

Nuevos e intrigantes conceptos en la oncogénesis del retinoblastoma. Análisis y revisión del tema

Gabriel González-Almaraz, Ma. Angeles A. Pineda-Cárdenas, Enrique Garza-Ruíz

RESUMEN

El retinoblastoma es una neoplasia maligna de la infancia, se origina en la retina y tiene un patrón hereditario bien definido autosómico dominante de penetración variable, puede asociarse a monosomías, translocaciones parciales, isocromosomas y mosaicismo. Las formas esporádicas pueden representar la forma inicial del rasgo familiar. En pacientes con formas hereditarias de la neoplasia y que sobreviven, se comprueba la posibilidad de desarrollar pinealomas y segundos tumores sin relación con la radiación, así como la acción de los sistemas de c-proto-oncogenes, anti-oncogenes y oncogenes relacionados con alteraciones en las proteínas supresoras que modifican los ciclos de proliferación celular. El consejo genético esta en relación con la acción de los genes y juega un papel muy importante en el futuro de esta neoplasia.

Palabras clave: Retinoblastoma, oncogenes, oftalmología, genética, patología.

SUMMARY

Retinoblastoma is a malignancy of childhood arising in retina. This tumour discloses genetic characteristics as follows: 1. Autosomic dominant trait with uncompleted penetration; 2. Probable association to monosomies, partial translocations, isochromosomes and mosaicisms; 3. The sporadic forms could be the initiation of the hereditary trait. In the hereditary forms, pinealomas and second malignant tumours could appear without radiation relationship. In those forms the action of c-proto-oncogenes, anti-oncogenes and oncogenes and their relation with suppressed altered protein affect the proliferative cell cycles. The genetic counselling is related to the gene function and they play an important role in the future evolution of the neoplasm.

Key words: Retinoblastoma, oncogenes, ophthalmology, genetics, pathology.

INTRODUCCIÓN

El retinoblastoma (RB) es una neoplasia característica de la infancia, que se origina en la retina, es altamente maligna con invasión local por contigüidad y continuidad y metástasis sistémicas. Puede ser unilateral, bilateral y en raros casos el llamado trilateral.¹

Se han descrito variantes histológicas con comportamiento

clínico muy peculiar, raras formas de involución espontánea y una variedad benigna designada como retinoma. El diagnóstico temprano es indispensable para la sobrevivencia del paciente y para proporcionar el tratamiento adecuado para cada caso en particular. El pronóstico es malo, aun para los sobrevivientes de retinoblastoma bilateral, por el riesgo de los segundos tumores asociados a la radioterapia o independientes de ella (1-7).

Señalados estos precedentes, nos ocuparemos a continuación de los aspectos más recientes sobre los mecanismos oncogénicos en el retinoblastoma, como uno de los ejemplos más sobresalientes y de interés para el oftalmólogo en la misteriosa génesis del cáncer y su relación con el sistema de oncogenes.

¹ Como se discutirá más adelante, este término se refiere a la asociación de retinoblastoma bilateral y pinealoma.

CONCEPTOS GENERALES

Como señalamos en la definición anterior, el retinoblastoma es una neoplasia embrionaria que se origina en la retina, generalmente afecta a los niños, aun cuando en forma extraordinaria puede encontrarse en los adultos (8, 9). Es bilateral, especialmente en su forma familiar, y su evolución es mortal; no obstante, existen raros casos de regresión espontánea. Como es bien sabido, tiene un determinismo familiar o hereditario, especialmente en aquellos casos bilaterales, características que serán discutidas en los siguientes párrafos. Las formas unilaterales son las más frecuentes, pero no por esto podemos considerarlas como totalmente esporádicas. Connolly y col. (10) publicaron en 1983 el caso de una familia en la cual se presentaron cuatro generaciones con tres patrones de expresión para los genes de retinoblastoma: 1. Retinoblastoma clásico, unilateral o bilateral; 2. Retinoma sin patología retiniana visible, excepto por cambios degenerativos con la edad, y 3. Degeneración en embalsado observada en dos de tres portadores de retinoblastoma, con edades entre 49 y 59 años, fenómeno que Duane (1980) considera que ocurre en 20% de la población adulta (11). A continuación, en forma muy resumida, analizaremos estas variedades para poder explicar los puntos sobresalientes de la biología de esta intrigante neoplasia y su relación con los oncogenes.

RETINOMA

Fue reconocido por Gallie y Phillips (12) en 1982 en pacientes con retinoblastoma, como una lesión benigna en la retina, que se manifiesta como una masa gris, translúcida, que protruye en el vítreo con calcificaciones con aspecto de queso cottage en 75% de los casos, acompañada de migración y proliferación del epitelio pigmentado en 60% de ellos. Es una neoplasia benigna que, de acuerdo a los autores mencionados, corresponde al estado heterocigoto postulado por Knudson como producto de la segunda mutación de carcinogénesis más que el estado homocigoto que ocurre en las células diferenciadas. Gallie y col. (13) sugirieron que se trataba de una regresión espontánea del retinoblastoma o la manifestación benigna del gene RB.¹

RETINOBLASTOMA TRIOCULAR

Con el llamativo nombre de retinoblastoma triocular, el Dr. Lorenz Zimmerman en un curso sobre tumores oculares en el Perú, hizo énfasis sobre la extraña asociación de retinoblastoma y pinealoma², condición que recientemente

había sido reconocida en 1984 por Bronstein y col. (14) quienes describieron tres niños con retinoblastoma bilateral coexistiendo con una neoplasia en el trígono habenuar, con morfología similar al retinoblastoma. Ellos lo refirieron como retinoblastoma trilateral. Zimmerman lo denominó triocular puesto que algunas veces se ha referido a la glándula pineal como “el tercer ojo”. En 1991, Lueder y col. (15) describieron un cuarto paciente con pinealoma asociado a retinoblastoma, caso que formaba parte de una serie de 56 pacientes con retinoblastoma hereditario. Amoaku y col. (16) reportaron otros 5 pacientes de los cuales dos habían sido previamente publicados en Inglaterra, en el lapso de 1957 a 1994, en una serie de 146 pacientes consecutivos con retinoblastoma, lo que traduce una incidencia de 3%. La edad promedio de estos pacientes fue de 6 meses, mientras que el pinealoblastoma fue diagnosticado en una edad promedio de 2 años. En los casos referidos, el pinealoma no fue identificado en la primera tomografía axial computada realizada; no obstante, un niño con retinoblastoma bilateral mostró calcificación en una masa suprasilar lo que permitió, con estudiosos más acuciosos, identificar el pinealoma. Kivela (17) realizó en 1999 un análisis de retinoblastoma trilateral revisando la literatura y contactando, además, con los autores. De 106 niños seleccionados para determinar la frecuencia por medio de las curvas de Kaplan-Meier, no existió predilección por el sexo, mientras que la edad promedio fue de 5 meses (rango de 0 a 29 meses). La edad en el momento del diagnóstico fue más temprana en 47 niños con retinoblastoma familiar (47%) comparada con la edad de 52 niños (53%) con retinoblastoma esporádico. El retinoblastoma trilateral afecta la segunda o tercera generación con retinoblastoma. El tiempo que transcurrió de la aparición del retinoblastoma al retinoblastoma trilateral fue de 21 meses, con un rango de 6 a 141 meses. El tiempo transcurrido del retinoblastoma trilateral fue mayor (77%) al de los pinealomas (23%), comparado con los tumores suprasilares (32 vs. 6.5 meses). Las dimensiones y pronóstico de los pinealomas y de los tumores suprasilares es similar. El índice de curación mejora cuando los tumores son menores de 15 mm en el momento de la detección.

SEGUNDOS TUMORES EN SUPERVIVIENTES DE RETINOBLASTOMA

Los tumores malignos secundarios a radiaciones por otras neoplasias son bien conocidos. En nuestro país, Antillón y Esponda (18) publicaron dos casos de sarcomas secundarios a radiaciones en sobrevivientes de retinoblastoma. Moll y col. (19) evaluaron la influencia de la edad sobre la radiación externa y la ocurrencia de los segundos tumores primarios dentro y fuera del campo de radiación en 263 pacientes con retinoblastoma hereditario. Estimaron la incidencia de los segundos tumores primarios (STP) en 3 subgrupos: 1. Radiación antes de los 12 meses de edad, 2. Radiación (es) después de los 12 meses de edad y, 3. Sin radiación. Encontraron que el retinoblastoma (RB) heredi-

¹ Gen RB: gen que determina la aparición del retinoblastoma.

² El pinealoma es una variedad de tumor germinal que se origina en la pineal. Sus células son de aspecto linfocitoide por lo que se parecen mucho a las del retinoblastoma y ocasionalmente dan diferenciación a fotorreceptores. La forma más inmadura es el pinealoblastoma, común en niños.

tario confería un mayor riesgo de desarrollar segundos tumores primarios, especialmente en pacientes en quienes las neoplasias aparecieron fuera del campo de radiación o no recibieron radiaciones. Estos autores (19) encontraron que el RB confería un incremento en el riesgo de desarrollo de segundos tumores primarios (STP), especialmente en pacientes tratados con radiaciones en forma tardía. No obstante, concluyeron que la presencia de un número similar de STP dentro y fuera del campo de radiación sugieren que la radioterapia no es la causa y, al parecer, no había relación entre la edad y el riesgo relacionado. Los tumores secundarios pueden ser sarcomas osteogénicos, fibrosarcomas y aun carcinomas, no obstante en los segundos tumores no relacionados con las irradiaciones es difícil precisar la clasificación histológica de esas neoplasias.

Someramente discutiremos el sarcoma osteogénico.

