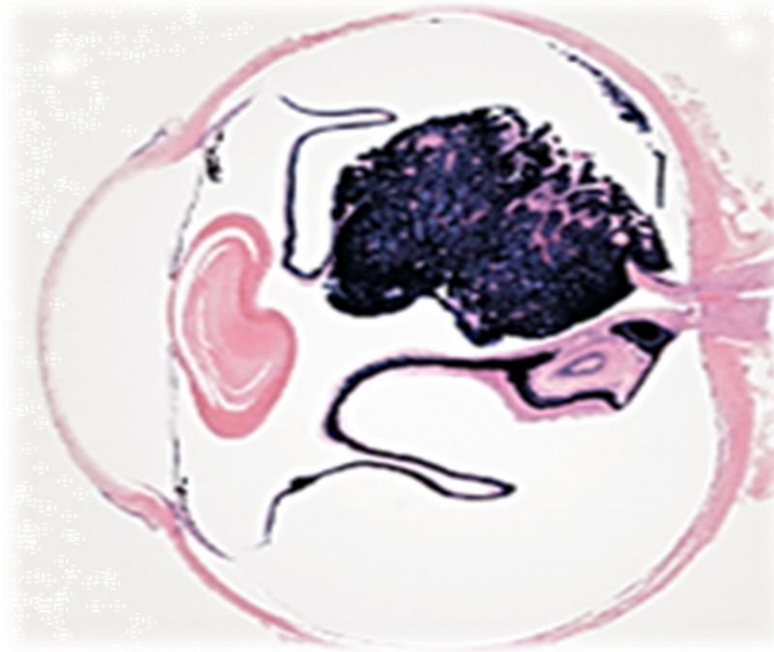


# BIOLOGÍA Y TERAPIA DEL RETINOBLASTOMA



Alumna: Carmen Redondo Galán

Tutor: Miguel López Lázaro

Doble Grado en Farmacia y Óptica y Optometría

Curso 2016/2017



**Facultad de Farmacia**  
Universidad de Sevilla



Universidad de Sevilla. Facultad de Farmacia

Trabajo Fin de Grado

Doble Grado en Farmacia y Óptica y Optometría

## **BIOLOGÍA Y TERAPIA DEL RETINOBLASTOMA**

Alumna: Carmen Redondo Galán

Facultad de Farmacia, Sala de Juntas, 3 de Julio de 2017

Departamento de Farmacología

Tutor: Miguel López Lázaro

Revisión bibliográfica

## RESUMEN

El retinoblastoma es un tumor intraocular poco frecuente en la infancia que se produce en las células de la retina en desarrollo. Su incidencia es 1 de cada 14,000-20,000 nacimientos y, representa aproximadamente un 2% de los cánceres de tipo pediátrico. La enfermedad no presenta predisposición en función de variables geográficas o poblacionales, no obstante, los países en vías de desarrollo de Asia y África, tienen un porcentaje mayor de casos. Se distinguen varios tipos de retinoblastoma según afecte a uno o ambos ojos, unilateral y bilateral. El retinoblastoma bilateral puede coexistir con un tumor cerebral y se conoce como retinoblastoma trilateral, cuyo pronóstico es más grave. El origen del retinoblastoma no está totalmente establecido pero, la teoría más extendida considera que la mutación del gen supresor de tumores *RB1* es la principal causa. Son necesarias sucesivas divisiones celulares para que se desarrolle el tumor. Se ha estudiado la biología de la enfermedad a nivel molecular, celular y tisular para comprender mejor el contexto en el que se desarrolla el tumor. En función de la patología, el retinoblastoma se clasifica en distintos grupos (A-E) siguiendo la Clasificación Internacional del Retinoblastoma que va a facilitar la elección de la mejor estrategia terapéutica en función de la lateralidad, la localización, el tamaño y el estadio del tumor. Es fundamental el diagnóstico precoz así como, la investigación de nuevas opciones terapéuticas, más selectivas y efectivas, que sustituyan a los tratamientos clásicos para mejorar el pronóstico, la evolución y la calidad de vida de los pacientes con retinoblastoma.

**Palabras clave:** retinoblastoma, biología, terapias, mutación.

## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	4
1.1. Marco conceptual del retinoblastoma	4
1.2. Etiología	4
1.3. Epidemiología	4
1.4. Manifestaciones clínicas	6
1.5. Evaluación	7
1.6. Clasificación	7
2. OBJETIVOS	10
2.1. Objetivo principal	10
2.2. Objetivos específicos	10
3. METODOLOGÍA	10
3.1. Estrategia de búsqueda	10
3.2. Descripción general de los resultados de búsqueda	12
4. RESULTADOS	13
4.1. Biología del cáncer	13
4.2. Biología del retinoblastoma	13
4.2.1. Nivel molecular	15
4.2.2. Nivel celular	17
4.2.3. Nivel tisular. Patología	19
4.3. Terapia	21
4.3.1. Enucleación	23
4.3.2. Radiación externa	24
4.3.3. Terapias focales	24
4.3.4. Farmacoterapia: quimioterapia	26
a. Intravenosa	26
b. Intra-arterial	27
c. Intravítrea	28
d. Periocular	29
5. DISCUSIÓN	31
6. CONCLUSIONES	32
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

## 1.INTRODUCCIÓN

### 1.1. Marco conceptual del retinoblastoma.

El retinoblastoma es un tumor poco frecuente en la infancia. Se produce en la retina en desarrollo y a menudo se presenta con leucocoria. Una detección temprana y una terapia adecuada basada en la lateralidad y el estadio de la enfermedad han dado como resultado tasas de supervivencia superiores al 90% en los Estados Unidos en casos de retinoblastoma intraocular localizado (Broaddue et al., 2009).

### 1.2. Etiología.

El origen de la enfermedad no está totalmente establecido. La hipótesis más extendida es la existencia de mutaciones en oncogenes y genes supresores de tumores.

Se trata de un tumor maligno de la retina en desarrollo que surge de las células madre retinianas o de los precursores de los conos (Xu et al., 2014). La formación del tumor se piensa que es debida, generalmente, a la inactivación de los dos alelos del gen retinoblastoma (*RB1*), el primer gen supresor de tumores identificado, que codifica la proteína supresora de tumores de retinoblastoma (proteína *RB*) (Mallipatna et al., 2016).

Aunque la proteína *RB1* está inactivada en muchos tipos de cáncer, las mutaciones en la línea germinal *RB1* predisponen a padecer retinoblastoma sobre cualquier otro tipo de cáncer (Grossniklaus, 2014). Esto sugiere que las células específicas de la retina son sensibles a la pérdida de la proteína supresora de tumores, aunque hasta ahora, la naturaleza del circuito y el tipo celular sobre el que actúa no está claro (McEvoy et al., 2011).

### 1.3. Epidemiología.

La tasa de incidencia del retinoblastoma es 1 de cada 14,000-20,000 nacimientos (Kivela, 2009). No obstante, comparada con otras enfermedades de la infancia, el

retinoblastoma no es muy frecuente, representando el 2% de todos los cánceres de tipo pediátrico, como se muestra a continuación en la figura 1.

Dos tercios de todos los casos de retinoblastoma se diagnostican antes de los 2 años y el 90% se diagnostican antes de los 5 años (National Cancer Institute, 2017). Después del quinto año de vida la incidencia es rara, a diferencia de la mayoría de tipos de cáncer cuya incidencia aumenta con la edad.

La enfermedad no presenta predisposición en función de variables geográficas o poblacionales. Sin embargo, el mayor número de casos se da en grandes poblaciones con altas tasas de natalidad como, Asia y África (Kivelä, 2009). En Nigeria, por ejemplo, el retinoblastoma es el tumor intraocular más frecuente y uno de los 5 tumores infantiles con mayor incidencia (Chuka-Okosa et al., 2009). Las regiones con mayor prevalencia tienen las tasas de mortalidad mayores (40-70% de los niños con retinoblastoma en Asia y África mueren, comparado con el 3-5% de los niños en Europa, Canadá y EEUU) (Canadian Retinoblastoma Society, 2009).

En el caso de retinoblastoma unilateral la edad promedio para el diagnóstico es 2 años y para el retinoblastoma bilateral, menos de 12 meses, sin embargo, en los países en vías de desarrollo, la edad promedio es superior, agravando el pronóstico de la enfermedad (Nyamori et al., 2012).

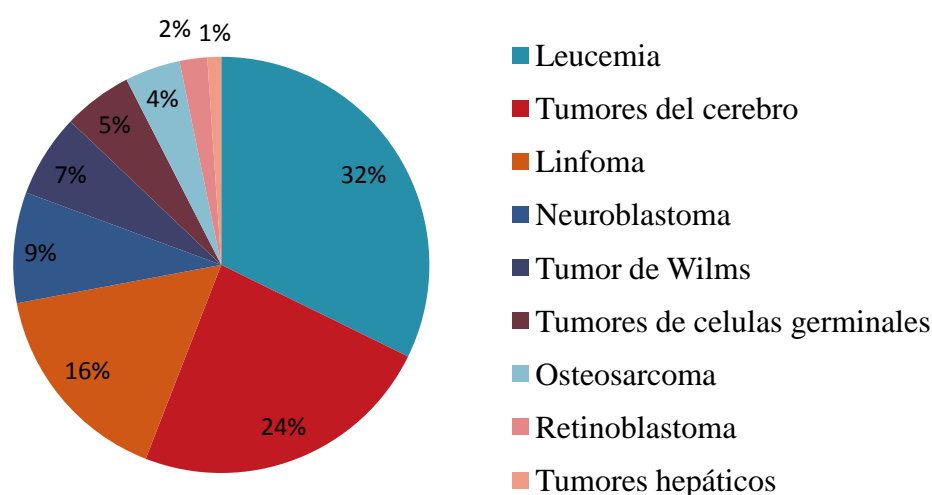


Figura 1. Porcentaje de incidencia de los diferentes tipos de tumores sólidos en la infancia en el año 2010 (González, 2010).

