

Nordiske retningslinjer for utredning og behandling av Retinoblastomer

Utarbeidet ved NOPHO - RB, sitt møte i Oslo 14 – 15/4 – 2016

Innledning

Retinoblastom är den vanligaste barnögoncanceren och drabbar cirka en på 14 000 levande födda barn (1).

Nordisk retinoblastom gruppe er en gruppe innen Nordisk Pediatrisk Hematologi Onkologi Organisasjon (NOPHO) som gjennom de senere årene har holdt årlige møter for å utveksle erfaringer om behandlinger m. m av pasienter med retinoblastom. Det er en sjelden sykdom med kun få nye pasienter årlig, så vidensdeling i en store kreds, hvor foreholdende er meget ens, har været udbytterigt. I gruppen har deltaget de der er involveret i behandling mm i Norge Sverige og Danmark.

Den foreliggende retningslinje er nedskrevet som en vejledning til undersøgelse og behandling. Der kan være mange forhold der betinger at det gøres anderledes i de enkelte lande og med den enkelte patient.

Primær undersøgelsen

Ved begrundet mistanke om retinoblastom er der indikation for øjenundersøgelse i generel anæstesi indenfor dage, højest en uge.

Øjenundersøgelsen består af en vanlig vurdering af ekstra og intraokulære forhold. Der foretages ultralydsscanning og foto dokumentation.
Biopsi er kontraindicert.

Efterfølgende foretages MR scanning af orbita og hjerne for at bestemme afgrænsningen af sygdommen og undersøgelse om der er trilateral retinoblastom.

Der tages perifert blod til genetisk undersøgelse. Se Appendiks A: **Genetisk udredning**

Ved udtalt sygdom hvor der kan være mistanke om metastaserende sygdom foretages undersøgelse af spinalvæske og knoglemarv. Samt yderligere undersøgelse hvor dette er indicert.
Histologisk undersøgelse af enucleeret øje kan også give anledning til systemisk undersøgelse hvis der er udtalte tumorindvækst i choroidea, bag lamina cribosa og ved gennemvækst.

Ved afslutningen af undersøgelse kan sygdommen klassificeres og behandlingsplan lægges.

För närvarande används tre olika klassifikationssystem. Reese-Ellsworth introducerade 1958 ett klassifikationssystem som var baserat på behandling med enukleation och strålning. När behandlingen mer övergick till kemoterapi och lokal behandling har det internationella klassifikationssystemet mer kommit i bruk (IIRC International Intraocular Retinoblastoma Classification). Dessutom används det amerikanska klassifikationssystemet, TNM (cancer tumor, Node Metastases) som har blivit modifierat efter IIRC.
Se Appendiks B: **Klassifikation**.

Behandling

Introduktion

Sjukdomen är allvarlig utan behandling men om sjukdomen upptäcks i tid och behandlingen sköts av multidisciplinära team och med senaste teknologi kan > 95 % av barnen framgångsrikt behandlas. Barnets överlevnad är den främsta målsättningen men att kunna behålla det drabbade ögat, bibehålla god synfunktion samt erhålla god kosmetik är också viktigt, men dessa faktorer måste komma i andra hand och överlevnaden hos barnet i första hand.

Klassificering

Klassificering av sjukdomen är viktig för att kunna bestämma vilken behandling som är mest lämplig för det aktuella barnet och också för att kunna förutsäga behandlingsutfallet.

Ögonbehandling

För att kunna bestämma vilken behandling som krävs ska barnet undersökas i narkos med vidgade pupiller.

Enukleation

Om det endast finns tumör i ett öga och tumören täcker synnerven alternativt man bedömer att någon synpotential ej finns är kirurgiskt avlägsnande av ögat ett bra alternativ. Vid uttalad tumörväxt i ett öga kan ögat enukleeras och preoperativ cytostatikabehandling kan ibland övervägas. Enukleation kan också användas om all annan typ av behandling misslyckats eller om det föreligger en total näthinneavlossning, en fullständigt opak glaskropp eller att glaskroppen är helt fylld med hema.

Systemisk kjemoterapi

Den vanligste kombinasjonen av kjemoterapi er; Vinkristin, Etoposid og Carboplatin (VEC), som i de nordiske landene utgjør førstelinje når systemisk behandling er indisert. Som Second- linje brukes ofte kombinasjonen Vinkristin, Doxrubicin og Ifosfamid (VDI, IVAd). Som tredje linje kan man prøve kombinasjoner som inneholder Topotekan.

Se Appendiks C: **Systemisk kjemoterapi for barn med RB.**

Intraarteriell cytostatikabehandling (IACT)

På senere år har en modifierade metod av selektiv intraarteriell infusionsteknik utvecklats vilket innebär att man kan utföra en super-selektiv kateterisering av arteria ophthalmica och injicera kemoterapi direkt via en mikrokateter. Vanligvis används Melphalan som ges i pulser under 30 minuter, men andra cytostatika kan också användas. Behandlingen används då tumörstorleken är sådan att lokalbehandling inte går att utföra, då man vill undvika systemisk cytostatikabehandling samt när det bedöms finnas synpotential på ögat. Barnen ska eventuellt inför behandlingen få en central infart (CVK) inopererad. Behandlingen innebär att man kan ge högre doser direkt till tumören utan att risken för systembiverkningar ökar. Behandlingen utförs av neurointerventionister för att behandlingen ska kunna utföras på ett säkert sätt men trots detta är behandlingen förknippad med en del biverkningar

Fokal behandling

Laserbehandling eller kryobehandling är båda effektiva vid behandling av små tumörer (tex grupp A) och vid tumörrest efter tidigare given cytostatika. Fokalterapi har bäst effekt om det ges regelbundet var 3-4 vecka. Målet är att tumörerna ska bli helt inaktiva, platta, pigmenterade ärr.

Kryobehandling

Till behandlingen används en transskleral kryoprob som kyls med kväveoxid. Varje område behandlas två eller tre gånger och ger upphov till tumör - och chorioidalskada. Kryobehandling används i första hand för behandling av små retinoblastomtumörer i periferin eller för små recidiv i periferin. Tumören visualiseras via indirekt oftalmoskopi eller funduskamera och sklera under tumören impremeras med kryoproben.

Laserbehandling

Laserkoagulering används som behandling av små tumörer, resttumör efter cytostatikabehandling och vid tumörrecidiv framförallt av tumörer bakom ekvatorn. Till behandlingen används en infraröd 810 nm diodlaser. Helst resulterar behandlingen i ett platt pigmenterat skleralt ärr. Laserbehandlingen kan ge biverkningar i form av brännskador på iris, deformerad pupill och katarakt om behandlingen ges genom otillräckligt vidgad pupill samt andra.