El riesgo de sarcoma osteogénico está aumentado 500 veces en pacientes con retinoblastoma bilateral. La neoplasia se origina en las zonas expuestas a la radioterapia ocular (20). François (21), en 1977, concluyó que hay una predisposición especial para el sarcoma osteogénico, tanto radiogénicos como no radiogénicos, en pacientes con retinoblastoma y posiblemente en sus parientes. Matsunaga (22), en 1980, estimó que el riesgo relativo para desarrollar sarcoma osteogénico no radiogénico en personas con retinoblastoma es de 230. El osteosarcoma es el resultado del efecto directo de los cambios del genoma que desencadena el gene RB (*vide infra*). Chauveinc (23) revisó a sobrevivientes de retinoblastoma quienes subsecuentemente desarrollaron osteosarcomas (OT). Encontraron que los OT ocurrieron en forma más temprana (1.2 años) dentro que por fuera del campo de radiación en pacientes que desarrollaron radiación externa. También la latencia entre la radioterapia y el osteosarcoma fue de 1.3 años más temprana en el campo de radiación. La distribución bimodal de la latencia se observó en el sarcoma osteogénico originado dentro del campo de radiación, 40% ocurrió después de una corta latencia, mientras que la latencia para el resto fue de 60%, comparable al OT originado por fuera del campo de radiación. Los autores sugieren que los diferentes mecanismos pueden estar involucrados en la radiogénesis. Sugieren, además, que la mutación inducida por la radiación de los segundos alelos del RB1 puede ser la causa de osteosarcomas ocurriendo después de un corto retraso, mientras que otros genes pueden ser responsables para el osteosarcoma que ocurre después de una larga evolución.

ALTERACIONES ASOCIADAS A LA DELESIÓN¹ DE CROMOSOMAS

Motegi y col. (24) sugirieron, en 1983, que los pacientes con retinoblastoma y una delección¹ intersticial de 13q tienen una apariencia característica de la mitad de la cara: Cejas

prominentes, puente nasal ancho, punta de la nariz bulbosa, boca grande con labio superior delgado y filtrum largo (25). Fukushima y col. (26) describieron a una madre y a su hijo con retinoblastoma debido a la delección de 13q14. Ambos tenían facies peculiares con frente alta, puente de la nariz ancho y bajo, nariz corta y bulbosa, boca abierta con labio superior delgado y pabellones auriculares prominentes. Al hijo se le realizó enucleación del OD a la edad de 13 meses, sin evidencia de participación del OI 21 meses después. A la madre se le realizó enucleación de OD a los 6 meses y radioterapia profiláctica del OI.

Laquis (27) reportó en 2002 una niña de 9 meses con translocación X en el cromosoma 13 con punto de ruptura a 13q12.1 y hallazgos faciales dismórficos característicos del síndrome 13q: fontanelas anteriores amplias, frente ancha, hipertelorismo, labios delgados, pabellones auriculares antevertidos y filtrum largo. Ella tuvo leucocoria en OD y clínicamente se demostró retinoblastoma.

OTROS HALLAZGOS

Boaniti-Pellie y col. (28) encontraron un aumento de frecuencia de malformaciones, especialmente paladar hendido, en asociación con retinoblastoma y sugirieron que se trataba más de la mutación germinal que de una mutación somática. Se ha propuesto (29) que el mismo segmento aislado de 13q14, que se atribuía al gene del retinoblastoma, era adicionalmente el blanco de una mutación somática en tumores mesenquimatosos entre los pacientes que aparentemente no tenían predisposición al retinoblastoma. El análisis de la secuencia de cadena aportó pocos conocimientos, casi dos tercios de los tumores secundarios que se originan en pacientes con retinoblastoma son de origen mesenquimatoso.

Más de 60% de los tumores mesenquimatosos son osteosarcomas. Los sarcomas de tejidos blandos son el fibrosarcoma, el leiomioma y el liposarcoma entre otros. Friend y col. (30-32) demostraron especialmente una delección homocigota del loci RB1 en casos esporádicos de leiomioma, histiocitoma fibroso maligno y sarcomas indiferenciados en ausencia de historia de retinoblastoma. Friend y col. (31) revisaron, en 1988, el tema de genes supresores tumorales en el retinoblastoma para la proteína RB1 en 16 de 54 astrocitomas de alto grado pero no en 12 gliomas de bajo grado. El mapeo de la delección con marcadores reveló que el locus del retinoblastoma era preferentemente el blanco de la delección. El análisis de SSCP y la directa secuenciación del DNA demostraron mutaciones en los alelos remanentes del retinoblastoma. Esta evidencia sugiere a los autores que mientras la mutación de p53 del gene supresor tumoral es un evento temprano en la formación de muchos astrocitomas, la mutación del gen del retinoblastoma está asociada con la progresión del astrocitoma de alto grado o glioblastoma multiforme. Trabajos previos han demostrado pérdida frecuente de 9p, 10, 13q, 17p, 19q y 22q en astrocitomas. Mutaciones del gene

¹ Del inglés *deletion* que significa pérdida, supresión parcial o total.

RB1 fueron descritas anteriormente. Cance y col. (33) encontraron que el leiomioma y otros sarcomas de tejidos blandos, en lo que la expresión de los productos del gene RB se disminuyeron, fueron más agresivos que los tumores en los que la proteína se expresaba cerca de las células. Gibson y col. (34) presentaron, en 1995, un paciente en quien un retinoblastoma unilateral esporádico ocurrió en una etapa temprana (4 meses) en presencia de anemia de Fanconi. En un segundo niño, encontraron retinoblastoma en asociación con el síndrome de Bloom, otro síndrome de rompimiento cromosómico. Fearon (35) revisó, en 1997, más de 20 síndromes de cánceres hereditarios que habían sido definidos y atribuidos a mutaciones específicas de las líneas germinales en genes de cánceres hereditarios, encontrando que cuatro fueron autosómicos dominantes.

El retinoblastoma fue una de las primeras neoplasias definidas a niveles moleculares. Kivela y col. (36) analizaron la asociación entre retinoblastoma y carcinoma sebáceo (CS) de los párpados, para mejorar el pronóstico de sobrevivientes a retinoblastoma. Estudiaron 11 niños con RB hereditario quienes subsecuentemente desarrollaron carcinomas sebáceos de los párpados, nueve de ellos en el campo de radiación. Estos últimos recibieron dosis media de 46 Gy (rango de 21 a 89) de radioterapia externa a una edad promedio de 16 meses (0.5 a 15 años). La edad promedio al diagnóstico del carcinoma sebáceo fue de 14 años (8 a 30 años) y el intervalo medio de las radiaciones externas al diagnóstico del CS fue de 11 años (5 a 26 años). Los dos niños que nunca recibieron radiaciones externas desarrollaron CS a la edad de 32 y 54 años. En esta serie, la probabilidad de sobrevida es de 5 años, y con la asociación de CS de los párpados en un 87%. Los autores concluyen que el CS de los párpados puede ocurrir en pacientes con RB hereditario independientemente del tratamiento primario, especialmente en el campo de la radioterapia externa, en un lapso de 5 a 15 años después de la radioterapia.

Esta condición no tiene relación con el comportamiento del carcinoma sebáceo del adulto y es independiente del oncogene del retinoblastoma (37, 38). Brantley y col. (39) examinaron la expresión del p53 y las vías de supresión tumorales del RB en melanomas uveales tratados con placas (implantes radioactivos) de radioterapia, encontrando que las placas de radioterapia dañaron el DNA, inhibieron la división celular y promovieron la muerte celular. Ellos establecieron que estos cambios pueden ser debidos, al menos en parte, por la inducción de p53, los cuales activan los genes involucrados en el arresto, el ciclo celular y la apoptosis. Sus resultados también mostraron que las placas de radioterapia pueden causar alteraciones en la expresión del RB, pero los autores notaron que el significado de los últimos hallazgos requiere de mayor estudio.

Shields (40) analizó el manejo de los pacientes y el pronóstico después de vitrectomía en ojos en los que no se había sospechado la presencia del retinoblastoma. El retinoblastoma puede presentarse con hallazgos atípicos como hemorragias en vítreo o vitreítis, particularmente en

niños mayores. La vitrectomía debe evitarse en los casos con posibilidades de retinoblastoma subyacente excluido clínicamente. Los autores concluyeron que la vitrectomía que había sido realizada en un ojo en el que no se sospechaba la existencia del retinoblastoma, deben realizarse sin retraso la enucleación combinada con la quimioterapia adyuvante, radioterapia o ambos, para prevenir la diseminación sistémica del tumor.

Honavar y col. (41) revisaron 45 pacientes consecutivos en quienes se realizó cirugía intraocular después del tratamiento del retinoblastoma: 34 (76%) tuvieron un procedimiento único (cirugía de catarata, procedimientos de plegamiento escleral o vitrectomía vía pars plana) y 11 (24%) tuvieron la combinación de dos o más procedimientos. Dieciséis pacientes (36%) tuvieron mejor función visual de 20/200 (ceguera legal). Los acontecimientos desfavorables incluyeron la recidiva del retinoblastoma en 14 pacientes (31%), enucleación en 16 (36%) y metástasis sistémicas en 3 (7%). Cinco pacientes (20%) en los que se practicó cirugía de catarata tuvieron efectos desfavorables; la cirugía fue plegamiento escleral y vitrectomía pars plana (75%) (9). El promedio entre el fin del tratamiento para el retinoblastoma y la cirugía intraocular fue de 26 meses en pacientes con acontecimientos favorables vs. 6 meses en los que se presentaron acontecimientos desfavorables. Los autores concluyeron que la cirugía de catarata era segura y efectiva en la mayoría de los casos. Sin embargo, tuvieron cuidado en la indentación escleral y la vitrectomía vía pars plana ya que pueden asociarse con un más alto riesgo de recurrencia del RB, enucleación o metástasis sistémicas.

Honavar y col. (42) revisaron sus experiencias con 80 casos consecutivos con retinoblastoma esporádico unilateral los cuales habían sido tratados con enucleación primaria y tuvieron características de alto riesgo para metástasis en la histopatología (siembras en cámara anterior, infiltración iridiana, infiltración del cuerpo ciliar, infiltración masiva coroidea, invasión al nervio óptico y lámina cribosa, invasión del nervio óptico retrolaminar, invasión del nervio óptico al plano de sección quirúrgica o extensión extraescleral). La única característica de alto riesgo estuvo presente en 62.5% de los casos, mientras que 37.5% tuvieron más de dos características de alto riesgo. Se administró terapia coadyuvante a la postenucleación (quimioterapia con o sin radioterapia externa) en 58% de los casos. Las metástasis ocurrieron en 13% de los pacientes con un promedio de 9 meses. Sólo 4% de los pacientes que recibieron terapia coadyuvante desarrollaron metástasis, mientras que 24% de los pacientes que no habían recibido terapia no cursaron con diseminación de la neoplasia. La estadística fue significativa.

