagnóstico de retinoblastoma, que han sido analizados histopatológicamente. Nos hemos propuesto hacer un estudio sobre las características histopatológicas de esta serie de muestras.

2. HIPÓTESIS

“Los retinoblastomas en pacientes angoleños son más agresivos que los encontrados en pacientes europeos.”

3. OBJETIVOS

Objetivo general:

“Comparar las características clínicas y anatomopatológicas de la serie de casos de retinoblastomas de pacientes angoleños con la serie de casos con el mismo diagnóstico en pacientes europeos.”

Objetivos particulares:

- 1) Analizar clínica e histológicamente las muestras de retinoblastomas angoleños recepcionadas en el laboratorio de Patología Ocular del IOBA.
- 2) Comparar dichas muestras con los informes clínicos e histopatológicos de aquellas provenientes de países europeos.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Este es un estudio retrospectivo en el que analizamos las muestras (ojos enucleados) que han sido recibidas en el IOBA enviadas desde Angola de acuerdo al convenio Hispano-Angoleño desde Octubre del 2005 hasta Mayo de 2012, llegando al diagnóstico de retinoblastoma.

Hicimos un estudio comparativo con muestras provenientes de diferentes países de Europa en el periodo de 1992 a 2003.

Incluimos en este estudio las muestras de pacientes con diagnóstico de retinoblastoma en un rango de edad de 0 a 12 años, previo consentimiento informado de los familiares y cuyo tratamiento ha sido la enucleación o exenteración.

Excluimos las muestras de los pacientes fuera del rango de edad y cuyo tratamiento haya sido diferente a la enucleación o exenteración.

El grupo A (Angola) es de 13 pacientes siendo 13 ojos los enucleados provenientes de Angola, y el grupo E (Europa), de 7 pacientes con un total de 11 ojos enucleados de diferentes países de Europa, recopilados en la EOPS (European Ophthalmic Pathology Society) uno de ellos tratado directamente en el IOBA.

Estudiamos las muestras histológicas y los datos clínicos de ambos grupos y las comparamos.

Las características clínicas que analizamos fueron género, antecedentes heredofamiliares de retinoblastoma, número de ojos afectados, edad al diagnóstico y al tratamiento, características clínicas, tiempo de evolución, tratamiento y sobrevida.

Las características histopatológicas que analizamos fueron la localización del tumor, extensión intraocular y/o extraocular, invasión coroidea, e involucro del nervio óptico, agrupándolos según La Clasificación de Reese-Ellsworth, La Clasificación Internacional de Retinoblastoma del Children's Oncology Group, la invasión del nervio óptico y el grado de diferenciación celular.

Recepción de las muestras

Los ojos enucleados de los pacientes angoleños son enviados al laboratorio de patología ocular del IOBA:

- 1) Fijados en Formol tamponado al 10% a PH neutro y sin incisiones.
- 2) Ya en el laboratorio se lava con agua.
- 3) Se procede a la descripción macroscópica, tomando medidas del eje anteroposterior, vertical y horizontal, del diámetro corneal, la longitud y el diámetro del nervio óptico.
- 4) Se transilumina el ojo para localizar la lesión.
- 5) Se talla realizando una sección transversal del nervio óptico.

- 6) Enseguida se realiza el tallado de la porción central que incluye el eje pupila - nervio óptico, y las dos porciones laterales o calotas, haciéndolo en el sentido donde se incluya la lesión.
- 7) Se coloca cada fragmento en un cassette de manera individual.
- 8) Posteriormente se realiza el procesamiento de las muestras que dura 32 hrs, esto es en un procesador automático, que tiene presión y vacío para una mejor infiltración de líquidos, se realiza básicamente en tres pasos: deshidratación del tejido, líquidos intermedios con xileno y finalmente la infiltración con baños de parafina.
- 9) Al terminar el procesamiento se incluye en parafina para la formación de los bloques orientados de acuerdo a la lesión a estudiar.
- 10) Se coloca el bloque en el microtomo, se realizan cortes de 4 μm y se colocan en portaobjetos.
- 11) Se realiza tinción de Hematoxilina-Eosina

