

Siatkówczak

Siatkówczak (S) zajmuje szczególne miejsce wśród nowotworów – jest to pierwszy nowotwór o udowodnionej dziedzicznej etiologii, na którego przykładzie kształtowały się idee „dwu trafień” i genów supresorowych (1, 2, 3).

S pojawia się z częstością 1: 25 000 żywych urodzeń. Mimo swojej rzadkości S jest najczęstszym nowotworem wewnątrzgałkowym u dzieci a większość przypadków rozpoznawanych jest przed 5 r. ż. U dorosłych S jest wielką rzadkością. 60 % przypadków S ma charakter sporadyczny w ścisłym znaczeniu tego słowa; są one wywołane mutacjami somatycznymi w komórkach siatkówki. Pozostałe 40 % pacjentów to dzieci obciążone mutacjami konstytucyjnymi - wśród nich 10 - 15 % to przypadki rodzinne a pozostałych 25-30 % to przypadki rodowodowo sporadyczne, powstałe jednak w wyniku konstytucyjnej mutacji germinalnej *de novo*. Mutacja konstytucyjna ma penetrację sięgającą 90 %. Do powstania nowotworu konieczna jest unieczynnienie białka pRB; które ma miejsce dopiero po utracie funkcji obu kopii genu (4).

Prawdopodobieństwo powstania kolejnych dwu mutacji somatycznych genu RB1, następujących kolejno w tej samej komórce siatkówki – jak się to dzieje w S sporadycznym – jest wprost proporcjonalne do długości życia komórki; tłumaczy to fakt pojawiania się takich guzów w późniejszym wieku aniżeli S wywołanych mutacją konstytucyjną, zwykle także jednostronnie i jednoogniskowo (Ryc. 1A). Zgodnie z mechanizmem „dwu trafień” w guzach powstałych u osób z mutacją konstytucyjną, wobec jej istnienia już od urodzenia, do ostatecznego powstania nowotworu konieczna jest w komórce siatkówki już tylko pojedyncza mutacja somatyczna. Zdarzenie takie ma szansę zaistnieć wcześniej – stąd młodszy wiek chorych z S dziedzicznym. Druga mutacja - somatyczna, u nosiciela zmiany konstytucyjnej zdarzyć się może w większej liczbie komórek – stąd częsta wieloogniskowość i obustronność tych guzów (1, 3).

S obustronne i jednostronne wieloogniskowe są zatem praktycznie zawsze związane z istnieniem mutacji konstytucyjnej, przekazanej rodzinnie lub nabytej *de novo*. Pojawiają się one w większości przypadków przed 3 r. ż. (Ryc. 1D). Mutacje konstytucyjne mogą jednak powstawać również jako zmiany germinalne *de novo* (Ryc. 1B); związane z nimi guzy, pomimo iż rodowodowo sporadyczne, wykazują inne cechy kliniczne – w tym zwłaszcza wcześniejsze wystąpienie- podobne jak w nowotworach rodzinnych. Pewien odsetek chorych – jak wynika z naszych badań sięgający 20 % - jest mimo jednostronności w chwili rozpoznania obciążony mutacją konstytucyjną (3, 5). Przypadki takie charakteryzują się (w stosunku do innych S jednostronnych) wcześniejszym wystąpieniem guza, wieloogniskowością i wysokim ryzykiem późniejszego pojawienia się nowego pierwotnego guza w tym samym lub drugim oku.

Gen i białko Retinoblastoma

Gen RB1 należy do genów średnich rozmiarach (200 kB), zlokalizowany w prążku 13q14 składa się z promotora i 27 eksonów, znany jest jeden transkrypt RNA o rozmiarach 4,8 kB; zjawisko alternatywnego składania RNA nie dotyczy więc zapewne genu RB1.

