

CAPÍTULO

5.8

Retinoblastoma. Origen y genética

Dèlia Yubero Siles, Laura Martí Sanchez, Diana Salinas Chaparro,
M. Mar Borregán Prats

ORIGEN TUMORAL

Desde 1821, Lerche et al. (1) ya hipotetizaba con la teoría que el retinoblastoma era una enfermedad heredable, con una herencia dominante (1). En 1966, Schappert-Kimmijser et al. (1) teorizó una distinción entre la heredabilidad de los pacientes con retinoblastoma bilateral y unilateral y no fue hasta 1971 cuando Knudson et al. (2) publicó la hipótesis que el retinoblastoma era causado por dos eventos mutacionales en una misma célula, que inactivaría ambos alelos de un gen (fig. 1). Según Knudson, en los casos familiares, el primer evento mutacional sería germinal, tanto heredado por uno de los progenitores o sucediendo *de novo*, mientras que el segundo evento mutacional ocurriría en las células somáticas. En las formas no hereditarias, ambos cambios eran producidos en las células somáticas. En 1983, Cavenee et al. (3) reportó que

ambos cambios estaban situados en un gen localizado en el cromosoma 13q, gracias a varios estudios de pérdidas de heterocigosidad. El gen *RB1* fue identificado como el gen causante de retinoblastoma en 1986 (4).

La inactivación bialélica del gen *RB1* se considera la lesión genética inicial en la mayor parte de retinoblastomas (5,6). Si existe una alteración previa a nivel germinal, la pérdida de heterocigosidad (LOH, siglas en inglés) representa un 50-70% de los segundos eventos mutacionales. Este segundo alelo comúnmente se pierde por procesos que involucran mecanismos cromosómicos como la no-disyunción mitótica, la recombinación mitótica o conversión génica y deleción, que conlleva una LOH en el locus *RB1* (3). Entre otros mecanismos, también se han descrito la cromotripsis (7) y el silenciamiento del gen *RB1* por metilación de su región promotora (8,9).

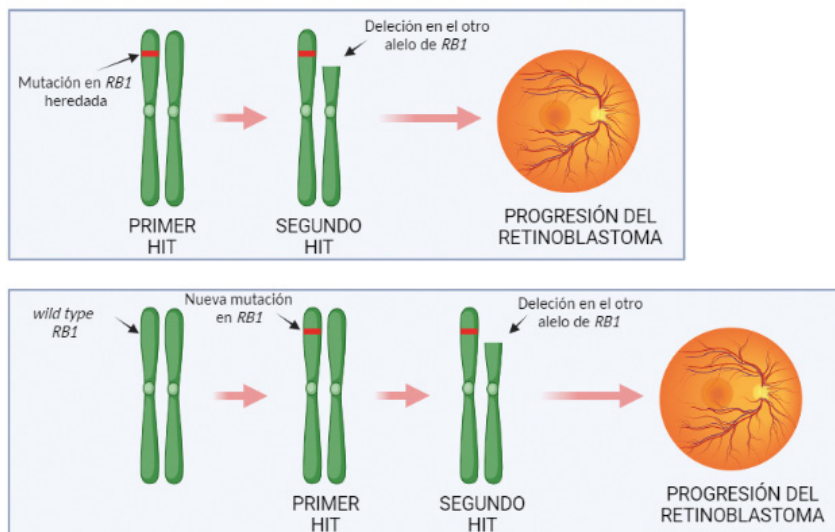


Fig. 1: Modelo de Knudson o doble *hit* para la progresión del retinoblastoma.

Se han realizado numerosas investigaciones para identificar las lesiones genéticas subsiguientes que participan en la inactivación del *RB1* y contribuyen a la progresión tumoral (6). Existen regiones del genoma que se encuentran alteradas de forma recurrente en retinoblastoma (fig. 2), en general cambios en el número de copias detectadas por estudios de citogenómica, que se cree que promueven la tumorigénesis eliminando los genes supresores que limitan la transformación oncogénica. Las alteraciones genómicas descritas en retinoblastoma presentan ganancias de dosis comunes en 1q, 2p y 6p, así como pérdidas de dosis en 16q (10), en cuyas regiones hay genes reconocidos como oncogenes o genes supresores de tumores, como se verá más adelante en este capítulo. A pesar de que las investigaciones más antiguas postulaban que la pérdida de *RB1* conllevaba una inestabilidad cromosómica, estudios más recientes de secuenciación de retinoblastomas demostraron que muchos casos de retinoblastoma presentan cariotipos

normales (10). Por tanto, las alteraciones cromosómicas que se producen en las células tumorales no estarían implicadas directamente en la progresión del tumor, aunque seguramente promueven una ventaja selectiva de crecimiento celular (5). Además de las alteraciones a nivel genómico detectadas en los tumores, se ha demostrado un rol de los cambios epigenéticos en la tumorigénesis del retinoblastoma. El gen *RB1* tiene una función en la organización de la cromatina, la metilación del ADN y modificaciones de histonas (5). Por tanto, el proceso que sucede tras la inactivación del *RB1* es una desregulación epigenética de muchos oncogenes y genes supresores de tumores. Esto sucede con el oncogen *SYK*, que es imprescindible para la supervivencia de las células tumorales, y se encuentra sobreexpresado en retinoblastoma, siendo uno de los posibles conductores de la progresión tumoral, y por tanto diana terapéutica (10). Asimismo, se ha observado que las células cono responden de forma sensible a la inactivación de *RB1*, alterando su