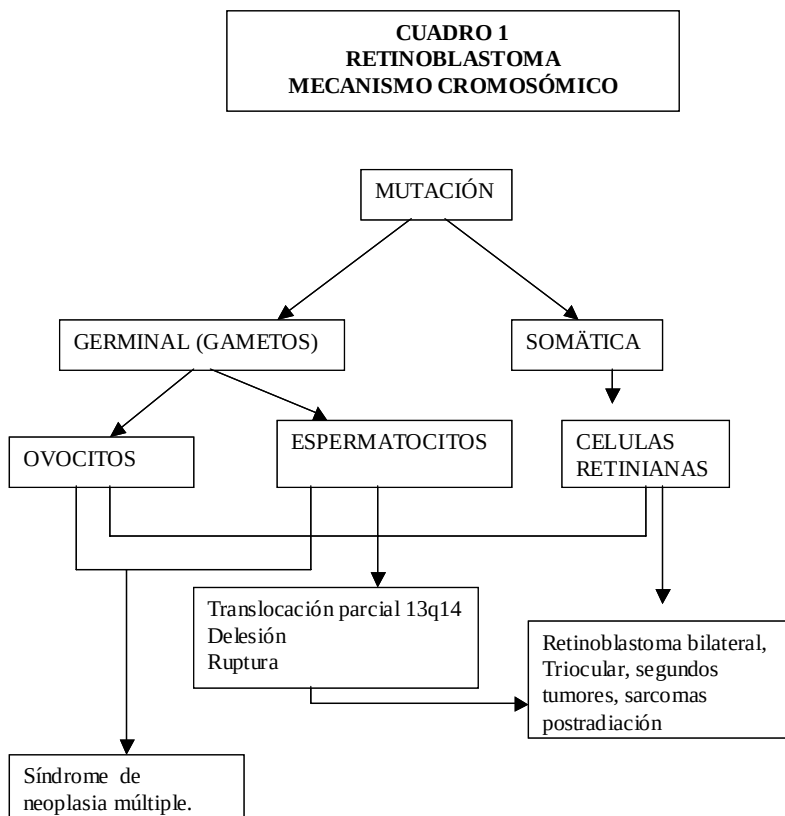
Los autores no refirieron complicaciones sistémicas serias a la terapia coadyuvante. Así, concluyeron que la terapia coadyuvante a la enucleación era segura y efectiva para reducir significativamente la ocurrencia de metástasis en pacientes con RB que manifestaron alto riesgo en las características histopatológicas.

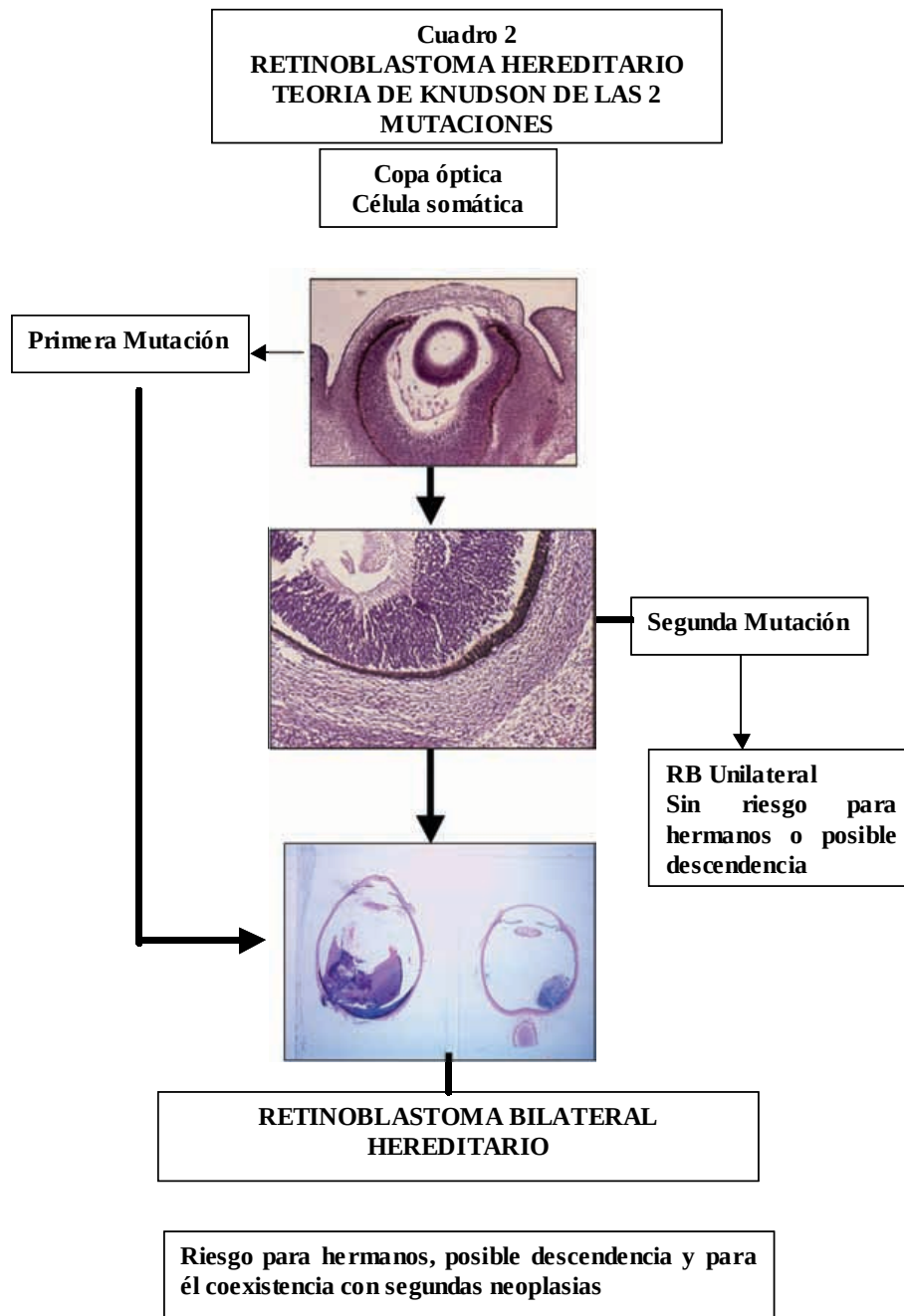
HERENCIA

La naturaleza genética del RB y su herencia dominante se reconoció en forma temprana por el pronto reconocimiento y tratamiento de los casos individuales que sobrevivieron (cuadro 1). La base genética de los tumores embrionarios (tumor de Wilms, neuroblastoma y meduloblastoma), fue tardíamente reconocida. Smith y Sorsby (43) concluyeron, en 1958, que los casos bilaterales de retinoblastoma son más a menudo de tipo familiar. En su opinión, estimaron que la mutación tuvo un grado de 2.3×10^{-5} propuesto por Falls y Neel (44) y considerado como demasiado alto. Los casos unilaterales pueden ser esporádicos y, por consiguiente, son de bajo riesgo (4%) para sus hermanos subsecuentes o su descendencia. Knudson⁴⁵ 1971, propuso que esto puede explicarse como un modelo de la segunda mutación (cuadro 2). Algunos casos son no hereditarios y son el resultado de la segunda mutación somática en una célula. Los casos restantes son hereditarios que ocurren en personas susceptibles por haber heredado los eventos mutacionales. Matsunaga (46) sugirió que la aparición sincrónica de retinoblastoma bilateral puede estar relacionada con el modelo de la segunda mutación, lo que permite asumir que los ojos portadores del gene adquieren tumores independientes. Los grados específicos de incidencia en 96 pacientes neozelandeses con retinoblastoma esporádico alcanzaron el índice más alto de presentación temprana en los casos bilaterales, comparado con la edad de los unilaterales. Fitzgerald y col. (47) encontraron que la sobrevida posterior al diagnóstico del RB unilateral y bilateral es diferen-

te. El grado de mutación de células germinales es de 9.3×10^{-6} a 10.9×10^{-6} . Es interesante señalar que el retinoblastoma que se comporta como dominante en el pedigrí, resulta de un gene que es expresado como homocigoto, esto es, recesivo. Ya que el retinoblastoma es el resultado de un estado homocigoto o hemicigoto del gene 13q14, quizás debería considerarse que la susceptibilidad es dominante. La experiencia total con el retinoblastoma ha sido de 5 a 10% de casos hereditarios, 20 a 30% han sido mutaciones germinales y 60 a 70% han sido esporádicos, es decir, producto de mutaciones somáticas.

