

Retinoblastom

Maja Pavlović*

Retinoblastom (RB) je najčešći zloćudni tumor oka u djece, a razvija se iz stanica mrežnice. Gledajući broj novootkrivenih slučajeva, spada među rijetke bolesti i čini svega 2 % svih malignih bolesti u djece i do 12 % malignih bolesti djece unutar prve godine života. To je embrionalni tumor male djece, agresivne prirode i smrtonosan je ako se ne liječi. 95 % slučajeva otkrije se do 5. godine života, a medijan otkrivanja je 18 mjeseci. Najčešće se prezentira leukokorijom i strabizmom. Tumor mrežnice nastaje uslijed bialelne mutacije tumor supresor gena RB1 smještenog na dugom kraku 13. kromosoma. RB može biti obostrani (30 - 40 %) i jednostrani (60 - 70 %). Obostrani RB uvijek je nasljedan i javlja se u ranijoj dobi u usporedbi s jednostranim. Posljednjih par desetljeća svjedočimo promjeni standarda liječenja te su zračenje orbite i u nekim slučajevima enukleaciju potisnule primjena sistemske, intraarterijske i intravitrealne kemoterapije uz lokalne metode kontrole bolesti (kao što su laserska fotokoagulacija, termoterapija, krioterapija i brahiterapija). Postoji veliki nerazmjer u vremenu otkrivanja, razini medicinske skrbi i ishodu liječenja u socioekonomski razvijenim i nerazvijenim zemljama (na primjer u Africi je stopa preživljenja do 30 %, a u Europi, SAD i Kanadi 95 - 98 %). U Hrvatskoj postoji inicijativa uvođenja ranog otkrivanja RB u novorođenčadi praktičnim i vrlo jednostavnim Brücknerovim testom (izazivanje crvenog refleksa direktnim oftalmoskopom), a planira se izvoditi u rodilištu i kod primarnog pedijatra. U ovom preglednom članku prikazuju se glavne karakteristike bolesti s naglaskom na izazove u liječenju, genetici i genetskom savjetovanju te potrazi za novim biomarkerima proširenosti bolesti.

Ključne riječi: RETINOBLASTOM; NEOPLAZME OKA; DIJETE; RETINOBLASTOMSKI PROTEIN; GENETSKO TESTIRANJE RB

UVOD

Priča o RB je primjer napretka i uspjeha u dječjoj onkologiji i oftalmologiji, gdje se na osnovu razumijevanja nastanka samog tumora, podizanjem svijesti o važnosti ranog otkrivanja bolesti, praktičnom stupnjevanju bolesti i uvođenjem novih metoda lokalne kontrole bolesti u razvijenim zemljama postiglo preživljenje 95 - 98 %.

Liječenje je multidisciplinarno i treba ga provoditi u visokospecijaliziranim centrima sa stručnim osobljem. Posebnu ulogu imaju genetičari zaduženi za informiranje roditelja i odraslih pacijenata o uzorku nasljeđivanja bolesti i vjerojatnosti pojave sekundarnih malignih bolesti.

POVIJEST

Retinoblastom je prvi put opisao nizozemski liječnik Pieter Pawius krajem 16. stoljeća. Škotski kirurg James Wardrop je početkom 19. stoljeća spoznao da tumor raste iz oka i izveo prvu enukleaciju u svrhu liječenja. Tumor je bio poznat kao "gljivasti hematom". Naziv RB skovao je F. H. Verhoeff 1922. godine (1).

EPIDEMIOLOGIJA

Incidencija RB jednaka je u svim populacijama i kreće se od jednog slučaja na 15 000 do 20 000

* Dječja bolnica Srebrnjak, Srebrnjak 100, 10000 Zagreb

živorodne djece (2). Ne postoji zemljopisna, etnička ili spolna sklonost, no prevalencija bolesti je veća u Aziji i Africi zbog visoke stope nataliteta u tim regijama. Od 7000 do 8000 novootkrivenih slučajeva godišnje, polovica ih dolazi iz Azije (isključujući Japan). Stope smrtnosti također su izrazito visoke u nerazvijenim zemljama, a kreću se od 20 do 40 % u Južnoj Americi i Aziji (isključujući Japan) do 70 % u Africi, dok je stopa smrtnosti u Europi i Sjevernoj Americi 3 - 5 % (2, 3). Ovakva situacija u nerazvijenim zemljama rezultat je nepristupačne zdravstvene skrbi, slabe osviještenosti medicinskog osoblja, visokih troškova liječenja, neadekvatne prehrane tijekom trudnoće i niske razine obrazovanja majki, što na kraju dovodi do odgođenog prepoznavanja bolesti i lošije prognoze.