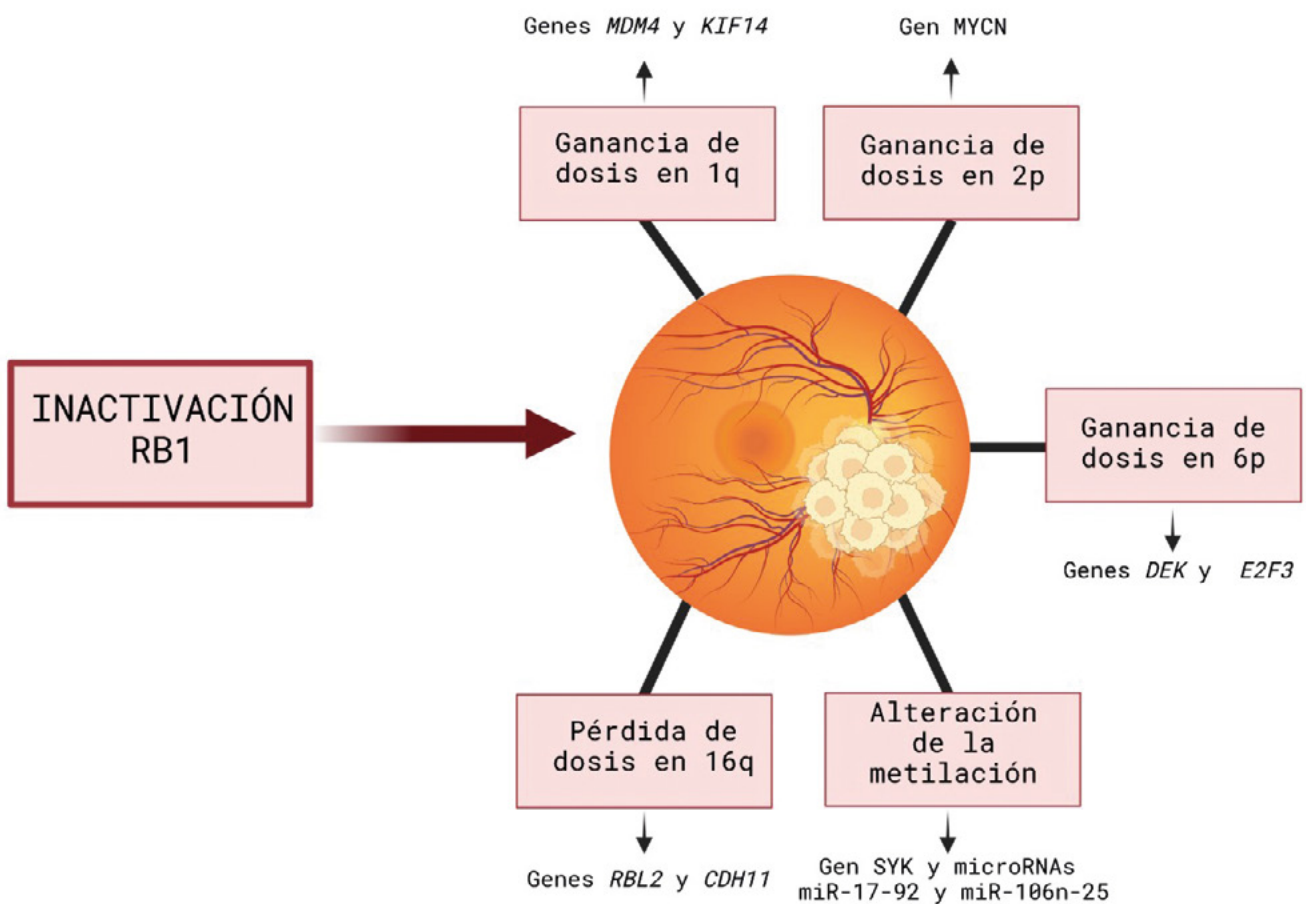


Fig. 2: Alteraciones genéticas detectadas en el retinoblastoma, y genes relacionados con la progresión tumoral.

cascada de señalización específica hacia un papel oncogénico. La suma de la ganancia de inestabilidad genómica más la pérdida de la señalización de los conos hacia un grado menos diferenciado se correlacionan con la progresión de la enfermedad (11). Los estudios de genómica, epigenómica y transcriptómica han sido y siguen siendo imprescindibles para establecer los modelos de progresión tumoral, que son vitales para encontrar dianas terapéuticas.

GEN *RB1* Y MUTACIONES ADICIONALES

El gen *RB1* está localizado en el cromosoma 13q14.1-q14.2 y codifica para la proteína retinoblastoma (RB) de casi 106kDa. Esta proteína no fosforilada participa en la inhibición de la progresión del ciclo celular antes de la entrada en mitosis uniéndose al factor de transcripción E2F (12). Este hecho constituye un punto de control donde la célula no entra en división hasta que se den las condiciones adecuadas y esté preparada para ello. Mutaciones en este gen e inactivación de la proteína RB, conllevan que la célula entre en mitosis descontroladamente eliminando un importante freno de la proliferación celular y se encuentra directamente asociada a la aparición de tumores en distintos órganos, incluyendo el cáncer de ojo, piel, pulmón, mama e hígado (13).