Intravitreal cytostatikabehandling

Återkommande eller kvarstående tumörceller i glaskroppen efter behandling är en komplikation som tidigare oftast resulterade i extern strålbehandling eller enukleation. Numera kan man ge injektion med cytostatika direkt in i glaskroppen. Det läkemedel som används är i första hand Melphalan. Dosen som ges är vanligtvis 30 µg varje vecka och behandlingen upprepas tills glaskroppen är fri från tumörceller, vanligtvis ges cirka 5 injektioner. Komplikationerna är framförallt skador på retina där läkemedlet injicerats och kataraktutveckling.

Brachyterapi

Vid behandling av enstaka tumörer som är för stora för behandling med kryobehandling eller laser kan behandling med strålapplicator ske. Vid behandlingen används strålapplicatorer laddade med Rutenium. Dosen som ges är 40-45 Gy på tumörapex. Behandlingen ger oftast en mycket god effekt förutsatt att strålapplicatorn placerats rakt över tumörområdet.

Extern strålbehandling (EBRT)

Retinoblastom är strålkänsliga (2) och extern strålbehandling användes tidigare som första hands behandling men används idag framförallt när annan behandling ej varit tillräcklig.

Efter primær behandling

Øye oppfølging med undersøkelse i narkose

Intervallet av undersøkelsene er svært individuell og avhenger av tumors beliggenhet og det kliniske forløp. Eksempel på oppfølgingsprogram kan være som nedenfor stående:

- 1. År etter diagnose: minimum hver 3.-4. uke
- 2. År etter diagnose: minimum hver 6. uke og fra 18 måneder hver 8. uke
- 3. År etter diagnose: minimum hver 10.-12. uke
- 4. År etter diagnose: minimum hver 16. uke
- 5. År etter diagnose: minimum hver 6. måned evt poliklinisk

Regelmessig poliklinisk kontroll av refraksjon og visus mellom undersøkelser i narkose.

Poliklinisk øyeundersøkelse

Standard øyeundersøkelse foretas i full dilatasjon og inkluderer visus i tillegg til kontroll av protese og øyehulen

- Fra 6-15 år: minst 1 gang per år
- Etter 15 år: hvert 2.-3. år resten av livet

Ikke oftalmologisk oppfølging etter avsluttet behandling med systemisk kjemoterapi

Introduktion

Patienter som erhallit cytostatikaterapi mot retinoblastom risikerer som en följd av detta att drabbas av påverkade organfunksjoner, vars karakter og grad bl.a. relaterer till den givna cytostatikaterapins utformning. Patienter med retinoblastom løper også, oavsett givne terapi, økad risk att drabbas av en andra malignitet (SMN); både cytostatikaterapi og økar denna risk. Sammantaget bedøms ovanstående motivera livslång oppfølging. Nedan ges riktlinjer for sådan oppfølging, som bl.a. baseras på de kanadensiske riktlinjer som publicerades 2009 (9).

Organfunksjonskontroller

Olika cytostatikakombinationer anvendes for systemisk behandling av barn med retinoblastom. Den i sårklass vanligaste kombinationen globalt er Vinkristin, Etoposid og Carboplatin (VEC), som i de Nordiske lårnderna utgør forstahandsvalet, når systemisk behandling bedøms indicerad. Vid inoptimal effekt av VEC anvendes ofta kombinationen Vinkristin, Doxorubicin og Ifosfamid (VDI, IVAd) som second-line behandling. I de sårlynte fall ett tredje alternativ er motiverat, provas ofta någon kombination som inkluderer Topotekan. Behandlingen av extra-okulære retinoblastom inkluderer ibland høgdosbehandling med stamcellsåterføring, vilket utifrån ingående cytostatika økar riskerna for organotoxicitet, men denna situation omfattas inte av nedanstående rekommendationer.

Efter behandling med VEC er det i forste hand hørsel og njurfunksjon som kan påverkas av Carboplatin, med risk for bestående funksjonsnedsåttning. Behandling med Doxorubicin kråver oppfølging av hjårtfunksjonen, og behandling med Ifosfamid av njurfunksjonen. Bestående neurologiske funksjonsbortfall sekundært till behandling med Vinkristin er så pass sårlynt, att generell riktad oppfølging avseende detta inte rekommenderas.

Oppfølging av organfunksjoner efter systemisk cytostatikaterapi rekommenderas forlga eksisterende nasjonelle riktlinjer. I Appendix 1 exemplifieras sådan oppfølging med de svenske minimirekommendationerna enligt SALUB (Svenske Arbetsgruppen for LångtidsOppfølging efter Barncancer, www.blf.net).

Kontroller avseende ny malignitet

Risken for en andra malignitet (SMN) efter att ha drabbats av retinoblastom er økad, åven i avsaknad av familjeanamnes (10, 11). Behandling med cytostatika resp. stråling bidrar var for sig till økning av denna risk (11-13). Bland SMN hos patienter behandlade mot retinoblastom finns vitt skilda tumørtyper (11-17). Tidigt opptråder mjukdelssarkom (rahbdomyosarkom), særskilt hos

strålbehandlade barn, hos ungdomar skelettsarkom (osteosarkom) och hos vuxna är risken påtagligt ökad för att utveckla malignt melanom i huden. Det är klarlagt att SMN bidrar till mortalitet hos dessa patienter (18), men inte huruvida riktad screening kan bidra till att minska denna mortalitet (19).

Risken för SMN ska föräldrar allmänt informeras om, men informationen behöver också framföras till patienten, när hon/han blir så gammal, att informationen kan tas emot på ett ändamålsenligt sätt. Så länge evidens för nytta av screening för SMN hos dessa patienter saknas, anser gruppen att de viktigaste åtgärderna är:

1. Varje enskild patient ska ha erhållit och förstått information kring risken de löper att utveckla SMN
2. Varje enskild patient ska ha erhållit och förstått information kring vanliga debutsymptom för de tumörformer som oftast uppträder som SMN (20)
3. Varje enskild patient bör ha en etablerad onkologisk kontakt (< 18 år barnonkolog, > 18 år vuxenonkolog) dit de kan vända sig vid tumörmisstänkta symptom
4. Varje enskild patient bör erbjudas regelbundna kliniska kontroller hos sin onkologiska kontakt livet ut, förslagsvis årligen < 18 år och vart annat år > 18 år
5. Då strålning ökar risken för SMN, ska inte patienten i oträngt mål genomgå radiologiska undersökningar som innebär strålningsexposition (t.ex. datortomografi) utan rekommenderas strålningsfria alternativ (t.ex. magnetkameraundersökning), då dessa utgör ett realistiskt alternativ i given klinisk situation!