Protocolo de tinción Hematoxilina y Eosina:

- 1) Una vez el tejido en el portaobjetos se desparafina con xilol, 3 pasos de 5 min.
- 2) Se hidrata el tejido: primero pasa por alcohol de 100°, luego alcohol de 96°, alcohol de 80°, 5 min en cada uno, finalmente agua destilada, dos pases de 5 min.
- 3) Se introduce en Hematoxilina de Mayer 5 min
- 4) Se lava directamente bajo el grifo. Después en cubeta por 5 min.
- 5) Después se introduce en alcohol durante 2 min.
- 6) Continúa en solución de eosina durante 5 min.
- 7) Posteriormente se deshidrata con alcohol de 96°, luego alcohol de 100°, 2 pases de 2 min cada uno.
- 8) Se aclara con xilol, 3 pases de 5 min.
- 9) Finalmente se hace el montaje.

Resultados: Núcleos: azul oscuro, citoplasma rosa, fibras de colágeno y músculo rosa, hematíes rojo, calcio azul muy oscuro.

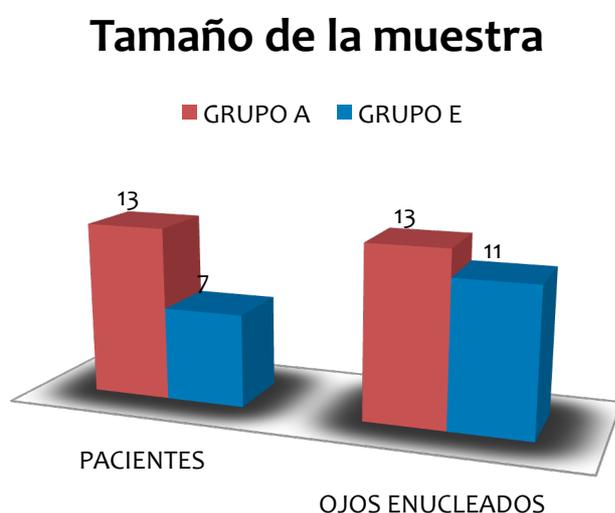
Método de evaluación por el Patólogo:

Identificación de:

- Células tumorales. (cualitativo)
- Celularidad. (cuantitativo)
- Figuras de mitosis.
- Disposición: difusas o agrupadas.
- Formaciones de diferenciación celular: rosetas, floretes, etc.
- Necrosis celular.
- Calcificaciones.
- Extensión e invasión a estructuras adyacentes.

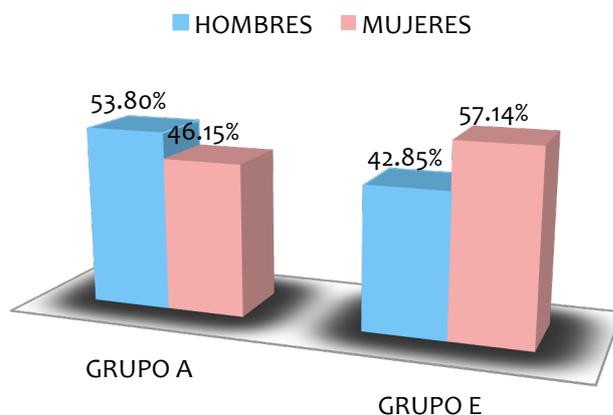
5. RESULTADOS

En el Grupo A recopilamos información de 13 pacientes, con un total de 13 ojos enucleados, de estos pacientes, 7 (53.8%) son hombres y 6 (46.15%) son mujeres, en un rango de edad de 12 a 60 meses al momento del diagnóstico con una mediana de 24 meses, entre 12 y 60 meses de edad al momento de tratarse con una mediana de 36 meses y un tiempo de evolución en un rango de 1 a 12 meses con una mediana de 6 meses. En el Grupo E recopilamos información de 7 pacientes, con un total de 11 ojos enucleados, 3 de estos pacientes son hombres (42.85%) y 4 son mujeres (57.14%), en un rango de edad al diagnóstico de 8 a 144 meses, con una mediana de 20 meses, una edad al tratamiento entre 8 y 148 meses con una mediana de 26 meses y un tiempo de evolución en un rango de 1 a 12 meses con una mediana de 2 meses. Graficas 1-3.