RB je tumor male djece. Dvije trećine slučajeva dijagnosticira se do 2. godine života, a 95 % do 5. godine. Ranija dob otkrivanja povezana je s većom vjerojatnošću bilateralne zahvaćenosti. Medijan postavljanja dijagnoze za unilateralni RB je 24 do 27 mjeseci, a za bilateralni 12 do 15 mjeseci (2, 4).

MOLEKULARNA OSNOVA I GENETSKI TIPOVI RETINOBLASTOMA

RB je primjer tumora na kojem studenti uče ulogu tumor supresor gena u onkogenezi. RB1 gen otkriven je 1986. godine i prvi je opisan tumor supresor gen (4). Smješten je na dugom kraku 13. kromosoma (13q14). Odgovoran je za proizvodnju pRB, proteina koji regulira stanični ciklus. U svom hipofosforiliranom stanju sprečava prijelaz G1 u S fazu staničnog ciklusa. Nedostatak funkcionalnog pRB kod mutacije RB1 rezultira nekontroliranim dijeljenjem stanica (4, 5). Bitno je naglasiti da je za nastanak tumora potrebna inaktivacija oba alela (Knudsonova revolucionarna hipoteza o dvije uzastopne mutacije iz 1971.godine) (5, 6). Prva mutacija može nastati u zametnim ili somatskim stanicama. Druga mutacija nastaje u somatskim stanicama mrežnice u razvoju.

Ova hipoteza osnova je za razumijevanje genetskih podtipova RB. Nasljedni slučajevi, u kojima sve stanice u tijelu nose jednu mutiranu kopiju RB1 gena, čine 30 - 40 % svih slučajeva RB. Germina-

tivne mutacije RB1 gena većinom su nastale *de novo* (75 %), dok su u 25 % slučajeva naslijeđene od roditelja (7, 8). Mogu biti točkaste mutacije, delecije ili metilacije promotora. Pacijenti s germinativnim mutacijama imaju veću vjerojatnost za razvoj bilateralnih i multifokalnih tumora. Također, imaju značajno veći rizik za sekundarne tumore, uključujući primitivni neuroektodermalni tumor (PNET) u mozgu (tzv. "trilateralni retinoblastom"), osteosarkom, mekotkivni sarkom i melanom. Osim toga, postoji 50 % šanse da će njihovi potomci razviti RB, budući da se ovaj poremećaj nasljeđuje autosomno dominantno s 90 % penetracije (9).

Ukoliko obje mutacije RB1 gena nastanu u somatskim stanicama mrežnice, tada bolest nije nasljedna, već je riječ o sporadičnom RB, pri čemu pacijent obično ima jednostranu bolest (60-70 % slučajeva RB).

Iako većina jednostranih tumora nije nasljedna, oko 15 % pacijenata s jednostranim RB ima germinativnu mutaciju. Također, neki pacijenti koji u početku imaju jednostrani oblik bolesti mogu kasnije razviti obostrani RB te je bitno na svakoj kontroli učiniti detaljan pregled oba oka.

Nedavno je revidirano tradicionalno uvjerenje da bialelna mutacija RB1 gena (RB1-/-) pokreće sve RB. Sam RB1-/- može uzrokovati samo početak tumora, ali nije dovoljan za njegov napredak, što je dokazano kod RB1-/- retinoma, benignog oblika ili premalignog prekursora RB. Daljnje genetske ili epigenetske promjene potrebne su uz RB1-/- za rast RB. Analizom somatskih promjena broja kopija identificirani su dodatni geni poput CRB1, NEK7, SOX4 i NUP205 kao potencijalni pokretači tumora (10).

Zanimljivo je da mali postotak RB ne posjeduje nikakve mutacije RB1 gena. Neki od njih imaju visok nivo amplifikacije MYCN onkogen (MYCNA). RB1+/+MYCNA tumori čine 1,4 % unilateralnih RB. Oni nisu nasljedni i nemaju rizik za kontralateralni RB, obiteljski prijenos ili druge sekundarne tumore (11). U nekim slučajevima su oba gena (RB i MYCN) normalna, što je moguće posljedica 13q kromotripsisa.

RB se može javiti i u 13q sindromu (delecija ili translokacija dugog kraka 13. kromosoma), a fenotipski je karakteriziran dizmorfijom, mikroce-

falijom, psihomotornim zaostajanjem, anomalijama gastrointestinalnog trakta (9).

STANICA PORIJEKLA

Istraživanja sugeriraju da RB potiče od prekursora čunjastih fotoreceptora u mrežnici. Pretpostavlja se da su čunjići posebno osjetljiviji na deficit pRB zbog nedostatka kompenzacijskih mehanizama, što dovodi do nekontroliranog rasta (12).