Kodowane przez ten gen białko p105RB1 należy do grupy tzw. białek kieszeniowych i jest jądrową fosfoproteiną, wielkości 105-110kDa. Uczestniczy ono w złożonych kaskadach regulacyjnych, decydujących o przejściu komórek w cyklu komórkowym z fazy G₁ do fazy S a więc jest jednym z głównych regulatorów proliferacji. Dotyczy to wszystkich komórek ustroju a gen wykazuje znaczny

konserwatywny ewolucyjny. Białko oddziałuje na funkcję wielu innych genów przez unieczynnienie (sekwestrację) jednego z głównych regulatorów transkrypcji – czynnika E2F. Zdolność ta realizowana jest poprzez wiązanie E2F w „kieszni” białka pRB1, uniemożliwiając czynnikowi E2F transaktywację innych podległych genów, co jest równoznaczne z utrzymaniem komórek w spoczynkowej fazie G₀. Tylko białko pRB1 z hipofosforylowanymi resztami serynowymi posiada zdolność wiązania E2F; hipofosforylacja białka uwalnia czynnik transkrypcyjny i umożliwia przejście G₁ – S i progresję cyklu komórkowego. Do kieszeni białka pRB1 wiążą się kompetencyjnie również niektóre białka takich wirusów onkogennych jak białko E7 papillomawirusa, białko E1A adenowirusa, antygen T wirusa SV40 i inne. Zjawisko to pozwala powiązać w sposób niesprzeczny procesy ontogenezy wirusowej z istnieniem nowotworów genetycznie uwarunkowanych. Kieszeń białka pRB1 może wiązać również wiele innych białek zawierających motyw -Leu-x-Cys-x-Glu- (1, 4, 6, 7, 8). Rozpoznane u chorych z S mutacje sekwencji zlokalizowane są najczęściej w kieszeni białkowej i jej najbliższej okolicy i wpływają na powinowactwo do czynników transkrypcyjnych, ale niekiedy nie blokują całkowicie ich wiązania - mają wtedy cechy mutacji o niskiej penetracji (p. niżej).

Uniwersalne mechanizmy regulacyjne realizowane przez białko pRB1 mogą tłumaczyć udział jego mutacji w powstawaniu także innych niż S nowotworów, jak kostniakomięsak, rak pęcherza, rak drobnokomórkowy płuc i in., współwystępujących niekiedy rodzinnie z siatkówczakiem (9).

Aktywność genu RB1 jest regulowana na poziomie promotora przez przypisane mu regulatory transkrypcji; nieliczne poznane dotąd mutacje promotora upośledzają tę regulację i mają kliniczne cechy mutacji o niskiej penetracji (p. niżej). Jedną z nich – i pierwszą znaną *de novo* - opisaliśmy w naszym Ośrodku (10).

Dla prawidłowej funkcji komórek wystarczająca jest aktywność pojedynczej kopii genu; nosiciele mutacji konstytucyjnych poza predyspozycją do S nie różnią się w uchwytny sposób od posiadaczy dwu prawidłowych kopii genu.

Przebieg i charakterystyka kliniczna

Szczyt zachorowań na S występuje ok. 42 miesiąca życia, ponad 90 % przypadków rozpoznawanych jest po raz pierwszy przed 5 r. ż. Znane są sytuacje, w których guz ten wykrywano tuż po urodzeniu. Wczesnymi objawami klinicznymi nasuwającymi podejrzenie S są: zez, przekrwienie i stan zapalny gałki ocznej. Zazwyczaj rozpoznanie guza następuje jednak na podstawie objawów później występujących; są nimi *exophthalmos* i zaobserwowane przez rodziców tzw. „kocie oko” - przeświecanie umiejscowionych na siatkówce serowatych mas guza przez soczewkę. Identyfikacja nowotworu w okresie wczesnym pozwala często na wyleczenie z ubytkami pola widzenia i zachowaniem gałki ocznej. Identyfikacja późniejsza, niestety najczęstsza, oparta o stwierdzenie „kocięgo oka” wiąże się zwykle z koniecznością usunięcia gałki ocznej oraz nierzadko uzupełniającej radio- i chemioterapii (3, 4).

Stosunkowo rzadko S daje klasyczne przerzuty a szerzy się głównie przez ciągłość drogą n. wzrokowego. Rokowanie zależy w znacznym stopniu od standardu diagnostyki i opieki medycznej; w krajach rozwiniętych o dobrej tradycji medycznej śmiertelność rzadko przekracza 8 % a konieczność usunięcia gałki ocznej ma miejsce w ok. 10 % przypadków. W krajach słabo rozwiniętych obserwowano śmiertelność 100 %-wą.

