



INSTITUTO NACIONAL DE  
CIENCIAS MÉDICAS  
Y NUTRICIÓN  
SALVADOR ZUBIRÁN

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN**

**"SALVADOR ZUBIRÁN"**

**DEPARTAMENTO DE GENÉTICA**

**"VARIABILIDAD INTER E INTRA FAMILIAR EN FAMILIAS MEXICANAS CON  
SÍNDROME DE VON HIPPEL LINDAU"**

**TESIS PARA OBTENER GRADO DE  
ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA.**

**PRESENTA**

Dr. Jhonatan Rosas Hernández

**TUTOR DE TESIS**

Dra. Jazmín Arteaga Vázquez

**COTUTOR**

QFB. María López Hernández

Ciudad de México, Julio 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**VARIABILIDAD INTER E INTRA FAMILIAR EN FAMILIAS  
MEXICANAS CON SÍNDROME DE VON HIPPEL LINDAU\***



**INCMNSZ**  
INSTITUTO NACIONAL  
DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN  
"DR. SALVADOR ZUBIRÁN"  
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA  
México, D.F.

---

Dr. Sergio Ponce de León Rosales  
Director de Enseñanza del INCMNSZ

---

Dr. Osvaldo M. Mutchinick Baringoltz  
Jefe del Departamento de Genética  
Profesor titular del curso de Genética Médica

---

Dra. Jazmín Arteaga Vázquez  
Tutora de Tesis  
Profesora adjunta del curso de Genética Médica

---

Dr. Jhonatan Rosas Hernández  
Residente de tercer año de Genética Médica

*“El descubrimiento consiste en ver lo que todo el mundo ha visto y pensar lo que nadie ha pensado”*

*Albert Szent-Györgyi*

## **AGRADECIMIENTOS.**

A mis padres Maricela y Martín que a pesar de las adversidades me apoyan incondicionalmente y sin ellos, esto no sería una realidad. Los amo y agradezco infinitamente por forjarme, enseñarme, darme los valores y educación como recurso primario para desarrollarme como ser humano y profesionista.

A mi hermana, cuñado y sobrinos por estar en esos momentos más especiales e importantes de mi vida, llenarme de alegría y apoyo.

A ti, quién durante muchos años estuvo incondicionalmente y me enseñó a enfrentar la vida desde otro punto de vista.

A mi tutora y profesora la Dra. Jazmín Arteaga por dedicarme tiempo, apoyo, paciencia y experiencia en este camino profesional.

A nuestro jefe y maestro el Dr, Mutchinick por permitirme ser parte de este departamento en mi formación como residente, aportarme esas experiencias de vida y a nivel profesional que en ninguna literatura médica se encuentran, que enriquecen e impulsan a seguir preparándose.

A mis amigos y compañeros: Samantha, Isaac, Yunuem, Isay, Bety, Viky y Vania. Por llenarme de alegría, enseñanza y amor en este camino que a veces suele ser complicado e inestable. A los ya graduados Genaro, Adriana y Valeria por su enseñanza y amistad. A todos los del Departamento de Citogenética y Biología molecular por su tiempo, paciencia y enseñanza.

A mi Universidad Nacional Autónoma de México que es mi alma Mater e INCMNSZ.

## INDICE.

1. Introducción.....	6
2. Antecedentes.....	7
2.1 Marco histórico.....	7
2.2 Epidemiología.....	9
2.3 Aspectos Moleculares.....	10
2.4 Manifestaciones clínicas.....	15
2.4.1 Hemangioblastoma de SNC.....	15
2.4.2 Hemangioblastoma de retina.....	17
2.4.3 Carcinoma de células claras renal.....	19
2.4.4 Feocromocitoma.....	21
2.4.5 Páncreas.....	22
2.4.6 Tumor del saco endolinfático.....	24
2.4.7 Cistoadenoma de epidídimo y ligamento ancho.....	25
2.5 Correlación genotipo fenotipo.....	27
2.5.1 Síndromde de VHL tipo 1 y 2.....	27
2.5.2 Mutaciones fundadoras.....	28
2.5.3 Tipos de mutaciones y efecto en la p.VHL.....	28
2.6 Diagnóstico.....	31
2.6.1 Clínico.....	31
2.6.2 Molecular.....	32
2.7 Seguimiento.....	32
2.8 Diagnóstico diferencial.....	34
2.8.1 Hemangioblastoma aislado.....	34
2.8.2 Feocromocitoma.....	34

2.8.3	Carcinoma renal de células claras (CCCR).....	35
2.8.4	Tumores del saco endolinfático.....	35
2.9	Asesoramiento genético.....	36
2.9.1	Riesgo de recurrencia.....	36
3.	Planteamiento del problema y justificación.....	37
4.	Hipótesis.....	39
5.	Objetivos.....	39
5.1	Objetivo general.....	39
5.2	Objetivos específicos.....	39
6.	Material y Método.....	39
6.1	Diseño General.....	39
6.2	Criterios.....	40
6.2.1	Criterios de inclusión.....	40
6.2.2	Criterios de exclusión.....	40
6.3	Metodología.....	40
7.	Resultados.....	41
7.1	Muestra.....	41
7.2	Manifestaciones clínicas.....	41
7.3	Frecuencia de mutaciones.....	43
8.	Discusión.....	49
9.	Conclusiones.....	62
10.	Bibliografías.....	64
11.	Anexos.....	72

## 1. INTRODUCCIÓN.

El síndrome de Von Hippel Lindau (VHL) (OMIM #193300) predispone a neoplasias caracterizadas por un componente vascular importante y afección multisistémica. La enfermedad se hereda de manera autosómica dominante y presenta penetrancia incompleta. Su incidencia se calcula en 1:35,000 recién nacido vivos (RNV). La edad de presentación va de los 1-70 años. Las neoplasias más frecuentes son los hemangioblastomas de retina, de sistema nervioso central, el cáncer renal de células claras, el feocromocitoma, los tumores neuroendócrinos de páncreas y del saco endolinfático, tiene una marcada variabilidad fenotípica intra e interfamiliar y penetrancia dependiente de la edad [9]. El gen causal de dicha entidad es *VHL* (3p25.3), un gen supresor tumoral. *VHL* regula la angiogénesis, la proliferación y la vasculogénesis dependientes del factor inducible de hipoxia (HIF).

El diagnóstico confirmatorio de VHL se hace a nivel molecular con técnicas de secuenciación o detección de deleciones/ duplicaciones del gen VHL. Las mutaciones en la línea germinal del gen VHL se han demostrado en prácticamente todas las familias con VHL. La relación genotipo fenotipo divide a VHL en 2 tipos y a su vez el tipo 2 se subdivide en A, B y C, la principal diferencia entre el tipo 1 y 2 es la ausencia y presencia de feocromocitoma respectivamente. Las mutaciones características del tipo 1 son las que terminan en proteína truncada y deleciones y las del tipo 2 las mutaciones en sentido erróneo. A su vez el subtipo A tiene un bajo riesgo de desarrollar cáncer renal, el subtipo B un alto riesgo de desarrollar cáncer renal y el subtipo C se presenta con feocromocitoma aislado. A la fecha solo dos trabajos publicados mencionan la variabilidad fenotípica de VHL en 9 familias mexicanas y en ninguno de estos determinó la frecuencia de rearrreglos genómicos grandes del tipo deleción/duplicación. De ahí que contemos con información limitada para realizar una correlación genotipo-fenotipo en nuestra población.