De onkologiska kontakterna bör uppmuntras att erbjuda sina patienter inklusion i kontrollerad uppföljningsstudie, så snart någon sådan finns tillgänglig!

Se Appendiks D: Minimirekommendationer **för uppföljning efter systemisk cytostatikaterapi enligt SALUB.**

Screening for Retinoblastom

Børn med øget risiko for udvikling af retinoblastom har behov for screening, således at eventuel sygdom kan opdages på et tidligt tidspunkt. Det er vist, at tidlig diagnose af retinoblastom medfører mindre udbredt sygdom, og hermed færre enukleationer og mindre brug af ekstern bestråling (6). Det er vist, at børnene bør screenes, indtil de bliver 4 år (7, 8).

Screeningsintervallerne for retinoblastom afhænger af det enkelte barns risiko for at have sygdommen.

Ved screeningsundersøgelserne af barnet er det nødvendigt at se nethindens periferi, hvorfor undersøgelse i generel anæstesi oftest er nødvendig.

Se Appendiks E: Screening for Retinoblastom.

De nordiske terningslinjene er utarbejdet av følgende doktorer (i alfabetisk rekkefølge):

Charlotta All-Eriksson, Överläkare, Retinakliniken, Sektionen för onkologi, St.Eriks øgonsjukhus, Helgi David Björnsson Overlege, Øyeavdelingen, OUS – Ullevål, Nils Claussen, Overlæge , Børneavdelingen, Skejby sygehus, Århus Universitets Hospital. Mikkel Funding, Overlæge ph.d. Øjenafdelingen Århus Sygehus, Århus Universitets Hospital, Pernille Axel Gregersen, Afdelingslege, Genetisk avd, Skejby sygehus, Århus Universitets Hospit, Ketil R Heimdal, Overlege, Medisinsk genetikk, OUS – Rikshospitalet, Marlies Hummelen, Overlege, Øyeavdelingen, OUS – Ullevål, Erlend Landsend, Overlege, Øyeavdelingen, OUS – Ullevål, Magnus Nordenskjöld Professor/överläkare Klinisk genetik, Karolinska Universitetssjukhuset, Solna, Niklas Pal, Överläkare, Astrid Lindgren Barnsjukhus, Karolinska Universitetssjukhus, Einar Stensvold, Overlege, Barneklubben, OUS – Rikshospitalet, Steen Fiil Urbak, Overlæge ph.d. Øjenafdelingen Århus Sygehus, Århus Universitets Hospital, Anne Vestli, D – stilling, Barneklubben, OUS – Rikshospitalet, Eva Widing, Overlege, Barneklubben, OUS – Rikshospitalet, Finn Wesenberg, Overlege, Professor, Barneklubben, OUS – Rikshospitalet.

Aarhus v/ Steen Fiil Urbak og Oslo v/ Einar Stensvold

Bilag:

Appendiks A-E samt Appendiks F: NOPHO-riktlinjer, Retinoblastom, systemisk cytostatikaterapi

Referanser

1. Gregersen PA, Urbak SF, Funding M, Overgaard J, Jensen UB, Alsner J. Danish retinoblastoma patients 1943-2013 - genetic testing and clinical implications. *Acta Oncol.* 2016;55(4):412-7.
2. Kim JW, Abramson DH, Dunkel IJ. Current management strategies for intraocular retinoblastoma. *Drugs.* 2007;67(15):2173-85.
3. Yousef YA, Al-Hussaini M, Mehyar M, Sultan I, Jaradat I, AlRawashdeh K, et al. PREDICTIVE VALUE OF TNM CLASSIFICATION, INTERNATIONAL CLASSIFICATION, AND REESE-ELLSWORTH STAGING OF RETINOBLASTOMA FOR THE LIKELIHOOD OF HIGH-RISK PATHOLOGIC FEATURES. *Retina.* 2015;35(9):1883-9.
4. A. M. Intraocular retinoblastoma: the case for a new group classification. *Ophthalmic Oncology, Ophthalmology Clinics of North America.* 2005;18:41-53.
5. Rosengren B, Monge OR, Flage T. Proposal of a new pretreatment clinical TNM-classification of retinoblastoma. *Acta Oncol.* 1989;28(4):547-8.
6. Rothschild PR, Levy D, Savignoni A, Lumbroso-Le Rouic L, Aerts I, Gauthier-Villars M, et al. Familial retinoblastoma: fundus screening schedule impact and guideline proposal. A retrospective study. *Eye (Lond).* 2011;25(12):1555-61.
7. Moll AC, Imhof SM, Meeteren AY, Boers M. At what age could screening for familial retinoblastoma be stopped? A register based study 1945-98. *Br J Ophthalmol.* 2000;84(10):1170-2.
8. Musarella MA, Gallie BL. A simplified scheme for genetic counseling in retinoblastoma. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus.* 1987;24(3):124-5.
9. National Retinoblastoma Strategy Canadian Guidelines for Care: Strategie therapeutique du retinoblastome guide clinique canadien. *Can J Ophthalmol.* 2009;44 Suppl 2:S1-88.
10. Kleinerman RA, Yu CL, Little MP, Li Y, Abramson D, Seddon J, et al. Variation of second cancer risk by family history of retinoblastoma among long-term survivors. *J Clin Oncol.* 2012;30(9):950-7.