KLINIČKA PREZENTACIJA

Rano postavljanje dijagnoze RB ključno je za povoljan ishod liječenja. Leukokorija ili bijeli pupilarni refleks, koji roditelji obično primijete slučajno tijekom fotografiranja djeteta s bljeskalicom, najčešća je klinička prezentacija (60 - 80 %). Drugi najčešći rani znak je strabizam, koji ukazuje da je tumor zahvatio makulu (4). Stoga svako dijete sa strabizmom treba detaljan i kompletan oftalmološki pregled. Rjeđe kliničke manifestacije u uznapredovalim stadijima bolesti su bolno oko, biftalmus, neovaskularni glaukom, slabovidnost i orbitalni celulitis. Retinoblastom se može lokalno širiti u žilnicu i bjeloočnicu ili duž optičkog živca direktno u središnji živčani sustav. Također može metastazirati limfogenu u limfne čvorove glave i vrata te hematogeno u koštano srž, kosti i jetru.

U anamnezi pacijenata sa sumnjom na RB potrebno je pitati za druge članove obitelji s malignim bolestima (tumor oka, sarkomi, melanom, itd.), enukleacijom ili sljepoćom. U statusu obratiti pažnju na postojanje dizmorfije i psihomotorni razvoj (13q - sindrom).

DIJAGNOSTIKA

Dijagnoza RB je klinička. Dječji oftalmolog izvodi kompletan i detaljan pregled oba oka u općoj anesteziji te određuje smještaj i veličinu tumora, lateralnost i proširenost bolesti. Preporuka je obilježavanje položaja tumora na crtežu i obavezno dokumentiranje fotografija očne pozadine s kamerom širokog kuta (RetCam®). Patohistološka analiza nije nužna za potvrdu dijagnoze, a biopsija je kontraindicirana zbog rizika širenja tumora izvan oka. Pregled uključuje ispitivanje očne pozadine, ultrazvuk oka, mjerenje očnog tlaka, vidnu oštrinu i hand-held optical coherence tomography (HH-OCT). Preporučuje se magnetska re-

zonanca orbite i mozga tijekom početnog stupnjevanja za procjenu zahvaćenosti optičkog živca i ekstraokularne ekstenzije, kao i za postojanje tzv. trilateralnog RB. Klasični RB izgleda kao žućkasto-bijela retinalna masa s proširenim krvnim žilama; može biti prisutan rasap (seeding) u staklovinu, krvarenje u staklovinu, subretinalna tekućina i subretinalni rasap.

PROBIR

Američka akademija pedijataru preporučuje da sva novorođenčad, dojenčad i djeca moraju imati pregled crvenog refleksa prije otpusta iz rodnice kao i pri svim kasnijim rutinskim sistematskim pregledima. Test crvenog refleksa izvodi se u slabo osvijetljenoj ili tamnoj prostoriji s izravnim oftalmoskopom ili retinoskopom s udaljenosti od oko 1-1,5 metara od pacijenta. Leukokorija je najčešći znak RB, a sva novorođenčad ili djeca s abnormalnim crvenim refleksom zahtijevaju hitno upućivanje dječjem oftalmologu.

Oftalmološki probir novorođenčadi najviše je koristan kod pozitivne obiteljske anamneze RB. Potomci, braća i sestre pacijenata trebaju redovite preglede tijekom djetinjstva, osim ako se ne obavi genetsko testiranje i ne pronađe mutacija RB. Tada je rizik sličan riziku opće populacije. Genetsko savjetovanje za obitelji s RB može pomoći u određivanju jesu li drugi članovi obitelji izloženi riziku od razvoja bolesti i koji je rizik za buduće potomke.

KLASIFIKACIJA I STUPNJEVANJE RB

RB može biti intraokularni, ekstraokularni i metastatski. Kako bi odredili optimalni modalitet liječenja i predvidjeli odgovor na sistemsku kemoterapiju, za intraokularni RB postoji više međunarodnih klasifikacija, poput IIRC (engl. *The International Intraocular Retinoblastoma Classification*) i ICRB (engl. *International Classification of Retinoblastoma*) (13, 14).

Prema IIRC postoji 5 kategorija (A - E)

Grupa A: Mali tumori, ≤ 3 mm u najvećoj dimenziji, ograničeni na mrežnicu. Udaljeni su ≥ 3 mm od makule i $\geq 1,5$ mm od optičkog diska.

Grupa B: Tumori veći od 3 mm, udaljeni \leq 3 mm od makule i \leq 1,5 mm od optičkog diska, ili tumori s prisutnom subretinalnom tekućinom čiji je promjer manji od 3 mm od ruba tumora.