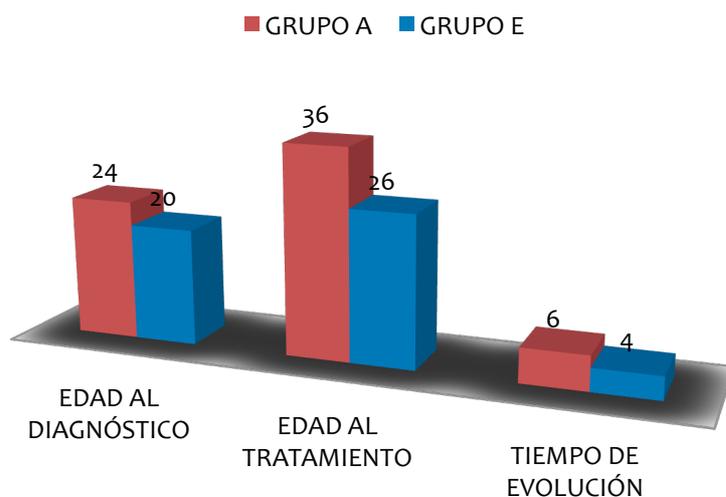
Gráfica 1. Grupo A corresponde al grupo de Angola y grupo E al de Europa.

Distribución por género



Gráfica 2. Grupo A corresponde al grupo de Angola y el Grupo E al de Europa.

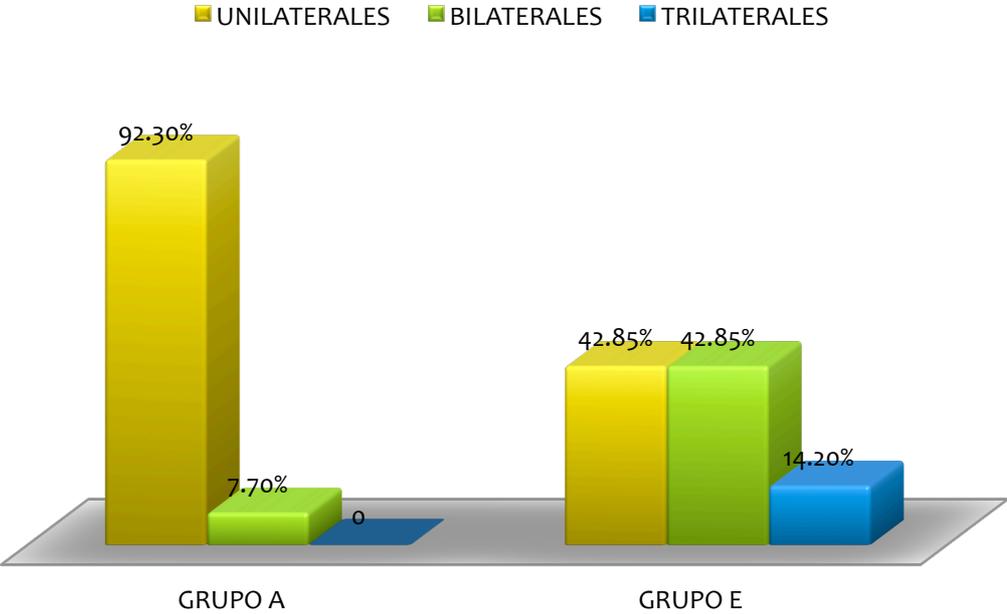
Edad de los pacientes



Gráfica 3. Tanto las edades de los pacientes al momento del diagnóstico y del tratamiento, como el tiempo de evolución está cuantificada en meses.