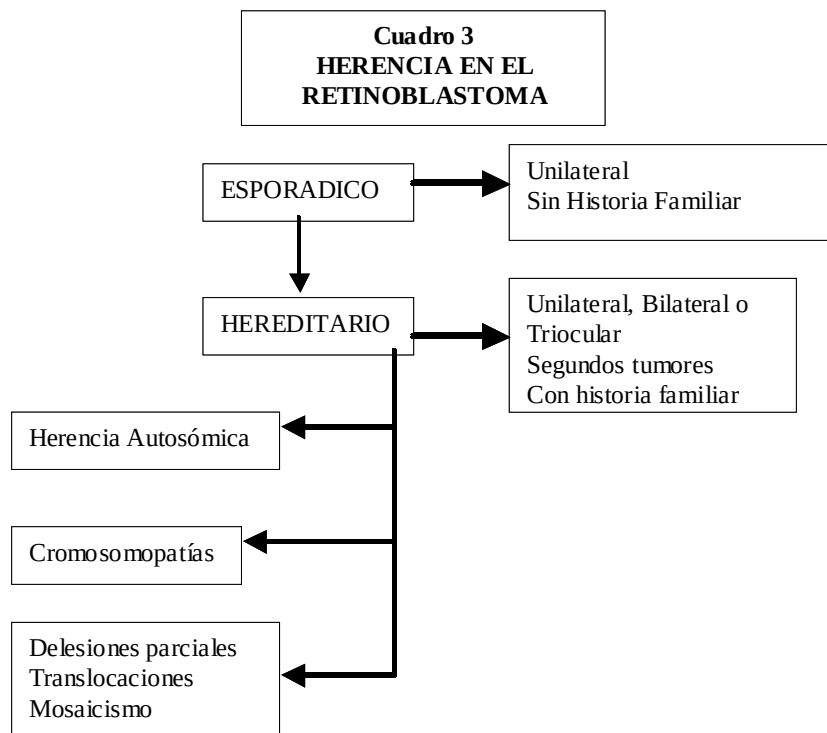
Dryja y col. (48) analizaron el origen paterno de las mutaciones en el locus del retinoblastoma usando el sistema de bandeo para los cromosomas 13q14. Diez mutaciones germinales derivaron del cromosoma del padre 13, mientras que 4 de 7 mutaciones somáticas ocurrieron en el alelo materno del retinoblastoma. Los autores sugieren que las nuevas mutaciones germinales del locus del retinoblastoma se originan más frecuentemente durante la espermatogénesis que en la ovogénesis, pero la huella genómica no tiene un papel importante en el desarrollo de las mutaciones somáticas que conducen a la neoplasia. Matsunaga y col. (49), en 1990, no encontraron efecto de la edad en 225 casos esporádicos de retinoblastoma bilateral y en 120 casos esporádicos de delección de cromosoma o translocación involucrando el 13q14, se identificó como de origen paterno. La exposición paterna a las radiaciones ionizantes o mutágenos químicos se acumula con la edad, pero parece no tener un papel importante en la producción de las mutaciones germinales en el locus RB 1. El análisis, al mes de





nacidos, de 753 niños con retinoblastoma esporádico unilateral no muestra desviación significativa de los controles o de la tendencia cíclica; el retinoblastoma no hereditario no parece estar asociado a la acción de virus cuya actividad varía marcadamente con las estaciones del año. DerKinderen y col. (50) encontraron que los padres de 50 años de edad o mayores tienen un riesgo relativo de 0.5 de tener un hijo con retinoblastoma hereditario esporádico, comparado con padres en la población en general, mientras que las madres de 35 años o mayores tienen un riesgo relativo de 1.7 comparado con las madres en general. El retinoblastoma esporádico fue definido como una ocurrencia sin historia familiar de la enfermedad. Estos casos fueron clasificados como retinoblastoma hereditario esporádico cuando los pacien-

tes fueron afectados en forma bilateral o cuando los pacientes fueron afectados en forma unilateral sin historia familiar y que posteriormente tuvieron el nacimiento de un niño con retinoblastoma; o como un retinoblastoma esporádico no hereditario cuando no hay historia familiar, sino únicamente retinoblastoma unilateral, o sin ocurrencia de un pariente en quien el retinoblastoma fue subsecuentemente diagnosticado. En conexión con el retinoblastoma, no hay un progenitor como origen del efecto en el trastorno hereditario que sugiera el rasgo, sin embargo, hay evidencia del rasgo con el osteosarcoma. En el cuadro 3 se resumen las características más importante en la herencia del retinoblastoma; es conveniente señalar que algunos casos unilaterales en las generaciones subsecuentes se comportan como un

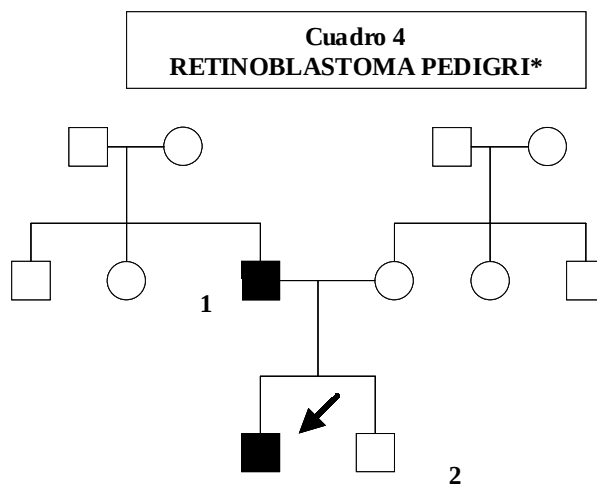


retinoblastoma hereditario, incluso bilateral, lo que sugiere que aun los casos esporádicos pueden corresponder a mutaciones somáticas que inician el rasgo a transmitir (cuadro 4). Las cromosomopatías, las lesiones, el mosaicismo y los isocromosomas obedecen, en su transmisión, a la relación con la segregación de los cromosomas en las células hijas, es decir, que si un alelo paterno está afectado, él es heterocigoto y la posibilidad de transmitirlo a la prole es de

50% sin importar el sexo. No obstante, esto no sucede en la herencia génica, lo que da base a una circunstancia que se denomina *penetrancia*.

PENETRANCIA

Es la manifestación fenotípica de un rasgo patológico que depende de su segregación, del azar y de las características



➤ Propositus. Curso con retinoblastoma bilateral en estadio IV con metástasis preauriculares y submandibulares e invasión masiva a órbita.

1 Padre sobreviviente a retinoblastoma uniocular, 35 años de edad.

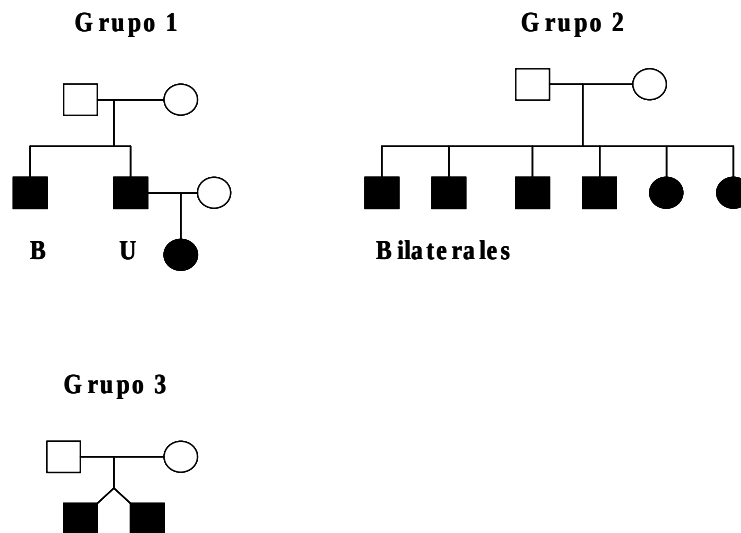
2 Segundo hijo sin lesión ocular ni alteraciones en el fondo de ojo.

* Caso visto en el Hospital 1° de Octubre, I.S.S.S.T.E. durante nuestra estancia.

propias del rasgo transmitido. Una penetrancia completa es aquella que, si el rasgo es dominante y el portador es heterocigoto, siempre se manifiesta, mientras que cuando es incompleta, la manifestación se atenúa en algunos heterocigotos. No obstante, cuando aparece homocigotismo (ambos padres afectados y transmisores del rasgo), el rasgo se agrava en sus manifestaciones y consecuentemente la enfermedad es más grave (homocigotismo letal). Macklin (51) demostró, en 1959, irregularidades en la herencia sugiriendo una penetrancia incompleta. En 10.5% de los casos, las personas afectadas fueron identificadas en líneas colaterales (cuadro 5). La penetrancia reducida fue sugerida en 1983 por Connolly y col. (52) quienes, en dos generaciones estudiadas de una familia, sugieren que la segregación depende de la resistencia del huésped al gene. Bunday y Morten (53) publicaron un patrón similar de diferencia intergeneracional en la penetrancia. En 1988, Huang y col. (54) demostraron la supresión de los fenotipos neoplásicos en células cultivadas de retinoblastoma y osteosarcoma, por la introducción de un gen de un retinoblastoma clonado por la transferencia del gen mediado por un retrovirus. Hay evidencia que la inactivación del gen endógeno de RB en estas células fue un paso crucial en la génesis tumoral. Scheffer y col. (55) identificaron, en 1989, la penetrancia del gene RB utilizando técnicas con marcadores en estudios familiares. En 1993, Dryja y col. (56) examinaron las bases moleculares de la penetrancia disminuida en algunas familias con retinoblastoma. En una familia, la delección germinal fue

compartida por los portadores obligados afectados y no afectados. La delección abarcaba un exón 4 del gene RB y correspondía a una proteína mutante sin residuos 127-166. En otro pedigrí, el fenómeno fue únicamente una aparente baja penetrancia por la apariencia de la penetrancia disminuida, sugerido por el hecho de la existencia de dos parientes distantes que habían desarrollado mutaciones. Munier y col. (57) publicaron dos familias con pseudo baja penetrancia dando como resultado que se agregaran en la familia dos casos esporádicos causados por mutaciones independientes. En 1995, Bia y Cowell (58) observaron que algunas familias mostraban evidencia de penetración incompleta, donde los individuos transmitían el gene mutante sin estar afectados por la neoplasia. La prueba formal de la penetrancia incompleta requiere identificación de la mutación predisponente. Ellos reportaron una familia extraordinaria en las que las diferentes mutaciones fueron identificadas en el primer sobrino con enfermedad bilateral. Un sobrino era portador de transición de C-a-T. En el exón 8, el cual cambió de CGA a TGA en el codón 123, al final esta mutación también estuvo presente en la madre afectada. El otro sobrino era portador de la delección 8-bp en el exón 20. La importancia de la penetrancia incompleta repercute en la expresividad como sería la expresión tardía de la neoplasia, la unilateralidad y la presencia de portadores sanos. Utilizando la técnica de PCR se han identificado dos productos de cADN del gene RB 1, que corresponden a un producto de una forma silvestre y un mutante cADN deficiente en el exón 21. Esta alte-

Cuadro 5
RETINOBLASTOMA
HEREDITARIO. PENETRANCIA



B= Retinoblastoma bilateral

U=Retinoblastoma unilateral

M=Microftalmía (La madre se negó a la exploración)

ración no cambia la expresión del código de los aminoácidos GAG y GAA, no obstante sí reduce severamente la fisión del mRNA mutante (59). En la actualidad, numerosas publicaciones están apareciendo sobre los cambios moleculares en la penetrancia incompleta de esta neoplasia, sus modificaciones en la secuencia de aminoácidos y en la separación de las moléculas de ADN para la transcripción del ARN, pero en este momento estos hallazgos tienen poca aplicación clínica en oftalmología. No obstante, sí tienen aplicación los cambios citogenéticos y el empleo de marcadores para el pronóstico y futuro tratamiento de esta neoplasia.