Podłoże molekularne dziedzicznego siatkówczaka

Predyspozycja dziedziczna do siatkówczaka wiąże się z istnieniem konstytucyjnych mutacji genu RB1.

Pełny zakres badań molekularnych tego genu dostępny jest w naszym Ośrodku (8, 9, 10, 12, 13, 14). Diagnostyka sekwencji genu obciążona jest znacznymi kosztami. Wykazano jednak, że koszty te, ze względu na wyłączenie nosicielstwa u wielu potencjalnie predysponowanych członków rodzin, są niższe aniżeli koszty pełnej opieki profilaktycznej koniecznej u wszystkich dzieci w rodzinie, jeśli nie dokonaliśmy wyłączeń (15). Pełne sekwencjonowanie genu RB1 identyfikuje mutację w ok. 80 % rodzin, w których S ma ewidentnie dziedziczny charakter. Pewnym ułatwieniem może być wstępne stosowanie metod preselekcyjnych jak SSC, DGGE, PTT; mają one jednak niższą czułość aniżeli sekwencjonowanie. Identyfikacja mutacji u osoby chorej pozwala następnie na weryfikację tylko wybranego fragmentu genu o pozostałych członków rodziny (4, 16). W diagnostyce wykorzystać można także analizy sprzężeń z wykorzystaniem molekularnych markerów wewnątrzgenowych; są one pomocne zwłaszcza w diagnostyce większych liczebnie rodzin (4, 10, 13, 17.). Do diagnostyki S wdrożono nie tylko klasyczne PCR – sekwencjonowanie „ekson po eksonie” (17, 18, 19, 20), ale także techniki takie jak multiplex i jakościowy multiplex –PCR (umożliwiające jednoczesną ocenę kilku eksonów „pakiecie”), jak i nowe techniki końcowej detekcji mutacji wywodzące się z biochemii np. HPLC (13, 14, 19, 21.).

Źródłem diagnostyki DNA konstytucyjnego jest zwykle krew obwodowa a analizie podlega pozyskany z niej DNA. Materiał ten zawiera zarówno kodujące (eksony) jak i nie kodujące (introny) części genu. Stosowanie jako materiału badanego RNA i przygotowanego *in vitro* na jego matrycy cDNA, zawierającego jedynie kodujące fragmenty DNA, ułatwia zarówno technikę badania jak i jego późniejszą interpretację (16). Diagnostyka DNA samego guza nie jest konieczna do identyfikacji mutacji konstytucyjnych, może jednak być potwierdzeniem prawidłowości procedur i źródłem cennych informacji o mutacjach somatycznych („drugich trafieniach” i „sporadycznych”).

Informacje o zaobserwowanych mutacjach gromadzone są w dwu bazach danych z wolnym dostępem on-line (18, 21). Baza danych Dr Lohmanna obejmuje mniejszą liczbę mutacji i jest obecnie rzadziej aktualizowana, umożliwia natomiast łatwe różnicowanie mutacji konstytucyjnych od somatycznych „drugich trafień”; w bazie Valverde i wsp., zawierającej więcej nowszych danych (932 mutacje), nie zawsze takie rozróżnienie jest możliwe. Jednakże właśnie analizy materiału tej drugiej bazy danych radykalnie zmieniły naszą wiedzę o charakterystyce konstytucyjnych mutacji genu RB1.

Uważano do niedawna, że mutacje te zlokalizowane są bez wyraźnych prawidłowości (16). Jak się jednak okazało w genie RB1 występują „gorące miejsca” nagromadzenia mutacji, odpowiadające czynnościowo ważnym okolicom białka pRB1 a zwłaszcza jego „kieszoni” - 79 % powtarzających się mutacji to tranzycje C/T w 11 trypletach kodonów argininowych CGA z czego aż 40 % jest zawartych w eksonach 8,10, 11, 14, 15, 17, 18 i 23 (22). Obserwacje te znacząco modyfikują taktykę sekwencjonowania diagnostycznego, jego szybkość i koszty (21).