Generalmente, un 90% de los pacientes con retinoblastoma bilateral y en un 10-15% de pacientes con retinoblastoma unilateral presentan mutaciones en el gen *RB1* a nivel germinal (14). Hasta día de hoy, se han reportado más de 2500 cambios patogénicos en dicho gen, entre las que se encuentran cambios puntuales, inserciones/duplicaciones, pequeñas y grandes deleciones que incluyen parte del gen, el gen completo o genes contiguos, y cambios en las regiones reguladoras y de splicing (15). En los últimos años, se han desarrollado múltiples técnicas para evaluar estas regiones y entender mejor la naturaleza y herencia del retinoblastoma. Tradicionalmente, la técnica más utilizada para la detección de mutaciones era la secuenciación Sanger (16,17), pero en la actualidad la secuenciación masiva o de nueva generación (NGS, siglas en inglés) ha permitido detectar la mayoría de las mutaciones en estos pacientes de una forma más eficaz (18). Esta técnica, además

de detectar cambios puntuales y variaciones en el número de copias (CNV, siglas en inglés), permite detectar mosaicismo, cuya incidencia está estimada en un 30% en casos esporádicos bilaterales y 6% en casos unilaterales (19), por lo que optimiza el coste y el tiempo del estudio (20). Además de estas técnicas, los estudios del gen *RB1* se complementan para la detección de grandes deleciones e inserciones mediante MLPA o métodos de hibridación genómica comparada (*array CGH*, siglas en inglés)(21), estudios de las regiones reguladoras e intrónicas y estudios de metilación en el promotor para optimizar el diagnóstico de estos pacientes (15).

Una pequeña proporción de los pacientes con retinoblastoma no presenta cambios patogénicos en el gen *RB1* a nivel germinal. En 2012, Zhang et al. (10) reportaron que el gen *BCOR* es el gen con más cambios patogénicos en retinoblastoma después de *RB1*. Sin embargo, se ha reportado un patrón de pérdidas y ganancias genómicas asociadas a retinoblastoma (ganancias del cromosoma 1q, 2p y 6p y pérdidas en 16q)(22). En estas regiones se encuentran genes con roles oncogénicos que contribuirían al desarrollo del tumor, aunque no se han detectado mutaciones puntuales en ninguno de ellos, por lo que no se consideran como origen del retinoblastoma. Los genes candidatos situados en estas regiones son *MDM4* y *KIF14* en 1q, que codifican una proteína reguladora de *P53* y proteína kinesina oncogénica, respectivamente. En la región 2p se encuentra amplificado *MYCN*. Este gen codifica para un factor de transcripción asociado a neuroblastoma, tumor pediátrico del sistema nervioso periférico (23). Un grupo internacional reportó que un 1,4% de los casos de retinoblastoma unilateral sin mutaciones en *RB1* presentaban amplificaciones en el gen *MYCN* (24). En la región 6q los genes más estudiados son el proto-oncogen *DEK* y el factor de transcripción *E2F3*. Por otro lado, los genes más comunes con menor expresión en 16q en retinoblastoma son *RBL2* y *CDH11*, codificantes de una proteína miembro p130 de la familia del retinoblastoma y la proteína de adhesión cadherina-11, respectivamente. Por último, se han asociado metilaciones alteradas en retinoblastoma que engloban al gen *SYK* (25) y desregulaciones de microRNA, como miR-17-92 y miR-106n-25 (26,27), como en otros cánceres.

PRESENTACIÓN SEGÚN LA GENÉTICA DEL RETINOBLASTOMA (fig. 3)

Retinoblastoma hereditario

Las formas hereditarias de retinoblastoma son aquellas en que la predisposición a tumor es transmisible de forma dominante a través de las generaciones. El gen *RB1* sigue un patrón autosómico dominante, por lo que con una sola copia del gen con una alteración es suficiente para causar un aumento significativo del riesgo de desarrollar un retinoblastoma. Dentro de las formas hereditarias, podemos encontrar casos familiares o heredados, y casos aislados.

En cuanto a las formas familiares, se estima que hasta un 12% de los casos en países desarrollados han heredado una mutación en *RB1* de un padre afecto (28); este porcentaje puede incrementar conforme aumenta el número de supervivientes debido a la mejora en el diagnóstico y los tratamientos. Según un estudio realizado en UK, hasta un 35% de los casos con RB bilateral tenía historia familiar de la enfermedad (29).

En los casos familiares, dado el patrón de herencia dominante, la probabilidad de transmisión a la descendencia de una persona con una alteración en *RB1* es del 50%. El 90% de individuos portadores de una mutación constitucional de *RB1* desarrollan retinoblastoma, dentro de ellos el 60% bilateral y el 30% unilateral; un 10% puede ser asintomático y no desarrollar tumor (30). La existencia de casos unilaterales y asintomáticos se deben a particularidades

propias de genes con patrón dominante, como son la penetrancia y las mutaciones en mosaico.