En nuestro Instituto se cuenta con pacientes con diagnóstico molecular de VHL, al ser un centro de referencia de tercer nivel, la población es más heterogénea y la causa de ingreso como



paciente no está limitada a un órgano en específico. El objetivo general es identificar la variabilidad inter e intra familiar en familias mexicanas con diagnóstico de VHL, que acuden a la consulta externa de Genética en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. (INCMNSZ

## 2. ANTECEDENTES.

### 2.1 Marco Histórico.

En el año 1894 Collins describió por primera vez una familia con hemangioblastoma de retina, diez años después el médico oftalmólogo Von Hippel documentó los hemangioblastomas de retina y en 1927, el médico patólogo Lindau describió la asociación entre hemangioblastomas de retina y médula espinal. Lindau también describió tumores renales y quistes asociados. En honor a estos 2 últimos médicos en 1936 se nombra enfermedad de Von Hippel Lindau. [1].

En 1964 se establecieron los criterios diagnósticos de esta enfermedad por los médicos Melmo y Rosen, los cuales siguen vigentes. En 1987 a 1995 se identificó el gen causal del síndrome (*VHL*), en el cromosoma 3p25.3 así como su relación con cáncer renal de células claras mediante clonación posicional. En 1990 se estableció la clasificación de acuerdo a la correlación de genotipo-fenotipo del ahora llamado Síndrome de Von Hippel Lindau, clasificándolo en 2 tipos basándose en la presencia o ausencia de feocromocitoma. Más tarde en 1994 se describen cambios epigenéticos en el promotor del gen *VHL* a nivel somático y su asociación con el cáncer renal de células claras esporádico [1].

Del año de 1999 a 2005 se describió el mecanismo de interacción del complejo VCB-HIF (proteína de VHL- Elongina C- Elongina B- Factor inducible de hipoxia) y en el año 2000 se estableció una nueva entidad relacionada al gen *VHL* en estado homocigoto con una mutación en sentido erróneo: p.R200W, que se presenta como policitemia congénita. [11].

## 2.2 Epidemiología.

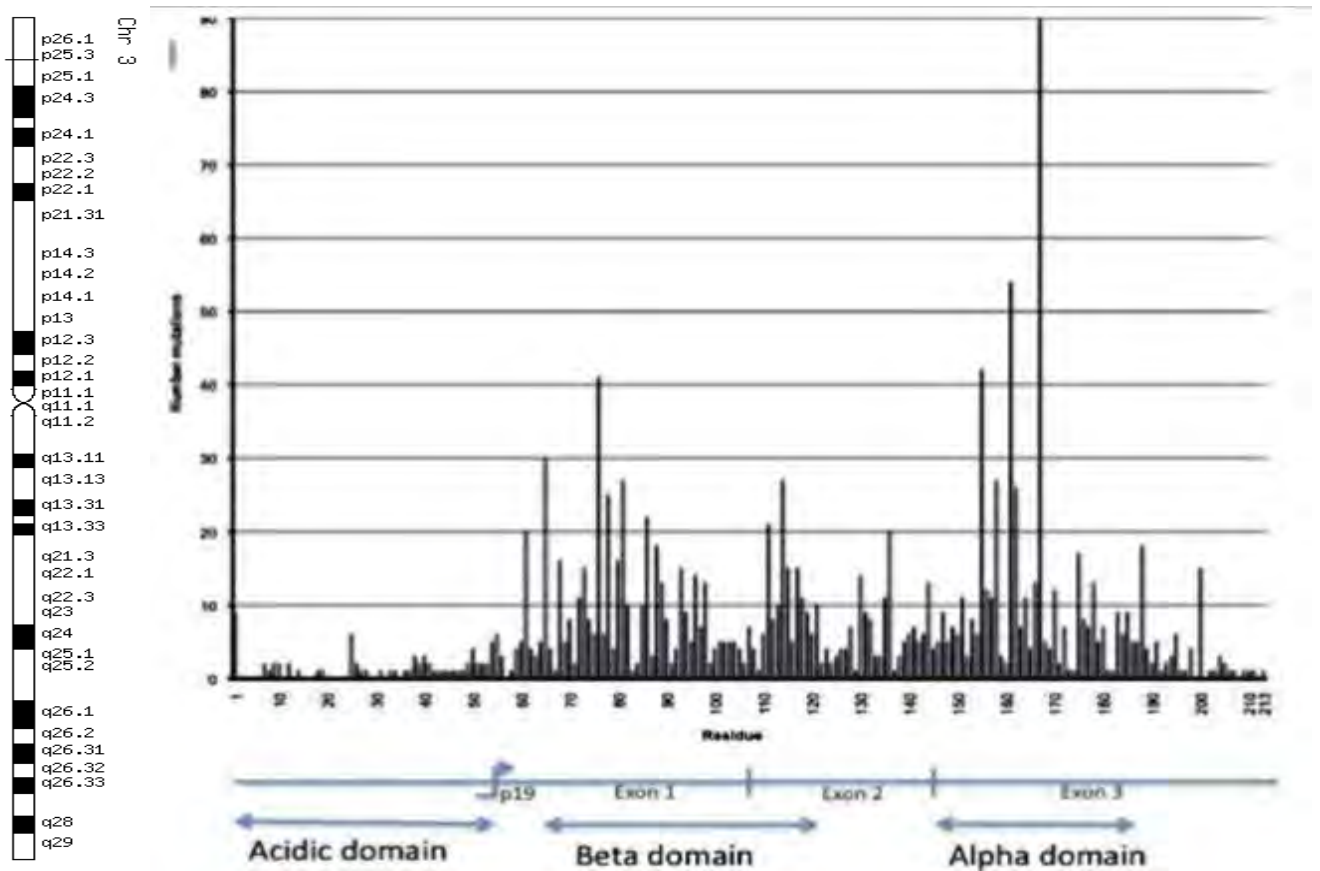
Antes de la aparición de las pruebas genéticas moleculares, se estimaba que VHL tenía una incidencia de 1:36,000 RNV en el este de Inglaterra, una prevalencia de 1:39,000 en el suroeste de Alemania y de 1:53,000 en el este de Inglaterra [3-5]. Se han descrito más de 900 familias con más de 200 mutaciones asociadas a VHL [6,7]. El síndrome de VHL representa aproximadamente un tercio de los pacientes con hemangioblastoma del SNC, más del 50% de los pacientes con hemangioblastoma retiniano, 1% de los pacientes con cáncer renal de células claras, 50% de los pacientes con un feocromocitoma familiar aparentemente aislado y 11% de los pacientes con un feocromocitoma aparentemente esporádico [3]. Nielsen SM et al. [2] mencionan que las mutaciones en la línea germinal de *VHL* ocurren en un 30% a 50% de los pacientes con hemangioblastoma de retiniana, 4% a 40% de los pacientes con hemangioblastoma del SNC, 20% de los pacientes con tumor del saco endolinfático, 3% a 11% de los pacientes con feocromocitoma y 1% a 2% de pacientes con Cáncer de células renales claras [2]. La edad media al momento del diagnóstico de pacientes con tumores en pacientes con VHL es considerablemente más joven que en casos esporádicos (p. Ej., 29 y 48 años respectivamente para el hemangioblastoma cerebeloso y 44.8 y 61.8 años para CCCR [3]. No existen reportes en población mexicana sobre la incidencia de este síndrome. Sólo se han descrito dos artículos con 9 familias no relacionadas donde se estudió como patología de base la afección ocular o del sistema nervioso central. Se calcula que de los individuos afectados, el 20 % son casos *de novo* y 80% presentan antecedente familiares [8]. La penetrancia es alta y se calcula del 90% a los 65 años de edad [10]. Sin embargo, estudios más actuales han calculado la penetrancia por órgano específico a la edad de 60 años, reportándose de hasta el 90% en hemangioblastoma de retina y del 30% en feocromocitoma [11]. La edad media en el momento del diagnóstico de VHL en el estudio publicado por Ong KR, et al., en donde se estudiaron 573 pacientes con VHL, fue de 24.7 años (mediana de 22) un poco más joven que la reportada previamente en 1990 con media de 26.3 y mediana de 23.5 años [11].