#### 1.4. Manifestaciones clínicas.

El cuadro clínico inicial en la mayoría de los casos se caracteriza por presentar leucocoria que se suele manifestar al hacer una fotografía con flash. La leucocoria es el fenómeno producido cuando una luz que penetra en el ojo es reflejada, desde la retina a través de la pupila, por el tumor de color amarillo o blanco (Mussavi et al., 2014).

El estrabismo (desalineamiento ocular) es el segundo signo de presentación más frecuente y, por lo habitual, se correlaciona con compromiso macular (National Cancer Institute, 2017).

Si el tumor intraocular está muy avanzado produce dolor, celulitis orbitaria, glaucoma o buftalmia, pudiendo originar enfermedad orbitaria o metástasis.

El reflejo rojo es una prueba sencilla que puede detectar anomalías oculares como cataratas, glaucoma, defectos refractivos así como, enfermedades potencialmente peligrosas como el retinoblastoma con el fin realizar un diagnóstico precoz y un tratamiento temprano (Cagini et al., 2016). La Academia Americana de Pediatría recomienda realizar esta prueba como parte rutinaria de las exploraciones médicas en los períodos neonatal y pediátrico (American Academy of Pediatrics, 2008).



Figura 2. Leucocoria, signo más frecuente en pacientes con retinoblastoma (Kanski y Bowling, 2012).

### 1.5. Evaluación.

Los niños con antecedentes familiares de retinoblastoma, se someten a exámenes de detección mediante oftalmoscopia con anestesia general en los primeros meses de vida, para mejorar el pronóstico en términos de preservación del globo ocular (Rothschild et al., 2011). Una vez confirmado, la evaluación de la clasificación de un niño con retinoblastoma debe incluir ultrasonido de las órbitas oculares y la resonancia magnética por imagen del cerebro y las órbitas para evaluar la extensión extraocular del tumor (Wilson et al., 2009).

El retinoblastoma puede metastatizar en el sistema nervioso central, los huesos o la médula ósea. Una evaluación adicional mediante punción lumbar, biopsia de la médula ósea y exploración ósea está indicada para aquellos pacientes que presenten un estadio avanzado de la enfermedad.

### 1.6. Clasificación.

Existen distintos modelos para clasificar el retinoblastoma. El primer sistema que se utilizó fue la clasificación de Reese-Ellsworth, que predice la probabilidad de salvamento ocular tras el tratamiento con radioterapia externa. Actualmente, se ha abandonado su uso debido a la introducción de nuevas estrategias farmacoterapéuticas que han supuesto el desplazamiento gradual de la radioterapia externa y la creación de una nueva clasificación, Internacional Classification of Retinoblastoma.

Este nuevo sistema de clasificación se basa en la extensión de la diseminación tumoral dentro de la cavidad vítrea y el espacio subretiniano y, permite predecir el éxito del tratamiento después de la quimioterapia intravenosa.



<p><b>Grupo A:</b> tumores intrarretinianos pequeños fuera de la foveola y la papila óptica).</p>	<p>Todos los tumores miden 3 mm o menos en su dimensión mayor, se limitan a la retina y se localizan a más de 3 mm de la foveola y a 1,5 mm de la papila óptica.</p>
<p><b>Grupo B:</b> todos los tumores aislados se limitan a la retina.</p>	<p>Todos los demás tumores limitados a la retina que no están en el Grupo A.</p> <p>El líquido subretiniano relacionado con el tumor está a menos de 3 mm del tumor, sin diseminación subretiniana.</p>
<p><b>Grupo C:</b> enfermedad local aislada, con diseminación subretiniana o vítrea mínimas</p>	<p>Tumor(es) aislado(s).</p> <p>Líquido subretiniano, presente o pasado, sin diseminación que comprometa hasta un cuarto de la retina.</p> <p>La diseminación vítrea local fina puede estar presente cerca de un tumor aislado.</p> <p>Diseminación subretiniana local a menos de 3 mm del tumor.</p>
<p><b>Grupo D:</b> enfermedad difusa con diseminación vítrea o subretiniana importante</p>	<p>Tumor(es) que puede(n) ser voluminoso(s) o difuso(s).</p> <p>Líquido subretiniano presente o pasado sin diseminación que compromete hasta la totalidad del desprendimiento de la retina.</p> <p>Enfermedad vítrea difusa o diseminación subretiniana difusa que pueden incluir placas nódulos tumorales.</p>

<p><b>Grupo E:</b> presencia de una o más de las siguientes características de pronóstico precario</p>	<p>Tumor que toca el cristalino.</p> <p>Tumor situado por delante de la porción anterior del cuerpo vítreo que compromete el cuerpo ciliar o el segmento anterior del ojo.</p> <p>Retinoblastoma infiltrante difuso.</p> <p>Glaucoma neovascular / Hemorragia.</p> <p>Necrosis tumoral con celulitis orbitaria aséptica.</p>
--	--

Tabla 1. Clasificación del retinoblastoma según la International Classification of Retinoblastoma (National Cancer Institute, 2017).

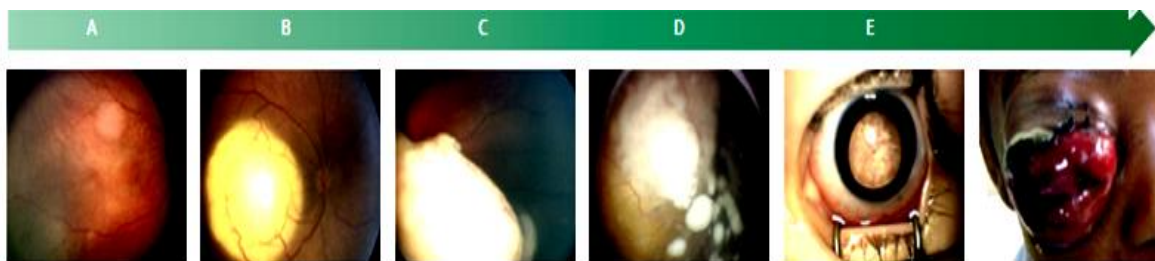


Figura 3. Progresión del retinoblastoma según la International Classification of Retinoblastoma desde el grupo A (pequeño tumor intraocular) hasta el grupo E, retinoblastoma masivo que probablemente haya alcanzado otros tejidos (Dimaras et al., 2012).

El retinoblastoma es un tumor que tiene un pronóstico favorable si es diagnosticado de forma precoz. Para tratarlo, es necesario conocer cómo se inicia el proceso canceroso y, una vez establecido, analizar las posibles vías de actuación a nivel terapéutico en función de la clasificación y las características clínicas del tumor. Resulta de gran interés revisar los estudios disponibles respecto a la biología y el tratamiento del retinoblastoma, para evaluar las controversias que existen con respecto a su origen y la necesidad de introducir estrategias terapéuticas novedosas empleadas en otros tipos de cáncer con mayor prevalencia.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo principal.

El objetivo principal de esta revisión bibliográfica es describir la biología del retinoblastoma y realizar un análisis de las estrategias terapéuticas empleadas en función de las características y la fase de la enfermedad.

### 2.2. Objetivos específicos.

- Entender las posibles alteraciones moleculares y celulares que pueden ocurrir en el desarrollo del retinoblastoma.
- Estudiar el origen de las alteraciones.
- Analizar las distintas opciones terapéuticas dependiendo del estadio y la lateralidad de la enfermedad.

## 3. METODOLOGÍA

### 3.1. Estrategia de búsqueda.

El trabajo consiste en una revisión bibliográfica narrativa que sintetiza la información de estudios previos sobre el tema en cuestión.

Se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica en las bases de datos internacionales así como, una búsqueda inversa a través de la bibliografía de otros artículos. También se han consultado otras fuentes de información como sitios web o recursos bibliográficos en papel específicos en cáncer para completar la búsqueda de información.

La búsqueda bibliográfica tuvo lugar desde el 13 de febrero de 2017 hasta el 30 de marzo de 2017. La principal base de datos consultada ha sido Pubmed, donde se han seleccionado los artículos publicados en los últimos 10 años. La estrategia de búsqueda en Pubmed se puede encuadrar en el siguiente esquema:

**- Retinoblastoma review.**

El día 22 de febrero de 2017 obtuvimos 141 resultados con esta búsqueda, de los que seleccionamos 32 en función del resumen y del título.

**- Retinoblastoma AND treatment.**

El día 27 de febrero de 2017 obtuvimos 141 resultados, de los que seleccionamos 5 según su título y resumen.

**- Retinoblastoma Intra-arterial chemotherapy.**

El día 15 de marzo de 2017 obtuvimos 79 resultados, de los que seleccionamos 4.