11. Wong JR, Morton LM, Tucker MA, Abramson DH, Seddon JM, Sampson JN, et al. Risk of subsequent malignant neoplasms in long-term hereditary retinoblastoma survivors after chemotherapy and radiotherapy. *J Clin Oncol*. 2014;32(29):3284-90.
12. Kleinerman RA, Tucker MA, Tarone RE, Abramson DH, Seddon JM, Stovall M, et al. Risk of new cancers after radiotherapy in long-term survivors of retinoblastoma: an extended follow-up. *J Clin Oncol*. 2005;23(10):2272-9.
13. Turaka K, Shields CL, Meadows AT, Leahey A. Second malignant neoplasms following chemoreduction with carboplatin, etoposide, and vincristine in 245 patients with intraocular retinoblastoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2012;59(1):121-5.
14. Fletcher O, Easton D, Anderson K, Gilham C, Jay M, Peto J. Lifetime risks of common cancers among retinoblastoma survivors. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96(5):357-63.
15. 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.
16. MacCarthy A, Bayne AM, Brownbill PA, Bunch KJ, Diggins NL, Draper GJ, et al. Second and subsequent tumours among 1927 retinoblastoma patients diagnosed in Britain 1951-2004. *Br J Cancer*. 2013;108(12):2455-63.
17. Temming P, Viehmann A, Arendt M, Eisele L, Spix C, Bornfeld N, et al. Pediatric second primary malignancies after retinoblastoma treatment. *Pediatr Blood Cancer*. 2015;62(10):1799-804.
18. Shinohara ET, DeWees T, Perkins SM. Subsequent malignancies and their effect on survival in patients with retinoblastoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2014;61(1):116-9.
19. Friedman DN, Lis E, Sklar CA, Oeffinger KC, Reppucci M, Fleischut MH, et al. Whole-body magnetic resonance imaging (WB-MRI) as surveillance for subsequent malignancies in survivors of hereditary retinoblastoma: a pilot study. *Pediatr Blood Cancer*. 2014;61(8):1440-4.
20. Fragkandrea I, Nixon JA, Panagopoulou P. Signs and symptoms of childhood cancer: a guide for early recognition. *Am Fam Physician*. 2013;88(3):185-92.
21. BL LDG. Retinoblastoma; GeneReviews™. 2013.
22. Knudson AG, Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1971;68(4):820-3.
23. Kleinerman RA, Tucker MA, Abramson DH, Seddon JM, Tarone RE, Fraumeni JF, Jr. Risk of soft tissue sarcomas by individual subtype in survivors of hereditary retinoblastoma. *J Natl Cancer Inst*. 2007;99(1):24-31.
24. Rushlow DE, Mol BM, Kennett JY, Yee S, Pajovic S, Theriault BL, et al. Characterisation of retinoblastomas without RB1 mutations: genomic, gene expression, and clinical studies. *Lancet Oncol*. 2013;14(4):327-34.
25. 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;35(3):384-91.

Bilag

Appendiks A

Genetisk udredning

Introduktion

Retinoblastom skyldes mutation af begge alleler af *RB1* genen, som er et tumor supressor gen. Retinoblastom er arvelig hos ca. halvdelen af patienterne og sporadisk hos den anden halvdel.

Patienter med den arvelige form for retinoblastom har en medfødt germline mutation af det ene allel (first hit), der enten kan være opstået som en nymutation (størstedelen) eller nedarvet fra en forælder (ca. 10 %). Penetransen ved *RBI* mutationer er høj, men der kan ses nedsat penetrans (samlet penetrans ca. 95 %). En mindre andel af de arvelige tilfælde af retinoblastom skyldes mosaicisme for en *RBI* mutation, dvs. mutationen er kun til stede i en vis andel af kroppens celler og væv. Tumor opstår ved en somatisk mutation i det andet allel (second hit, Knudson Two-Hit Hypothesis 1971) (22). Størstedelen af de arvelige tumorer er multifokale og bilaterale og den gennemsnitlige diagnosealder er 15 mdr. Ved den arvelige form for retinoblastom er der desuden en væsentligt forøget risiko for sekundære primære cancere senere i livet (14, 15, 23).

Ved de ikke arvelige, sporadiske tilfælde, er tumor opstået som følge af to somatiske mutationer. Disse er unilaterale og unifokale, og ses oftest senere end de arvelige (gennemsnitlig diagnosealder 24 mdr.). Det er dog vigtigt at understrege, at ca. 15 % af de unilaterale tilfælde er arvelige, hvorfor genetisk undersøgelse som udgangspunkt altid er indiceret.

Det er i 2013 desuden fundet, at amplifikation af oncogenet *MYCN* (i DNA fra tumorbvæv) medfører en ikke-arvelig form for retinoblastom, hvor *RBI* genet ikke er involveret (24). Denne form for retinoblastom er altid unilateral og tilsyneladende mere aggressiv og præsenterer sig tidligere (gennemsnitlig diagnosealder 4-5 mdr.).

Genetisk test – analysevalg + analysestrategi

De genetiske undersøgelser inddeles og betegnes i det følgende mutationsscreening (undersøgelse af hele *RBI* genet) og gentest (undersøgelse for den i familien kendte mutation i *RBI* genet).

En kombination af flg. analyser anvendes i dag (2016) for at opnå en tilstrækkelig høj sensitivitet. Next Generation Sequencing (NGS) indføres i løbet af få år, og denne samt anden ny teknologi vil ændre mutationsscreeningen (25).

- Sekventering (Sangersekventering + NGS)
- Deletion/duplikations undersøgelse (hyppigst MLPA eller kvantitativ PCR)
- arrayCGH eller FISH ved mistanke om større deletioner hos patienter med samtidig forsinket udvikling/dysmorfe træk/syndrommistanke
- Methyleringsundersøgelse (i 10-12 % af tumorerne fra sporadiske, unilaterale patienter er *RBI* promotoren hypermethyleret)
- mRNA undersøgelse (sekventering af cDNA fra blod; detekterer mulige splice site mutationer) bør overvejes i tilfælde, hvor der ikke er påvist mutation ved sekventering
- *MYCN* undersøgelse (amplifikation) bør overvejes ved unilateral sygdom og tidlig diagnosealder (foretages kun på DNA fra tumorbvæv, da ikke arvelig form for retinoblastom)

Det tilstræbes, at der anvendes et akkrediteret laboratorium med høj analysesensitivitet, og som kan levere analyseresultaterne inden for en acceptabel tidshorisont (maksimal svartid 3 mdr.).

Genetisk analyse bør ledsages af klinisk genetisk vejledning.

Prøvetagning:

Hos nyfødte, hvor der ønskes gentest for familiens kendte *RBI* mutation, tilrådes regelret blodprøvetagning efter at barnet har fået sit eget cpr-nr., så proceduren for sikker patientidentifikation kan følges. Det frarådes at tage blod fra navlesnoeren, da der herved er en risiko for maternel kontaminering.

DNA fra tumorvæv: Hvis tumorvæv er tilgængeligt, oprensnes DNA fra tumor. Tumorvæv til DNA oprensning tages fra i forbindelse med enukleation. Som alternativ kan frisk tumorvæv nedfryses mhp. senere DNA oprensning. Det er vigtigt, at det er frisk tumorvæv, der fryses, da DNA kvaliteten ved oprensning fra formalinfikseret tumor/øje eller paraffininstøbt væv er væsentligt dårligere.

Ved bilateral og/eller multifokal sygdom eller familiær forekomst af retinoblastom: DNA fra blod analyseres først (mutationsscreening). Påvises mutation ikke, analyseres DNA fra tumorvæv.