### 2.3 Aspectos Moleculares.

El gen *VHL* es una región de 10Kb [6] que está localizado en el brazo corto del cromosoma 3, en la región 2, banda 5, sub-banda 3 (3p25.3). **Figura 1.** Tiene tres exones, el primer exón abarca del codón 1 al 113, el exón 2 del codón 114 al 154 y el exón 3 del codón 155 al 213. Codifica para 2 isoformas: p.VHL30 y p.VHL19 las cuales difieren en el peso molecular y en los primeros 53 aminoácidos. Es decir, la isoforma p.VHL30 es una proteína larga de 30 kDa constituida de 213 aminoácidos y la isoforma p.VHL19 es una proteína más corta de 19 kDa constituida de 160 aminoácidos, que se genera por iniciación de traducción alternativa en una metionina interna en la posición 54 [1,6]. Esta última carece del dominio ácido de los tres dominios presentes en la isoforma 30 (ácido, alfa y beta) [1]. **Figura 1.** Los primeros estudios funcionales sugirieron que las dos isoformas tienen efectos equivalentes en los ensayos [12], y que ambas isoformas tienen actividad supresora de tumores *in vivo* y pueden regular el factor A inducible por hipoxia (HIF). [1,13].

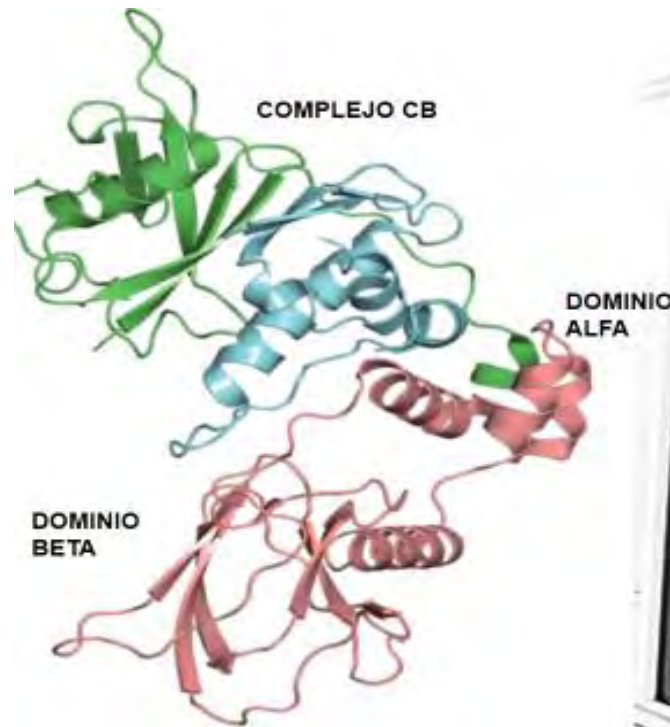
Los pacientes con VHL son muy susceptibles al desarrollo de tumores porque ya tienen un alelo *VHL* mutado en todas sus células. La posibilidad de inactivación del segundo alelo en una sola célula es capaz de iniciar el crecimiento neoplásico. Los estudios de xeno-injerto de ratón han demostrado que la reintroducción de p. VHL silvestre en células de cáncer renal de células claras (CCCR) derivadas de pacientes con VHL, inhibe la capacidad de estas células para formar tumores [17]. En general, p. VHL funciona como una proteína supresora tumoral clásica en el riñón. El desarrollo de hemangioblastomas del SNC en pacientes con VHL parece seguir el modelo de la teoría de Knudson, que requiere la inactivación somática del alelo silvestre. Sin embargo, la patogénesis de los hemangioblastomas retinianos puede no requerir la inactivación bialélica, pero podría requerir otros genes o modificadores, como la tasa de depuración / producción de carcinógenos en el cuerpo [6]

**Figura y gráfica1.** Localización, organización y espectro de mutaciones en *VHL*. *VHL* está compuesto por tres exones. *Tomado de: Hum Mutat 31:521-537, 2010.*



La p. VHL forma un complejo con los factores de elongación C y B (también conocido como elongina C y elongina B) denominado complejo VCB [1,6]. La p. VHL consiste en dos dominios estrechamente acoplados,  $\alpha$  y  $\beta$  (Figura 2); el dominio  $\beta$  consta de dos láminas  $\beta$  dispuestas como un sándwich con una hélice  $\alpha$  en la parte superior, mientras que el dominio  $\alpha$ , que está en contacto directo con la elongina C, consta de tres hélices  $\alpha$ . El complejo VCB nuclea un complejo que contiene cullina 2 (CUL2) y la proteína RBX1 del dedo RING (que forma el complejo VCB-CR) [14,15]. (Figura 3).

**Figura 2.** Diagrama de listones que ilustra la estructura secundaria del complejo pVHL-elongina C-elongina B. p.VHL (rosa), Elongina C (azul) y Elongina B (verde). *CUL2* y *RBX1* no se muestran. Tomado de *Nature Reviews Cáncer volumen 15, páginas55 - 64 (2015)*.