**-Retina AND development.**

El día 24 de marzo de 2017 obtuvimos 20 resultados, de los que seleccionamos 1.

Cuando se finalizó la búsqueda se establecieron un conjunto de criterios para seleccionar los artículos que se emplearían para la revisión bibliográfica.

Como criterios de inclusión, consideramos:

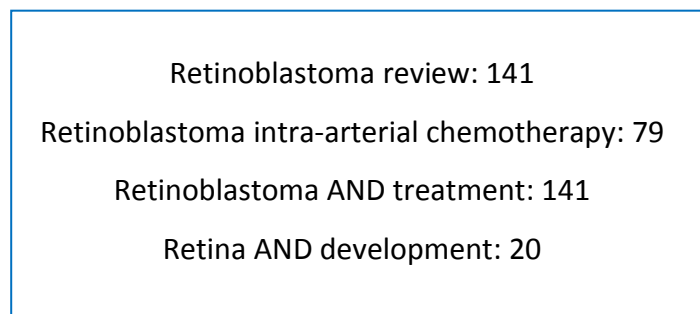
1. El idioma debería ser inglés o español.
2. Publicaciones de los últimos 10 años.
3. Los artículos deben contener los términos buscados en el título.
4. Los artículos debían tratar el tumor en cuestión y no sólo el gen retinoblastoma implicado en otros tipos de cáncer.
5. Los artículos debían incluir información referente a la biología o la terapia de la enfermedad.

Como criterios de exclusión, destacan:

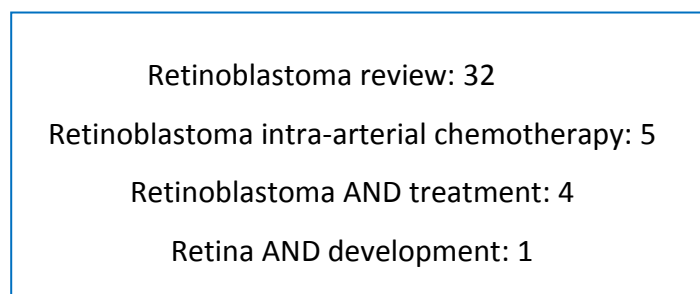
1. Los estudios escritos en una lengua que no fuese inglés o español.
2. Fecha de publicación anterior a 2007 (salvo aquellos artículos consultados por bibliografía inversa).
3. Revisiones o estudios que traten el gen retinoblastoma presente en otros tipos de cáncer.
4. Artículos basados en casos clínicos individuales.

### 3.2 Descripción general de los resultados de búsqueda

Búsqueda (13/02/2017- 30/03/2017).



Artículos seleccionados y revisados a texto completo:



Además de los artículos obtenidos según esta búsqueda bibliográfica, se ha revisado la bibliografía de algunos de los artículos seleccionados. Se han revisado un total de 48 artículos, una vez aplicados los criterios de inclusión y exclusión.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Biología del cáncer.

Durante el desarrollo normal de las células, éstas se transforman llegando a tener funciones altamente específicas. El desarrollo y la renovación celular son una serie de procesos regulados que incluyen proliferación, diferenciación y muerte programada (apoptosis) (González, 2010).

El cáncer es una enfermedad causada, en primer lugar, por la acumulación de mutaciones genéticas. Las células en las que se producen dichas alteraciones son difíciles de identificar, pero sabemos que el cáncer es un proceso multifásico donde se produce una acumulación de daño en el ADN. El ADN es el único componente celular capaz de acumular daño durante toda su vida, y son las células madre las únicas capaces de transmitirlo desde las células del cigoto hasta las células que tenemos en el momento de nuestra muerte (López-Lázaro, 2015a).

Cuando las células madre se dividen, se producen una serie de alteraciones que originan un daño en el ADN. Este daño se va acumulando durante las sucesivas divisiones hasta que, en un determinado momento, dicho deterioro es tal que puede provocar la aparición de células cancerosas (Kaiser, 2015). La oncogénesis refleja la acumulación de una excesiva proliferación celular y la disminución de la apoptosis, lo que origina alteraciones en el proceso normal de crecimiento y diferenciación celular.

### 4.2. Biología del retinoblastoma.

La retina es parte del sistema nervioso central (SNC) cuyo origen embriológico es el tubo neural (Graw, 2010). A partir de este, se forman dos vesículas ópticas cuya interacción con el ectodermo superficial hace que se transformen en cúpulas ópticas y que se diferencien en la córnea y el cristalino. Las dos capas que constituyen la cúpula óptica se van a dividir y diferenciarse; la capa más externa va a constituir el epitelio pigmentario y las células de la capa más interna van a dar lugar a la retina (Reese, 2011).

Posteriormente se van a ir formando nuevas capas, como consecuencia de las sucesivas divisiones y migraciones celulares durante el desarrollo embrionario. La retina se desarrolla desde el interior hasta el exterior, primero maduran las células ganglionares y por último los fotorreceptores (figura 4).

La retina es la parte del ojo que detecta la luz y comunica esta información al cerebro a través del nervio óptico. La retina vertebrada comprende varios tipos celulares: células ganglionares, interneuronas bipolares, horizontales, amacrinas, Müller, glia y fotorreceptores, cada una de las cuales realiza funciones especializadas (figura 5). La detección de estímulos de luz está mediada por fotorreceptores, neuronas altamente especializadas, situadas en la capa más externa de la retina.

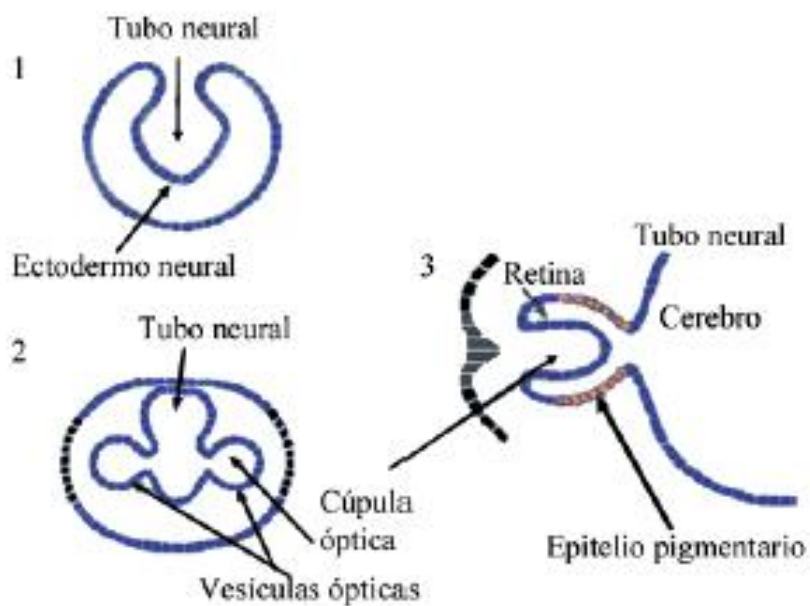


Figura 4. Desarrollo del ojo partiendo del tubo neural, se forman las vesículas ópticas que dan lugar a la retina (Santiesteban y González, 2010).

El retinoblastoma ocurre entre la cuarta y la octava semana de gestación que es la etapa de formación de la retina y, continúa creciendo posteriormente en la infancia, etapa en la que aparecerán las características clínicas (Graw, 2010).

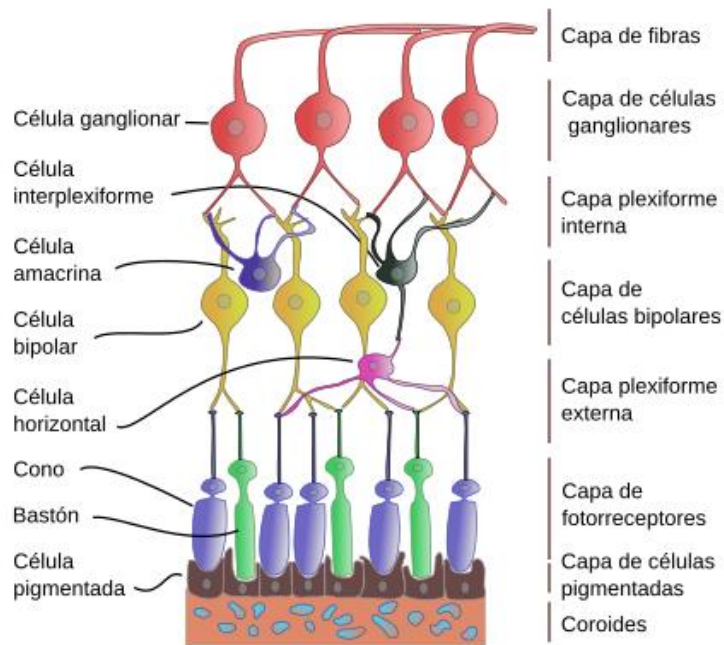


Figura 5. Corte histológico de la retina en el que se observan las capas y las células que la componen (Kanski y Bowling, 2012).

#### 4.2.1. Nivel molecular.

El origen del retinoblastoma no está establecido. La hipótesis más extendida es la existencia de una mutación en el gen *RB1*, el primer gen supresor de tumores descubierto, que regula el ciclo de división celular en la mayoría de los tipos de células. Este gen reside en el cromosoma 13q14 y codifica la proteína retinoblastoma (*RB*) (Soliman et al., 2017). Las mutaciones impiden que se produzca la proteína funcional, por lo tanto, no puede regular la división celular de manera eficaz. De tal forma, algunas células retinianas se dividen sin regulación alguna, evitando la apoptosis y originando el tumor.