CITOGÉNICA

El retinoblastoma fue la primera neoplasia sólida en la que se describió la delección de un cromosoma del grupo D (60, 61). En 12 casos publicados con delección de un brazo largo de un cromosoma del grupo D, 7 fueron afectados por retinoblastoma, 3 de los cuales fueron bilaterales (62, 63). La evidencia citogenética sugiere que un locus para el retinoblastoma se encuentra en el brazo largo del cromosoma 13. En otros pacientes publicados por Oyre (64) y en los de Wilson (65) se encontró un cariotipo 14q, sin hallazgos clínicos del tipo usualmente asociado con 13q. Oyre y col. (64) encontraron delección de la porción distal del brazo largo del cromosoma 13 en un caso de retinoblastoma bilateral. Grace y col. (66) describieron un paciente con síndrome de retinoblastoma típico 13q, con cariotipo con cromosoma en anillo del grupo D. Cuando Wilson y col. (65) volvieron a estudiar su caso de retinoblastoma bilateral con nuevas técnicas de bandedo, concluyeron que, como otros casos con delección de cromosomas D, se trataba de cromosomas 13q. Por lo anterior sugirieron que la delección 13q21 es la responsable del retinoblastoma (67). Con las técnicas de bandedo, el cromosoma involucrado se identificó como 13 y el segmento crítico común para todos era la delección como banda 13q14 (68). También Ricardi y col. (69) encontraron delección del 13q22 al revisar los casos publicados de retinoblastoma con anormalidades del cromosoma 13. En ese mismo año Davidson y col. (70) encontraron una translocación recíproca de los cromosomas del 1 al 13. El punto de ruptura del cromosoma 13 fue en la banda q12, sugiriendo que el locus del retinoblastoma está más próximo. Sparkes y col. (71, 72) encontraron que el retinoblastoma y la esterasa D (ESD) se encuentran en la misma banda 13q14. Observaron, además, la expresión cuantitativa y cualitativa de la esterasa D en 5 pacientes con delección parcial o duplicación de cromosoma 13, lo que apoya la localización del gene 12q14, como se ha demostrado en el retinoblastoma. Lo anterior sugiere que en el mismo locus se encuentra el gen del retinoblastoma familiar y de la D esterasa. Rivera y col. (73) concluyen que el retinoblastoma y el locus de la D esterasa están en la mitad proximal de la banda 13q14. Benedict y col. (74) estudiaron un paciente con actividad de D esterasa del 50% de las cifras normales, pero no se encontró delección del

13q14 a nivel de 550 bandas, no obstante, encontraron en dos líneas de retinoblastoma en este paciente pérdida del cromosoma 13 y ausencia total de D esterasa. También se ha publicado translocación 13q;Xp y retinoblastoma. La banda 13q14 estuvo translocada en forma íntegra al cromosoma X resultando en una monosomía de la banda 13q14, condición que puede demostrarse en todas las células somáticas (75). También se ha encontrado mosaicismo para la línea celular 13q- con cariotipo anormal (76); tres pacientes tuvieron retinoblastoma bilateral esporádico y dos pacientes tuvieron mosaicismo con cariotipo aparentemente normal pero cursaban con retinoblastoma.

Existe mucho camino por recorrer en cuanto a la citogenética del retinoblastoma, en especial en relación con los genes provenientes del padre (77), su demostración en la línea de células germinales y en sus relaciones con el tumor de Wilms (78) para lo cual, además de las técnicas convencionales de bandedo, se están realizando estudios con microscopía electrónica de barrido y espolvoreado con oro (79).

Resumiendo:

1. El retinoblastoma esporádico (bilateral o unilateral) puede ser el comienzo de una familia portadora del gene afectado.
2. Se transmite como herencia autosómica dominante de penetración variable.
3. Los genes afectados están en el locus 13q 14, es decir, que están en la banda gruesa del Giemsa del brazo largo del cromosoma 13 del grupo D, en la región q, en la banda 1 y sub-banda 4 (cuadro 6).
4. En los casos de translocaciones, ésta puede ser al cromosoma X, aunque cabe la posibilidad de llevarse a cabo en otros cromosomas.
5. Pueden originarse por medio de la translocación monosomías o trisomías.
6. El mosaicismo puede presentarse con cariotipos aparentemente normales.
7. Su relación con el gene de la D esterasa puede tener significado clínico en un futuro. Condición que hace imperante el estudio citogenético y el pedigrí de la familia.

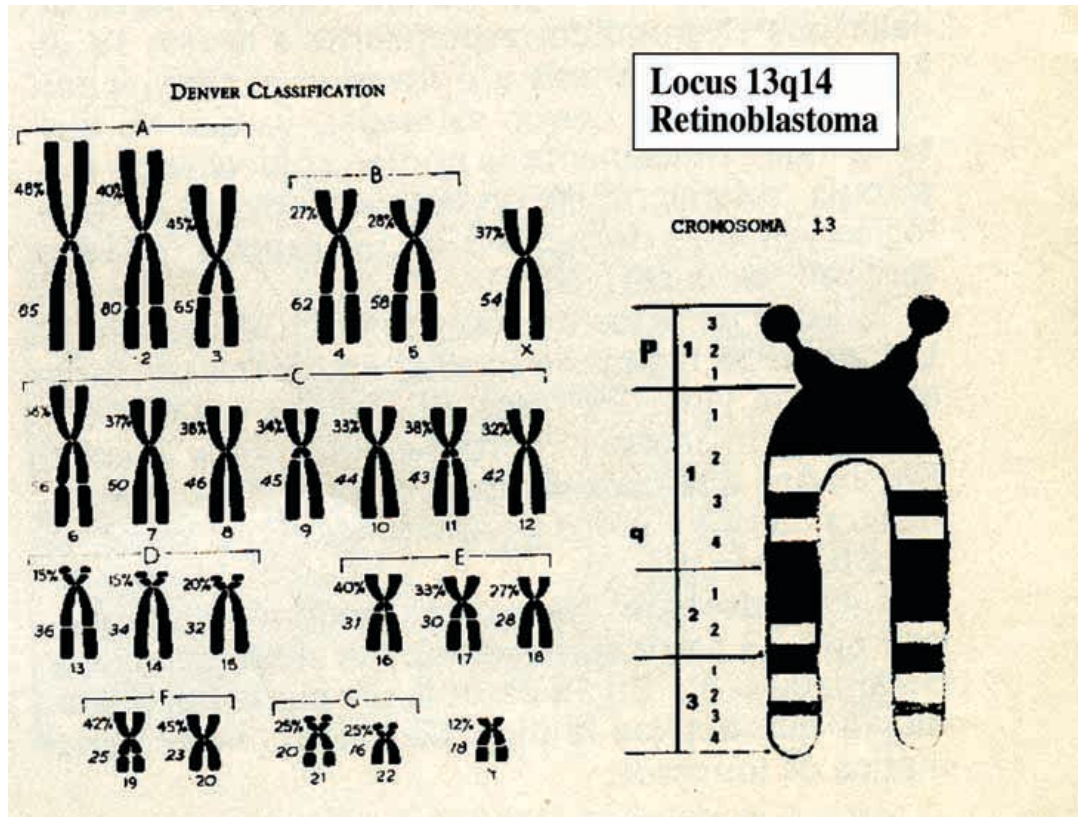
Antes de abordar el capítulo referente a la patogenicidad y los oncogenes, es indispensable analizar en forma muy breve los avances que se han logrado en cuanto a la acción de los genes.

FUNCIÓN DE LOS GENES EN EL RETINOBLASTOMA

En 1997 Fearon (80) propuso una representación esquemática de la posible localización y función de las proteínas codificadas en los genes del cáncer, no obstante que es una concepción hipotética, sirve de base para entender que los mecanismos de codificación del ADN son más complejos de lo que podemos sospechar. A continuación enunciaremos aquellas condiciones que han sido comprobadas y aceptadas:

1. Existe la proteína RB y se demuestra por medio de anticuerpos específicos en las líneas de células que expresan normalmente el mRNA-retinoblastoma (81). La proteí-

Cuadro 6 RETINOBLASTOMA CITOGENETICA



na RB puede ser marcada con P32-ácido fosfórico, indicando que es una fosfoproteína que se localiza fundamentalmente en el núcleo (82) y puede encontrarse en otros tumores como el neuroblastoma y meduloblastoma (81). Las células del retinoblastoma carecen de receptores TGF-beta¹, como lo ha demostrado Kimichi y col. (82). Cuando estas células se hacen crecer *in vitro*, los genes de los fotorreceptores se hacen muy evidentes (83), especialmente del tipo de la subunidad transducina alfa que es específica de los conos. Tiene muy alto significado, en especial para los segundos tumores en el retinoblastoma, el hecho demostrado por Weischelbaum y col. (84) que en los sarcomas de tejidos blandos y en el osteosarcoma hay inactivación del efecto regulador transcripcional o post transcripcional del gene RB, pero, además, las líneas celulares tumorales no demuestran niveles importantes de RB mRNA, mientras que las células epiteliales normales y las de tumores epiteliales sí lo hacen (85). Se ha demostrado que los productos del gene RB 1 tienen las propiedades regulatorias del ciclo

celular y su función es modulada por los mecanismos de fosforilación y desfosforilación durante la proliferación celular y diferenciación (86-88).