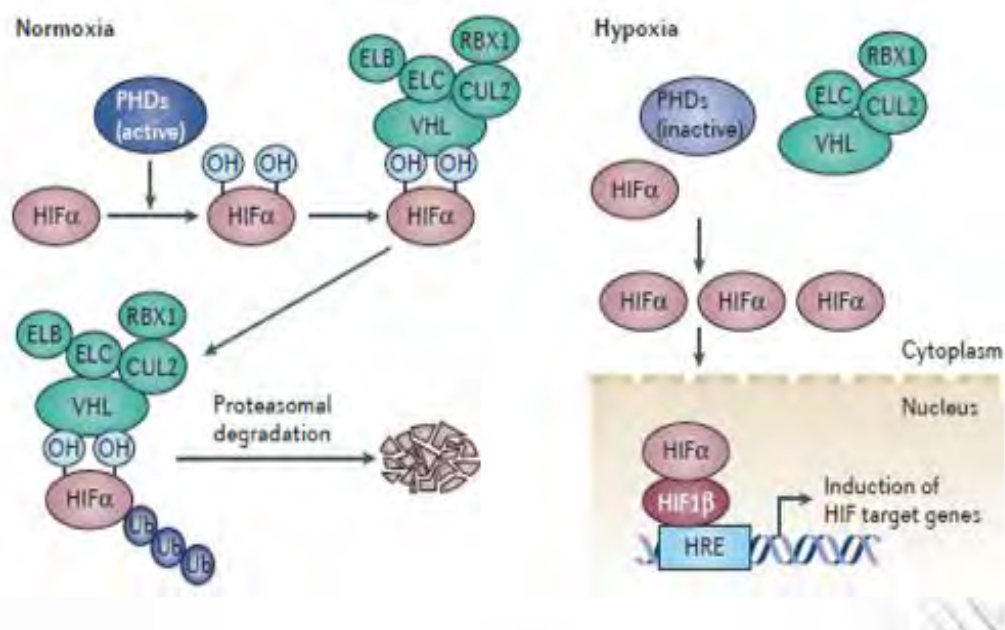


Juntos, elongina B y elongina C, actúan como adaptadores que unen la subunidad de reconocimiento de sustrato del complejo VCB-CR, que se une a los sustratos a través de su dominio  $\beta$  a los heterodímeros de *CUL2* y *RBX1*. La p. VHL se estabiliza al asociarse con las elonginas B y C y, a su vez, las elonginas B y C se estabilizan a través de sus interacciones entre sí y con p. VHL. Todo el complejo VCB es por lo tanto resistente a la degradación proteosomal. Por el contrario, la p. VHL mutada interrumpe la unión de elongina, es inestable y se degrada rápidamente por el proteosoma [16, 17, 18]. Recientemente, mutaciones en *TCEB1* (que codifica elongina C) que afectan los dominios en elongina C que se unen a p. VHL, se han descrito en carcinoma de células renales [19], apoyando la hipótesis de que los efectos

tumorigénicos de las mutaciones de *VHL* se relacionan con la disfunción del complejo VCB en lugar de la disfunción de p. *VHL* de manera aislada.

A mediados de la década de 1990 se observó que los tumores altamente vasculares asociados con *VHL* sobre producen polipéptidos angiogénicos. En condiciones normóxicas, el factor inducible por la hipoxia ( $\text{HIF1}\alpha$  e  $\text{HIF2}\alpha$ ) se hidroxilan en uno o en ambos residuos de prolina conservados mediante prolihdroxilasas ( $\text{PHD1}$ ,  $\text{PHD2}$  y  $\text{PHD3}$ ). [1, 2, 3]. El  $\text{HIF}\alpha$  prolihdroxilado es reconocido por el complejo ubiquitina ligasa E3 de VCB-CR y dirigido a ubiquitilación (Ub) y degradación proteosomal. En condiciones hipóxicas,  $\text{PHD1}$ ,  $\text{PHD2}$  y  $\text{PHD3}$  son inactivos (el oxígeno es un cofactor esencial). Por lo tanto,  $\text{HIF}\alpha$  se acumula y forma heterodímeros con  $\text{HIF1}\beta$ . Estos heterodímeros se traslocan al núcleo, se unen a los elementos de respuesta a la hipoxia (HRE) e inducen la transcripción de los genes implicados en las adaptaciones a la hipoxia [1]. (Figura 3).

**Figura 3.** Regulación del factor inducible por hipoxia dependiente de oxígeno. Tomado de: *Nature Reviews Cáncer volumen 15 páginas 55 - 64 (2015)*.



El péptido HIF $\alpha$  (HIF1 $\alpha$  o HIF2 $\alpha$ ) también conocido como EPAS1 se une exclusivamente al dominio  $\beta$  de p. VHL [20, 21]. HIF1 $\alpha$  se expresa de manera ubicua, mientras que HIF2 $\alpha$  se restringe principalmente a células endoteliales, pulmonares, renales y hepáticas. La unión del complejo VCB-CR-HIF depende de la hidroxilación de dos residuos prolina conservados dentro de HIF $\alpha$  por la prolil hidroxilasa 1 PHD1 (también conocida como EGLN2), PHD2 y PHD3, que requieren oxígeno como co-sustrato y, por lo tanto, solo son activos en condiciones normóxicas [1].

Así, los HIF tienen un papel crucial en la adaptación celular a la tensión de oxígeno reducida: la p. VHL funcional es necesaria para desactivar esta adaptación en condiciones normóxicas y la pérdida de la función p. VHL da como resultado la activación inapropiada de genes río abajo que normalmente se activan solo bajo condiciones hipóxicas y de ese modo contribuye directamente a la tumorigénesis. De acuerdo con la noción de que la regulación de HIF $\alpha$  es la función supresora tumoral clave de p. VHL, se predice y se ha demostrado que una gran proporción de mutaciones de *VHL* asociadas a la enfermedad deterioran significativamente la interacción entre p. VHL y HIF. Diferencias entre HIF 1 y 2 se han mencionado. La especificidad de la subunidad HIF  $\alpha$  que representa más directamente los tumores dependientes de HIF que surgen en el contexto de la mutación de *VHL* ha sido el foco de varios estudios recientes. Distinciones entre HIF1 y HIF2 han sido reconocidas durante mucho tiempo: HIF1 afecta preferentemente la transcripción de los genes implicados en la respuesta glagolítica, puede antagonizar el proto-oncogén *MYC* en ciertos contextos y parece ser preferencialmente afectado por la actividad mTORC [1]. HIF2, por el contrario, tiene un patrón de expresión más restringido, se dirige a genes relacionados con la identidad de la célula madre, coopera con *MYC* y es menos sensible a la modulación de mTORC [1]. También

se ha propuesto que HIF2a se asocie más directamente con etapas posteriores de progresión tumoral [24].

Funciones independientes de HIF de p. VHL se caracterizan menos, incluidos el ensamblaje y la regulación de la matriz extracelular; estabilización de microtúbulos y mantenimiento del cilio primario; regulación de la apoptosis; control de la senescencia celular; y regulación transcripcional. Muchos de estos roles se han descubierto a través de interacciones bioquímicas, pero también hay evidencia del análisis de *VHL* en *Caenorhabditis elegans* [22] y análisis de microarreglos en líneas celulares de mamíferos [23], que respaldan la noción de cambios en la expresión génica independiente de HIF inducida por pérdida de p. VHL. El grado en que las funciones independientes de HIF de p. VHL cooperan con la desregulación de HIF en la tumorigénesis de carcinoma de células claras renales es actualmente desconocido. (**Figura 4**).