Ved unilateral sygdom og ingen afficerede familiemedlemmer: DNA fra tumorvæv analyseres først. Hvis der påvises mutation(er), analyseres DNA fra blodprøven for samme mutation(er). Hvis der ikke er foretaget operation med enukleation, foretages mutationsscreening på blod.

I de tilfælde, hvor mutation påvises, er der mulighed for prædiktiv/prænatal diagnostik i familien (= *RBI* gentest). Gentest er også mulig i familier med to eller flere syge slægtninge med retinoblastom, selvom *RBI* mutationen i familien ikke er identificeret, da der i disse tilfælde kan laves koblingsanalyse.

Hvem og hvornår bør der tilbydes genetisk undersøgelse?

1. Ved nydiagnosticering (mutationsscreening)
2. Præsymptomatisk ved kendt mutation i familien (gentest)
3. Ved sygdom i familien, men uden tidligere påvist mutation (mutationsscreening)

1. Ved Ny diagnosticering:

Alle patienter med retinoblastom (unilateral, bilateral, multifokal, trilateral) bør tilbydes *RBI* mutationsscreening i forbindelse med eller umiddelbart efter diagnosticering.

2: Præsymptomatisk gentest ved kendt mutation i familien:

Såfremt familiens *RBI* mutation er kendt og påvist i som minimum DNA fra blod, er der mulighed for præsymptomatisk gentest (også kaldet prædiktiv gentest) af familiemedlemmer (især relevant for kommende børn og søskende, men også forældre bør tilbydes gentest, da der ikke er 100 % penetrans). Såfremt *RBI* mutationen i familien er kendt, og familiemedlemmer (børn/søskende m.v.) IKKE har arvet mutationen (= resultat af gentest normalt), har vedkommende ikke en forøget risiko for retinoblastom, og der er ikke grund til kontrol. Forældre til afficerede bør selv ved normalt resultat af gentesten dog tilbydes enkeltstående øjenundersøgelse pga. risiko for retinocytom (obs mosaicisme hos en af forældrene).

Blodprøvetagning til gentest kan ske umiddelbart efter fødslen (IKKE navlesnorsblod, se prøvetagning).

Er familiens *RBI* mutation kendt, vil der også være mulighed for prænatal diagnostik (PND) tidligt i graviditeten (moderkagebiopsi) eller senere i graviditeten (fostervandsprøve), og præimplantations genetisk diagnostik (PGD, også kaldet ægsortering).

Har den afficerede kun fået påvist mutationen i DNA fra tumorvæv og ikke i DNA fra blod, tyder dette på ikke-arvelig sygdom, men lavgradsmosaicisme kan ikke udelukkes, hvorfor efterkommere bør tilbydes gentest for de i tumorvæv fundne mutationer.

3: Ved sygdom i familien, men uden tidligere påvist mutation:

Tidligere behandlede retinoblastopatier, som aldrig har fået lavet genetisk undersøgelse af *RBI* genet, bør tilbydes genetisk vejledning og genetisk undersøgelse af *RBI* genet. Det samme kan gælde patienter, som tidligere er genetisk undersøgt med normalt analyseresultat, da analysesensitiviteten er forbedret i løbet af årene. Hvorvidt den genetiske undersøgelse bør gentages, afhænger blandt andet af, hvor længe siden pt. tidligere er genetisk undersøgt. Såfremt der fortsat ikke kan påvises mutation i familien, kan man overveje at tilbyde børn af afficerede retinoblastopatier mutationsscreening pga. risikoen for mosaicisme hos den afficerede forælder. Normalt analyseresultat ved gentagen analyse udelukker således ikke arvelig form for retinoblastom, da analysesensitiviteten ikke er 100 %, og da der som ovenfor nævnt kan være tale om mosaicisme hos den afficerede (lavgradsmosaicisme i DNA fra blod kan være svært at detektere ved Sangersekventering).

Klinisk genetisk vejledning

Formålet med den genetiske rådgivning er at sikre, at den afficerede, forældre, søskende og/eller andre familiemedlemmer er tilstrækkeligt informeret om sygdommens mulige arvelige karakter,

herunder fremtidige helbredsmæssige risici (forøget risiko for sekundære primære cancere), relevante forholdsregler samt forskellige reproduktive muligheder ved familieførøgelse (herunder PND og PGD).

Familien bør tilbydes genetisk rådgivning i forbindelse med diagnosticeringen og den genetiske udredning. Derudover bør familien og patienten selv, efter behov, tilbydes fornyet genetisk rådgivning, som minimum som voksen. Især forud for familieførøgelse er det vigtigt at sikre tilstrækkelig genetisk rådgivning. Det er vigtigt at tilbyde genetisk vejledning til alle retinoblastopatier og deres forældre eftersom der er stor bekymring i disse familier, og genetikken kan være svær for patienter og forældre at forstå.

Forholdsregler og forebyggelse af sekundære primære cancere

Ved den arvelige form for retinoblastom er der en væsentligt forøget risiko for sekundære primære cancere senere i livet, især sarkomer og melanomer men også andre maligniteter. Der er aktuelt ikke et fast kontrolprogram for primære sekundære cancere, men agtpågivenhed ved fysiske symptomer og tegn tilrådes, se afsnittet om «Kontroller afseende ny malignitet», denne vejleder side 4.

Patientinformation

Der bør udleveres generel skriftlig patientinformation vedr. de generelle genetiske forhold ved retinoblastom. Efter samtykke fra patienten/forældre orienteres den patientens praktiserende læge om diagnose og forløb, og ved den arvelige form ligeledes om den forøgede risiko for sekundære primære cancere senere i livet, så patienten kan få relevant behandling hvis han/hun udvikler symptomer eller tegn på cancer. Derudover kan patienten/forældre få fremsendt et dokument/brev med patient ID og konkret information om resultatet af den genetiske udredning, konsekvenser heraf og fremtidige forholdsregler, der kan anvendes som information ved fremtidige kontakter til sygehusvæsenet.

Appendiks B

Klassifikation

Der er primært 3 klassifikation systemer: Reese-Ellworts, ABCDE – international og TNM. Hvor de to første klassifikationer kun angiver den okulære sygdom. TNM klassifikationer medtager også evt metastasering – staging. De har forskellige fortrin. Det kan være en fordel at bruge alle 3 klassifikationer, da der da kan foretages sammenligning med tidligere publicerede data.