Przeważająca większość mutacji to, jak się spodziewano, zmiany uniemożliwiające skuteczną syntezę białka, bądź to unieczynniające je funkcjonalnie; są to zwłaszcza mutacje typu „stop” (42 % obserwowanych), ale także dodatkowo niektóre mutacje typu delekcji i „splicing site”.

W odróżnieniu od mutacji „inaktywujących”, mutacje modyfikujące funkcjonalność cząsteczki, ale nie blokujące całkowicie syntezy białka pRB są rozmieszczone losowo.

Do grupy tej zaliczane są mutacje „błędneho sensu” oraz niektóre mutacje „splicing site”. Przeważają mutacje tworzące „stop kodony”. Mutacje promotorowe, a także niektóre mutacje miejsc wpływających na składanie RNA (tzw. „splice sites”) charakteryzuje niższa, rzędu 60 –70 % penetracja (8, 11, 17, 23.). W rodzinach obciążonych takimi mutacjami występuje tzw. przeskakiwanie pokoleń (nie chorują obligatoryjni nosiciele) a cechy kliniczne guza są podobne do obserwowanych w S pochodzącym z mutacji somatycznych (8, 22). Określenie ryzyka zachorowania w takich rodzinach może być trudne. Mutacje o niskiej penetracji stanowią jednak prawdopodobnie stosunkowo niewielki odsetek wszystkich obserwowanych w genie RB1 (16, 18, 21,23).

Wykazano istnienie etnicznych różnic w charakterystyce występowania mutacji (21).

Nie znamy jeszcze rzeczywistego odsetka mutacji germinalnych *de novo* wśród chorych z S; wiadomo jednak, że przysze potomstwo takich pacjentów obciążone będzie typowym, dużym ryzykiem S rzędu 45 %. Mutacje punktowe pochodzą zazwyczaj z gamety ojcowskiej, delecje z matczynej (17). Inaczej niż w wielu innych chorobach dominujących, wiek rodziców wydaje się nie wpływać na częstość pojawiania się mutacji *de novo*.

Mutacje genu RB1 predysponują nie tylko do S; w późniejszym wieku pojawiają się u obciążonych osób również inne nowotwory. Szczególne miejsce wśród nich zajmuje, „siatkówczak trójstronny” w którym zespół chorobowy tworzą obuoczny S i szyszyniak; jest to związane ze wspólnym dla komórek siatkówki i szyszynki pochodzeniem embrionalnym. Inne typowe dla konstelacji z S nowotwory w rodzinach obciążonych to mięsaki kostne – najczęściej pojawiające się w kości udowej - i mięsaki tkanek miękkich, guzy urotelialne, drobnokomórkowy rak płuca, białaczki, czerniaki, rak sutka (9). Ich znaczenie praktyczne stało się jasne w wyniku poprawy technik leczenia i znaczącego wydłużenia życia u chorych z S; jak okazało się w analizach retrospektywnych dużych grup chorych z czołowych ośrodków amerykańskich (9) u wyleczonych chorych z S wywołanym mutacją konstytucyjną średnia długość życia wynosi zaledwie 50 lat.

Szczególną podgrupę chorych z S stanowią pacjenci u których duża delecja obejmuje nie tylko gen RB1, ale także większy odcinek chromosomu. Delecja taka jest wykrywalna cytogenetycznie w badaniu kariotypu techniką wysokiej rozdzielczości lub technikami hybrydyzacyjnymi. Chorzy z delecją 13q-, obok obecności samego guza wykazują charakterystyczny zespół objawów: opóźnienie psychoneurologiczne i dysmorfie- zwłaszcza w zakresie twarzy. Tylko u chorych z takimi objawami wskazane jest badanie kariotypu; stanowią oni mniej niż 5 % wszystkich pacjentów ze zmianami konstytucyjnymi genu RB1 (3).