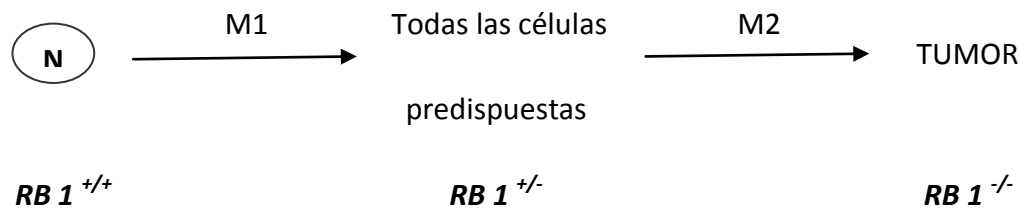
El siguiente punto a abordar sería conocer la causa que provoca que se produzca el daño en el gen *RB1*. La mutación en el gen *RB1* puede surgir antes o después de la concepción.

La mutagénesis preconcepcional del gen ocurre generalmente durante la espermatogénesis, por la existencia de una posible división celular muy activa durante ese proceso, pero no durante la ovogénesis. La división celular es necesaria para que se produzcan las mutaciones. La edad paterna avanzada aumenta el riesgo de retinoblastoma (Dryja et al., 1997). A medida que envejecemos, más divisiones acumulan las células madre y mayor es la probabilidad de que se conviertan en células madre cancerosas (López-Lázaro, 2015b). En este caso, el niño afectado lleva la mutación en cada célula presentando tumores multifocales y retinoblastoma bilateral. Esta es la forma hereditaria que representa el 40 % de los casos y aparece a edades más tempranas.

Por el contrario, si la mutagénesis se produce después de la concepción, durante la embriogénesis, sólo un porcentaje de las células llevará la mutación. Se trata de la forma no hereditaria, que representa el 60% de los tumores unilaterales, y con un solo foco, que se manifiestan a edades posteriores (Mendoza y Grossniklaus, 2016).

Basándose en la diferencia de edad de diagnóstico entre la forma unilateral y bilateral del retinoblastoma, Alfred Knudson avanzó en la comprensión del cáncer, y formuló la hipótesis estableciendo que son necesarios dos eventos mutacionales para el desarrollo del tumor (Knudson, 1971). En ambas formas del tumor, hereditaria y no hereditaria, la inactivación bialélica del gen supresor de tumores *RB1* inicia la proliferación tumoral (Jagadeesan et al., 2016). Como se puede observar en la figura 6, en el retinoblastoma hereditario, la primera mutación de *RB1* (M1) es constitucional, predisponiendo al niño a los tumores de la retina. A continuación, ocurre una segunda mutación, de tipo somática (M2), en una o varias células de la retina en desarrollo que origina el crecimiento del tumor. Por el contrario, en el retinoblastoma no hereditario, existen dos mutaciones adquiridas en ambos alelos del gen del retinoblastoma en células somáticas de la retina en desarrollo. Son necesarias tres o más mutaciones para la progresión y el desarrollo del tumor (Corson y Gallie, 2007).

## RETINOBLASTOMA HEREDITARIO



## RETINOBLASTOMA NO HEREDITARIO

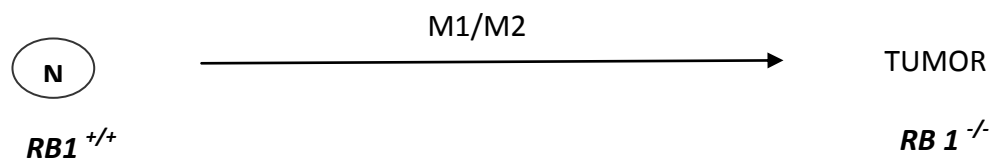


Figura 6. Genética del retinoblastoma hereditario y no hereditario (Dimaras et al., 2012).

N=normal. *RB1*+/+ = dos alelos normales del gen *RB1*. *RB1*-/- = dos alelos mutados. *RB1*+/- = un alelo mutado. M1=mutación constitucional. M2= mutación somática.

Aparte de mutaciones en el gen *RB1*, una pequeña proporción de tumores se asocia a otros errores genéticos y cromosómicos como la amplificación del gen *MYCN* (presente principalmente en otros tipos de neoplasias como el neuroblastoma) (Felsher, 2013). Los cambios epigenéticos también pueden iniciar el desarrollo del retinoblastoma. La hipermetilación del promotor del gen *RB1*, da lugar a la inhibición de la transcripción del gen y el origen del tumor como consecuencia del silenciamiento génico (Rushlow et al., 2013).

### 4.2.2. Nivel celular.

La célula de origen del retinoblastoma es un tema sujeto a debate. No está claramente determinado en qué tipo de células se producen las mutaciones. El hecho de que la incidencia del retinoblastoma sea mayor en los primeros meses de vida, lleva a la teoría de que la célula susceptible de desarrollar cáncer está presente en la retina en

desarrollo de los niños pequeños. En caso de diagnosticar retinoblastoma en adultos, se trata de individuos que probablemente tenían un tumor pequeño no detectado (retinoma) que estaba presente desde la infancia y se activó posteriormente (Dimaras et al., 2008).

En la búsqueda del tipo celular que desencadena el crecimiento tumoral, se han propuesto varios modelos. El retinoblastoma deriva de células de origen neuroectodérmico de la capa interna de la copa óptica. Un posible modelo señala que las células de origen serían las células precursoras retinianas o progenitores primarios de la retina que tienen la capacidad de diferenciarse en múltiples tipos de células de la retina incluyendo horizontales, amacrinas, Muller y fotorreceptores (Mendoza y Grossniklaus, 2016). Algunos estudios señalan que el retinoblastoma humano presenta propiedades de las células precursoras de los conos (Xu et al., 2014). Mientras que la otra posibilidad, es que las mutaciones se produzcan en cualquiera de las células madre embrionarias totipotenciales y multipotenciales (Little et al., 2012), que tienen la capacidad de dividirse (figura 7) y, que van a dar lugar de desarrollo de todos los tipos celulares completamente diferenciados que componen la retina.

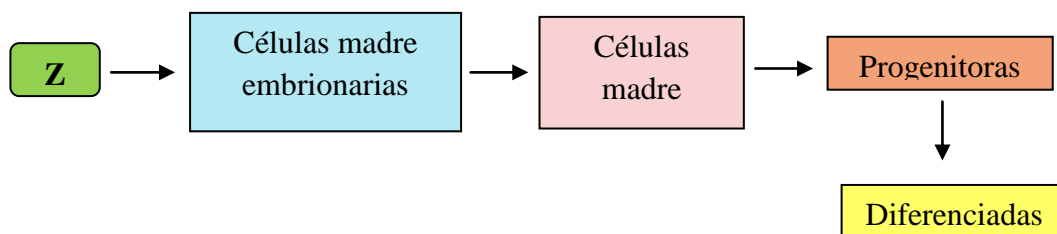


Figura 7. Desarrollo de los distintos tipos celulares a partir del cigoto (Z).

En cualquiera de los dos casos, las mutaciones en las células precursoras dan lugar a errores en las mismas que hacen que no se produzcan las células diferenciadas (los fotorreceptores) o bien, que se formen pero estén muy alterados y no puedan realizar su función normal, dediferenciándose y dando lugar a células madre cancerosas (CSC).

La identificación de la célula de origen de este tumor ayudaría a comprender el contexto celular que determina el origen de las mutaciones causantes del inicio y la progresión posterior del cáncer.

#### 4.2.3. Nivel tisular. Patología.

El tumor surge de la retina y forma una elevada y prominente masa blanca. Los patrones de crecimiento tumoral incluyen retinoblastomas de tipo endofítico en los que el tumor crece hacia el vítreo y, exofíticos en los que el tumor crece bajo la retina hacia la coroides.

El compromiso de las membranas oculares y el nervio óptico se produce a medida que el tumor progresa y puede dar lugar a estadíos avanzados de la enfermedad, llegando el tumor a la circulación sistémica y al SNC y originando la posibilidad de metástasis.

El término retinoblastoma trilateral se usa para describir a aquellos pacientes que padecen un tumor neuroblástico en la línea media intracraneal, en presencia de retinoblastoma bilateral, que, por lo general, se presenta entre los 20 y 36 meses de vida (de Jong et al., 2014).

A nivel microscópico el retinoblastoma se compone de células uniformes, pequeñas, redondas o poligonales que tienen un citoplasma escaso o hipocrómico. El escaso citoplasma está situado en un lado de la célula, lo que sugiere la apariencia de una célula embrionaria de la retina. El núcleo es grande y profundamente teñido, dando la característica apariencia de célula pequeña, redonda y azul (National Cancer Institute, 2017).

El grado de diferenciación del retinoblastoma está determinado por la presencia de distribuciones características de las células tumorales: las rosetas de Flexner-Wintersteiner, específicas del retinoblastoma, que contienen una luz vacía central, y las rosetas de Homer Wright, que también se pueden observar en tumores embrionarios del SNC como pineoblastoma o meduloblastoma y, se basan en la agrupación esférica de células tumorales de color oscuro alrededor de un área central pálida eosinófila (figura 8).