Grupa C: RB s rasapom tumorskih stanica (seeding), koji može biti subretinalni, unutar 3 mm od primarnog tumora, vitrealni, smješten manje od 3 mm od primarnog tumora, ili oba oblika (vitrealni i subretinalni rasap) $<$ 3 mm od primarnog tumora.

Grupa D: Retinoblastom s difuznim rasapom tumorskih stanica, koji može biti subretinalni, više od 3 mm od primarnog tumora, vitrealni, više od 3 mm od primarnog tumora, ili kombinacija oba oblika.

Grupa E: Opsežan RB, koji zahvaća više od 50 % očne šupljine. Može biti praćen neovaskularnim glaukomom, smanjenjem i atrofijom oka i/ili zamućenim medijima zbog krvarenja u prednju očnu komoru, staklovinu ili subretinalni prostor. Tumori s invazijom lamine cribrose u optički živac, žilnicu, bjeloočnicu, orbitu ili prednju očnu komoru također pripadaju ovoj skupini.

METASTATSKA BOLEST KOD RETINOBLASTOMA

Metastatska bolest je rijetka, javlja se u 4 - 10 % slučajeva i obično je povezana s određenim intraokularnim histološkim značajkama, kao što su duboka invazija žilnice i bjeloočnice, zahvaćenost cilijarnog tijela ili optičkog živca izvan lamine cribrose (15). Tada je potrebna analiza likvora i aspirata koštane srži/biopsija kosti. Za predviđanje pacijenata s visokim rizikom od mikrometastaza u budućnosti će se vjerojatno koristiti cirkulirajući biomarkeri u krvi. Jedna od mogućnosti je detekcija mikroRNA (16).

TRILATERALNI I KVADRILATERALNI RETINOBLASTOM

Trilateralni retinoblastom odnosi se na postojanje bilateralnog retinoblastoma s intrakranijalnim tumorom, što se javlja u manje od 10 % bilateralnih slučajeva. Ovi tumori često nastaju u epifizi i pripadaju skupini primitivnih neuroektodermalnih tumora (PNET), poznatih kao pineoblastomi. Međutim, u 20 - 25 % slučajeva, tumori su smješteni supraselarno ili paraselarno. Opisani su i rijetki

slučajevi kvadrilateralnog RB, kod kojih je bilateralni RB povezan s primarnim PNET tumorima u regiji epifize i supraselarnoj regiji mozga.

LIJEČENJE

Prioriteti u liječenju RB su jasno definiranog redoslijeda - očuvanje života, očuvanje oka i očuvanje vida. Bolest se liječi multidisciplinarno, u suradnji dječjeg oftalmologa dječjeg onkologa, interventnog radiologa, radijacijskog onkologa, neuro-radiologa, patologa, genetičara, očnog protetičara i psihologa. Smanjenje nuspojava i komplikacija liječenja također je bitno za ove vrlo mlade pacijente. E nukleacija ostaje prva metoda izbora za intraokularni RB kod pacijenata s uznapredovalom jednostranom bolešću (grupa E) i kod grupe D sa zahvaćenom makulom, gdje nije moguće očuvanje vida. Terapijske metode koje mogu biti uspješne u spašavanju oka uključuju sistemsku kemoterapiju s fokalnim konsolidacijskim metodama i intra-arterijsku kemoterapiju. Terapija fokalnom konsolidacijom može biti učinkovita za male tumore (grupa A). To uključuje krioterapiju, lasersku fotokoagulaciju, hipertermiju i lokalnu iradijaciju pločicom (brahiterapiju). Vanjsko zračenje očne šupljine izbjegava se radi nuspojava (katarakta, suhoća oka, nastanak sekundarnih tumora), ali i dalje ima ulogu u liječenju recidiva bolesti ili metastaza. Intravitrealna primjena kemoterapije relativno je nov dodatak terapijskoj paleti i u mnogim centrima zamijenila je zračenje za liječenje rasapa u staklovinu.

ENUKLEACIJA

E nukleacija je indicirana kod unilateralnih retinoblastoma skupine E bez mogućnosti očuvanja vida i kod rezistentnih tumora koji nisu odgovorili na prethodne pokušaje spašavanja oka (17). U mnogim nerazvijenim zemljama, enukleacija je još uvijek standardna metoda liječenja za unilateralne retinoblastome skupine D. Prilikom operativnog zahvata potrebno je izbjeći perforaciju, koristiti minimalnu manipulaciju i osigurati dug batrljak vidnog živca ($>$ 10 mm) kako bi osigurali čist kirurški rub. Također treba prikupiti tkivo za genetsku analizu, poslati očnu jabučicu na patohistopatološku analizu kako bi se utvrdili visoki rizični faktori (HRF) i osigurati kozmetičku rehabilitaciju odgovarajućom protezom (18). HRF uključuju: rasap u prednju komoru oka, infiltraciju šarenice/cilijar-

nog tijela, masivnu infiltraciju žilnice, invaziju lamine cribrose, retrolaminarnu invaziju optičkog živca i infiltraciju bjeloočnice. Prisutnost HRF-a ukazuje na visok rizik od metastaza pa ovi pacijenti zahtijevaju 4–6 ciklusa adjuvantne sistemske kemoterapije.