Nie wiemy, jakie czynniki odpowiedzialne są bezpośrednio za mutacje somatyczne stwierdzane jako „drugie trafienie” w komórkach siatkówki. Wiadomo jednak, że w przebiegu życia tych komórek występuje „okienko czasowe”, w którym mutacja taka indukuje nowotwór złośliwy. „Drugie trafienie” po tym okresie życia wywołuje u nosiciela mutacji konstytucyjnej jedynie guz o charakterze łagodnym tzw. *retinoma*. Swoim obrazem makroskopowym przypomina on nowotwór złośliwy a jego odróżnienie na dnie oka może być bardzo trudne. Obecność *retinoma* u jednego z rodziców chorego dziecka stanowi jednoznaczny dowód istnienia w rodzinie (5)

Odrębności genetyczno – kliniczne niektórych zmian genu RB1

Większości mutacji o charakterze kodonów stop, towarzyszy klasyczny obraz rodowodowo – kliniczny S; nowotwór manifestuje się stosunkowo wcześnie, obustronnie/ wieloogniskowo i w każdym kolejnym pokoleniu a więc sposób taki jak przy dziedziczeniu autosomalnie dominującym (ryc 1C).

Opisano jednak rodziny, w których rodowodach zachorowania występowały tylko w niektórych pokoleniach, guzy pojawiały się w stosunkowo późnym wieku i często były tylko jednostronne/jednoogniskowe. W tego rodzaju rodzinach, określanych jako „**late onset phenotype**”, istnieje niebezpieczeństwo błędnego rozpoznania S sporadycznego i odstąpienia od monitorowania młodszego rodzeństwa chorych – zwłaszcza w przypadku wywiadu ograniczonego tylko do najbliższych krewnych. Jak się okazało w rodzinach takich występuje nosicielstwo mutacji konstytucyjnych, mają one jednak charakter **mutacji o niskiej penetracji** (ryc 1 D). Istnienie tej grupy mutacji w S postulowane było po raz pierwszy w 1989 r. przez Scheffera i wsp. na podstawie dowodów pośrednich (24). Jak się okazało mutacje o niskiej penetracji stanowią znaczący odsetek wszystkich mutacji konstytucyjnych RB1 (20, 21, 23). Ich molekularnym podłożem mogą być bardzo rzadkie mutacje promotorowe, zmieniające regulację genu RB1 ale nie sam jego kod (10) lub - częściej – mutacje eksonów nie powodujące całkowitej utraty aktywności genu (np. skracające okres półtrwania białka, zwiększające jego termowrażliwość itp.) (11, 20, 23, 25). Są to więc zwykłe zmiany o typie błędnego sensu lub też nie-kodujące ale bliskie

eksonom substytucje okolic intronowych, wpływające na prawidłowość wycinania eksonów i tworzenia ostatecznego transkryptu. Istnienie mutacji o niskiej penetracji znacznie skomplikowało i utrudniło poradnictwo rodzinne w S.

Mozaikowość mutacji polega na ich występowaniu tylko w części komórek somatycznych i/lub gamet. Zjawisko to dotyczy również genu RB1 i może powodować - podobnie jak nierzadkie nie mozaikowe mutacje *de novo* - pojawianie się S u dzieci rodziców, którzy we krwi obwodowej a nawet części gamet mutacji konstytucyjnych nie wykazują. Rozpoznawanie mozaikowości jest bardzo trudne, obecnie możliwe tylko u ojców, a częstość występowania nieznana (17, 21, 24, 26).

W 1998 r. wykazaliśmy, że wśród pacjentów z S jednostronnym, sporadycznym, zwłaszcza rozpoznanym przed 3 r. ż. znaczący klinicznie odsetek stanowią nosiciele **mutacji konstytucyjnych *de novo***. Są oni wysoce zagrożeni (mimo "sporadyczności") ponownym pojawieniem się S (obustronność, wieloogniskowość) a ich rodzeństwo wymaga weryfikacji mutacji, zazwyczaj jednak z wynikiem ujemnym (12). Nasze wyniki te zostały uwzględnione w obowiązujących zaleceniach National Cancer Institute (27, 28).