Reese-Ellsworth Classification for Retinoblastoma (3)

Group I

- a. Solitary tumor, less than 4 disc diameters in size, at or behind the equator.
- b. Multiple tumors, none over 4 disc diameters in size, all at or behind the equator.

Group II

- a. Solitary tumor, 4 to 10 disc diameters in size, at or behind the equator.
- b. Multiple tumors, 4 to 10 disc diameters in size, all at or behind the equator.

Group III

- a. Any lesion anterior to the equator.
- b. Solitary tumor larger than 10 disc diameters in size behind the equator.

Group IV

- a. Multiple tumors, some larger than 10 disc diameters.
- b. Any lesion extending anterior to the ora serrata.

Group V

- a. Massive tumors involving over half the retina.
- b. Vitreous seeding.

International Classification System for Intraocular Retinoblastoma, ABCDE (4)

Group A

- Small tumors (≤ 3 mm) confined to the retina and >3 mm from fovea and >1.5 mm from optic disk.

Group B

- Tumors >3 mm confined to the retina in any location.
- Clear subretinal fluid ≤ 6 mm from tumor margin.

Group C

- Localized vitreous and/or subretinal seeding (<6 mm in total from tumor margin. If there is more than 1 site of subretinal/vitreous seeding, then the total of these sites must be <6 mm.
- No tumor masses, clumps, or snowballs in vitreous or in the subretinal space.

Group D

- Diffuse vitreous and/or subretinal seeding (≤ 6 mm in total from tumor margin. If there is more than 1 site of subretinal/vitreous seeding, then the total of these sites must be ≤ 6 mm.
- Subretinal fluid >6 mm from tumor margin.

Group E

- No visual potential; OR
- Presence of any one or more of the following:
 - Tumor in the anterior segment.
 - Tumor in or on the ciliary body.
 - Neovascular glaucoma.
 - Vitreous hemorrhage obscuring the tumor of significant hyphema.

- Phthisical or pre-phthisical eye.
- Orbital cellulitis-like presentation.

TNM classification (5)

T (tumor):

- **T0:** no evidence of primary tumor
- **T1:** tumor confined to eye with no optic nerve or choroidal invasion
- **T2:** tumor with minimal optic nerve or choroidal invasion
- **T2a:** tumor superficially invades optic nerve head but does not extend past lamina cribrosa OR tumor exhibits focal choroidal invasion, but not both
- **T2b:** tumor superficially invades optic nerve head but does not extend past lamina cribrosa AND exhibits focal choroidal invasion
- **T3:** tumor with significant optic nerve or choroidal invasion
- **T3a:** tumor invades optic nerve past lamina cribrosa but not to surgical resection line OR tumor exhibits massive choroidal invasion, but not both
- **T3b:** tumor invades optic nerve past lamina cribrosa but not to surgical resection line AND exhibits massive choroidal invasion
- **T4:** tumor invades optic nerve to resection line OR exhibits extraocular extension elsewhere, but not both
- **T4a:** tumor invades optic nerve to resection line but no extraocular extension identified
- **T4b:** tumor invades optic nerve to resection line AND extraocular extension identified

N (lymph nodes)

- **N0:** no regional lymph node involvement
- **N1:** regional lymph node involvement (preauricular, cervical)
- **N2:** distant lymph node involvement

M (metastasis)

- **M0:** no metastasis
- **M1:** metastasis to sites other than CNS
- **M1a:** single lesion
- **M1b:** multiple lesions
- **M1c:** CNS metastasis
- **M1d:** discrete mass(es) without leptomeningeal or CSF involvement
- **M1e:** leptomeningeal or CSF involvement

Appendiks C

Systemisk kjemoterapi for barn med RB

Følgende undersøkelser før oppstart av kjemoterapien bør overveies:

- Klinisk undersøkelse

- Audiometri: Rentone, OAE, evl BRA om man er usikker.
- Nyrefunksjonsundersøkelse: S-kreatinin, GFR (cystatin C eller liknende analyser etter lokale rutiner)
- Innkomstprøver etter lokale blodprøve retningslinjer for utredning av solide tumores, inkl immunitetsstatus.
- Henvisning til genetiske testing og veiledning
- Henvisning til MR orbita – hjerne
- Henvisning til sosionom
- Henvisning til innleggelse av sentralt venekateter (CVK), enten en VAP eller Hickmann
- Om bruk av cardiotoksisk kjemoterapi: EKKO Cor

Systemisk kjemoterapi:

Den vanligste kombinasjonen av kjemoterapi er; Vinkristin, Etoposid og Carboplatin (VEC), som i de nordiske landene utgjør førstelinje når systemisk behandling er indisert. Som Second- linje brukes ofte kombinasjonen Vinkristin, Doxrubicin og Ifosfamid (VDI, IVAd). Som tredje linje kan man prøve kombinasjoner som inneholder Topotekan.

Se videre Appendiks F: NOPHO-riktlinjer, Retinoblastom, systemisk cytostatikaterapi.

Appendiks D

Minimirekommendationer för uppföljning efter systemisk cytostatikaterapi enligt SALUB

A) Behandling med Carboplatin given

Vid terapiavslut:

S-kreatinin, S-cystatin-C, GFR, S-natrium, S-kalium, S-magnesium, S-calcium, S-fosfat, syra-bas, S-alfa-1-mikroglobulin, U-sticka, blodtryck, audiometri

Årliga kontroller (upp till 5 år efter terapiavslut):

S-kreatinin, S-cystatin-C, U-sticka, blodtryck, första året även hörselkontroll

Obs! Små barn (som endast kontrollerats med OAE) skall genomgå audiometri vid 4 års ålder.

B) Behandling med Doxorubicin given

1. Ekokardiografi inom 6 mån efter terapiavslut
2. Ekokardiografi i tidig pubertet
3. Ekokardiografi vid 18 års ålder
4. Om tävlingsidrott på elitnivå: regelbunden kardiologbedömning
5. Flickor: hjärtbedömning i samband med graviditet

C) Behandling med Ifosfamid given

Vid terapiavslut:

S-kreatinin, S-cystatin-C, GFR, S-natrium, S-kalium, S-magnesium, S-calcium, S-fosfat, syra-bas,

S-alfa-1-mikroglobulin, U-sticka, blodtryck

Årliga kontroller (upp till 5 år efter terapiavslut):

S-kreatinin, S-cystatin-C, U-sticka, blodtryck

D) Lever

Vid terapiavslut:

Leverstatus (ASAT, ALAT, bilirubin, ALP, hepatitserologi) - om normalt, ny kontroll endast vid klinisk misstanke om leverpåverkan

Appendiks E

Screening for Retinoblastom

Børn med øget risiko for udvikling af retinoblastom har behov for screening, således at eventuel sygdom kan opdages på et tidligt tidspunkt. Det er vist, at tidlig diagnose af retinoblastom medfører mindre udbredt sygdom, og hermed færre enukleationer og mindre brug af ekstern bestråling (6). Det er vist, at børnene bør screenes, indtil de bliver 4 år (7, 8).