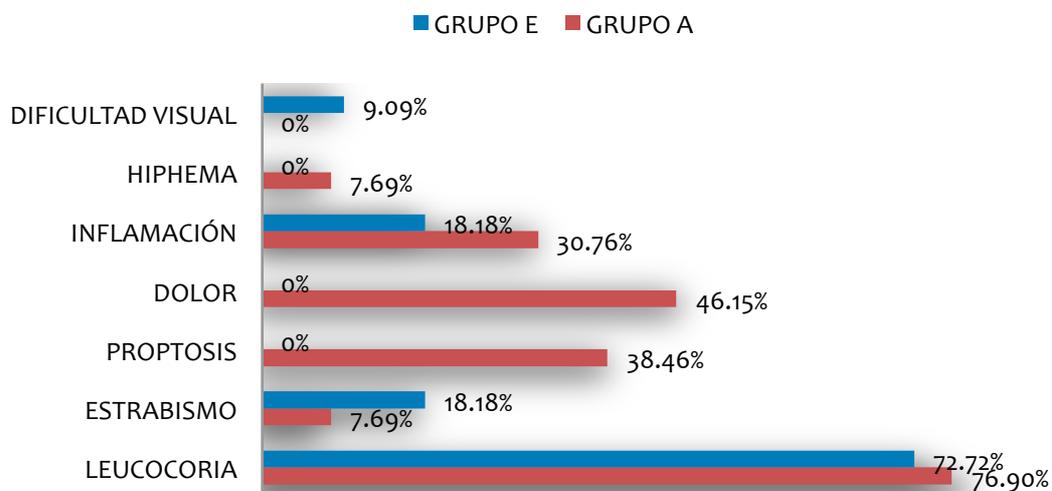
En el Grupo A, 12 casos (92.3%) son unilaterales y 1 caso (7.7%) bilateral, ninguno de ellos con antecedentes heredofamiliares de retinoblastoma, las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron: en 10 casos (76.9%) leucocoria, en 6 casos (46.15%) dolor, en 5 casos (38.4%) proptosis, y en 4 casos (30.76%) signos

inflamatorios; las menos frecuentes fueron: en 1 caso (7.69%) estrabismo, y en 1 caso (7.69%) hiphema. En el Grupo E, 3 casos (42.85%) son unilaterales, 3 casos (42.85%) son bilaterales y 1 caso (14.2%) trilateral. Los antecedentes heredofamiliares de retinoblastoma en este grupo también fueron negativos. Las manifestaciones clínicas fueron: en 8 casos (72.72%) leucocoria, en 2 casos (18.18%) estrabismo, 2 casos (18.18%) se presentaron con signos inflamatorios y en 1 caso (9.09%) con dificultad visual. Gráficas 4 y 5.



Gráfica 4. En esta gráfica se muestra el tipo de enfermedad que presentaron los pacientes de acuerdo al número de ojos afectados.