## **2.4 Manifestaciones Clínicas**

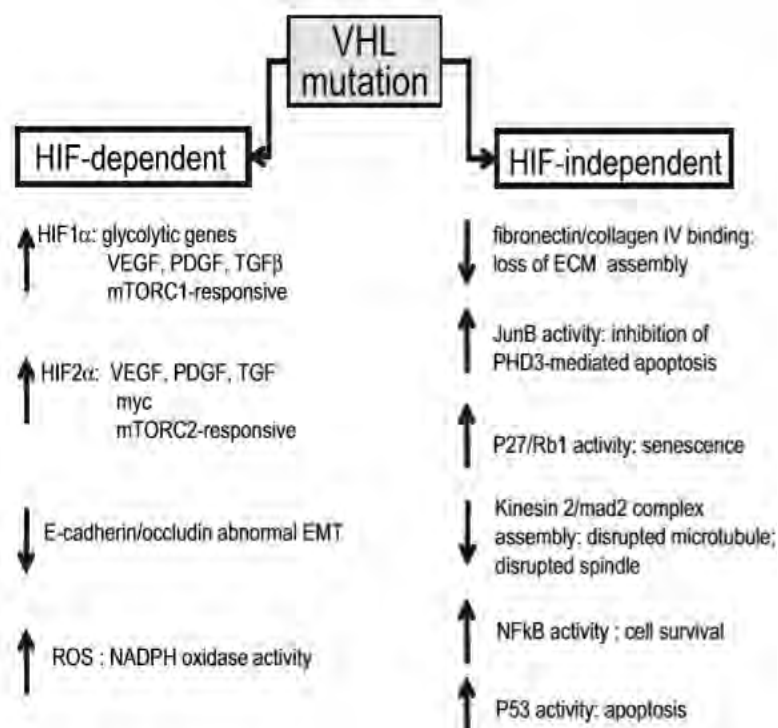
### **2.4.1 Hemangioblastoma de SNC (Hb SNC).**

Es el tumor benigno más común que afecta a cerca del 60 al 80% de los paciente con VHL [25] o el segundo más común con un 57% después del hemangioblastoma de retina [11]. El 20% de todos los pacientes con hemangioblastoma aparentemente esporádico tienen una mutación germinal en el gen *VHL* [27] y más del 50% de los pacientes con hemangioblastomas en SNC o retina no hereditarios tienen una mutación somática en el gen *VHL* [6]. La edad promedio de aparición es a los 30 años de edad, con un rango amplio de 9 a 78 años de edad. [25, 11]. La localización por frecuencia es cerebelo con un 16 a 69%, médula espinal en un 13 a 43%, cerebral con un 16 a 22% y por último a nivel supratentorial en un 1 a 7%. [25]. Es la principal causa de morbi-mortalidad de estos pacientes [26], y se correlaciona a los 2 fenotipos de VHL excepto en el subtipo 2C, se ha descrito que el riesgo aumenta con mutaciones tipo delección o sin sentido [6]. Las manifestaciones clínicas pueden deberse a efecto de masa ya sea por crecimiento del



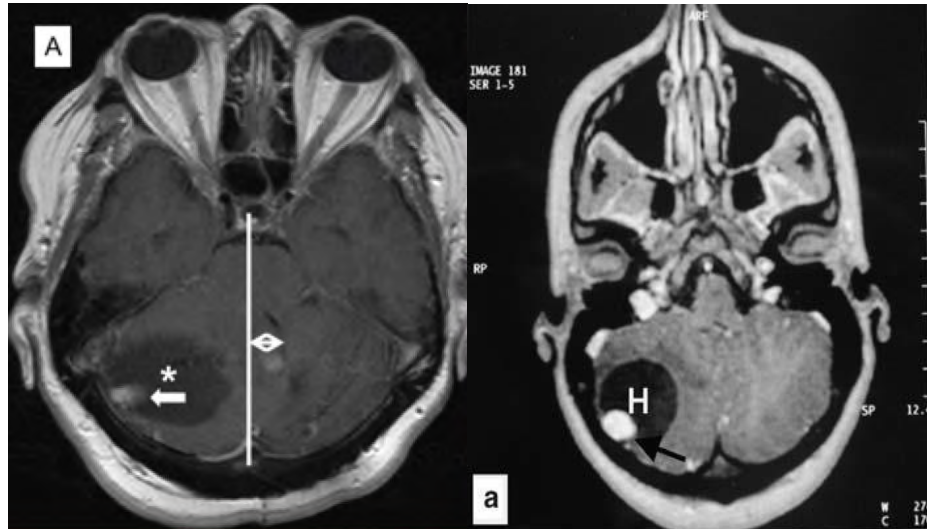
hemangioblastoma, teniendo en cuenta que el 50% crece en un lapso de tiempo de 5 años, edema o formación de quistes y ataxia. Microscópicamente, los hemangioblastomas consisten en grandes células estromales poligonales enredados en una red capilar y las células estromales surgen de hemangioblastos embrionarios detenidos a partir del mesodermo [3]. Aunque los hemangioblastomas del SNC tienden a agrandarse con el tiempo, son tumores benignos y la tasa de crecimiento es variable, por lo que algunos tumores pueden estar estáticos durante varios años y, por lo tanto, la eliminación de lesiones asintomáticas no suele estar indicada. Se calcula una penetrancia de más del 80% a los 70 años para lesión en cerebelo y 50% en médula espinal a los 70 años [11].

**Figura 4.** Resumen de varios efectos moleculares de la mutación de *VHL*. La dirección de las flechas indica un efecto aumentado o disminuido. VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular; PDGF: derivado de plaquetasfactor de crecimiento; TGFb: factor de crecimiento transformante b; mTORC1 y mTORC2: complejos que contienen mTOR 1 y 2, respectivamente; EMT:transición epitelio-mesenquimal; ECM: matriz extracelular; mad2: arresto mitótico deficiente. *Tomado de: Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism 24 (2010) 401–413.*



La modalidad de elección para detectar hemangioblastomas del SNC es la obtención de imágenes por resonancia magnética (RM) con contraste. Las lesiones de hasta 2 mm aparecerán como lesiones con aumento en T1. En apariencia macroscópica, los hemangioblastomas se pueden describir como masas vasculares rojas que residen dentro de una capa de la cápsula delgada [27]. (**Figura 5**).

**Figura 5.** Hemangioblastoma cerebeloso derecho con un quiste grande en una mujer de 17 años (RM con contraste potenciado en T1. *European Journal of Human Genetics* (2011) 19, 617–623

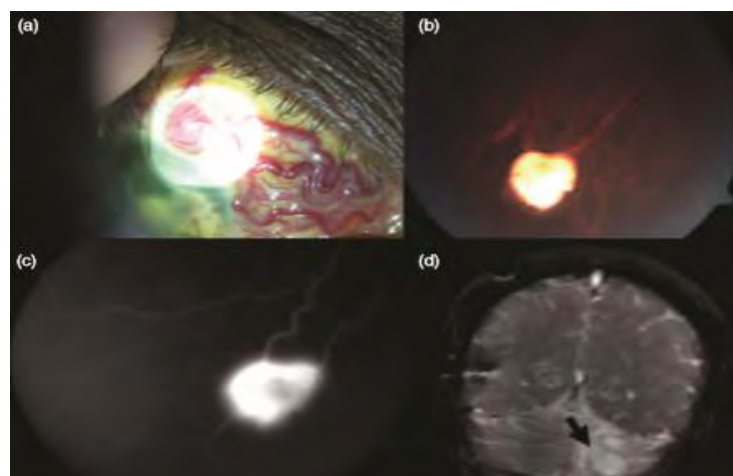


#### 2.4.2 Hemangioblastoma de retina (Hb retina).

Cerca del 49 al 62% de los pacientes con VHL presentan hemangioblastoma de retina con una edad de aparición promedio de 25 años, un rango de edad de 1 a 67 años y una penetrancia de 90% a los 70 años de edad [11]. Se considera la primera manifestación clínica ya que la pérdida de la agudeza visual es común en estos pacientes. Las mutaciones en la línea germinal del gen *VHL* ocurren en el 30 a 50% de los pacientes con hemangioblastoma retiniano. Generalmente se presenta como un tumor vascular de la retina que puede asociarse con