Jak wykazał Lohmann, metylacja niektórych okolic genu RB1, określana jako **zmiany epigenetyczne**, może prowadzić do „wyciszenia” genu i pojawienia się S przy dalszych skutkach klinicznych identycznych jak mutacji o niskiej penetracji, pomimo, że sama zmiana kodu nie ma wtedy miejsca (18). Mechanizm taki postulowała jeszcze w latach 70-ych Sapienza; jego częstość, przekazywanie dziedziczne i możliwy związek z tzw. rodzicielskim piętnem genomowym nie zostały poznane, natomiast samo zjawisko jest możliwe do diagnostyki molekularnej.

Postępowanie diagnostyczno-profilaktyczne u chorych i ich rodzin

Najbardziej skuteczny schemat postępowania profilaktycznego, stosowany obecnie w większości ośrodków, opracowała w Toronto Brenda G a l l i e. Obejmuje on zasady postępowania obowiązujące również u dalszych krewnych chorego i jest dostępny w wyspecjalizowanych ośrodkach (3, 4, 18).

Identyfikacja mutacji genu RB1 technikami molekularnymi pozwala na potwierdzenie/wykluczenie jej istnienia u pozostałych krewnych i wyłączenie znacznego odsetka członków rodzin – posiadaczy prawidłowego haplotypu z algorytmu postępowania profilaktycznego. Ma to duże znaczenie nie tylko ze względu na koszty, ale także obciążenie psychiczne i możliwości powikłań jakie związane są z takim powtarzanym cyklem badań (4, 15).

Dobre wyniki leczenia, nierzadko z zachowaniem gałki ocznej możliwe są w przypadku wczesnego wykrycia S. Większą niż dotąd rolę powinny w tym zakresie odgrywać rutynowe kontrole dna oka dokonywane u małych dzieci i noworodków, należy jednak podkreślić, że w pełni wartościowa jest tylko kontrola całości siatkówki, możliwa u dziecka do 2 – 3 r. ż. tylko w znieczuleniu ogólnym (13, 14).

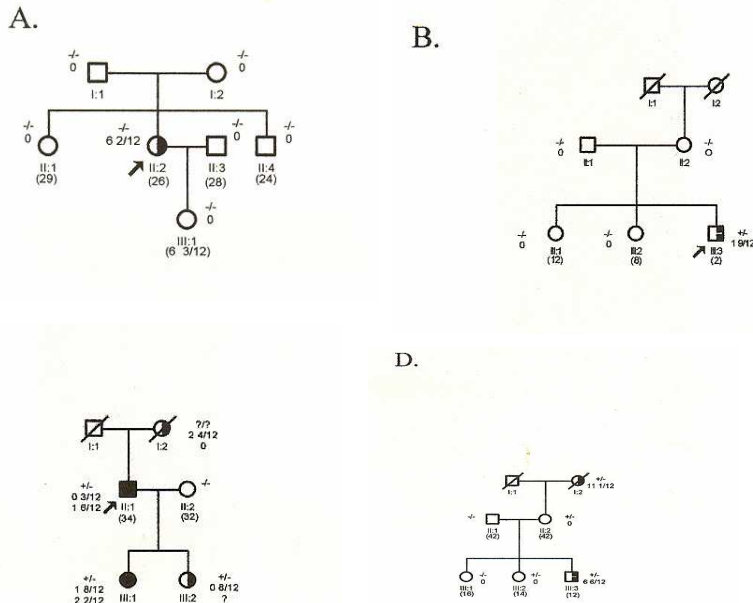
Do chwili wykluczenia predyspozycji genetycznej, wszystkich członków najbliższej rodziny chorego powinniśmy traktować jako potencjalnych nosicieli mutacji. Wiąże się to z koniecznością powtarzania badań dna oka, które u chorego i rodzeństwa powinny być wykonywane co 3 miesiące do 2 r. ż., co 6 m - cy do 5 – 6 r. ż. a następnie corocznie do 15 r. ż. U obojga rodziców chorego i rodzeństwa starszego niż 15 lat, obowiązkowa jest przynajmniej jednorazowa kontrola dna oka w poszukiwaniu *retinoma* (4, 13, 14).