Screeningsintervallerne for retinoblastom afhænger af det enkelte barns risiko for at have sygdommen.

Børnene kan inddeles på følgende måde:

Klinik eller genetisk test	Barnets risiko for at have gendefekten	Barnets risiko for at få sygdommen (penetrans 90 %)	Barnets øgede risiko for sygdom i forhold til baggrundsincidensen ^e
Barnet har kendt gendefekt	100,00 %	90,00 %	ca.18000
En forælder har bilateral eller multifokal unilateral RB	50,00 %	45,00 %	ca. 9000
En forælder har unilateral RB	7,50 % a	6,75 %	ca. 1350
En søskende har bilateral RB	5,00 % b	4,50 %	ca. 900
En søskende har unilateral RB	0,75 % c	0,68 % d	ca. 136

^a 15% har unilateral sygdom og gendefekt: $0,15 \cdot 0,5 = 0,075$

^b 10% har gendefekt uden sygdom (penetrans 90%): $0,1 \cdot 0,5 = 0,05$

^c $0,15 \cdot 0,1 \cdot 0,5 = 0,0075$

^d penetransen er formentligt mindre end 90%

^e Incidensen af RB beskrives som værende mellem 1/15000 til 1/20000 fødsler (0,005%-0,006%)

Ved screeningsundersøgelserne af barnet er det nødvendigt at se nethindens periferi, hvorfor undersøgelse i generel anæstesi oftest er nødvendig.

Baseret på børnenes risiko kan følgende screeningsintervaller eventuelt bruges:

1) Barnet har kendt gendefekt eller en forælder har bilateral/multifokal unilateral RB (6):

Alder	Interval
1 uge	Ses indenfor 8 dage eventuel i generel anæstesi
1 uge – 3 måneder	Ses hver måned eventuelt i generel anæstesi
4 måneder – 18 måneder	Ses hver måned eventuelt i generel anæstesi
19 måneder til 48 måneder	Ses hver 3. måned i generel anæstesi

2) Barnets forælder har unilateral RB eller en søskende har bilateral/unilateral RB (7)

Alder	Interval
1 måned – 3 måneder	Ses hver måned eventuelt i generel anæstesi
4 måneder – 12 måneder	Ses hver 2. måned eventuelt i generel anæstesi
13 måneder – 24 måneder	Ses hver 3. måned i generel anæstesi
25 måneder - 36 måneder	Ses hver 4. måned i generel anæstesi
37 måneder – 48 måneder	Ses hver 6. måned i generel anæstesi

Appendiks F

NOPHO-riktlinjer, Retinoblastom, systemisk cytostatikaterapi

Introduktion

Rapporter om systemisk cytostatikaterapi till barn med retinoblastom (Rb) finns sedan början av 1950-talet (1). Primärt svårtolkade resultat p.g.a. samtidig strålterapi, få patienter och avsaknad av kontrollerade studier. Användes främst vid extraokulär tumör, men beskrivet även vid intraokulär tumör. Fram till 1970-talet finns flera publikationer kring behandling med trietylenmelamin (TEM), som dock från mitten av 1960-talet successivt tycks ha ersatts med cyklofosamid, ofta i kombination med andra cytostatika, t.ex. vinkristin, doxorubicin, actinomycin-D, cytarabin, hydroxyurea, 5-fluoruracil, methotrexate, klorambucil, DTIC och CCNU.

Under 1970-talet finns några europeiska rapporter om att kombinationen vinkristin och cyklofosamid administrerat innan enukleation/strålterapi gav dokumenterad regress av intraokulärt Rb. Motsvarande effekt uppnåddes i USA med kombinationen vinkristin, cyklofosamid och doxorubicin.

I slutet av 1980-talet rapporterades från London om 11 barn med metastatiskt Rb, som 1970-1984 behandlats med cytostatika systemiskt; 10 barn behandlades med OPEC (Vinkristin, Cisplatin, Etoposid, Cyklofosamid) och 1 barn med Vinkristin och Cyklofosamid (2). Alla barn dog visserligen av sin tumorsjukdom, men jämfört med 13 barn i motsvarande situation som inte fick cytostatika, så levde de behandlade barnen signifikant längre.

I början av 1990-talet började man spekulera i att den ändamålsenliga rollen för systemisk cytostatikaterapi vid behandling av Rb skulle vara att öka effektiviteten av lokala behandlingsmodaliteter (3).

Vinkristin, Etoposid, Carboplatin (VEC)

Den dokumenterade effekten av OPEC enligt ovan drogs nytta av i London, när man modifierade cytostatikakombinationen, för att minska dess toxicitet. Vinkristin och Etoposid behölls, medan Cisplatin skiftades till den mindre toxiska platinaföreningen Carboplatin. Alkyleraren Cyklofosamid, det dittills enskilt mest använda läkemedlet vid systemisk cytostatikaterapi mot Rb, ströks, i första hand utifrån indikationer på att det signifikant skulle kunna öka risken för en andra malignitet (SMN) (4).

Vid ett möte 1994 rapporterade Judith Kingston och medarbetare att cytostatika-kombinationen VEC givet innan strålterapi mot Rb bidragit till nästan 50 % högre andel räddade ögon (5). Två år senare rapporterades, sida vid sida i samma tidskrift, framgångsrik behandling med VEC både från Philadelphia och London ((5, 6). Begreppet ”chemoreduction” myntades, ett sätt att med systemisk cytostatikaterapi krympa tumören, för att därigenom möjliggöra mindre aggressiv lokalterapi och undvika mer aggressiv, som enukleation och extern strålterapi. Två år senare kom en uppdaterad rapport från Philadelphia, som befäste de tidigare konklusionerna (7).

Senare studerades om VEC skulle kunna skydda mot utveckling av s.k. trilateralt Rb (pineoblastom), vilket man möjligen fann ett visst stöd för (8). Begränsningar med VEC noterades också, i det att tumörhårdar < 2 mm inte tycktes påverkas (9), liksom mindre effekt på tumörer i makula och på tumörer med högre höjd (10). Det stod också klart att VEC ensamt inte är botande, kompletterande lokalterapi är nödvändig (11).