Cuando el tumor supera su suministro vascular, sufre necrosis isquémica y puede contener áreas distróficas y calcificaciones que dan como resultado una apariencia de queso de color calcáreo o blanco.

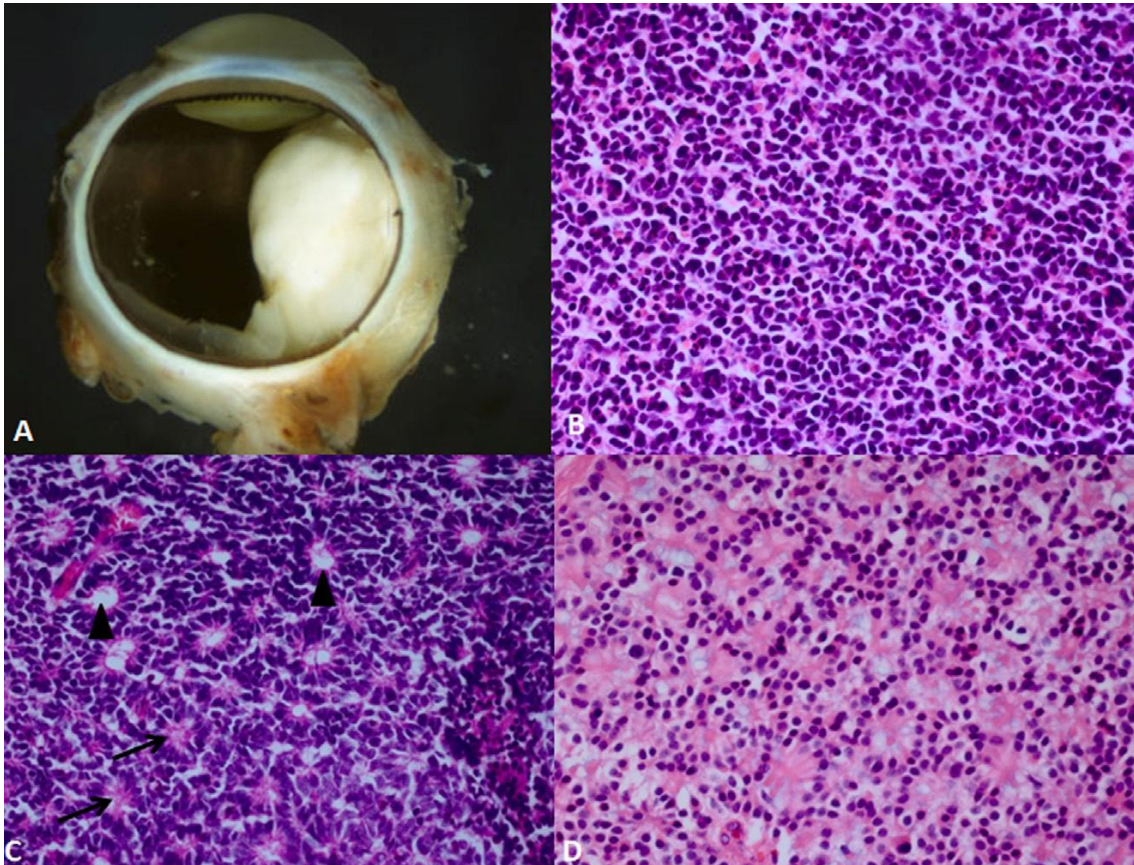


Figura 8. Patología del retinoblastoma. (A) El tumor se presenta como una masa blanca. (B) El retinoblastoma es un tumor pequeño, compuesto de células pequeñas redondas o poligonales. (C) El retinoblastoma puede presentar la formación de rosetas, incluyendo Rosetas Flexner-Wintersteiner, con una luz central clara (flechas grandes) y las rosetas de Horner Wright, con un neuropilo central (flechas pequeñas). (D) Retinocitoma (Mendoza y Grossniklaus, 2016).

La patología del tumor, el grado de diferenciación de las células que lo componen, el tamaño, la presencia o ausencia de siembras vítreas y la localización del mismo van a determinar la elección del tratamiento posterior.

### 4.3. Terapia.

El tratamiento de un paciente con retinoblastoma debe ser el resultado de un esfuerzo multidisciplinar que englobe pediatras, oncólogos, oftalmólogos y patólogos oculares para optimizar su evolución y pronóstico.

El tratamiento depende de la fase del tumor, la lateralidad, el número de focos (monofocal o multifocal), la localización, el tamaño y la presencia de siembras vítreas o subretinianas. Por tanto, el tipo de estrategia a seguir depende de la clasificación del tumor, basada en la International Classification of Retinoblastoma, como se ha comentado anteriormente.

La localización del tumor en relación con el nervio óptico y la mácula es importante en la evaluación clínica porque puede afectar al pronóstico visual. El hecho de que algunos tejidos como el nervio óptico, la coroides, el iris, la esclera y la órbita estén afectados aumenta la probabilidad de metástasis (National Cancer Institute, 2017).

El tratamiento del retinoblastoma ha evolucionado en las últimas 4 décadas. En los años 70, la enucleación era la opción principal para mejorar el pronóstico de la enfermedad. En los años 80, se extendió el uso de la radioterapia externa, no obstante, los riesgos relacionados con el desarrollo de cáncer de tipo secundario a largo plazo, condujeron a limitar el uso de esta modalidad. En los años 90, la quimioterapia sistémica intravenosa fue introducida con agentes antineoplásicos como vincristina, etopósido y carboplatino (lo que se conoce como terapia CEV).

Actualmente la quimioterapia intravenosa es la estrategia más desarrollada para el control del retinoblastoma y la prevención de metástasis. En los últimos años, se han explorado alternativas novedosas como la quimioterapia intra-arterial (IAC) y la quimioterapia intravítrea que ayudan a preservar el globo ocular (Short, 2008).

Con un diagnóstico precoz y estrategias de tratamiento multimodales, es posible alcanzar tasas de curación casi del 100% y que muchos pacientes conserven la visión en al menos un ojo, en los casos bilaterales de la enfermedad (Kaliki, 2015).

Los grandes avances en el conocimiento de la biología del tumor y el desarrollo de terapias dirigidas han incrementado las tasas de supervivencia en los países desarrollados. Sin embargo, en los países en vías de desarrollo, en los cuales el acceso a la sanidad está limitado, el retinoblastoma puede causar la ceguera y la muerte (Canturk et al., 2010). Además, el bajo coste de la enucleación hace que sea el tratamiento más efectivo en el caso de retinoblastoma unilateral muy avanzado.

El objetivo principal del tratamiento es la eliminación del tumor minimizando el daño colateral de otros tejidos. Las prioridades en el tratamiento son: prevenir la metástasis, reducir el riesgo de tumores secundarios a largo plazo (osteosarcoma o sarcoma de tejidos blandos), salvar el ojo y, preservar la visión (Shields et al., 2014b).

En la infancia, el retinoblastoma unilateral se trata de forma distinta que el retinoblastoma bilateral. Los tumores unilaterales pueden ser tratados con terapia focal aislada, quimiorreducción, quimioterapia intra-arterial o incluso enucleación. Hay que realizar un seguimiento exhaustivo del ojo que no está afectado para descartar que padezca también el tumor. Por otra parte, el tratamiento de los tumores bilaterales depende de la extensión del tumor en cada ojo. En el caso de que el retinoblastoma bilateral sea asimétrico, se intenta salvar el ojo menos afectado (Shields et al., 2013).

En resumen, las principales estrategias terapéuticas para el tratamiento del retinoblastoma son quimioterapia intravenosa, enucleación quirúrgica y radioterapia, que dan lugar a toxicidad y tumores de tipo secundario. No obstante, en los últimos años, se ha producido una evolución en el tratamiento enfocándolo a terapias dirigidas y liberación local de fármacos. Estas últimas aumentan la exposición a dianas intraoculares, reducen la exposición sistémica y los efectos secundarios dañinos, así como, mejoran la efectividad y las tasas de tolerabilidad del tratamiento.

La introducción de la quimioterapia intra-arterial e intravítrea ha provocado un cambio en los algoritmos de tratamiento y ha supuesto una mejora, aumentando la posibilidad de salvar el ojo y conservar la visión (Abramson et al., 2015).

#### 4.3.1. Enucleación.

La enucleación fue el tratamiento inicial empleado y actualmente, continúa siendo crítico para el tratamiento de la enfermedad intraocular avanzada, particularmente en Asia y África, donde las condiciones socioeconómicas conducen a estadios avanzados de la enfermedad debido al retraso en el diagnóstico (Bowman et al., 2008)

Las principales indicaciones que se consideran para realizar enucleación son:

1. Retinoblastoma unilateral que llena completamente el globo ocular o que ha dañado y afectado la retina o el vítreo de forma tan extensa que la restauración de la visión no es posible (y un intento de salvar el globo ocular puede conducir al paciente a un riesgo de metástasis).
2. Un tumor que se presenta en la cámara anterior.
3. Glaucoma doloroso con pérdida de visión.
4. Retinoblastoma progresivo sin respuesta al conjunto de terapias locales.
5. Casos con pérdida de visión permanente en los cuales se sospecha la presencia de tumor extraocular.