En la mayoría de casos hereditarios la penetrancia es completa, es decir, todos los individuos con una mutación heterocigota en *RB1* desarrollarán al menos un RB (fig. 4A.), con un número medio de focos de 6 y una edad de debut media de 11 meses (31,37). Suele tratarse de mutaciones que provocan una pérdida de función de *RB1*, generalmente tienen un efecto truncante en la proteína (31). Se han descrito alteraciones en *RB1* con baja penetrancia que pueden ser algunas variantes de tipo *missense* (que provocan intercambio aminoácido), que alteran el procesamiento del RNA (*splicing*), o que afectan la región promotora del gen (31-33). Estas alteraciones pueden, además, en familias con penetrancia completa, comportar una variabilidad de expresión que se traduce en la diferente edad de debut y en el número de focos, este tipo de variantes tienden a tener una presentación unilateral, la edad de debut media es de 22 meses (31) (fig. 4C). Existe también variabilidad fenotípica intra-familiar, se han detectado algunos factores que pueden explicar este fenómeno como son la presencia del polimorfismo rs2279744 en *MDM2* (34) y factores epigenéticos que modifican la impronta y, por tanto, la expresión de *RB1* (35,36).

Los casos hereditarios aislados se deben a una mutación *de novo*, producida de manera generalmente pre-cigótica y que por tanto se presenta de manera constitucional, la presentación clínica dependerá de la naturaleza de la mutación (fig. 4B).

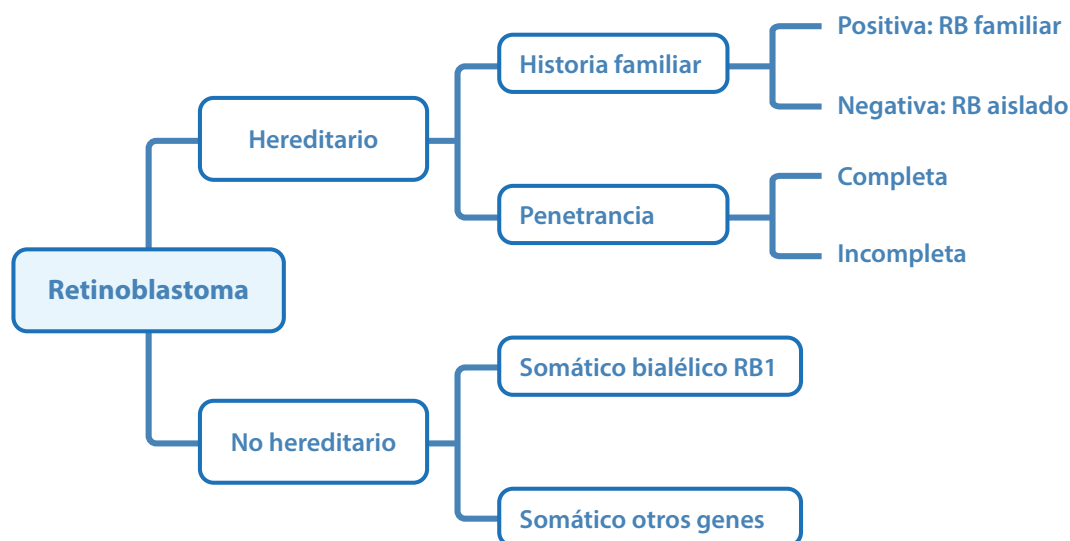


Fig. 3: Presentaciones según la genética del retinoblastoma.

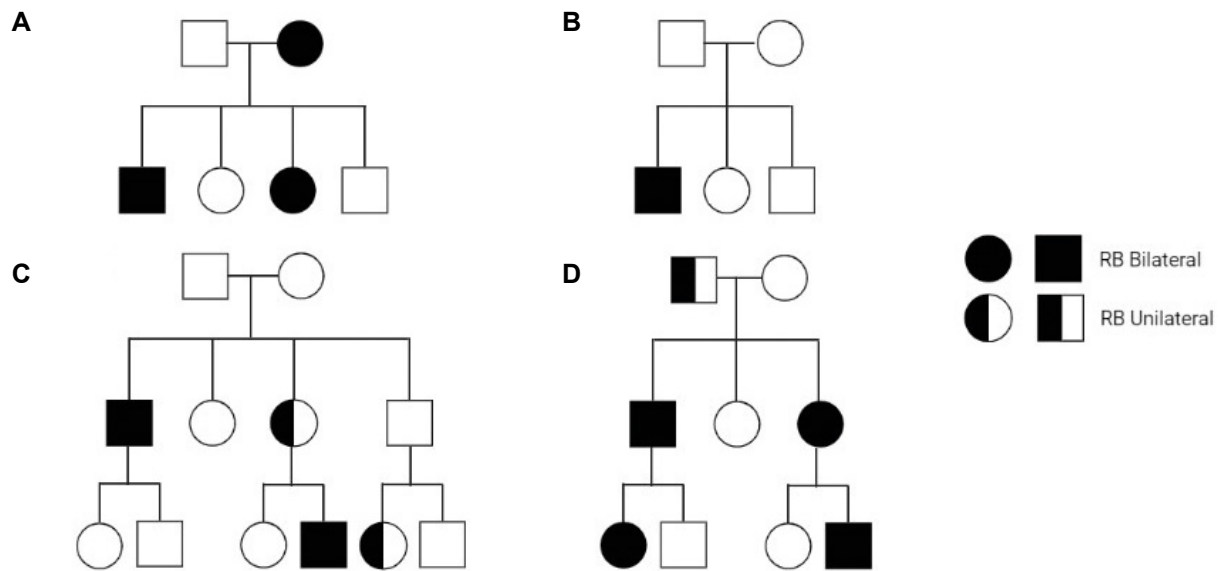


Fig. 4: Ejemplos de árboles genealógicos según presentación. **A.** Familiar bilateral con penetrancia completa. **B.** Aislado hereditario bilateral. **C.** Familiar, penetrancia incompleta y expresividad variable. **D.** Familiar por caso inicial en mosaico.