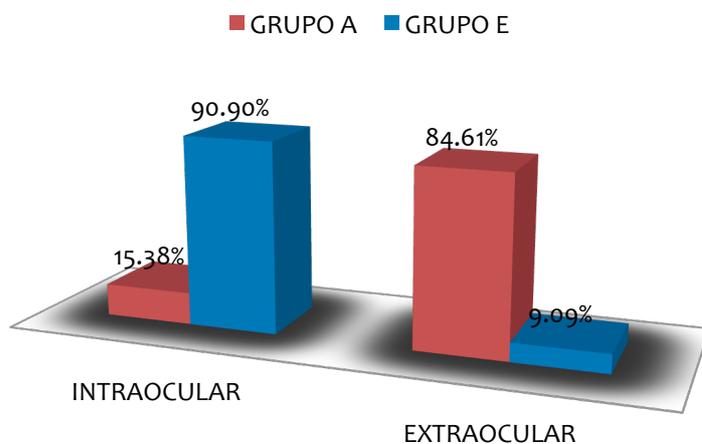
Manifestaciones clínicas



Gráfica 5. Manifestaciones clínicas

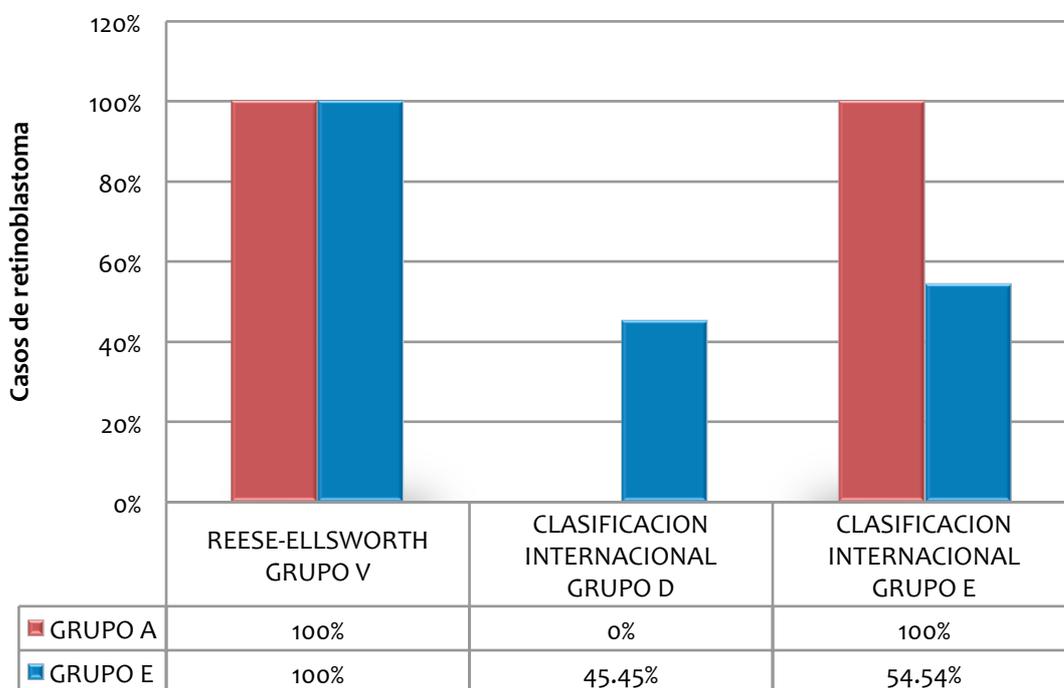
En el Grupo A 7 pacientes fueron tratados con enucleación y 5 con exenteración. Al día de hoy 4 de ellos (30.76%) han fallecido. En 2 (15.38%) casos se presentó enfermedad intraocular y en 11 (84.61%) casos extraocular. En la Clasificación de Reese-Ellsworth, los 12 pacientes (100%) se encontraron en el Grupo V y en la Clasificación Internacional para el Retinoblastoma en el Grupo E. En el Grupo E de pacientes, todos los casos fueron tratados con enucleación 11 (100%). No tenemos información de la sobrevivencia de estos pacientes. En la Clasificación de Reese-Ellsworth, todas las muestras 11 (100%) se encontraron en el Grupo V, en la Clasificación Internacional, 6 (54.54%) en el Grupo E, y 5 (45.45%) en el Grupo D. Gráficas 6 y 7.

Extensión tumoral



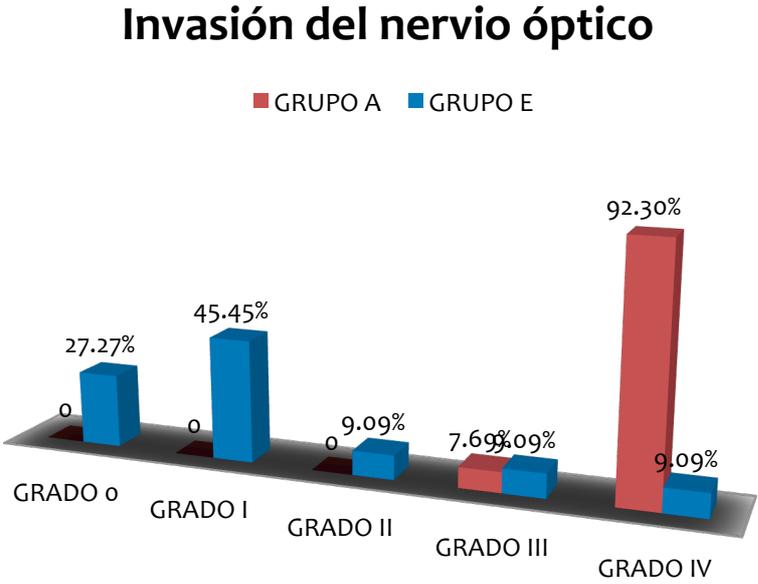
Gráfica 6. Extensión de la enfermedad intraocular o extraocular.