SUSTAVNA KEMOTERAPIJA (IVC)

Prije 1990-ih, zračenje očne šupljine imalo je ključnu ulogu u liječenju RB. IVC je bila ograničena na liječenje metastatskih slučajeva, radi visoke stope recidiva. Međutim, dugoročnim praćenjem, kliničari su shvatili koliki je utjecaj zračenja na pojavu sekundarnih tumora, osobito kod pacijenata s germinativnim mutacijama RB1. Procjenjuje se da će oko 30 % pacijenata s nasljednim RB razviti sekundarni malignitet (19). Rizik za nastanak drugog maligniteta trostruko je veći u zračenih pacijenata, osobito ako su mlađi od 1 godine. Ove spoznaje dovele su do razvoja učinkovitije kombinacije citostatika sa smanjenim profilom toksičnosti kod male djece.

IVC je indicirana kod pacijenata s bilateralnim (nasljednim) RB, ekstraokularnom bolešću, intraokularnom bolešću s visokorizičnim patohistološkim značajkama nakon enukleacije te intraokularnom bolešću u kombinaciji s agresivnim lokalnim terapijama za očuvanje oka (20, 21). Lijekovi protiv RB uključuju derivate platine, etopozid, vinkristin, ciklofosfamid, ifosfamid i doksorubicin. Najčešće korištena kombinacija sastoji se od vinkristina, karboplatine i etopozida. Karboplatina je osnova IVC intravenoznog kemoterapijskog režima jer postiže visoke koncentracije u cerebrospinalnoj tekućini i staklovini.

INTRAARTERIJSKA KEMOTERAPIJA (IAC)

Kako bi smanjili nuspojave sistemske kemoterapije i omogućili dostavu visoke doze kemoterapije direktno u tumor, razvijena je IAC terapija (22). Procedure u općoj anesteziji visokospecijaliziranim centrima izvode interventni radiolozi ili vaskularni kirurzi. Kateter se uvodi kroz femoralnu arteriju sve do ušća očne arterije. Citostatici (obično melfalan, karboplatina i/ili topotekan) apliciraju se u očnu arteriju tijekom 30 minuta u pulsirajućim intervalima. U nosnicu na strani tre-

tiranog oka nanosi se dekongestiv (vazokonstriktor) kako bi se smanjile lokalne nuspojave i preusmjerio protok krvi iz nosne sluznice. Komplikacije uključuju prolaznu neutropeniju, začepljenje femoralne arterije, sindrom plavih prstiju te vrlo rijetko, disekciju karotidne arterije, moždani udar i smrt. Očne komplikacije su periokularni edem, hiperemija, opadanje trepavica i spuštanje kapka i vaskularni događaji (opstrukcija retinalne arterije, spazam/opstrukcija očne arterije, ishemija žilnice) (23).

INTRAVITREALNA KEMOTERAPIJA (IVC)

Kontrola tumora u staklovini jedan je od najizazovnijih aspekata liječenja RB. Rasap tumorskih stanica u staklovinu (vitrealni seeding) slabo reagira na sistemske i intraarterijsku kemoterapiju, jer staklovina nema krvne žile. Intravitrealne injekcije melfalana omogućuju postizanje visoke koncentracije lijeka unutar staklovine (24). Prije primjene injekcije mora se isključiti prisutnost tumora na mjestu uboda, bulozna ablacija mrežnice, krvarenje u staklovinu i invazija prednjeg segmenta oka. Nuspojave uključuju pigmentne promjene mrežnice i fokalnu kataraktu. Rizik od širenja tumorskih stanica putem ubodne igle smanjen je sigurnosnim tehnikama poput prethodne paracenteze i post-proceduralne trostruke krioterapije smrzavanjem. Osim melfalana, koriste se i drugi citostatici poput topotekana (25).

PRAĆENJE

Tijekom liječenja potrebne su učestale kontrole oftalmologa, obično svakih 4 do 8 tjedana do tri godine od postavljanja dijagnoze. Izgled, veličina, lokacija i broj tumora dokumentira se skicama (crtežima) očne pozadine i kamerom kod svakog pregleda. Tumor koji regredira izgleda kao bijela, kalcificirana masa ili kao mutna masa slična mesu ribe. Recidiv RB iz liječenih lezija vrlo je čest i može se pojaviti godinama nakon liječenja.