La mutación en *RB1* se transmitirá a la descendencia de este primer individuo con una probabilidad del 50%. La mayoría de individuos (95%) son heterocigotas para una mutación en *RB1*, el 5% restante, presentan una mutación en mosaico constitucional, debido a una mutación *de novo* producida de manera post-cigótica en estadios tempranos del desarrollo embrionario (*ver apartado Retinoblastoma en mosaico*) que generalmente son de efecto pérdida de función como en las formas familiares; así en familias con penetrancia completa, puede haber un primer caso fundador con una presentación unilateral por mutación en mosaico (fig. 4D)(39).

Retinoblastoma en mosaico

Se estima que alrededor de un 5% de los pacientes que presentan con retinoblastoma bilateral aislado y en algunos casos unilaterales aislados presentan un estado de mosaico para mutaciones en el gen *RB1* (37). En estos individuos la primera mutación en el gen *RB1* no es heredada por vía germinal, sino que se produce de manera somática después de la concepción en estados iniciales del desarrollo intrauterino. Dependiendo del momento en el que se produzca este primer evento mutacional habrá un grupo celular más o menos extenso portador de la mutación derivado de esta primera célula mutada (fig. 5).

Debido a este fenómeno existe la posibilidad de que la proporción de células mutadas en tejidos

como leucocitos de sangre periférica o células de la mucosa bucal sea bajo, y por lo tanto no detectable mediante estudio genético. Sin embargo, no excluye la posibilidad de que la mutación esté presente en células de la retina o en células germinales (esperma/óvulos). En el caso de que las células germinales presenten la mutación, podrán ser transmitidas a la descendencia del individuo afecto. Este hecho dificulta poder establecer una probabilidad específica, aunque se estima inferior/hasta al 50%. En la descendencia de pacientes afectados que han heredado el alelo mutado se observa una probabilidad incrementada de desarrollar un tumor de manera bilateral (38).

Se espera que el número de focos tumorales en estos pacientes sea menor debido a que se reduce el número de grupos celulares que pueden contribuir parcialmente al desarrollo de la retina. Es posible que casos de retinoblastoma familiar con penetrancia completa en los que el primer individuo afecto estuviera afecto de retinoblastoma unilateral y subsecuentes generaciones presentaran con retinoblastoma bilateral se debieran al hecho de que el primer caso fundador se pudiera tratar de un caso de mosaicismo somático (39).

Retinoblastoma no hereditario

Mutación bialélica *RB1*

Los casos de retinoblastoma no hereditario constituyen alrededor del 60% de nuevos diagnós-

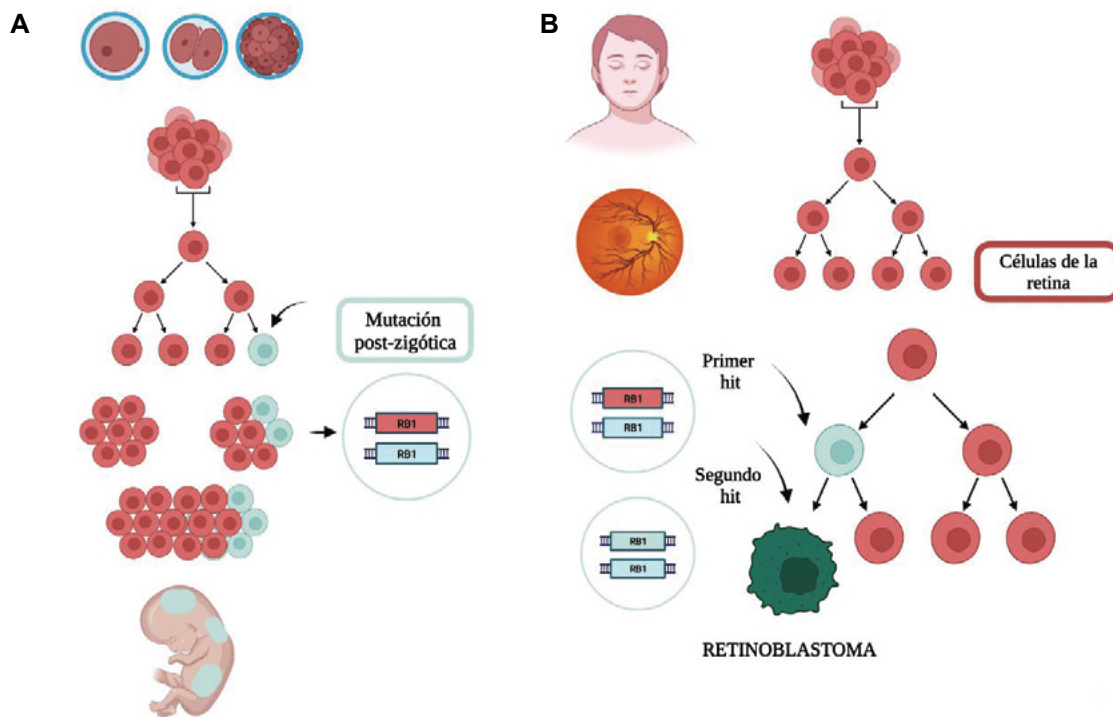


Fig. 5: A. Retinoblastoma en mosaico. B. Retinoblastoma no hereditario por mutación somática bialélica en RB1.