Gradación



Gráfica 7. Gradación de los casos de retinoblastoma según las clasificaciones de Reese-Ellsworth y la Internacional para Retinoblastoma.

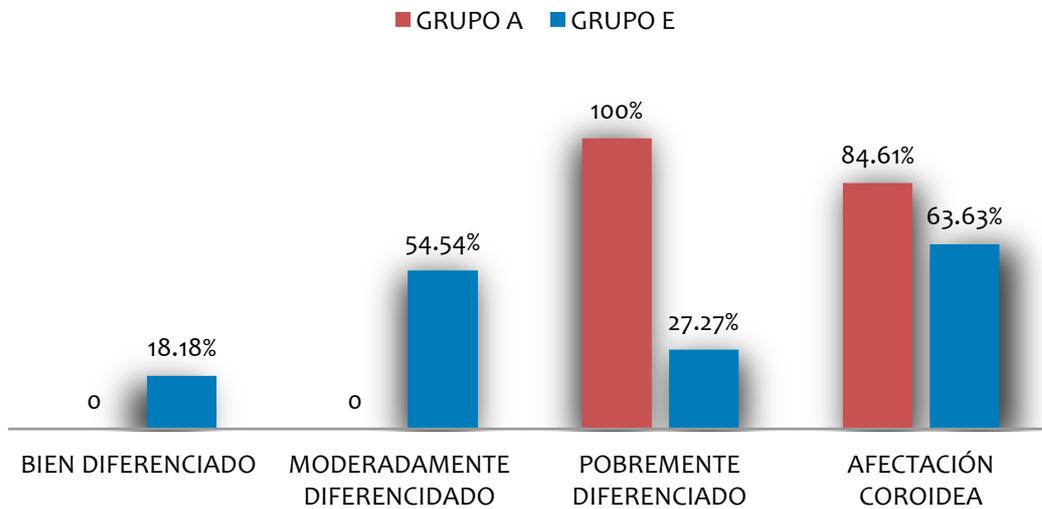
Con respecto a la invasión del nervio óptico, en el Grupo A, 12 casos (92.3%) tuvieron un Grado IV y 1 de ellos (7.69%) Grado III. En el Grupo E, 3 (27.27%) de los fueron Grado 0, 5 (45.45%) Grado I, 1 (9.09%) Grado II, 1 (9.09%) Grado III y 1 (9.09%) Grado IV. Gráfica 8



Gráfica 8: Gradación de los casos de retinoblastoma de ambos grupos según su invasión al nervio óptico.

Por último, clasificamos histológicamente cada espécimen según su grado de diferenciación y de invasión coroidea, en el Grupo A, los 13 casos (100%) se diagnosticaron tumores pobremente diferenciados y 11 (84.11%) de ellos presentaron extensión a coroides. En el Grupo E, 2 casos (18.18%) se diagnosticaron como tumores bien diferenciado, 6 casos (54.54%) como moderadamente diferenciados y 3 casos (27.27%) como pobremente diferenciados. En este grupo, 7 de los casos (63.63%) presentaron invasión a coroides. Gráfica 9.

Diferenciación celular



Gráfica 9. Clasificación histológica de la muestra según el grado de diferenciación.