Nie opracowano niestety do chwili obecnej skutecznych zasad postępowania diagnostyczno – profilaktycznego umożliwiającego ukierunkowane, skuteczne przeciwdziałanie innym nowotworom, towarzyszącym S w wieku późniejszym (9).

1. DiCiomino D., Gallie B, Bremner R.: Retinoblastoma: The disease, Gene and Protein Provide Critical Lead to Understand Cancer. *Cancer Biol.* 2000, 10, 255-269.
2. Gallie B.L., Ellsworth R.M., Abramson D.H., Philips R.A.: Retinoma: Spontaneous Regression of Retinoblastoma or Benign Manifestation of Mutation?. *Br J Cancer* 1982, 45, 513 – 521.
3. Murphee A.L., Clark R.D.: Retinoblastoma. In: Emery's and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics. D.L.Rimoin, J.M.Connor, R.E.Pyeritz, B.R. Korf (eds), Churchill - Livingstone, London 2002, Vol.III, 3604-3636.
4. Gallie B. Dunn J., Chan H., Hamel P. A., Philipps R. A.: The Genetics of the Retinoblastoma: Relevance to the Patient." *Paed Clin North Am.* 1991, 38, 299 – 315.
5. Munier F.L., Thonney F., Gardet A., Balmer A., Claustre M., Pellestor F., Senn A., Pescia G., Schorderet D.: Evidence of Somatic and Germinal Mosaicism in Pseudo-Low Penetrant Hereditary Retinoblastoma, by Constitutional and Single Sperm Mutation Analysis. *Am J Hum Genet.* 1998, 63, 1903-1908.
6. Gutkind J.S. (Ed.) Signalling Networks and Cell Cycle Control: The Molecular Basis of Cancer and other Diseases. Humana Press, Champaing, IL, 2000.
7. Xiao B, Spencer J., Clements A. et al.: Crystal Structure of the Retinoblastoma Tumor Suppressor Protein Bound to E2f and the Molecular Basis of its Regulation. *Proc Natl Acad Sci. USA* 2003, 100.
8. Zajączek S.: Ocena konstytucyjnych mutacji genu Rb-1 i niestabilności chromosomów w diagnostyce dziedzicznych postaci i badaniach patogenezы siatkówczaka jednostronnego. Praca habilitacyjna. Pomorska Akademia Medyczna w Szczecinie 1999, 1-80.
9. Abramson D.H. : Second Non-Ocular Cancers in Retinoblastoma: A Unified Hypothesis, *Ophth. Genet.* 1999, 20, 193- 203.
10. Zajączek S., Jakubowska A., Górski B., Kurzawski G., Krzystolik Z., Lubiński J.: Frequency and Nature of germline RB-1 Gene Mutations In a Series of Patients with Sporadic Unilateral Retinoblastoma. *Eur J Cancer* 1999, 35-38.
11. Jakubowska A., Zajączek S., Haus O., Limon J., Kostyk E., Krzystolik Z., Lubiński J.: Novel RB1 Gene Constitutional Mutations Found In Polish patients with familial and/or Bilateral Retinoblastoma, *Hum Mutat.* 2001, 18, 459 – Online Mutations in Brief #456.
12. Zajączek S., Jakubowska A., Kurzawski G., Krzystolik Z., Lubiński J.: Age At Diagnosis to Discriminate those Patients for whom Constitutional DNA Sequencing is appropriate in Sporadic Unilateral Retinoblastoma. *Eur J Cancer* 1998, 34, 1919-1921.
13. Zajączek S.: Genetics of Retinoblastoma in Clinical Practice. *Ann Diagn Paed Pathol.* 2003, 3, 35-39.
14. Zajączek S.: Genetyka siatkówczaka w praktyce klinicznej – przegląd nowych zagadnień. *Okulistyka* 2007, 10, 7-13.
15. Noorani H.Z., Khan H.N., Gallie B.L. Detsky A.s.: Cost Comparison of Molecular vs Conventional Screening of Relatives at Risk for Retinoblastoma. *Am J Hum Genet.* 1996, 59, 301-307.
16. Harbour W.J.: Overview of RB Gene Mutations in Patients with Retinoblastoma. Implications for Clinical Genetics. *Ophthalmology* 1998, 105, 1442-1447.
17. Lohmann D.R., Brandt B., Hopping W., Passarge B., Horsthemke B.: The Spectrum of RB1 Germline Mutations in Hereditary Retinoblastoma, *Am J Hum Genet.* 1996, 58, 940 – 949.
18. Lohmann D.R., Bornfeld N., Horsthemke B., Passarge E.: Retinoblastoma Gene Clinics 2003: <http://www.geneclinics.org/profiles/retinoblastoma/details.html>
19. Richter S., Vendezande K. Chen N., et al.: Sensitive and Efficient Detection of RB1 Gene Mutations Enhances Care for Families with Retinoblastoma. *Am J Hum Genet.* 2003, 72, 253-269.
20. Otterson G., Modi S., Nguyen K., Coxon A., Kaye F.: Temperature Sensitive RB Mutations Linked to Incomplete Penetrance of Familial Retinoblastoma in 12 Families. *Am J Hum Genet.* 1999, 65, 1040-1046.
21. Valverde J.R., Alonso J., Palacios I., Pestana A.: RB1 Gene Mutation Up-to Date: a Meta-Analysis Based on 932 Reported Mutations Available in a Searchable Database. *BMC Genetics* 2005, 6, 53, 1-9 <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/6/53>.
22. Lohmann D.R., Gerick M., Brandt B., Oelschleger U., Lorenz B., Passarge E., Horsthemke: Constitutional RB1 Gene Mutations in Patients with Isolated Unilateral Retinoblastoma. *Am J Hum Genet.* 1997, 61, 282 - 294.
23. Schubert E.L., Strong L.C., Hansen M.F.: A Splicing Mutation in RB1 in Low Penetrance Retinoblastoma. *Hum Genet.* 1997, 100, 557-563.
24. Scheffer H., te Meerman G.J., Kruize Y.C.M., van den Berg A.H.M., Penninga D. Tan K.E.W.P., der Kindereen D.J., Buys H.C.M.: Linkage Analysis of Families with Hereditary Retinoblastoma: Nonpenetrance of Mutation. *Am J Hum Genet.* 1989, 45, 252-260.
25. Klutz M., Bockmann D., Lohmann D.R.: A Parent-of –Origin Effect in Two Families with Retinoblastoma is Associated with a Distinct Splice Mutation in the RB1 Gene. *Am J Hum Genet.* 2002, 71, 174-179.