ticos. En la presentación de retinoblastoma unilateral sin historia familiar (aislado) una gran mayoría (97%) son debidos a mutaciones en ambos alelos del gen *RB1* presentes en el tumor, pero no detectables en estudio de ADN de sangre periférica (40). Estas mutaciones bialélicas son originadas de manera somática en los tejidos afectados de la retina (fig. 5). El fenotipo con el que se presentan es unilateral y unifocal con edad media del diagnóstico a los 2 años (41).

En menor frecuencia, inactivaciones del gen *RB1* se pueden deber a otros efectos poco frecuentes como la cromotripsis y otros mecanismos ya mencionados en el apartado *origen tumoral* (42,43).

Sin alteraciones en RB1

En un porcentaje pequeño (3%) de pacientes con retinoblastoma unilateral aislado el estudio tumoral no identifica ninguna mutación en el gen *RB1* (37).

Recientemente se han identificado variantes recurrentes de número de copias (CNV) en tumores de retinoblastoma, lo que lleva a la propuesta de varios genes candidatos más allá de *RB1* tales como *KIF14*, *MYCN*, *DEK*, *E2F3*, *RBL2/p130*, *NGFR*. en-

tre otros (ver apartado *gen RB1 y mutaciones adicionales*) (44,45). Entre ellos están las mutaciones o deleciones somáticas de *BCOR*, que llevarían a la desregulación epigenética y promoverían la progresión de retinoblastoma y se correlacionan con la propensión a la metástasis. El gen *BCOR* localizado en Xp11.4 codifica para el correpresor *BCL6* que es un factor regulador de la transcripción. Las mutaciones *BCOR* están presentes en varias neoplasias malignas. La importancia clínica de estas mutaciones genéticas adicionales todavía es un campo en estudio, junto con el mecanismo específico de la pérdida de *RB1* (45).

La mitad de los casos sin mutación en *RB1* presentan un aumento significativo del número de copias del gen *MYCN* (localizado en el brazo corto del cromosoma 2) en estudio de tejido tumoral (46). En estos casos la presentación clínica se caracteriza por un diagnóstico muy temprano, en los primeros 6 meses de vida, y un comportamiento más agresivo. Los datos actuales sugieren que este tipo de tumores serían entidades distintas sin riesgo de recurrencia para el paciente o sus familiares, sin embargo, el diagnóstico genético de retinoblastoma debido a *MYCN* todavía no ha sido validado y existen casos de tumores con amplificación de *MYCN* y alteraciones en *RB1* (47).

MENSAJES CLAVE A RECORDAR

- La inactivación bialélica de *RB1*, siguiendo el modelo de doble-hit o teoría de Knudson, se considera el mecanismo que explica la mayor parte de retinoblastomas.
- Aunque el abordaje del diagnóstico genético principal actualmente es mediante NGS, cabe considerar otras técnicas sobre todo en los casos bilaterales no filiados por NGS.
- La gran mayoría de retinoblastomas responden a alteraciones genéticas en el gen *RB1*, una pequeña proporción se debe a cambios en otros genes.
- Existen casos hereditarios, que pueden ser familiares o aislados, que siguen un patrón de herencia autosómico dominante, y casos no hereditarios debido a mutaciones bialélicas somáticas.
- Las formas hereditarias pueden, en algunos casos, presentar penetrancia incompleta y expresividad variable, que generalmente responden a alteraciones que no causan una pérdida de función (LOF).