En las figuras 4 y 5 mostramos unas preparaciones histológicas características del Grupo A y del Grupo E, respectivamente

6. DISCUSIÓN

Los hallazgos que consideramos más importantes tras la realización de este estudio son los siguientes:

- Al comparar las características de presentación clínica de las dos series de casos que originaron las muestras, cabe destacar, que a pesar de la impresionante gravedad y extensión de las lesiones en ambos grupos, en el caso del grupo Angoleño se corresponden con casos de presentación clínica habitual, mientras que en caso del grupo Europeo, se corresponden con casos de presentación extraordinaria, que sorprenden por lo inusual de su presentación o por la especial negligencia que tuvieron con ellos los familiares al no aceptar el tratamiento en el momento indicado. Esta desproporción señala el pobre nivel de prevención y atención oportuna de estas lesiones en Angola. Si a este bajo nivel de atención sumamos la mayor incidencia de retinoblastoma en África que han reportado otros autores (Bowman et al, 2006), podemos deducir que el impacto del retinoblastoma en la salud pública de Angola es mucho más grave que en Europa.
- Al comparar las características histopatológicas de las muestras provenientes de las dos series de casos, el hallazgo más significativo tiene que ver con el grado de invasión del nervio óptico, que difiere notablemente en las muestras provenientes de las dos series de casos. En las muestras provenientes de la serie Angoleña la invasión del nervio óptico grado III y IV está presente en el 100% de los casos; mientras que en las muestras provenientes de la serie Europea el 81% de las muestras se corresponden con un grado II o menor. Este hallazgo tiene una implicación pronóstica inmediata, los pacientes de la muestra Angoleña padecen lesiones más graves que los llevarán a la muerte en un tiempo menor.
- Con relación al tiempo de evolución, la edad al momento del diagnóstico, y la edad al inicio del tratamiento, se puede observar como en el grupo Angoleño, a pesar de ser una serie de casos que representa una presentación clínica “estándar”

en ese país, hay un mayor tiempo de evolución, y un retraso en la edad al momento del diagnóstico y tratamiento, si se le compara con la muestra Europea, que representa una serie de casos que representan un grupo de pacientes con un retraso muy marcado en la búsqueda de atención médica disponible , muy lejos del estándar de cuidado en Europa.

- Las clasificaciones de Reese Elsworth y la Clasificación Internacional (Children's Oncology Group) no son, en sentido estricto, aplicables a estas dos muestras por tratarse de Clasificaciones que valoran el pronóstico de la persona que padece retinoblastoma, siempre y cuando el ojo no sea enucleado.

- El análisis histopatológico realizado en las muestras procedentes de Angola, en el laboratorio de patología ocular del IOBA, ha mostrado que las características histopatológicas de las muestras obtenidas presentan grados de diferenciación más pobres, en comparación con el análisis obtenido de las muestras provenientes de la serie Europea, donde presentar un grado mayor de diferenciación celular. La diferencia más notable en el estudio histopatológico se concentra en el grado de invasión del nervio óptico en las muestras procedentes de Angola.

Este estudio es un estudio piloto, con limitaciones en el número de muestras analizadas y en la comparación de las muestras, además, las muestras provenientes de la EOPS son poco representativas de pacientes cuya historia o evolución ha sido especialmente llamativa y se ha expuesto en esta sociedad.

Debido al limitado número de muestras no se ha llevado a cabo estudio estadístico analítico pero si el descriptivo.

7. CONCLUSIONES

Se han comparado las características clínicas e histopatológicas de una serie de casos de retinoblastomas de pacientes angoleños (N=13, ojos enucleados=13); con una serie de casos con el mismo diagnóstico en pacientes europeos (N=8, ojos enucleados=11).

El análisis clínico e histopatológico de las muestras de retinoblastomas angoleños recibidas en el laboratorio de patología ocular de el IOBA mostraron las siguientes características:

La mayoría de los pacientes en Angola acuden por primera vez al médico especialista con manifestaciones clínicas graves, como proptosis y ruptura ocular, siendo todos ellos clasificados en el Grupo V de Reese-Ellsworth y en el Grupo E de la Internacional. También se encontró que en estos pacientes presentan la forma no hereditaria de retinoblastoma en su mayoría, (12 de 13 pacientes) Histológicamente, son tumores pobremente diferenciados, con afectación intra y extraocular extensa que destruye el globo ocular, invadiendo el nervio óptico hasta la línea de corte quirúrgico.