Starkt stöd har också presenterats för värdet av VEC som tilläggsbehandling efter enukleation vid förekomst av histopatologiska högriskkriterier (12).

Utifrån de relativt måttliga cytostatikadoserna i VEC, och de begränsade kumulativa doserna efter 4-6 givna kurer, har VEC empiriskt betraktats som förhållandevis atoxiskt. Stöd för detta presenterades i en mötesrapport 2011 (ISOO, Leahey et al), som beskrev preliminära toxicitetsdata från den första prospektiva internationella Rb-studien (COG ARET 0332). De 92 inkluderade barnen erhöll VEC x 6 med 4 veckors intervall (totalt 521 VEC-cykler). Benmärgstoxiciteten var mycket begränsad, 1-3% grad III-IV, och ingen annan grad III-IV toxicitet förelåg. Med den begränsade uppföljningstiden i minnet fanns ännu ingen rapporterad ototoxicitet eller SMN. Vid en senare retrospektiv genomgång av drygt 200 barn behandlade med VEC mot Rb noterades 4 % SMN i germline- resp. 0 % i non-germline-grupperna efter en medeluppföljning på cirka 6 år (13); ingen SMN utgjordes dock av sekundär AML. En oroande larmrapport om större risk än tidigare känt för ototoxicitet av Carboplatin (14), åtföljdes dock av ett genmäle, som klargjorde att skillnader i dosering var den troliga orsaken till fynden (15). Vikten av hörseluppföljning efter behandling som inkluderat Carboplatin är dock oomtvistad (16).

Rekommendation för första linjens behandling

Mot bakgrund av ovanstående, och den Nordiska terapitraditionen, rekommenderas VEC att användas, när systemisk cytostatikaterapi av det multidisciplinära Rb-teamet bedöms indicerat. VEC rekommenderas att användas enligt beskrivningen i Gündüz et al (7):

Dosering av VEC

- Vinkristin 0.05 mg/kg (barn > 3 år: 1.5mg/m², max 2 mg)
- Etoposid 5 mg/kg (barn > 3 år: 150 mg/m²)
- Carboplatin 18.6 mg/kg (barn > 3 år: 560 mg/m²)

Etopofos (etoposidfosfat) kan av volymsskäl vara att föredra till små barn framför Etoposid,

men i så fall krävs hänsynstagande till ekvipotent dos!

OBS att dosering per kg innebär en dosreduktion på cirka 33% jmf med dosering per m² endast vid kroppsytta 1 m²; ju lägre kroppsytta < 1 m², desto större procentuell dosreduktion!

Administration av VEC

- Vinkristin, ges som bolus-inj, eller som 30 min inf (spätt i 20 ml 5% glukos); Dag 1
- Etoposid, ges som 1-2 tim inf (spätt i 20-50 ml 5% glukos); max 10 ml/kg/tim; Dag 1+2
- Carboplatin, ges som 1-2 tim inf (spätt i 20-50 ml 5% glukos); max 10 ml/kg/tim; Dag 1

Intervall mellan kurer/cykler

- I normalfallet 4 veckor från start till start
- Vid uttalad tumörbörda/snabb progress kan övervägas 3 veckor mellan 1:a och 2:a

Relation till konkomitant lokalterapi (laser/kryo)

- Etoposid/Etopofos Dag 2 ges tidigt på morgonen varefter barnet omgående sövs, ögonundersöks och ev. lokalbehandlas

Totalantal kurer/cykler

- Till barn med germline Rb rekommenderas åtminstone VEC x 6
- Vid långsam, men fortgående, respons, kan VEC x 8 övervägas
- Till barn med non-germline Rb och snabb respons kan VEC x 4 övervägas

Referenser

1. White L. The role of chemotherapy in the treatment of retinoblastoma. *Retina*. 1983;3(3):194-9.
2. Kingston JE, Hungerford JL, Plowman PN. Chemotherapy in metastatic retinoblastoma. *Ophthalmic Paediatr Genet*. 1987;8(1):69-72.
3. White L. Chemotherapy in retinoblastoma: current status and future directions. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1991;13(2):189-201.
4. Draper GJ, Sanders BM, Kingston JE. Second primary neoplasms in patients with retinoblastoma. *Br J Cancer*. 1986;53(5):661-71.
5. Shields CL, De Potter P, Himelstein BP, Shields JA, Meadows AT, Maris JM. Chemoreduction in the initial management of intraocular retinoblastoma. *Arch Ophthalmol*. 1996;114(11):1330-8.
6. Kingston JE, Hungerford JL, Madreperla SA, Plowman PN. Results of combined chemotherapy and radiotherapy for advanced intraocular retinoblastoma. *Arch Ophthalmol*. 1996;114(11):1339-43.
7. Gunduz K, Shields CL, Shields JA, Meadows AT, Gross N, Cater J, et al. The outcome of chemoreduction treatment in patients with Reese-Ellsworth group V retinoblastoma. *Arch Ophthalmol*. 1998;116(12):1613-7.
8. Shields CL, Meadows AT, Shields JA, Carvalho C, Smith AF. Chemoreduction for retinoblastoma may prevent intracranial neuroblastic malignancy (trilateral retinoblastoma). *Arch Ophthalmol*. 2001;119(9):1269-72.
9. Gombos DS, Kelly A, Coen PG, Kingston JE, Hungerford JL. Retinoblastoma treated with primary chemotherapy alone: the significance of tumour size, location, and age. *Br J Ophthalmol*. 2002;86(1):80-3.
10. Shields CL, Mashayekhi A, Cater J, Shelil A, Meadows AT, Shields JA. Chemoreduction for retinoblastoma. Analysis of tumor control and risks for recurrence in 457 tumors. *Am J Ophthalmol*. 2004;138(3):329-37.
11. Cohen VM, Kingston J, Hungerford JL. The success of primary chemotherapy for group D

heritable retinoblastoma. *Br J Ophthalmol*. 2009;93(7):887-90.

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

13. Turaka K, Shields CL, Meadows AT, Leahey A. Second malignant neoplasms following chemoreduction with carboplatin, etoposide, and vincristine in 245 patients with intraocular retinoblastoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2012;59(1):121-5.

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

15. Leahey A. A cautionary tale: dosing chemotherapy in infants with retinoblastoma. *J Clin Oncol*. 2012;30(10):1023-4.

16. Jehanne M, Lumbroso-Le Rouic L, Savignoni A, Aerts I, Mercier G, Bours D, et al. Analysis of ototoxicity in young children receiving carboplatin in the context of conservative management of unilateral or bilateral retinoblastoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2009;52(5):637-43.