exudados, líquido subretiniano y vasculatura prominente. Como consecuencia puede ocasionar la disrupción de retina y desprendimiento de la misma por tracción, lo que eventualmente puede llevar a la pérdida del ojo afectado [9]. Los hemangioblastomas retinianos se describen como múltiples y bilaterales en aproximadamente la mitad de los casos [3]. Se ha descrito que las mutaciones de tipo deleción aumentan el riesgo de presentar esta lesión [51]. Otros hallazgos oculares en VHL incluyen hemorragias vítreas y retinianas, Hb intraorbitario y proliferación vascular retiniana asociada con proliferación fibrovascular y formación de membrana epirretiniana [28-30]. Los hemangioblastomas retinianos se parecen a los hemangioblastomas del SNC de forma macroscópica e histológica. El nivel de gliosis y hemorragia puede indicar la gravedad de la lesión. El oftalmoscopio junto con la dilatación farmacológica del iris permite la identificación de la mayoría de los tumores retinianos. La angiografía con fluorescencia se usa para evaluar la función macular asociada con nuevas lesiones en la periferia o el nervio óptico. Los exámenes de detección deben realizarse anualmente a partir de la edad de 1 año, con fundoscopia dilatada. (**Figura 6**),

**Figura 6**, (a) Imagen biomicroscópica del ojo derecho que demuestra dilatación, agrandamiento y tortuosidad de los vasos sanguíneos episclerales debido a Hb r. (b) Fotografía del fondo del ojo derecho que muestra un Hb r. (c) Fluorangiografía (FAG) del Hb r de b. *Tomado de Clinical and Experimental Ophthalmology 2010; 38: 277–283.*



### 2.4.3 Carcinoma renal de células claras (CCCR).

Cerca del 30% de los pacientes con VHL desarrollan CCRcc, siendo la principal causa de muerte y rara vez es la primera manifestación clínica de VHL. Los hallazgos clínicos incluyen masa renal con dolor de flanco o hematuria. Aunque el riesgo de CCRcc varía en diferentes subtipos de enfermedad de VHL en las formas más comunes (Tipos 1 y 2B), el riesgo de por vida es del 70% [11,31]. Aunque la edad media en el diagnóstico clínico es 39 años, tumores asintomáticos con frecuencia se detectan más temprano (rango de 16-67 años). El examen histopatológico de los riñones extraídos de pacientes con VHL muestra un gran número de focos tumorales microscópicos en parénquima aparentemente normal que explican el alto riesgo de múltiples cánceres renales. Múltiples quistes renales son comunes en VHL y, aunque rara vez comprometen la función renal, el epitelio de revestimiento puede ser displásico o mostrar carcinoma *in situ* y dar lugar a CCCR [3]. Cerca del 50 al 70% de los pacientes presentan poliquistosis renal bilateral [25] La mayoría de los tumores renales pequeños se agrandan lentamente (media 2cm / año) [32]. Después de establecer la tasa de crecimiento, una lesión renal individual puede mantenerse bajo vigilancia regular hasta que alcance los 3cm de diámetro cuando se realiza una nefrectomía parcial (o una técnica alternativa como la ablación por radiofrecuencia) [33]. En el momento de la cirugía, se eliminan las lesiones más pequeñas que son accesibles para retrasar la necesidad de una nueva operación. El seguimiento de los pacientes con VHL tratados con cirugía conservadora de nefronas revela una alta incidencia de recidiva local de nuevos tumores primarios, pero un bajo riesgo de metástasis a distancia [34], mientras que aproximadamente el 25% de los pacientes con VHL con CCR avanzado (>3 cm) desarrollan enfermedad metastásica [33].

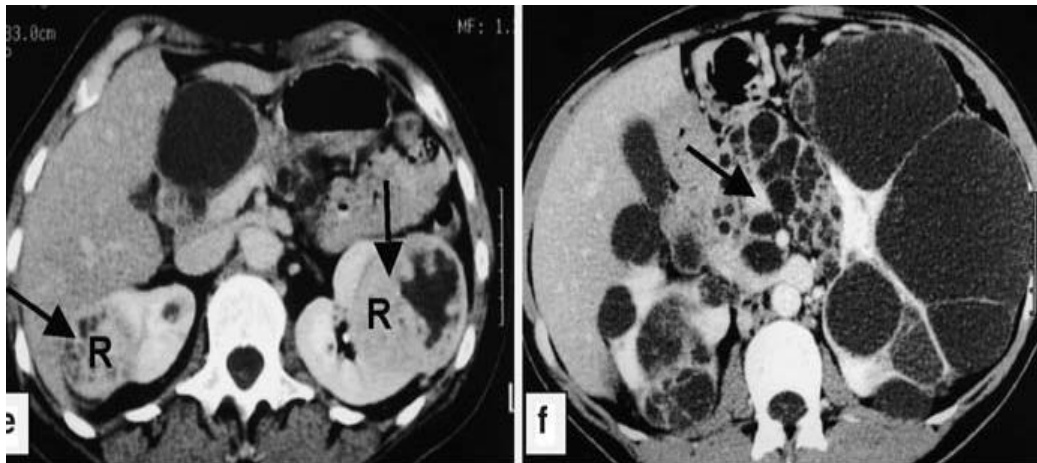
Las mutaciones en la línea germinal que conducen a una proteína truncada confieren un 40% más de riesgo de desarrollar CCCR en comparación con los pacientes con mutaciones de la línea germinal en sentido erróneo [56]. Algunos han encontrado que las deleciones de *VHL*

que se extienden e incluyen el gen regulador de actina *HSPC300*, parecen disminuir el riesgo de desarrollo de CCCR y angiomas retinianos [51]. Las mutaciones sin sentido y con desplazamiento del marco tienen un mayor riesgo relacionado con la edad para CCCR y hemangioblastomas que las mutaciones de sentido erróneo que se cree que interfieren con la integridad estructural de la p. VHL [11].

En CCCR esporádicos se calcula que hasta el 92% tiene mutación somática en *VHL*. Además, la metilación de *VHL* que produce silenciamiento génico ocurre en 5-30% de los casos esporádicos de CCCR y pérdida de heterocigidad hasta en el 98% [1].

El diagnóstico durante la etapa presintomática tiene el potencial de mejorar los resultados. La TAC abdominal con contraste es el estándar de oro para el diagnóstico de lesiones renales de VHL [35]. Permite a los médicos cuantificar el tamaño y la cantidad de tumores y quistes. El CCCR y los quistes en VHL son del tipo de células claras [35]. El CCCR relacionado con VHL es histológicamente similar al carcinoma de células claras esporádico.

**Figura 7.** Tomografía computarizada e) carcinoma de células renales sólido bilateral (R) en un paciente de 38 años. f) Múltiples quistes bilaterales y carcinomas de células renales de un paciente de 40 años, numerosos quistes pancreáticos (flecha). Tomado de *European Journal of Human Genetics* (2011) 19, 617–623.