Si la enfermedad es simétrica o casi simétrica, se intenta retrasar la enucleación y evaluar la respuesta de la quimioterapia en ambos ojos.

Actualmente, los avances en la técnica quirúrgica permiten una mayor accesibilidad al nervio óptico permitiendo extraer el segmento más largo posible del mismo, en continuidad con el globo ocular. De esta forma, una vez extraídos, el globo ocular y el nervio óptico son examinados para determinar si existe diseminación extraocular del tumor (Schiedler et al., 2007). En el caso de existir características patológicas de riesgo alto, se usa terapia sistémica adyuvante con vincristina, doxorubicina y ciclofosfamida, o vincristina, carboplatino y etopósido para prevenir la posibilidad de enfermedad metastásica (Ye et al., 2016).

Debido a que la mayoría de los niños, en caso de sobrevivir, perdían al menos un ojo, se desarrollaron otras técnicas que permitían salvar la visión y conservar el globo ocular.



#### 4.3.2. Radiación externa.

La radiación de haz externo fue el primer tratamiento que permitió salvar el globo ocular y la visión. Sin embargo, su uso está limitado debido a los riesgos posteriores a largo plazo, ya que se sabe que causa hipoplasia en pacientes jóvenes y aumenta el riesgo de desarrollo de neoplasias secundarias como sarcomas de tejidos blandos, tumores cerebrales y osteosarcomas (Wong, et al., 2014).

Se emplea para tratar aquellos ojos que no responden a otros tratamientos, así como para el tratamiento del retinoblastoma extraocular, que se extiende a través de la esclerótica.

#### 4.3.3. Terapias focales.

El conjunto de terapias focales se reserva para los grupos A y B, esto es, para tumores pequeños, localizados, tal y como se observa en la tabla 3. También, se usa para la consolidación focal posterior a la quimioterapia sistémica primaria en los grupos B a D. La consolidación focal hace referencia a estas técnicas quirúrgicas locales, que se aplican directamente sobre la masa tumoral residual, tras la reducción del tumor con la quimioterapia sistémica primaria (Ryan et al., 2009). Se pueden distinguir cuatro tipos:

En primer lugar, la **termoterapia**, que utiliza un láser diodo infrarrojo de 810 nm directamente sobre el tumor. El mecanismo consiste en emplear temperaturas en torno a los 42-62°C para producir la subcoagulación del tumor e inducir efecto citotóxico.

Está indicada para tratar tumores pequeños (<4,5 mm) y posteriores. Entre las ventajas del láser infrarrojo, destacan su penetración a mayor profundidad (absorbido principalmente por el epitelio pigmentario retiniano) debido a la mayor longitud de onda y, el mayor tamaño del punto focal permitiendo así un recubrimiento más rápido de la lesión. Hay que tener precaución con la papila óptica y la fovea. Algunas

complicaciones de este tipo de terapia son las cataratas focales, la atrofia del iris o la siembra tumoral en el vítreo.

La **fotocoagulación** con láser utiliza un láser de argón de 520 nm que genera temperaturas superiores a 65 ° C cuando la energía es absorbida dentro del punto de tratamiento.

Se puede usar para tratar la neovascularización retiniana asociada al tumor. La técnica exige precaución en aquellos tumores cercanos a la fovea, para evitar que se comprometa la visión central. Las complicaciones incluyen siembra vítrea si la potencia del láser es demasiado alta, fibrosis retiniana y oclusión vascular.

La **crioterapia** implica una criosonda que suministra nitrógeno líquido aplicado directamente a la superficie exterior de la esclerótica cercana a donde se localiza el tumor.

Es adecuado para pequeños tumores (<3,5 mm) situados en la parte anterior del globo ocular y sin presencia de siembra vítrea. Los cristales de hielo destruyen las células tumorales produciendo la ruptura de las membranas celulares. Las complicaciones de la crioterapia incluyen desprendimientos de retina, hemorragia vítrea y la aparición de líquido subretiniano.

La **braquiterapia** en placa hace referencia a la implantación de materiales radiactivos en la esclerótica sobre la base del tumor. La absorción de la radiación ionizante produce daños en el ADN y la muerte celular. Se emplea en tumores aislados de mediano tamaño (6-15mm). El yodo y el rutenio son los elementos más utilizados en la actualidad. Las complicaciones de la braquiterapia en placa incluyen el desarrollo de retinopatías y neuropatías ópticas.

Estas técnicas locales no consiguen eliminar el tumor en su totalidad ya que, un gran porcentaje de los tumores son demasiado grandes o existe la presencia de siembras vítreas y subretinianas. En un intento por evitar los efectos adversos de la radiación y la enucleación, se exploró el uso de la quimioterapia sistémica como una posible alternativa a estas terapias estándar.

#### 4.3.4. Farmacoterapia: quimioterapia.

Como se ha visto, en los apartados anteriores, la farmacoterapia no es la terapia de elección en todos los casos de retinoblastoma, no obstante, en la actualidad, los avances en el tratamiento del tumor se están llevando a cabo en este ámbito.

La elección de la vía para la administración de quimioterapia depende de la lateralidad y del estadio del tumor. La quimioterapia intravenosa (CIV) se emplea en los casos bilaterales, retinoblastomas orbitarios y para el tratamiento de retinoblastomas avanzados. La quimioterapia intraarterial (IAC) se utiliza en los grupos C ó D y en algunos casos concretos del grupo E. La quimioterapia periocular se utiliza como tratamiento complementario en los grupos D y E y los casos de retinoblastoma con siembras vítreas recurrentes. La quimioterapia intravítrea está reservada para los ojos con siembras vítreas persistentes o recurrentes (Kaliki y Shields, 2015).

##### **a. Intravenosa**

La quimioterapia sistémica se basa en la combinación de dos, tres o cuatro fármacos que se administran a través de un catéter. Los fármacos antineoplásicos más empleados son:

- Agentes alquilantes del ADN (carboplatino, cisplatino, melfalán).
- Inhibidores de la topoisomerasa II (etopósido, topotecan, tenipósido).
- Alcaloides de la Vinca (vincristina).

La combinación más usada es CEV (carboplatino, vincristina, etopósido) administrada durante un período de 6-9 meses (Ye et al., 2016).

En la mitad de los años 90, surgió la quimioterapia como una alternativa para el tratamiento del retinoblastoma contribuyendo a preservar el ojo en detrimento de la radioterapia que originaba mayores efectos adversos a corto y largo plazo. De acuerdo con la Clasificación Internacional del Retinoblastoma, el éxito de la quimioterapia fue: 100% en grupo A, 93% en el grupo B, 90% en el grupo C y 48% en el grupo D. (Shields et al., 2013).

La terapia intravenosa se usa para el tratamiento del retinoblastoma intraocular junto con las terapias focales; como terapia inicial para retinoblastoma avanzado bilateral cuando se pretende salvar los dos ojos; para prevenir metástasis, reducir la posibilidad de desarrollar pineoblastoma y reducir el riesgo de padecer algún tipo de cáncer secundario a largo plazo y, como adyuvante para prevenir la metástasis que sigue a la enucleación en pacientes que sufran invasión del nervio óptico o invasión de la lámina cribosa o coroides. En un estudio de 2011 de 52 pacientes con retinoblastoma de alto riesgo, se encontró que el uso de CEV intravenoso como adyuvante tras la enucleación redujo, en mayor medida la incidencia de metástasis sistémica (Kaliki et al., 2011).

La quimioterapia sistémica es por norma general, segura y efectiva, pero no está exenta de efectos adversos, tales como neurotoxicidad, hiponatremia, nefrotoxicidad, leucemia secundaria y ototoxicidad (Qaddoumi et al., 2012). Además, el principal obstáculo para el uso de quimioterapia intravenosa es la barrera hemato-retiniana que limita la entrada de algunos fármacos al globo ocular reduciendo por tanto su eficacia (Short, 2008).

En conclusión, la quimioterapia sistémica prolongada se debe administrar con precaución para minimizar los efectos adversos.

#### **b. Intra-arterial.**

La quimioterapia intra-arterial (IAC) fue introducida por primera vez por Reelese et al. en 1958 y se trataba de liberar el agente quimioterapéutico directamente en la arteria carótida. El proceso se ha ido desarrollando y modificando y, en su forma actual, IAC conlleva la liberación en el ojo afectado del fármaco mediante la canulación de la arteria oftálmica (Wyse et al., 2016).

Numerosos estudios han demostrado que la quimioterapia intra-arterial puede utilizarse como tratamiento primario o secundario en ojos con retinoblastoma recurrente.

El fármaco más empleado es melfalán, que se puede combinar con topotecán o carboplatino cuando el tumor es avanzado o existe escasa respuesta al primero.

Algunas de las ventajas de que los fármacos lleguen directamente al globo ocular, son los efectos secundarios mínimos a nivel sistémico, el control del retinoblastoma intraocular y la preservación del ojo. Sin embargo, debido a la absorción sistémica mínima de fármacos, IAC no previene la diseminación del tumor y la producción de metástasis sistémica, pinealoblastoma u otros cánceres secundarios (Rishi et al., 2017).