26. Munier F.L., Thonney F., Gardet A., Balmer A., Claustre M., Pellestor F., Senn A., Pescia G., Schorderet D.: Evidence of Somatic and Germinal Mosaicism in Pseudo-Low Penetrant Hereditary Retinoblastoma, by Constitutional and Single Sperm Mutation Analysis. *Am J Hum Genet.* 1998, 63, 1903-1908.
27. Cowell J.K., Gallie B. L.: Which Retinoblastoma Patients Should be Screened for RB1 Mutations? *Eur J Cancer* 1998, 34, 12, 1825-1826.
28. National Cancer Institute, 2006 – Retinoblastoma Treatment: <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/retinoblastoma/healthprofessional>

Ryc.1. Rodowdy w typowych uwarunkowaniach genetycznych siatkówczaka:



- A. S. sporadyczny bez mutacji konstytucyjnej,
- B. S. sporadyczny w wyniku mutacji konstytucyjnej de novo,
- C. S. dziedziczny w wyniku mutacji konstytucyjnej o wysokiej penetracji,
- D. S. dziedziczny w wyniku mutacji konstytucyjnej o niepełnej penetracji.

Objaśnienia oznaczeń:

- /- wykluczenie mutacji konstytucyjnej
- +/- obecność mutacji konstytucyjnej jednego z alleli
- 3^{2/12} wiek rozpoznania S w latach i miesiącach
- (12) aktualny wiek w latach,



proband z obustronnym S



chora z S jednostronnym/jednoogniskowym



osoba zdrowa