ONCOGENES EN EL RETINOBLASTOMA

En relación con los aspectos hereditarios y la génesis del cáncer se encuentran los oncogenes. No obstante que la activación de los proto-oncogenes puede llevarse a cabo por diferentes mecanismos moleculares, debe señalarse que la instalación del cáncer puede ser controlada genéticamente en un alto nivel. Los genes supresores de tumores existen en el genoma humano y éstos previenen el origen del cáncer aun cuando otros mecanismos moleculares se activen. El gene RB suprime el desarrollo del cáncer como un fenotipo dominante, mientras que el gen mutado determina la aparición de la neoplasia. El gene RB interactúa con una proteína denominada E2F, el factor de transcripción nuclear involucrado en las funciones de la replicación celular durante la fase S del ciclo celular. Interactuando con el factor E2F se previene esta función. El producto del gene RB se activa cuando no es fosforilado por una quinasa. No puede

¹Los receptores TGF-beta inhiben la división celular, cuando están ausentes las células no se frenan en su división, explicando el crecimiento de los tumores.

actuar con el E2F cuando se fosforila. El producto del gen RB mutante siempre está fosforilado y no puede regular el E2F, ni controlar la división celular en la fase S por lo que la célula normal se vuelve cancerosa. El p53, localizado en el cromosoma 17, es otro gen supresor tumoral. El gene RB es un gen supresor y fue el primero en ser descrito. Los oncogenes actúan como “aceleradores” sobre el crecimiento y la división celular. Como lo demostraron Hsieh y col. (89), el gen RB es capaz de enlazarse al MDM2 y, de esta forma, actuar como un factor anti-apoptótico, el cual depende de la proteína p53. Por supuesto para que se lleve a cabo la replicación celular es indispensable que exista replicación del ADN; si ésta no existe no se puede iniciar la división celular. El factor C (RFC) juega un papel importante en la replicación del ácido nucleico (90); la fracción larga (RFC 1) promueve la supervivencia celular aun cuando se haya llevado a cabo daño del ADN (91). También se ha encontrado un factor represor en la asociación de RB con el grupo Polycomb (PcG) que bloquea el inicio de la mitosis. García-Cao y col. (92) encontraron conexión del grupo de proteínas (RB1, RBL1, RBL2) y los mecanismos que regulan la longitud del telómero, en pacientes afectados por retinoblastoma que no está en relación con la telomerasa.

Los proto-oncogenes relacionados con el retinoblastoma deben corresponder a los tipo c-proto-oncogenes, es decir, que dependen de cambios celulares, pues hasta el momento no pueden relacionarse directamente con retrovirus para ser catalogados como v-proto-oncogenes, no obstante haber mencionado en años anteriores la posible relación del retinoblastoma con los virus, en especial los adenovirus (93), como productores de retinoblastoma, meduloblastoma y neuroblastoma en animales experimentales o por medio de la actividad enzimática de la ARN-ADN polimerasa (94). Los proto-oncógenos son activados por medio de los mecanismos determinados genéticamente ya mencionados, pero un hecho sobresaliente es la relación de estos proto-oncogenes que determinan la asociación con segundas neoplasias en los sobrevivientes al retinoblastoma y, en especial, con los tumores germinales (pinealomas) que forman parte del retinoblastoma triocular y el más inexplicable de los hallazgos en la diferenciación a fotorreceptores y que hemos analizado en otra publicación (95).

La expresión del gen RB1CC1 en dos líneas celulares de leucemia producen incremento en la expresión del RB1, como lo han mencionado Chano y col. (96), quienes señalan que la incidencia del osteosarcoma se encuentra notablemente aumentada en los pacientes que heredaron la mutación del gene RB. ¿Por qué? Es difícil de precisar, aunque Thomas (97) ha demostrado que la pérdida del gene RB, pero no la de p107 o p130, bloquean la diferenciación de los osteoblastos. Los RB interactúan con el factor de diferenciación de los osteoblastos (CBFA1). La asociación de RB con CBFA1 promueve la secuencia resultante en la función de transactivación de los supresores tumorales. De esto derivan dos conceptos: 1. Los genes del retinoblastoma determinan la supresión del sistema de proteínas supresoras o represoras de los mecanismos reguladores de la prolifera-

ción y maduración celular, teniendo como consecuencia la proliferación celular y formación de neoplasia. 2. Los genes RB se encuentran en todas las células somáticas y pueden expresarse ocasionando otros tumores, por ejemplo, los fibroblastos y osteoblastos suprimen los mencionados mecanismos y se producen neoplasias de comportamiento malignos como son los osteosarcomas, los fibrosarcomas, etc., que pueden dispararse por las radiaciones como factores coadyuvantes o bien en forma espontánea. 3. La asociación con otras neoplasias cada día se está documentando en forma más compleja, esto depende de los c-proto-oncogenes o la desactivación de los anti-oncogenes.

Por ello, es indispensable, en forma muy breve, señalar los aspectos más relevantes en la manifestación del gene y su repercusión que debe tener en el consejo genético.

Es un hecho incontrovertible que el gene del retinoblastoma se encuentra en los autosomas, no obstante, algunos autores (98) han sugerido que en algunos casos de retinoblastoma esporádico y familiar puede haber un gen ligado al cromosoma X, que parece estar relacionado con los casos bilaterales nuevos de la enfermedad lo cual, asociado a la mayor distorsión de la enfermedad esporádica en los varones y en sus descendientes varones, puede sugerir la existencia de un defecto impreso en el cromosoma X. Lo anterior puede extrapolarse a otras neoplasias de la infancia, como el tumor de Wilms y el rhabdomyosarcoma embrionario, en los que se han encontrado pérdida de los genes supresores (11p) en los loci maternos, como sucede en los casos esporádicos del osteosarcoma y el retinoblastoma bilateral, cuyos loci se encuentran en el cromosoma 13q. Estas observaciones pueden explicarse con base en una mutación de las líneas celulares germinales del padre. Los isocromosomas 6p y el mosaicismo tienen un índice de presentación relativamente alto. Sippel y col., en un estudio de 156 familias con retinoblastoma, encontraron que 10% presentó mosaicismo para la mutación inicial del retinoblastoma, por lo que siempre se debe tener en cuenta para el consejo genético. Sakai y col. (99) encontraron una línea de mutación germinal en dos familias estudiadas, con penetrancia incompleta y que parece afectar las regiones promotoras de los alelos para el RB (100).

La frecuencia del retinoblastoma en los Estados Unidos de Norteamérica para los años 60 se consideró que era de 1 en 23 000 nacimientos (101), aunque en los últimos años ha aumentado a 1 en 14 000 nacimientos. La edad más afectada en los EU es entre los 2 y 3 años y la mortalidad es mayor en niños afroamericanos que en anglosajones (102). Nuestra experiencia es similar, únicamente que en una serie publicada anteriormente (1, 2) la mayor incidencia se encuentra en los primeros 5 años, representando 77.46% de nuestra serie. El hecho de encontrarse mayor índice de mortalidad debe explicarse por el estado socioeconómico y el retraso en el diagnóstico; en nuestro país los pacientes acuden en estadios avanzados (fase II y III de Knapp, 76.00%). Pendergrass y col. (103) señalan una incidencia de 3.58 casos entre un millón de niños en edades inferiores a los 15 años; más de 90% fueron diagnosticados antes de los 5 años de edad y no

encontraron diferencias raciales, la bilateralidad ocurrió en 20% de los casos. Los retinoblastomas no hereditarios representaron el 55-65% de todos los retinoblastomas. Basados en los aspectos clínicos analizados anteriormente (1), el signo más importante y al que debe prestarse atención inmediata es la leucocoria. Debido a que este reflejo blanquecino puede ser dado por numerosos padecimientos intraoculares, no debe omitirse el empleo de métodos de laboratorio y gabinete como son la resonancia nuclear magnética (es preferible al TAC, ya que en ocasiones ha dado origen a accidentes mortales por la reacción al Iodo), el ultrasonido y la gammagrafía. Existen cambios bioquímicos que ya mencionamos y otros muy antiguos que fueron motivo de otra publicación (4), como son la cuantificación de la deshidrogenasa láctica, el demosterol, etc. Sparkes y col. (104, 105) sugirieron, basados en la relación del retinoblastoma con la esterasa D, que la determinación de ésta puede ser un auxiliar diagnóstico, además de su utilidad para el pronóstico y el consejo genético, señalando que debería integrarse a la batería del diagnóstico prenatal. Existen casos en los que la punción de la cámara anterior en el quirófano podría aclarar el diagnóstico, especialmente en los retinoblastomas periféricos (6). El empleo de técnicas histoinmunoquímicas en las células obtenidas en el frotis e incubadas con la PAP-antiproteína ácida gliofibrilar puede ser útil. Una vez ratificado el diagnóstico, debe realizarse el estudio citogenético en el probando y, comprobada su naturaleza hereditaria, realizarlo en los hermanos que estén en la edad de alto riesgo (primeros 5 años) y, por supuesto, realizar los estudios en los padres para poder establecer un consejo genético adecuado. El pedigree siempre deberá realizarse en las familias afectadas por el retinoblastoma y, aun en los casos que aparentemente sean esporádicos, siempre deberá pensarse en la posibilidad que sea el inicio del rasgo hereditario. Afortunadamente las técnicas de bandeo modernas permiten una mejor interpretación de los cariotipos. Parece ser que no es muy distante la posibilidad de la genoterapia que se está iniciando en otros padecimientos génicos. No podemos aceptar los ensayos de padres que, no obstante haber tenido varios casos de retinoblastoma en la familia, intenten tener un hijo sano y sigan ensayando. Conocemos una familia que a pesar de ser el padre un ingeniero químico superviviente a un retinoblastoma uniocular, engendró un hijo con retinoblastoma bilateral que acudió al hospital en la fase IV de Knapp con metástasis periorbitarias, ganglionares, en médula ósea e hígado al cual, en forma paliativa, se exenteraron las dos órbitas y se sometió a quimioterapia y radioterapia, falleciendo una semana después de ingresar al hospital. El padre engendró tres hijos, de los cuales uno desarrolló cambios en el fondo de ojo sugestivo de degeneración en encaje relacionada con el síndrome y otro hijo con retinoblastoma uniocular de 4 diámetros papilares y sometido a fotocoagulación. Los pacientes también deben ser muy conscientes que, al ser sobrevivientes de un retinoblastoma binocular hereditario, se enfrentan ante la amenaza de la asociación con otras neoplasias malignas.