La eficacia de la quimioterapia intra-arterial se relaciona con el estadio y el grado de compromiso ocular del tumor. De esta forma, pacientes de los grupos B y C (enfermedad temprana) presentan resultados satisfactorios. Sin embargo, en los pacientes del grupo D, si la enfermedad está muy avanzada, la quimioterapia intra-arterial se utilizaría como terapia de consolidación y, previamente sería necesaria la quimioterapia sistémica (Shields et al., 2013).

Algunas de las complicaciones más comunes relacionadas con esta estrategia son: el desprendimiento de retina y la hemorragia vítrea.

Un inconveniente importante de esta terapia es que sólo neurocirujanos expertos, con el equipamiento adecuado en centros especializados en retinoblastoma, pueden realizar con éxito esta técnica. Se trata además de una terapia costosa, que no es accesible para aquellos países en vías de desarrollo.

### **c. Intravítrea.**

El uso de la quimioterapia intravítrea está cada vez más extendido. Varios estudios han demostrado que la inyección directa de melfalán en el cuerpo vítreo reduce la diseminación activa en el mismo (Francis et al., 2016). Su uso para el tratamiento de las siembras vítreas recurrentes tiene resultados prometedores. Aún así, son necesarios ensayos clínicos para evaluar su viabilidad y su toxicidad (Shields, et al., 2014a).

#### d. Periocular.

La administración periocular de quimioterapia permite administrar concentraciones más altas de fármacos a los segmentos posteriores del ojo. Esta terapia se usa, en combinación con otra estrategia terapéutica y no en monoterapia, para el tratamiento de las siembras vítreas recurrentes o cuando la quimioterapia sistémica está contraindicada. Entre los efectos adversos destacan los edemas y eritemas en la zona de inyección. Los diversos sistemas de administración de quimioterapia periocular que se están investigando incluyen implantes epiesclerales, selladores de fibrina y dispositivos nanomoleculares (Carcaboso et al., 2010).

<b>Quimioterapia</b>	<b>Indicaciones</b>
<b>Intravenosa</b>	Retinoblastoma intraocular, en especial los casos bilaterales Retinoblastoma orbitario Retinoblastoma con riesgo alto de diseminación Retinoblastoma metastásico
<b>Intra- arterial</b>	Tratamiento primario del retinoblastoma intraocular Tratamiento secundario del retinoblastoma recurrente
<b>Intravítrea</b>	Siembras vítreas recurrentes/residuales
<b>Periocular</b>	Siembras vítreas recurrentes/residuales Retinoblastoma en el que está contraindicado la quimioterapia sistémica

Tabla 2. Resumen de las indicaciones de la quimioterapia para el retinoblastoma

A nivel general, la terapia focal está indicada como terapia inicial o única para pequeños tumores que estén localizados lejos de la fovea y del nervio óptico (grupo A o B). La enucleación se reserva para casos muy avanzados (grupo E fundamentalmente). Con respecto a la quimioterapia, está indicada en los grupos B-D, reservando la administración vía sistémica para los casos más graves debido a los efectos secundarios.

<b>Grupo</b>	<b>Características generales</b>	<b>Características específicas ( presencia de 1 ó más de 1)</b>	<b>Terapia</b>
<b>A</b>	Pequeño tumor alejado de la fóvea y la papila	Tumor $\leq$ 3mm.	Terapias focales
<b>B</b>	Tumor mayor Macular o cercano a la papila	Tumor $>$ 3 mm. Tumor localizado a $<$ 3 mm de la fóvea. Tumor localizado a $<$ 1,5 de la papila.	Terapias focales Quimioterapia intravenosa/intra-arterial
<b>C</b>	Siembras focales	Siembras subretinianas, vítreas, o ambas localizadas a $\leq$ 3 mm del tumor principal.	Quimioterapia intra-arterial Quimioterapia intravítrea
<b>D</b>	Siembras difusas	Siembras subretinianas, vítreas, o ambas localizadas a $>$ 3 mm del tumor principal.	Quimioterapia intra-arterial Quimioterapia intravítrea Enucleación
<b>E</b>	Tumor extendido	El tumor ocupa $>$ 50% del globo ocular. Glaucoma Opacidad de medios debido a una hemorragia en la cámara anterior, vítreo o en el espacio subretiniano. Invasión del nervio óptico, coroides, esclera u órbita.	Enucleación Quimioterapia intra-arterial Quimioterapia intravenosa como adyuvante

Tabla 3. Resumen de las terapias empleadas en función del grupo según la Clasificación Internacional del Retinoblastoma (Mendoza y Grossniklaus, 2016).

## 5. Discusión.

La escasa prevalencia de este tumor con respecto a otros tumores de la infancia o tumores de alta incidencia actualmente, como son el cáncer de pulmón, colón y mama, determina la falta de investigación en la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas más selectivas y con un menor número de efectos secundarios.

Cuando el tumor se disemina a través del nervio óptico al sistema nervioso central o a la sangre, a través de la coroides, no existen posibilidades de supervivencia.

Una vez revisados los artículos y realizadas búsquedas sobre ensayos clínicos en desarrollo en la actualidad, no se han observado la introducción de nuevos fármacos para el tratamiento del retinoblastoma.

En los últimos años, se siguen empleando fármacos usados en la quimioterapia clásica (agentes alquilantes, inhibidores de la división del ciclo celular o inhibidores de la topoisomerasa) a pesar del desarrollo de nuevos fármacos para los otros tipos de cáncer (inmunoterapia con anticuerpos monoclonales).

Los avances en el tratamiento del retinoblastoma a lo largo del tiempo se han reducido a mejorar la vía de administración de los fármacos, como reflejan el desarrollo de las quimioterapias intra-arterial e intravítrea. Dirigen los fármacos directamente al globo ocular, evitando los efectos que derivan de su administración por vía sistémica.

En la actualidad, se está empleando la inmunoterapia para el tratamiento de muchos tipos de cáncer. La inmunoterapia es un tipo de tratamiento que ayuda al sistema inmunitario a combatir el cáncer. Las células cancerosas consiguen progresar porque son capaces de evitar al sistema inmunitario. Hay algunos tipos de terapias inmunitarias que marcan las células cancerosas y así, facilitan su localización por parte del sistema inmunitario. Por el contrario, existen otros tipos que refuerzan el sistema inmunitario para que pueda hacer mayor frente al cáncer (National Cancer Institute, 2017).



Se han revisado los ensayos clínicos más recientes sobre retinoblastoma y se ha observado una escasa investigación con terapias más novedosas y eficaces, como la inmunoterapia, en pacientes con retinoblastoma. Se podría plantear el tratamiento de algunos pacientes con inmunoterapia para estudiar si existe una evolución favorable de la enfermedad y, así, aumentar las posibilidades de supervivencia y curación para aquellos pacientes que tienen un tumor avanzado y metastásico.

## 6. Conclusiones.

1. Se ha hecho una revisión a nivel molecular y celular del tumor intraocular retinoblastoma. La célula de origen del tumor no está establecida y, a nivel molecular, la teoría más extendida es el desarrollo de mutaciones en genes supresores de tumores y oncogenes (principalmente el gen *RB1*) y la acumulación de divisiones en las células en desarrollo de la retina.
2. Se han estudiado las distintas estrategias terapéuticas, farmacológicas y no farmacológicas, para el tratamiento del tumor, de acuerdo con la Clasificación Internacional del Retinoblastoma. Dentro de las estrategias farmacológicas, se incluyen la quimioterapia clásica sistémica, mejorada en los últimos años, con la quimioterapia dirigida directamente al globo ocular (intra-arterial, intravítrea y periocular). Con respecto a las terapias no farmacológicas destaca la enucleación que es la estrategia más empleada en los países en vías de desarrollo.
3. Se observa una insuficiente evolución en la investigación del tratamiento del retinoblastoma con respecto a otros tipos de cáncer con mayor prevalencia. Esta situación no permite el avance y desarrollo de nuevas opciones terapéuticas menos agresivas y más eficaces que podrían mejorar la situación de pacientes con la enfermedad avanzada.

## 7. Referencias bibliográficas.

### -Artículos:

Abramson DH, Shields CL, Munier FL, Chantada GL. Treatment of retinoblastoma in 2015: agreement and disagreement. *JAMA Ophthalmol.* 2015; 133(11): 1341-7.

American Academy of Pediatrics. Red reflex examination in neonates, infants, and children. *Pediatrics.* 2008; 122(6): 1401-4.

Bowman RJ, Mafwiri M, Luthert P, Luande J, Wood M. Outcome of retinoblastoma in east Africa. *Pediatr Blood Cancer.* 2008; 50(1): 160-62.

Broaddus E, Topham A, Singh AD. Incidence of retinoblastoma in the USA: 1975-2004. *Br J Ophthalmol.* 2009; 93(1): 21-23.

Cagini C, Tosi G, Stracci F, Rinaldi VE, Verrotti A. Red reflex examination in neonates evaluation of 3 years of screening. *Int Ophthalmol.* 2016; 54(2): 148-50.

Canadian Retinoblastoma Society. National Retinoblastoma Strategy Canadian guidelines for care: stratégie thérapeutique du rétinoblastome guide Clinique canadien. *Can J Ophthalmol.* 2009; 44 (Suppl 2): S1-88.

Canturk S, Qaddoumi I, Khetan V, Ma Z, Furmanchuk A, Antoneli CB et al. Survival of retinoblastoma in less-developed countries impact of socioeconomic and health-related indicators. *Br J Ophthalmol.* 2010; 94(11): 1432-36.