Pacijenti s nasljednim RB također zahtijevaju dugoročno praćenje oftalmologa i dječjeg onkologa radi povećanog rizika od razvoja sekundarnih maligniteta (osteosarkom, sarkomi mekih tkiva (najčešće leiomom), melanom i PNET mozga). Pacijenti liječeni radioterapijom imaju veći rizik od sekundarnih tumora, osobito u području liječenja. Du-

goročno oftalmološko i onkološko praćenje svih pacijenata s RB je obavezno, uz posebnu pažnju prema pacijentima koji imaju germinativne mutacije.

GENETSKO TESTIRANJE PACIJENTA

Bilateralni slučajevi gotovo uvijek imaju germinativnu mutaciju RB1, dok unilateralni slučajevi ne bi smjeli biti automatski pretpostavljeni kao somatski, jer 15 % njih može posjedovati germinativnu mutaciju. Stoga je genetsko testiranje indicirano za svu djecu koja boluju od RB s nepoznatim RB1 statusom (26). Detekcija RB1 mutacije može pomoći u identificiranju djece koja su u riziku da razviju nove tumore u ipsilateralnom ili kontralateralnom oku, PNET-ove ili sekundarne tumore. Također je ključna za rano otkrivanje tumora u predisponiranih osoba, odluku o učestalosti kontrola, genetskom savjetovanju, planiranju obitelji i smanjenju nepotrebnih testiranja i obiteljskog praćenja.

Gotovo 95 % RB1 mutacija može se detektirati suvremenim metodama. Sekvencioniranje sljedeće generacije (NGS) može identificirati do 75 % svih RB1 mutacija (27). Za preostale, koriste se druge metode poput multiplex ligacija-ovisne amplifikacije sonde (MLPA), kvantitativne multiplex polimerazne lančane reakcije (QM-PCR) ili molekularni kariogram (aCGH). Kariotipizacija ili fluorescentna in situ hibridizacija (FISH) mogu se koristiti za detekciju velikih delecija ili kromosomskih translokacija, kao u sindromu delecije 13q. Mutacije splicinga ne mogu se detektirati DNA sekvencioniranjem i mogu zahtijevati RT-PCR ili RNA sekvencioniranje. Kod probira poznatih mutacija, Sanger dideoksi sekvencioniranje ili alel specifični PCR (AS-PCR) mogu biti učinkovitiji.

Ovi testovi zahtijevaju uzorke DNK dobre kvalitete, koji potiču iz periferne krvi, sline ili tumorskog tkiva (svježe/zamrznuto tkivo je bolje za analizu u odnosu na formalin-fiksirane/parafinske uzorke). U 97 % bilateralnih slučajeva, mutacija se može detektirati samo iz leukocitne DNK, dok u 3 % zahtijeva DNK iz tumora. U unilateralnim slučajevima, testiraju se oba: prvo tumor, zatim krv. Ako mutacija pronađena u DNK tumora također postoji u krvi, to ukazuje na nasljedni RB. Ukoliko mutacija nije prisutna u krvi, najvjerojatnije je spo-

radična, no postoji vrlo mali rizik (<1 %) od nasljednog oblika zbog mozaicizma (9, 11).

GENETSKO TESTIRANJE ČLANOVA OBITELJI

Članovima obitelji koji imaju rizik prijenosa RB1 mutacije treba ponuditi genetsko testiranje. Ako roditelji pacijenta imaju mutaciju, tada svaki njihov potomak ima 50 % šanse razviti RB. Nadalje, 10 % roditelja koji su negativni na mutaciju mogu posjedovati mozaicizam; njihovi potomci imaju 2 – 3 % rizika od nasljeđivanja mutacije. Ukoliko pacijent ima mozaicizam, tada testiranje roditelja ili braće i sestara nije potrebno, jer mozaicizam nije nasljedan, dok potomci pacijenta s mozaicizmom moraju biti testirani. Djeca s poznatim statusom germinativne mutacije RB1, ali bez tumora, moraju se pratiti jednom mjesečno do 1. godine života, a zatim svaka 3 mjeseca do 5. godine života.

GENETSKO SAVJETOVANJE

Obitelji pacijenata (i sami pacijenti, kada su stariji) trebaju biti upućeni na genetsko savjetovanje nakon dijagnoze RB kako bi ih educirali o nasljeđivanju, riziku od malignih bolesti u drugih potomaka i rodbini, planiranju obitelji te dostupnim genetskim testiranjima. Također, treba im se ponuditi psihološka podrška.