La comparación de dichas muestras con los informes de aquellas provenientes de pacientes europeos mostraron las siguientes diferencias:

La mayoría de los pacientes europeos acuden al médico especialista con manifestaciones clínicas menos graves, como leucocoria, estrabismo e hiphema, sin embargo también estos pacientes también se clasificaron casi todos en el Grupo V de Reese-Ellsworth y en el Grupo E de la Internacional. La mitad de estos pacientes (N=4) presentaron la forma hereditaria de retinoblastoma. Histológicamente encontramos desde tumores bien diferenciados hasta tumores pobremente diferenciados, y desde tumores limitados a la retina hasta tumores con extensión extraocular, sin embargo, ninguno de ellos tuvo afectación distal del nervio óptico.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Tamboli A, Podgor MJ, Horm JW: The incidence of retinoblastoma in the United States: 1974 through 1985. *Arch Ophthalmol* 108:128, 1990
2. Young JL, Smith MA, Roffers SD, et al. Retinoblastoma in Ries LAG, Smith MA, Gurney JG, et al. *Cancer Incidence and survival among children and adolescents: United States SEER Program 1975-1995*, National Cancer Institute, SEER program. NIH Pub No 99-4649, Bethesda, MD 1999.
3. Ben Ezra D, Chirambo MC. *J Incidence of retinoblastoma in Malawi. Pediatr Ophthalmol* 1976; 13: 340-343
4. Koulibaly M, Kabba IS, Cisse A, et al. Cancer incidence in Conakry, Guinea: First results from the Cancer Registry 1992–1995. *Int J Cancer* 1997;70:39 – 45
5. Chintu C, Athale UH, Patil PS. *Childhood cancers in Zambia before and after the HIV epidemic. Arch Dis Child* 1995;73:100 –104; discussion 104.
6. Murphree L, Singh A: *Heritable retinoblastoma: the RBI cancer predisposition syndrome. In: Singh A, Damato B: Clinical Ophthalmic Oncology. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, 2007, pp 428-33.*
7. Paulino AC: *Trilateral retinoblastoma: is the location of the intracranial tumor important? Cancer* 86 (1): 135-41, 1999
8. Blach LE, McCormick B, Abramson DH, et al.: *Trilateral retinoblastoma--incidence and outcome: a decade of experience. Int J Radiat Oncol Biol Phys* 29 (4): 729-33, 1994.
9. Marees T, Moll AC, Imhof SM, et al.: *Risk of second malignancies in survivors of retinoblastoma: more than 40 years of follow-up. J Natl Cancer Inst* 100 (24): 1771-9, 2008.
10. Kleinerman RA, Tucker MA, Tarone RE, et al.: *Risk of new cancers after radiotherapy in long-term survivors of retinoblastoma: an extended follow-up. J Clin Oncol* 23 (10): 2272-9, 2005
11. Murphree L: *Staging and grouping of retinoblastoma. In: Singh A, Damato B: Clinical Ophthalmic Oncology. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, 2007, pp 422-7.*
12. Finger PT, Harbour JW, Karcioğlu ZA: *Risk factor for metastasis in retinoblastoma. Surv Ophthalmol* 47:1, 2002

13. Schields CL, Shields JA, Baez KA et al.: Choroidal invasión of retinoblastoma: Metastasic potential and clinical risk factors. *Br J Ophthalmolo* 77:544, 1993
14. Schields CL, Shields JA, Baez KA et al.: *Optic nerv invasión of retinoblastoma: Metastasic potential and clinical risk factors. Cancer* 73:692, 1994
15. Pinto EA, Alves JG. *The causes of death of hospitalized children in Angola. Pediatric Hospital David Bernardino, Angola.*
16. F J Carreras, F Rodríguez-Hurtado, and H David *Ophthalmology in Luanda (Angola): a hospital based report. Br J Ophthalmol.* 1995 October; 79(10): 926–933.
17. *Rola Alda, IONA Luanda, Angola. 2012*