REFERENCIAS

1. González-Almaraz G, Pineda-Cárdenas MaAA. Retinoblastoma: Histopatología y su correlación clínica. *Rev Med Hosp Gral Mex* 1983; 46:10-24.
2. González-Almaraz G, De Buen S. Retinoblastoma. Algunas consideraciones clínico-patológicas. *Trib Med* 1975; 28(337): A3-A8.
3. González-Almaraz G. Consideraciones anatomopatológicas de la cirugía en el retinoblastoma. *An Soc Mex Oftal* 1976; 51:13-23.
4. Pineda-Cárdenas MaAA, González-Almaraz G. Aspectos metabólicos y bioquímicos del retinoblastoma. *Rev Med Hosp Gral* 1982; 45:50-54.
5. González-Almaraz G, Pineda-Cárdenas MaAA. Invasión al sistema nervioso central por el retinoblastoma. *Bol Hosp Oftal Nta Sra Luz* 1989; 41(143): 41-47.
6. González-Almaraz G, Pineda-Cárdenas MaAA, Rabinovitz KE. Retinoblastoma periférico (infiltrante difuso). Presentación de un caso. *Rev Mex Oftalmol* 1988; 62(1):1-6.
7. González-Almaraz G. Retinoblastoma: Invasión al Sistema Nervioso Central. Presentación de un caso. *Rev Inst Nac Oftalmol* 1988; 9(2):56-59.
8. Berkeley JS, Kalita BC. Retinoblastoma in an adult. *Lancet* 1977; 3:508-509.
9. Shields JA, Michelson JB, Leonard BC, Thompson R. Retinoblastoma in an Eighteen-years-old male. *J Ped Ophthal* 1975; 274-277.
10. Connolly MJ, Payne RH, Johnson G y cols. Familial, EsD-linked, retinoblastoma with reduced penetrance and variable expressivity. *Hum Genet* 1983; 65:122-124.
11. Duane TB. *Clinical Ophthalmology*. Hagerstown: Harper and Row; 1980.
12. Gallie BL, Phillips RA. Multiple manifestations of the retinoblastoma gene. *Birth Defects Orig Art Ser* 1982; 18(6):689-701.
13. Gallie BL, Ellsworth RM, Abramson DM, Phillips RA. Retinoma: spontaneous regression of retinoblastoma or benign manifestation of the mutation? *Brit J Cancer* 1982; 45: 513-521.
14. Brownstein S, de Chadarevian JP, Little JM. Trilateral retinoblastoma: report of two cases. *Arch Ophthal* 1984; 102:257-262.
15. Lueder GT, Judisch GF, Wen BC. Heritable retinoblastoma and pinealoma. *Arch Ophthal* 1991; 109:1707-1709.
16. Amoaku WMK, Willshaw HE, Parkes SE, Shah KJ, Mann JR. Trilateral retinoblastoma: a report of five patients. *Cancer* 196; 78:858-863.
17. Kivela T. Trilateral retinoblastoma: a meta-analysis of hereditary retinoblastoma associated with primary ectopic intracranial retinoblastoma. *J Clin Oncol* 1999; 17:1829-1837.
18. Antillón F, Esponda JC. Sarcomas por irradiación de retinoblastomas. *An Soc Mex Oftal* 1977; 51:67-74.
19. Moll AC, Imhof SM, Schouten-Van Meeteren AYN y cols. Second primary tumors in hereditary retinoblastoma: a register-based study, 1945-1997. Is there an age effect on radiation-related risk? *Ophthalmology* 2001; 108:1109-1114.
20. Abramson DH, Ellsworth RM, Zimmerman LE. Monocular cancer in retinoblastoma survivors. *Trans Am Acad Ophthal Otolaryng* 1976; 81:454-457.
21. Francois J. Retinoblastoma and osteogenic sarcoma. *Ophthalmologica* 1977; 175:185-191.
22. Matsunaga E. Hereditary retinoblastoma: delayed mutation or

- host resistance? *Am J Hum Genet* 1978; 30:406-425.
23. Chauveinc L, Mosseri V, Quintana E y cols. Osteosarcoma following retinoblastoma: age at onset and latency period. *Ophthalmic Genet* 2001; 22:77-88.
24. Motegi T, Komatsu M, Minoda K. Is the interstitial deletion of 13q in retinoblastoma patients not transmissible? (Letter). *Hum Genet* 1983; 64:205.
25. Motegi T, Kaga M, Yanagawa Y y cols. A recognizable pattern of the midface of retinoblastoma patients with interstitial deletion of 13q. *Hum Genet* 1983; 64:160-162.
26. Fukushima Y, Kuroki Y, Ito T, Kondo I, Nishigaki I. Familial retinoblastoma (mother and son) with 13q14 deletion. *Hum Genet* 1987; 77:104-107.
27. Laquis SJ, Rodriguez-Galindo C, Wilson MW y cols. Retinoblastoma in a patient with an X;13 translocation and facial abnormalities consistent with 13q-syndrome. *Am J Ophthal* 2002; 133:285-287.
28. Bonaiti-Pellie C, Briard-Guillemot ML, Feingold J, Frezal J. Associated congenital malformations in retinoblastoma. *Clin Genet* 1975; 7:37-39.
29. Ejima Y, Sasaki MS, Kaneko A y cols. Possible inactivation of part of chromosome 13 due to 13qXp translocation associated with retinoblastoma. *Clin Genet* 1982; 21:357-361.
30. Friend SH, Bernards R, Rogelj S y cols. A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma. *Nature* 1986; 323:643-646.
31. Friend SH, Dryja TP, Weinberg RA. Oncogenes and tumor-suppressing genes. *New Eng J Med* 1988; 318:618-622.
32. Friend SH, Horowitz JM, Gerber MR y cols. Deletions of a DNA sequence in retinoblastomas and mesenchymal tumors: organization of the sequence and its encoded protein. *Proc Nat Acad Sci.* 1988; 85:2234.
33. Cance WG, Brennan MF, Dudas ME y cols. Altered expression of the retinoblastoma gene product in human sarcomas. *New Eng J Med* 1990; 323:1457-1462.
34. Gibbons B, Scott D, Hungerford JL, Cheung KL y cols. Retinoblastoma in association with the chromosome breakage syndromes Fanconi's anaemia and Bloom's syndrome: clinical and cytogenetic findings. *Clin Genet* 1995; 47:311-317.
35. Fearon ER. Human cancer syndromes: clues to the origin and nature of cancer. *Science* 1997; 278:1043-1050.
36. Kivela T, Asko-Seljavaara S, Pihkala U, Hovi L, Heikkonen J. Sebaceous carcinoma of the eyelid associated with retinoblastoma. *Ophthalmology* 2001; 108:1124-1128.
37. González-Almaraz G, Pineda-Cárdenas Ma.A.A. Carcinoma sebáceo de los párpados (Carcinoma de Glándula de Meibomio) Correlación clínico-patológica. *Rev Mex Oftalmol* 1998; 72(4):157-173.
38. González-Almaraz G, Pineda-Cárdenas Ma.A.A. Carcinoma sebáceo. *Rev Cent Dermatol Pascua* 1999; 8 (2):76-85.
39. Brantley MA, Worley L, Harbour JW. Altered expression of Rb and p53 in uveal melanomas following plaque radiotherapy. *Am J Ophthal* 2002; 133:242-248.
40. Shields CL, Honavar S, Shields JA, Demirci H, Meadows AT. Vitrectomy in eyes with unsuspected retinoblastoma. *Ophthalmology* 2000; 107:2250-2255.
41. Honavar SG, Shields CL, Shields JA, Demirci H, Naduvilath TJ. Intraocular surgery after treatment of retinoblastoma. *Arch Ophthal* 2001; 119:1613-1621.
42. Honavar SG, Singh AD, Shields CL y cols. Postenucleation adjuvant therapy in high-risk retinoblastoma. *Arch Ophthal* 2002; 120:923-931.
43. Smith SM, Sorsby A. Retinoblastoma: some genetic aspects. *Ann Hum Genet* 1958; 23: 50-58.
44. Falls HF, Neel JV. Genetics of retinoblastoma. *Arch Ophthal* 1951; 46:367-389.
45. Knudson AG. Hereditary cancer, oncogenes and anti-oncogenes. *Cancer Res* 1985; 45:1437-1443.
46. Matsunaga E. Almost synchronous appearance of bilateral retinoblastomas. (Letter) *Am J Med Genet* 1982; 11:485-487.
47. Fitzgerald PH, Stewart J, Suckling RD. Retinoblastoma mutation rate in New Zealand and support for the two-hit model. *Hum Genet* 1983; 64:128-130.
48. Dryja TP, Mukai S, Rapaport JM, Yandell DW. Parental origin of mutations of the retinoblastoma gene. (Abstract) *Am J Hum Genet* 1989; 45 (suppl.): A19.
49. Matsunaga E, Minoda K, Sasaki MS. Parental age and seasonal variation in the births of children with sporadic retinoblastoma: a mutation-epidemiologic study. *Hum Genet* 1990; 84:155-158.
50. DerKinderen DJ, Koten JW, Tan KEWP y cols. Parental age in sporadic hereditary retinoblastoma. *Am J Ophthal* 1990; 110:605-609.
51. Macklin MT. Inheritance of retinoblastoma in Ohio. *Arch Ophthal* 1959; 62:842-851.
52. Connolly MJ, Payne RH, Johnson G y cols. Familial, EsD-linked, retinoblastoma with reduced penetrance and variable expressivity. *Hum Genet* 1983; 65:122-124.
53. Bunday S, Morten JEN. An unusual pedigree with retinoblastoma. Does it shed light on the delayed mutation and host resistance theories? *Hum Genet* 1981; 59:434-436.
54. Huang HJS, Yee JK, Shew JY y cols. Suppression of the neoplastic phenotype by replacement of the RB gene in human cancer cells. *Science* 1988; 242:1563-1566.
55. Scheffer H, Meerman GJ, Kruijze YCM y cols. Linkage analysis of families with hereditary retinoblastoma: nonpenetrance of mutation, revealed by combined use of markers within and flanking the RB1 gene. *Am J Hum Genet* 1989; 45:252-260.
56. Dryja TP, Cavenee W, White R y cols. Homozygosity of chromosome 13 in retinoblastoma. *New Eng J Med* 1984; 310:550-553.
57. Munier FL, Wang MX, Spence MA y cols. Pseudo low penetrance in retinoblastoma: fortuitous familial aggregation of sporadic cases caused by independently derived mutations in two large pedigrees. *Arch Ophthal* 1993; 111:1507-1511.
58. Bia B, Cowell JK. Independent constitutional germline mutations occurring in the RB1 gene in cousins with bilateral retinoblastoma. *Oncogene* 1995; 11:977-979.
59. Schubert EL, Strong LC, Hansen MF. A splicing mutation in RB1 in low penetrance retinoblastoma. *Hum Genet* 1997; 100:557-563.
60. Stallard HB. The conservation treatment of retinoblastoma. *Trans Ophthal* 1962; 82:473.
61. Taylor AI. Dq-, Dr and retinoblastoma. *Humangenetik* 1970; 10:209-217.
62. Lele KP, Penrose LS, Stallard HB. Chromosome deletion in a case of retinoblastoma. *Ann Hum Genet* 1963; 27:171-174.
63. Gey W. Dq-, multiple Missbildungen und Retinoblastom. *Humangenetik* 1970; 10:362-365.
64. Orye E, Delbeke MJ, Vandenabeele B. Retinoblastoma and D-chromosome deletions. (Letter) *Lancet* 1971; II:1376.
65. Wilson MG, Townner JW, Fujimoto A. Retinoblastoma and D-chromosome deletions. *Am J Hum Genet* 1973; 25:57-61.
66. Grace E, Drennan J, Colver D, Gordon RR. The 13q deletion syndrome. *J Med Genet* 1971; 8:351-357.