LIKVIDNA BIOPSIJA

Tumor specifična DNK za genetsku analizu dosad je bila dostupna samo iz enukliranih očiju, jer je biopsija kontraindicirana kod RB. Nedavna istraživanja pokazuju da očna vodica iz prednje komore pacijenata s RB sadrži mjerljive razine slobodne DNA (cfDNA), koja je tamo difundirala iz nekrotičnih ili litičnih tumorskih stanica iz stražnjeg segmenta oka. Dovoljna je mala količina očne vodice (0,1 mL) za dobivanje DNA u svrhu genetske analize. Analiza razine cfDNA iz krvi (tekuća biopsija) obećavajuća je i neinvazivna metoda koja se može koristiti za predviđanje metastatskog rizika putem molekularnog profiliranja. Osim prognostičkog značenja, praćenje cfDNA u krvi nakon enukleacije može predvidjeti ekstraokularni relaps (28). Preporučeni potencijalni biomarkeri za predviđanje metastaza su mikroRNA, cone-rod homeobox (CRX) ili Otx-like homeobox transkripcijski faktor, te CTX mRNA (16).

ZAKLJUČAK

Podizanje svijesti o RB i napreci u terapijskim modalitetima posljednja dva desetljeća rezultirali su visokom stopom preživljenja u razvijenim zemljama. Kako prognoza ovisi o ranom postavljanju dijagnoze, od izuzetne važnosti je uvođenje probira crvenim refleksom u RH. Dugoročno praćenje obavezno je za preživjele od RB, jer postoji rizik od razvoja sekundarnih malignih bolesti. Genetsko testiranje i genetsko savjetovanje pomažu roditeljima i pacijentima u odrasloj dobi bolje razumijevanje prirode bolesti.

LITERATURA

- Moschos MM. From fungus haematodes to retinoblastoma. *J Buon*. 2017;22(6):1599-602.
- Kivelä T. The epidemiological challenge of the most frequent eye cancer: retinoblastoma, an issue of birth and death. *Br J Ophthalmol*. 2009;93(8):1129-31.
- Dimaras H, Kimani K, Dimba EA, et al. Retinoblastoma. *Lancet*. 2012;379(9824):1436-46.
- Ortiz MV, Dunkel IJ. Retinoblastoma. *J Child Neurol*. 2016;31(2):227-36.
- Dimaras H, Corson TW, Cobrinik D, et al. Retinoblastoma. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1:15021.
- Mallapatna A, Marino M, Singh AD. Genetics of retinoblastoma. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2016;5(4):260-4.
- Rodriguez-Galindo C, Orbach DB, VanderVeen D. Retinoblastoma. *Pediatr Clin North Am*. 2015;62(1):201-23.
- Villegas VM, Gold AS, Wildner A, Ehliel F, Murray TG. Genomic landscape of retinoblastoma. *Clin Exp Ophthalmol*. 2014 Jan-Feb;42(1):2-3. doi: 10.1111/ceo.12277. PMID: 24433353. elamud A, Palekar R, Singh A. Retinoblastoma. *Am Fam Physician*. 2006;73(6):1039-44.
- Mallapatna A, Marino M, Singh AD. Genetics of retinoblastoma. *Asia Pac J Ophthalmol*. 2016;5(4):260-4.
- Kooi IE, Mol BM, Massink MP, et al. A meta-analysis of retinoblastoma copy numbers refines the list of possible driver genes involved in tumor progression. *PLoS One*. 2016;11(4):e0153323.
- Soliman SE, Racher H, Zhang C, MacDonald H, Gallie BL. Genetics and molecular diagnostics in retinoblastoma - an update. *Asia Pac J Ophthalmol*. 2017;6(2):197-207.
- Xu XL, Singh HP, Wang L, et al. Rb suppresses human cone-precursor-derived retinoblastoma tumours. *Nature*. 2014;514(7522):385-8.
- Linn Murphree A. Intraocular retinoblastoma: the case for a new group classification. *Ophthalmol Clin North Am*. 2005;18(1):41-53.
- Shields CL, Mashayekhi A, Au AK, et al. The International Classification of Retinoblastoma predicts chemoreduction success. *Ophthalmology*. 2006;113(12):2276-80.
- Gündüz K, Müftüoğlu O, Günalp I, Unal E, Taçyıldız N. Metastatic retinoblastoma clinical features, treatment, and prognosis. *Ophthalmology*. 2006;113(9):1558-66.
- Cassoux N, Lumbroso L, Levy-Gabriel C, Aerts I, Doz F, Desjardins L. Retinoblastoma: update on current management. *Asia Pac J Ophthalmol*. 2017;6(3):290-5.
- Ancona-Lezama D, Dalvin LA, Shields CL. Modern treatment of retinoblastoma: A 2020 review. *Indian J Ophthalmol*. 2020;68(11):2356-65.
- Honavar SG, Singh AD. Management of advanced retinoblastoma. *Ophthalmol Clin North Am*. 2005;18(1):65-73.
- Marees T, Moll AC, Imhof SM, de Boer MR, Ringens PJ, van Leeuwen FE. Risk of second malignancies in survivors of retinoblastoma: more than 40 years of follow-up. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100(24):1771-9.
- Raval V, Bowen RC, Soto H, Singh A. Intravenous chemotherapy for retinoblastoma in the era of intravitreal chemotherapy: a systematic review. *Ocul Oncol Pathol*. 2021;7(2):142-8.
- Shields CL, Kaliki S, Rojanaporn D, Al-Dahmash S, Biancotto CG, Shields JA. Intravenous and intra-arterial chemotherapy for retinoblastoma: what have we learned? *Curr Opin Ophthalmol*. 2012;23(3):202-9.
- Zanaty M, Barros G, Chalouhi N, et al. Update on intra-arterial chemotherapy for retinoblastoma. *ScientificWorldJournal*. 2014;2014:869604.
- Ramasubramanian A, Sinha N, Rosenwasser RH, Shields CL. Regression of advanced group E retinoblastoma with intra-arterial chemotherapy. *Retin Cases Brief Rep*. 2012;6(4):406-8.
- Shields CL, Lally SE, Leahey AM, et al. Targeted retinoblastoma management: when to use intravenous, intra-arterial, periocular, and intravitreal chemotherapy. *Curr Opin Ophthalmol*. 2014;25(5):374-85.
- Munier FL, Gaillard MC, Balmer A, et al. Intravitreal chemotherapy for vitreous disease in retinoblastoma revisited: from prohibition to conditional indications. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(8):1078-83.
- Cowell JK, Gallie BL. Which retinoblastoma patients should be screened for RB1 mutations? *Eur J Cancer*. 1998;34(12):1825-6.
- Lohmann DR. RB1 gene mutations in retinoblastoma. *Hum Mutat*. 1999;14(4):283-8.
- Schaiquevich P, Francis JH, Cancela MB, Carcaboso AM, Chantada GL, Abramson DH. Treatment of retinoblastoma: What is the latest and what is the future? *Front Oncol*. 2022;12:822330.