#### **2.4.4 Feocromocitoma.**

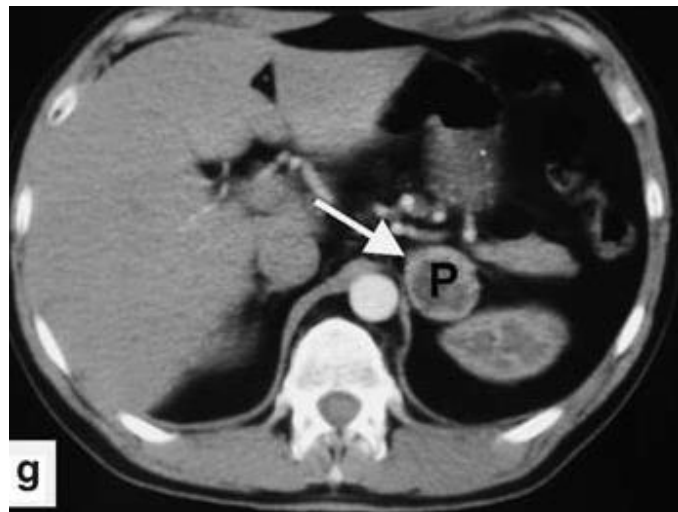
El riesgo de feocromocitoma varía de acuerdo con el subtipo clínico y la mutación de *VHL* subyacente. Hasta un 20% de los pacientes con *VHL* presentan feocromocitoma [25]. La edad promedio en el momento del diagnóstico del feocromocitoma es de 24 años [11], con un rango de edad de 5 a 58 años [3]. La penetrancia a los 70 años se calcula aproximadamente de 30% [11]. Aunque pueden producirse feocromocitomas suprarrenales y extra-adrenales en *VHL*, la presencia de feocromocitomas extra-adrenales en los casos de feocromocitoma familiar aumenta la probabilidad de encontrar una mutación germinal en el gen de la subunidad succinato deshidrogenasa (*SDH*). Aunque el riesgo general de malignidad en los feocromocitomas generalmente se considera que es 10%, la tasa en la enfermedad *VHL* parece ser menor que esto, 5%. Estos tumores producen catecolaminas, como norepinefrina, causando hipertensión, taquicardia, palpitaciones, cefalea, sudoración, palidez y náuseas [36]. El fenotipo con mayor riesgo de generar feocromocitoma es el subtipo 2 [3,6,11.]. Se ha establecido que el riesgo de feocromocitoma aumenta con mutaciones de tipo sentido erróneo [11].

En feocromocitomas esporádicos se encuentra hasta en un 3% alguna mutación somática de *VHL* y hasta un 25% alguna mutación germinal en alguno de los genes de feocromocitoma hereditario ( *VHL,RET,NEM,SDHB,SDHD*).

El diagnóstico del feocromocitoma se basa en el laboratorio bioquímico y los estudios de diagnóstico [35,36,37]. Las pruebas de laboratorio funcional son útiles, especialmente cuando las imágenes no muestran evidencia tangible de una lesión. Las metanefrinas libres de plasma son el método más sensible (97%) para detectar feocromocitoma más que la medición urinaria de 24 horas de las catecolaminas. La TAC

abdominal post-contraste es sensible para detectar feocromocitomas suprarrenales y extra-adrenales. La RM con contraste del abdomen tiene una sensibilidad del 90%-100% en la detección de estos tumores y es la modalidad preferida. La identificación de tumores extra-adrenales puede beneficiarse de la gammagrafía con metayodobenzilguanidina (MIBG) [35,36].

**Figura 8.** Feocromocitoma suprarrenal izquierdo (P) se detectó en un paciente asintomático de 24 años. Tomografía computarizada. Observe también los numerosos quistes pancreáticos (flecha). *European Journal of Human Genetics* (2011) 19, 617–623.



#### 2.4.5 Páncreas

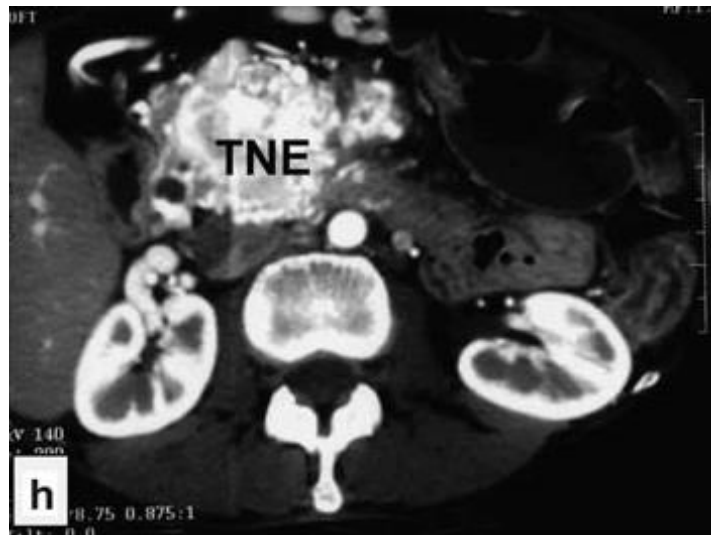
Los quistes y los tumores son característica relativamente comunes de VHL, conjuntamente se calcula una frecuencia del 35 al 70%, la edad media de diagnóstico es a los 36 años con un rango de 5 a 70 años. Los quistes múltiples son la manifestación pancreática más frecuente y están presentes en la mayoría de los pacientes de mayor edad. Sin embargo,

los quistes pancreáticos rara vez alteran la función pancreática.[38]. Los tumores pancreáticos se presentan en 11-17% de los casos [2] y suelen ser tumores sólidos no secretores de las células de los islotes que se detectan mejor mediante RM abdominal con contraste con imágenes de fase arterial temprana. Los tumores pancreáticos incluyen cistoadenomas (12%), hemangioblastomas (<1%), adenocarcinomas (<1%) y tumores neuroendocrinos (TNEP) (9-17%) [39]. Los tumores neuroendócrinos pueden convertirse en malignos y metastásicos en el 8% de los pacientes [37]. Se ha informado una alta frecuencia de malignidad en los tumores de células de los islotes asociados a VHL y la cirugía está indicada en los tumores de >3 cm. [38]. Los tumores pancreáticos con componentes quísticos son cistadenomas microquísticos [35]. Los quistes de manera aislada tienden a estar en el 12% de los pacientes y acompañados de tumoración pancreática hasta en un 75% [2].

Los quistes pancreáticos a menudo son clínicamente silenciosos. Por lo tanto, las imágenes de rutina son importantes para el diagnóstico en pacientes con VHL . En la imagen CT post-contraste, se puede ver un TNEP como una masa potenciadora [31, 35]. Una vez que se establece la presencia del tumor, la RM puede ayudar a confirmar el diagnóstico. La ecografía endoscópica y la gammagrafía con receptores de somatostatina son opciones adicionales para detectar estas lesiones [31,37]. La tomografía por emisión de positrones (PET) se ha utilizado para identificar tumores neuroendocrinos que no son visibles mediante TAC. Los TNEP están bien circunscritos y encapsulados en la naturaleza. Desde un punto de vista histológico, estos tumores se derivan de células de islotes pancreáticos. Originalmente, se llamaron tumores de células de los islotes.