Carcaboso AM, Chiappetta DA, Opezzo JA. Episcleral implants for topotecan delivery to the posterior segment of the eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010; 51(4): 2126-34.

Chuka-Okosa CM, Uche NJ, Kizor-Akaraiwe NN. Orbito-ocular neoplasms in Enugu, South-Eastern, Nigeria. *West Afr J Med.* 2008; 273(3): 144-7.

Corson TW, Gallie BL. One hit, two hits, three hits, more? Genomic changes in the development of retinoblastoma. *Genes Chromosomes Cancer.* 2007; 46 (7): 617-34.

deJong MC, Kors WA, de Graaf P, Castelijns JA, Kivelä T, Moll AC. Trilateral retinoblastoma: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2014; 15(10): 1157-67.

Dimaras H, Kimani K, Dimba EA, Grondsdahi P, White A, Chan H et al. Retinoblastoma. *Lancet.* 2012; 379: 1436-46.

Dimaras H, Khetan V, Halliday W, Orlic M, Prigoda NL, Piovesan B et al. Loss of RB1 induces non-proliferative retinoma: increasing genomic instability correlates with progression to retinoblastoma. *Hum Mol Genet.* 2008; 17(10): 1363–72.

Dryja TP, Morrow JF, Rapaport JM. Quantification of the paternal allele bias for new germline mutations in the retinoblastoma gene. *Hum Genet.* 1997; 100(3-4): 446–9.

Felsher DW. Role of MYCN in retinoblastoma. *Lancet Oncol.* 2013; 14(4): 270-1.

Francis JH, Marr BP, Brodie SE, Gobin P, Dunkel IJ, Abramson DH. Intravitreal melphalan as salvage therapy for refractory retinal and subretinal retinoblastoma. *Retin Cases Brief Rep.* 2016; 10(4): 357-60.

Ghassemi F, Khodabande A. Risk definition and management strategies in retinoblastoma: current perspectives. *Clin Ophthalmol.* 2015; 9: 985–94.

González G. Solid Tumors in children. Diagnosis and surgical management. *Rev. Med. Clin. Condes.* 2010; 21(1): 120-9.

Graw J. Eye development. *Curr Top Dev Biol.* 2010; 90: 343-86.

Grossniklaus HE. Retinoblastoma: fifty years of progress. The LXXI Edward Jackson memorial lecture. *Am J Ophthalmol.* 2014; 158(5): 875–91.

Jagadeesan M, Khetan V, Mallipatna A. Genetic perspective of retinoblastoma: From present to future. *Indian J Ophthalmol.* 2016; 64(5): 332–6.

Kaiser J. The cancer stem gamble. *Science.* 2015; 347 (6219): 226-9.

Kaliki S, Shields CL, Shah SU, Eagle RC Jr, Shields JA, Leahey A. Postenucleation adjuvant chemotherapy with vincristine, etoposide, and carboplatin for the treatment of high-risk retinoblastoma. *Arch Ophthalmol.* 2011; 129(11): 1422-7.

Kaliki S, Shields CL. Retinoblastoma: Achieving new standards with methods of chemotherapy. *Indian J Ophthalmol.* 2015; 63(2): 103–9.

Kivelä T. The epidemiological challenge of the most frequent eye cancer: retinoblastoma, an issue of birth and death. *Br J Ophthalmol*. 2009; 93 (9): 1129-31.

Knudson AG Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1971; 68 (4):820-3.

Little MP, Kleinerman RA, Stiller CA, Li G, Kroll ME, Murphy MF. Analysis of retinoblastoma age incidence data using a fully stochastic cancer model. *Int J Cancer*. 2012; 130(3): 631-40.

López- Lázaro M. The migration ability of stem cells can explain the existence of cancer of unknown primary site. *Rethinking metastasis. Oncoscience*. 2015a; 2(5):467-75.

López-Lázaro M. Stem cell division theory of cancer. *Cell cycle*. 2015a; 14: 2547-8.

Mallipatna A, Marino M, Singh AD. Genetics of Retinoblastoma. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2016; 5(4): 260-4.

McEvoy J, Flores-Otero J, Zhang J, Nemeth K, Brennan R, Bradley C et al. Coexpression of normally incompatible developmental pathways in retinoblastoma genesis. *Cancer Cell*. 2011; 20(2): 260-75.

Mendoza PR, Grossniklaus HE. Therapeutic Options for Retinoblastoma. *Cancer Control*. 2016; 23(2): 99-109.

Mussavi M, Asadollahi K, Janbaz F, Mansoori E, Abbasi N. The Evaluation of Red Reflex Sensitivity and Specificity Test among Neonates in Different Conditions. *Iran J Pediatr*. 2014; 24(6): 697-702.

Nyamori JM, Kimani K, Njuguna MW, Dimaras H. The incidence and distribution of retinoblastoma in Kenya. *Br J Ophthalmol*. 2012; 96(1): 141-143.

Qaddoumi I, Bass JK, Wu J, Billups CA, Wozniak AW, Merchant TE et al. Carboplatin-associated ototoxicity in children with retinoblastoma. *J Clin Oncol*. 2012; 30(10): 1034-41.

Reese BE. Development of the retina and optic pathway. 2011; 51(7): 613-32.

Rishi P, Sharma T, Sharma M, Maitray A, Dharmi A, Aggarwal V et al. Intra-arterial chemotherapy for retinoblastoma: Two-year results from tertiary eye-care center in India. *Indian J Ophthalmol*. 2017; 65(4): 311-5.

Rothschild PR, Lévy D, Savignoni A, Lumbroso-Le Rouic L, Aerts I, Gauthier-Villars M. Familial retinoblastoma: fundus screening schedule impact and guideline proposal. A retrospective study. *Eye (Lond)*. 2014; 25(12): 1555-61.

Rushlow DE, Mol BM, Kennett JY, Yee S, Pajovic S, Thériault BL et al. Characterisation of retinoblastomas without *RB1* mutations: genomic, gene expression, and clinical studies. *Lancet Oncol*. 2013; 14(4): 327–34.

Schiedler V, Dubovy SR, Murray TG. Snare technique for enucleation of eyes with advanced retinoblastoma. *Arch Ophthalmol*. 2007; 125(5): 680-3.

Shields CL, Manjandavida FP, Arepalli S, Kaliki S, Lally SE, Shields JA. Intravitreal melphalan for persistent or recurrent retinoblastoma vitreous seeds: preliminary result. *Jama Ophthalmology*. 2014a; 132(3): 319-25.

Shields CL, Fulco EM, Arias JD, Alarcon C, Pellegrini M, Rishi P et al. Retinoblastoma frontiers with intravenous, intra-arterial, periocular, and intravitreal chemotherapy. *Eye (Lond)*. 2013; 27(2): 253–64.

Shields CL, Lally SE, Leahey AM, Jabbour PM, Caywood EH, Schwendeman R et al. Targeted retinoblastoma management: when to use intravenous, intra-arterial, periocular, and intravitreal chemotherapy. *Curr Opin Ophthalmol*. 2014 b; 25(5): 374-85.

Short BG. Safety evaluation of ocular drug delivery formulations: techniques and practical considerations. *Toxicol Pathol*. 2008; 36(1): 49-62

Soliman SE, Racher H, Zhang C, MacDonald H, Gallie BL. Genetics and Molecular Diagnostics in Retinoblastoma- An Update. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2017; 6(2): 197-207.

Wilson MW, Rodriguez-Galindo C, Billups C, Haik BG, Laningham F, Patay Z. Lack of correlation between the histologic and magnetic resonance imaging results of optic nerve involvement in eyes primarily enucleated for retinoblastoma. *Ophthalmology*. 2009; 116(8): 1558-63.

Wong JR, Morton LM, Tucker MA, Abramson DH, Seddon JM, Sampson JN et al. Risk of subsequent malignant neoplasms in long-term hereditary retinoblastoma survivors after chemotherapy and radiotherapy. *J Clin Oncol*. 2014; 32(29): 3284-90.

Wyse E, Handa JT, Friedman AD, Pearl MS. A review of the literature for intra-arterial chemotherapy used to treat retinoblastoma. *Pediatr Radiol*. 2016; 46(9): 1223-33.

Xu XL, Singh HP, Wang L, Qi DL, Poulos BK, Abramson DH et al. Rb suppresses human cone-precursor derived retinoblastoma tumours. *Nature*. 2014; 514 (7522): 385–8.

Ye H, Du Y, Chen R, Luo X, Mao Y, Ai S et al. The Potential Benefit of Three vs. Six Cycles of Carboplatin, Etoposide, and Vincristine in Postenucleation High-Risk Patients with IRSS Stage I Retinoblastoma. *Curr Eye Res*. 2016; 41(11): 1507-1512.

**-Libros:**

Kanski J, Bowling B. *Oftalmología Clínica*. 7ª ed. España: Elsevier; 2012.

Ryan SJ, Hinton DR, Schatchat AP, Wilkinson CP. *Retina*. 4ª ed. Madrid: Marbán Libros, S.L.; 2009.

Santiesteban R, González SL. *Oftalmología pediátrica*. 1ª ed. Ciudad de la Habana: Ciencias Médicas; 2010.

**-Bases de datos:**

National Cancer Institute [en línea]. [Consultado en Abril 2017]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/>

.....