Adresa za dopisivanje:

prim. **Maja Pavlović**, dr. med. pedijatrijski hematolog i onkolog
 Dječja bolnica Srebrnjak
 Srebrnjak 100, 10000 Zagreb
 e-mail: drmaja.pavlovic@gmail.com

SUMMARY

Retinoblastoma

Maja Pavlović

Retinoblastoma (RB) is the most common malignant eye tumor in children, arising from retinal cells. Although it is considered a rare disease in terms of newly diagnosed cases, it accounts for approximately 2 % of all childhood malignancies and up to 12 % of malignancies occurring within the first year of life. It is an embryonal tumor of young children, characterized by aggressive growth and fatal outcomes if left untreated. 95 % of cases are diagnosed by the age of 5, with a median age at diagnosis of 18 months. It most commonly presents with leukocoria and strabismus. Retinal tumors arise due to biallelic mutations of the tumor suppressor gene RB1 located on the long arm of chromosome 13. RB can be bilateral (30 - 40 %) or unilateral (60 - 70 %). Bilateral RB is always inherited and tends to occur at an earlier age than unilateral cases. Over the past few decades, there has been a shift in treatment approaches. Traditional radiation therapy for the orbit and, in some cases, enucleation have largely been replaced by systemic, intraarterial, and intravitreal chemotherapy combined with local disease control methods such as laser photocoagulation, thermotherapy, and cryotherapy. There is a significant disparity in diagnosis timing, level of medical care, and treatment outcomes between socioeconomically developed and underdeveloped countries. For example, the survival rate in Africa is as low as 30 %, whereas in Europe, the USA, and Canada it reaches 95 - 98 %. In Croatia, an initiative has been proposed to introduce early detection of RB in neonates using the Bruckner test. It is a simple yet highly effective screening method that induces the reflex with a direct ophthalmoscope. The plan is to implement it in maternity hospitals or conducted by primary pediatricians. This review article presents the main characteristics of the disease, focusing on challenges in treatment, genetics, and genetic counseling, and the ongoing search for new biomarkers associated with disease progression.

Key words: RETINOBLASTOMA; EYE NEOPLASMS; CHILD; RETINOBLASTOMA PROTEIN; GENETIC TESTING