BIBLIOGRAFÍA

- Schappert-Kimmijser J, Hemmes GD, Nijland R. The heredity of retinoblastoma. *Ophthalmologica*. 1966; 151(2): 197-213.
- Knudson AG Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1971 Apr; 68(4): 820-3.
- Cavenee WK, Dryja TP, Phillips RA, Benedict WF, Godbout R, Gallie BL, et al. Expression of recessive alleles by chromosomal mechanisms in retinoblastoma. *Nature*. 1983 Oct 27-Nov 2; 305(5937): 779-84.
- Friend SH, Bernards R, Rogelj S, Weinberg RA, Rapaport JM, Albert DM, et al. A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma. *Nature*. 1986 Oct 16-22; 323(6089): 643-6.
- McEvoy JD, Dyer MA. Genetic and Epigenetic Discoveries in Human Retinoblastoma. *Crit Rev Oncog*. 2015; 20(3-4): 217-25.
- Corson TW, Gallie BL. One hit, two hits, three hits, more? Genomic changes in the development of retinoblastoma. *Genes Chromosomes Cancer*. 2007 Jul; 46(7): 617-34.
- McEvoy J, Nagahawatte P, Finkelstein D, Richards-Yutz J, Valentine M, Ma J, et al. RB1 gene inactivation by chromothripsis in human retinoblastoma. *Oncotarget*. 2014 Jan 30; 5(2): 438-50.
- Greger V, Debus N, Lohmann D, Höpping W, Passarge E, Horsthemke B. Frequency and parental origin of hypermethylated RB1 alleles in retinoblastoma. *Hum Genet*. 1994 Nov; 94(5): 491-6.
- Ohtani-Fujita N, Dryja TP, Rapaport JM, et al. Hypermethylation in the retinoblastoma gene is associated with unilateral, sporadic retinoblastoma. *Cancer Genet Cytogenet*. 1997; 98(1): 43-49.
- Zhang J, Benavente CA, McEvoy J, Flores-Otero J, Ding L, Chen X, et al. A novel retinoblastoma therapy from genomic and epigenetic analyses. *Nature*. 2012 Jan 11; 481(7381): 329-34.
- Kaewkhaw R, Rojanaporn D. Retinoblastoma: Etiology, Modeling, and Treatment. *Cancers (Basel)*. 2020 Aug 16; 12(8): 2304.
- Sachdeva, U.M.; O'Brien, J.M. Understanding pRb: Toward the necessary development of targeted treatments for retinoblastoma. *J. Clin. Investig*. 2012, 122, 425-34.
- Chemes LB, Noval MG, Sánchez IE, de Prat-Gay G. Folding of a cyclin box: linking multitarget binding to marginal stability, oligomerization, and aggregation of the retinoblastoma tumor suppressor AB pocket domain. *J Biol Chem*. 2013 Jun 28; 288(26): 18923-38.
- Chai P, Luo Y, Yu J, Li Y, Yang J, Zhuang A, et al. Clinical characteristics and germline mutation spectrum of RB1 in Chinese patients with retinoblastoma: A dual-center study of 145 patients. *Exp Eye Res*. 2021 Apr; 205: 108456.
- Gudiseva HV, Berry JL, Polski A, Tummina SJ, O'Brien JM. Next-Generation Technologies and Strategies for the Management of Retinoblastoma. *Genes (Basel)*. 2019 Dec 11; 10(12): 1032.
- Frenkel S, Zloto O, Sagi M, Fraenkel A, Pe'er J. Genotype-phenotype correlation in the presentation of retinoblastoma among 149 patients. *Exp Eye Res*. 2016, 146, 313-317.
- Lohmann, D.R.; Gallie, B.L. Retinoblastoma. In *GeneReviews*((R)); Adam, M.P., Ardinger, H.H., Pagon, R.A., Wallace, S.E., Bean, L.J.H., Stephens, K., Amemiya, A., Eds.; University of Washington, 1993.
- Devarajan, B.; Prakash, L.; Kannan, T.R.; Abraham, A.A.; Kim, U.; Muthukkaruppan, V.; et al. Targeted next generation sequencing of RB1 gene for the molecular diagnosis of Retinoblastoma. *BMC Cancer* 2015, 15, 320.
- Chen Z, Moran K, Richards-Yutz J, Toorens E, Gerhart D, Ganguly T, et al. Enhanced sensitivity for detection of low-level germline mosaic RB1 mutations in sporadic retinoblastoma cases using deep semiconductor sequencing. *Hum Mutat*. 2014 Mar; 35(3): 384-91.
- Grotta, S.; D'Elia, G.; Scavelli, R.; Genovese, S.; Surace, C.; Sirleto, P.; et al. Advantages of a next generation sequencing targeted approach for the molecular diagnosis of retinoblastoma. *BMC Cancer* 2015, 15, 841.
- Jiang, Y.L.; Zhao, Z.Y.; Li, B.R.; Wang, H.; Yu, E.D.; Ning, S.B. STK11 gene analysis reveals a significant number of splice mutations in Chinese PJS patients. *Cancer Genet*. 2019, 230, 47-57.
- Kooi IE, Mol BM, Massink MP, de Jong MC, de Graaf P, van der Valk P, et al. A Meta-Analysis of Retinoblastoma Copy Numbers Refines the List of Possible Driver Genes Involved in Tumor Progression. *PLoS One*. 2016 Apr 26; 11(4): e0153323.
- Ruiz-Pérez MV, Henley AB, Arsenian-Henriksson M. The MYCN Protein in Health and Disease. *Genes (Basel)*. 2017 Mar 30; 8(4): 113.
- Rushlow DE, Mol BM, Kennett JY, Yee S, Pajovic S, Thériault BL, et al. Characterisation of retinoblastomas wi-