67. Orye E, Delbeke MJ, Vandenabeele B. Retinoblastoma and long arm deletion of chromosome 13. Attempts to define the deleted segment. *Clin Genet* 1974; 5:457-464.
68. Francke U. Retinoblastoma and chromosome 13. *Cytogenet Cell Genet* 1976; 14:131-34.
69. Riccardi VM, Hittner HM, Francke U y cols. Partial triplication and deletion of 13q: study of a family presenting with bilateral retinoblastomas. *Clin Genet* 1979; 15:332-345.
70. Davison EV, Gibbons B, Aherne GES, Roberts DF. Chromosomes in retinoblastoma patients. *Clin Genet* 1979; 15:505-508.
71. Sparkes RS, Sparkes MC, Wilson MG y cols. Regional assignment of genes for human esterase D and retinoblastoma to chromosome band 13q14. (Abstract). *Cytogenet Cell Genet* 1979; 25:209.
72. Sparkes RS, Sparkes MC, Wilson MG y cols. Regional assignment of genes for human esterase D and retinoblastoma to chromosome band 13q14. *Science* 1980; 208:1042-1044.
73. Rivera H, Turleau C, de Grouchy J y cols. Retinoblastoma-del (13q14): report of two patients, one with a trisomic sib due to maternal insertion; gene-dosage effect for esterase D. *Hum Genet* 1981; 59:211-214.
74. Benedict WF, Murphree AL, Banerjee A y cols. Patient with 13 chromosome deletion: evidence that the retinoblastoma gene is a recessive cancer gene. *Science* 1983; 219:973-975.
75. Balaban-Malenbaum G, Gilbert F, Nichols WW y cols. A deleted chromosome no. 13 in human retinoblastoma cells: relevance to tumorigenesis. *Cancer Genet Cytogenet* 1981; 3:243-250.
76. Motegi T, Kaga M, Yanagawa Y y cols. A recognizable pattern of the midface of retinoblastoma patients with interstitial deletion of 13q. *Hum Genet* 1983; 64:160-162.
77. Ejima Y, Sasaki MS, Kaneko A, Tanooka H. Types, rates, origin and expressivity of chromosome mutations involving 13q14 in retinoblastoma patients. *Hum Genet* 1988; 79:118-123.
78. Shroeder WT, Chao LY, Dao DD y cols. Non random loss of maternal chromosome 11 alleles in Wilms tumors. *Am J Hum Genet* 1987; 40:413-420.
79. Lemieux N, Messier PE, Jacob JL, Milot J, Richer CL. Precise cytogenetic localization of the Rb locus at subband 13q14.11 by ultrastructural detection after immunochemical chromosome banding. (Abstract). *Am J Hum Genet* 1989; 45 (suppl.):A27.
80. Fearon ER. Human cancer syndromes: clues to the origin and nature of cancer. *Science* 1997; 278:1043-1050.
81. Horsthemke B, Greger V, Barnert HJ, Hopping W, Passarge E. Detection of submicroscopic deletions and a DNA polymorphism at the retinoblastoma locus. *Hum Genet* 1987; 76:257-261.
82. Lee WH, Shew JY, Hong FD y cols. The retinoblastoma susceptibility gene encodes a nuclear phosphoprotein associated with DNA binding activity. *Nature* 1987; 329:642-645.
83. Kimchi A, Wang XF, Weinberg RA, Cheifetz S, Massague J. Absence of TGF-beta receptors and growth inhibitory responses in retinoblastoma cells. *Science* 1988; 240:196-199.
84. Bogenmann E, Lochrie MA, Simon MI. Cone cell-specific genes expressed in retinoblastoma. *Science* 1988; 240:76-78.
85. Weichselbaum RR, Beckett M, Diamond A. Some retinoblastomas, osteosarcomas, and soft tissue sarcomas may share a common etiology. *Proc Nat Acad Sci* 1988; 85:2106-2109.
86. DeCaprio JA, Ludlow JW, Lynch D y cols. The product of the retinoblastoma susceptibility gene has properties of a cell cycle regulatory element. *Cell* 1989; 58:1085-1095.
87. Buchkovich K, Duffy LA, Harlow E. The retinoblastoma protein is phosphorylated during specific phases of the cell cycle. *Cell* 1989; 58:1097-1105.
88. Chen PL, Scully P, Shew JY, Wang JYJ, Lee WH. Phosphorylation of the retinoblastoma gene product is modulated during the cell cycle and cellular differentiation. *Cell* 1989; 58:1193-1198.
89. Hsieh JK, Chan FSG, O'Connor DJ y cols. RB regulates the stability and the apoptotic function of p53 via MDM2. *Molec Cell* 1999; 3:181-193.
90. Pennaneach V, Salles-Passador I, Munshi A y cols. The large subunit of replication factor C promotes cell survival after DNA damage in an LxCxE motif- and Rb-dependent manner. *Molec Cell* 2001; 7:715-727.
91. Dahiya A, Wong S, Gonzalo S, Gavin M, Dean DC. Linking the Rb and Polycomb pathways. *Molec Cell* 2001; 8: 557-568.
92. Garcia-Cao M, Gonzalo S, Dean D, Blasco MA. A role for the Rb family of proteins in controlling telomere length. *Nature Genet* 2002; 32:415-419.
93. Mukai N, Kobayashi S, Oguri M. Ultrastructural studies of human adenovirus-produced retinoblastoma-like neoplasms in Sprague-Dawley rats. *Invest Ophthalmol* 1974; 13(8): 593-601.
94. Albert DM, Reid TW. RNA-directed DNA Polymerase activity in retinoblastoma: Report of its presence and possible significance. *Amer J Ophthalmol* 1973; 77:629-639.
95. González-Almaraz G, Pineda-Cárdenas MaAA, Villanueva-Díaz G. Retinoblastoma con Fleurettes (Diferenciación a fotorreceptores). *Rev Mex Oftalmol* 1987; 61(6): 279-286.
96. Chano T, Ikegawa S, Kontani K y cols. Identification of RB1CC1, a novel human gene that can induce RB1 in various human cells. *Oncogene* 2002; 21:1295-1298.
97. Thomas DM, Carty SA, Piscopo DM y cols. The retinoblastoma protein acts as a transcriptional coactivator required for osteogenic differentiation. *Molec Cell* 2001; 8:303-316.
98. Naumova A, Sapienza C. The genetics of retinoblastoma, revisited. *Am J Hum Genet* 1994; 54:264-273.
99. Sakai T, Ohtani N, McGee TL, Robbins PD, Dryja TP. Oncogenic germ-line mutations in Sp1 and ATF sites in the human retinoblastoma gene. *Nature* 1991; 353:83-86.
100. Otterson GW, Chen W, Coxon AB, Khleif SN, Kaye FJ. Incomplete penetrance of familial retinoblastoma linked to germ-line mutations that result in partial loss of RB function. *Proc Nat Acad Sci*. 1997; 94:12036-12040.
101. Macklin MT. A study of retinoblastoma in Ohio. *Am J Hum Genet* 1960; 12:1-43.
102. Jensen RD, Miller RW. Retinoblastoma: epidemiologic characteristics. *New Eng J Med* 1971; 285:307-311.
103. Pendergrass TW, Davis S. Incidence of retinoblastoma in the United States. *Arch Ophthalmol* 1980; 98:1204-1210.
104. Sparkes RS, Sparkes MC, Wilson MG y cols. Regional assignment of genes for human esterase D and retinoblastoma to chromosome band 13q14. (Abstract). *Cytogenet Cell Genet* 1979; 25:209.
105. Sparkes RS, Sparkes MC, Wilson MG y cols. Regional assignment of genes for human esterase D and retinoblastoma to chromosome band 13q14. *Science* 1980; 208: 1042-1044.