- thout RB1 mutations: genomic, gene expression, and clinical studies. *Lancet Oncol.* 2013 Apr; 14(4): 327-34.
25. Benavente CA, Dyer MA. Genetics and epigenetics of human retinoblastoma. *Annu Rev Pathol.* 2015; 10: 547-62.
 26. Singh U, Malik MA, Goswami S, Shukla S, Kaur J. Epigenetic regulation of human retinoblastoma. *Tumour Biol.* 2016 Nov; 37(11): 14427-14441.
 27. Conkrite K, Sundby M, Mukai S, Thomson JM, Mu D, Hammond SM, et al. miR-17~92 cooperates with RB pathway mutations to promote retinoblastoma. *Genes Dev.* 2011 Aug 15; 25(16): 1734-45.
 28. Chantada, G.L., Dunkel, I.J., Qaddoumi, I., Antoneli, C.B., Totah, A., Canturk, S., et al. (2009), Familial retinoblastoma in developing countries. *Pediatr. Blood Cancer*, 53: 338-342.
 29. MacCarthy A, Birch JM, Draper GJ, Hungerford JL, Kingston JE, Kroll ME, et al. Retinoblastoma in Great Britain 1963-2002. *British Journal of Ophthalmology* 2009; 93: 33-37.
 30. Gallie B, Erraguntla V, Heon E, et al. Retinoblastoma. In: Taylor D, Hoyt C, eds. *Pediatric Ophthalmology and Strabismus*. 3rd ed. London: Elsevier; 2004: 486-504.
 31. Dietmar R. Lohmann; Brenda L. Gallie (2004). Retinoblastoma: Revisiting the model prototype of inherited cancer, *129C(1)*, 23-28.
 32. Huang Q, Dryja TP, Yandell DW. Distinct Rb gene point mutations in families showing low penetrance of hereditary retinoblastoma. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 1998; 15(3): 139-42.
 33. Lohmann DR, Brandt B, Hopping W, et al. Distinct RB1 gene mutations with low penetrance in hereditary retinoblastoma. *Hum Genet.* 1994;94(4): 349-54.
 34. Laurent Castéra, Audrey Sabbagh, Catherine Dehainault, Dorothée Michaux, Audrey Mansuet-Lupo, Blandine Patillon, et al. MDM2 as a Modifier Gene in Retinoblastoma, *JNCI: Journal of the National Cancer Institute.* 2010;102, 23, 1805-1808.
 35. Kanber D, Berulava T, Ammerpohl O, Mitter D, Richter J, et al. (2009) The Human Retinoblastoma Gene Is Imprinted. *PLOS Genetics* 5(12): e1000790.
 36. Eloy P, Dehainault C, Sefta M, Aerts I, Doz F, et al. (2016) A Parent-of-Origin Effect Impacts the Phenotype in Low Penetrance Retinoblastoma Families Segregating the c. 1981C>T/p.Arg661Trp Mutation of RB1. *PLOS Genetics* 12(2): e1005888.
 37. Munier FL, Beck-Popovic M, Chantada GL, Cobrinik D, Kivelä TT, Lohmann D, et al. Conservative management of retinoblastoma: Challenging orthodoxy without compromising the state of metastatic grace. «Alive, with good vision and no comorbidity». *Prog Retin Eye Res.* 2019 Nov; 73: 100764. Epub 2019 Jun 5. Erratum in: *Prog Retin Eye Res.* 2020 Apr 8; 100857.
 38. Draper GJ, Sanders BM, Brownbill PA, Hawkins MM. Patterns of risk of hereditary retinoblastoma and applications to genetic counselling. *Br J Cancer.* 1992 Jul; 66(1): 211-9.
 39. Sippel KC, Fraioli RE, Smith GD, Schalkoff ME, Sutherland J, Gallie BL, et al. Frequency of somatic and germ-line mosaicism in retinoblastoma: implications for genetic counseling. *Am J Hum Genet.* 1998 Mar; 62(3): 610-9.
 40. Schüller A, Weber S, Neuhäuser M, Jurklics C, Lehnert T, Heimann H, et al. Age at diagnosis of isolated unilateral retinoblastoma does not distinguish patients with and without a constitutional RB1 gene mutation but is influenced by a parent-of-origin effect. *Eur J Cancer.* 2005 Mar; 41(5): 735-40.
 41. Goddard AG, Kingston JE, Hungerford JL. Delay in diagnosis of retinoblastoma: risk factors and treatment outcome. *Br J Ophthalmol.* 1999 Dec; 83(12): 1320-3.
 42. Zhang CZ, Spektor A, Cornils H, Francis JM, Jackson EK, Liu S, Meyerson M, Pellman D. Chromothripsis from DNA damage in micronuclei. *Nature.* 2015 Jun 11; 522(7555): 179-84.
 43. McEvoy J, Nagahawatte P, Finkelstein D, et al. RB1 gene inactivation by chromothripsis in human retinoblastoma. *Oncotarget.* 2014 Jan 30; 5(2): 438-50.
 44. PDQ® sobre el tratamiento pediátrico. PDQ Características genómicas de los cánceres infantiles. Bethesda, MD: National Cancer Institute. <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/infantil/genomica-infantil-pro-pdq>. Last access 20/10/2022.
 45. Francis JH, Richards AL, Mandelker DL, Berger MF, Walsh MF, Dunkel IJ, et al. Molecular Changes in Retinoblastoma beyond RB1: Findings from Next-Generation Sequencing. *Cancers (Basel).* 2021 Jan 5; 13(1): 149.
 46. Rushlow DE, Mol BM, Kennett JY, Yee S, Pajovic S, Thériault BL, et al. Characterisation of retinoblastomas without RB1 mutations: genomic, gene expression, and clinical studies. *Lancet Oncol.* 2013 Apr; 14(4): 327-34.
 47. Berry JL, Xu L, Kooi I, Murphree AL, Prabakar RK, Reid M, et al. Genomic cfDNA Analysis of Aqueous Humor in Retinoblastoma Predicts Eye Salvage: The Surrogate Tumor Biopsy for Retinoblastoma. *Mol Cancer Res.* 2018 Nov; 16(11): 1701-1712.