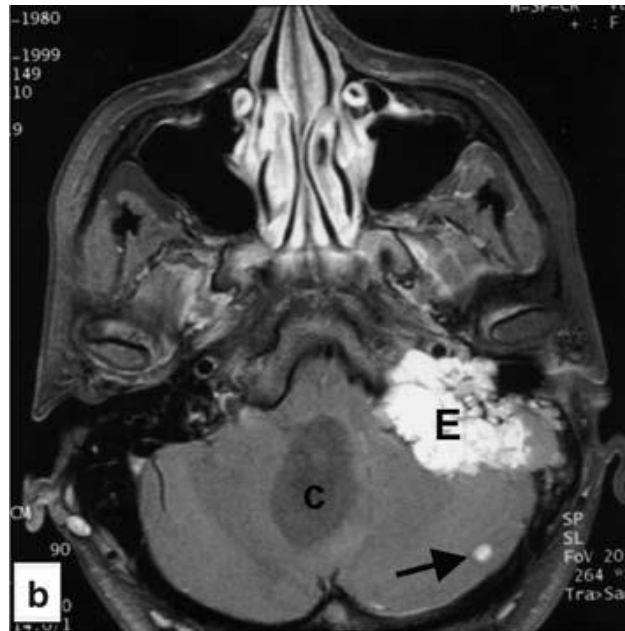
**Figura 9.** Gran tumor neuroendocrino pancreático (TNE) en un paciente de 45 años. Tomografía computarizada (CT) (cortesía del Prof. Pascal Hammel). *Tomado de European Journal of Human Genetics (2011) 19, 617–623.*



#### **2.4.6 Tumor del saco endolinfático (TSE).**

Tumor que se desarrolla en el epitelio endolinfático, donde se controla la producción de endolinf. Se pueden detectar mediante RM o CT en un 6 a 15% de los pacientes [40]. Los TSEL bilaterales se consideran patognomónicos para la enfermedad de VHL. Las lesiones más grandes (> 3 cm) pueden alterar el nervio facial y producir paresia facial [37]. Se consideran tumores benignos que no hacen metástasis pero que pueden ser localmente agresivos [40]. Los TSEL son ricamente vasculares, a menudo erosionando el hueso temporal cercano. Histológicamente, estas lesiones son neoplasias papilares quísticas glandulares con patrones variables. Cuando los tumores endolinfáticos son pequeños, se pueden encontrar completamente dentro del saco endolinfático. Por el contrario, invaden el hueso temporal cuando son grandes [41].

**Figura 9.** Tumor del saco endolinfático en RM (E). *Tomado de European Journal of Human Genetics (2011) 19, 617–623.*



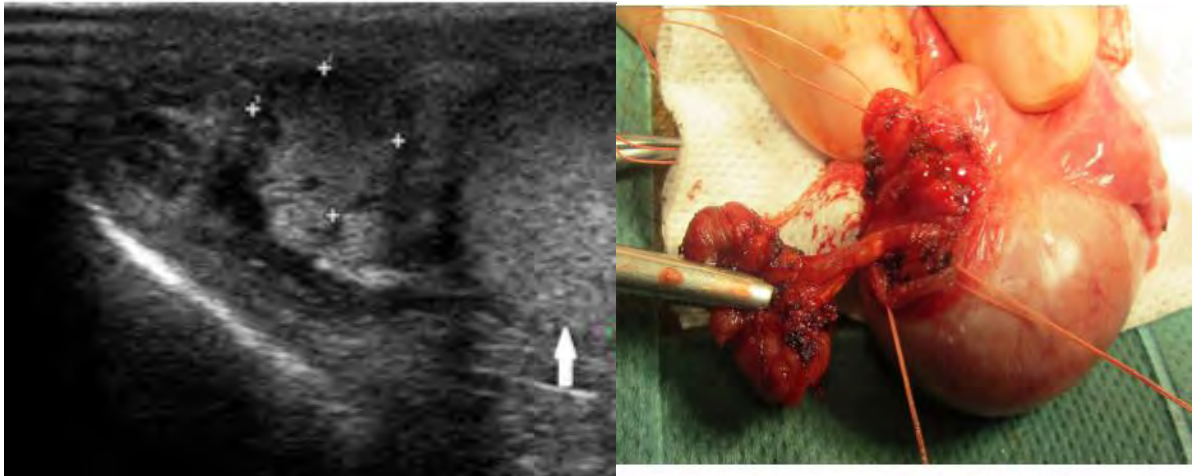
#### **2.4.7 Cistadenomas de epididimo y ligamento ancho (CAE/CALA).**

Los cistadenomas epididimarios ocurren en un 16 a 60% de los hombres con VHL y a menudo son bilaterales [24,42]. Generalmente son de naturaleza benigna y no requieren cirugía. En el 17% de los pacientes, las lesiones no pueden palparse debido a un tamaño más pequeño [37]. La edad tiene un rango de 16 a 46 años de edad. La ultrasonografía es la modalidad de elección para localizar estas lesiones. Los tumores comparten características morfológicas de otros tumores VHL [3, 37, 41]. La incidencia de los cistadenomas de ligamento ancho es desconocida. La edad reportada de presentación es de 16 a 40 años de edad. El tumor puede presentarse como una masa abdominopélvica con síntomas de malestar

abdominal o una masa anexal dolorosa [5, 14, 16]. Hallazgos radiológicos e histológicos Las masas de ligamentos anchos pueden detectarse mediante RM del abdomen o de un ultrasonido pélvico. Histológicamente, los cystadenomas papilares son similares a los cistadenomas del epidídimo con respecto a la arquitectura papilar prominente [3,41].

Otras manifestaciones clínicas se han reportado en el Síndrome de VHL, como son quistes o hemangioblastomas en hígado la prevalencia no se conoce.

**Figura 10.** 1) Ultrasonido que muestra una masa compleja (entre flechas) dentro de la cabeza epididimal izquierda, cefálico al testículo (flecha blanca). 2) Hallazgos quirúrgicos: una masa bien circunscrita, con aspecto microquístico, separada del epidídimo. *Tomado de Urology. 2018 May 2.*



## 2.5 Correlación genotipo-fenotipo

### 2.5.1 Síndromde de VHL tipo 1 y 2

Se ha establecido correlación genotipo-fenotipo para el síndrome de VHL, sin embargo, esta correlación puede llegar a ser discordante entre los afectados por esta entidad. Un ejemplo claro se presenta cuando las mutaciones caen dentro del mismo codón y producen fenotipos diferentes, por lo tanto, pueden estar en juego otros factores tales como el tipo de aminoácido sustituido, genes modificadores o factores ambientales. Esta correlación genotipo-fenotipo divide al síndrome de VHL en 2; VHL tipo 1 y VHL tipo 2.

El tipo 1 se ha asociado principalmente a mutaciones que generan una proteína truncada, otro tipo de mutación descrita es la deleción. Clínicamente los afecatdos por el tipo 1, tienen un riesgo bajo de generar feocromocitoma, las deleciones que involucran a los genes *VHL* y *BRK1* (*HSPC300*), tienen un bajo riesgo de generar CCRcc (a veces denominado fenotipo tipo 1B [48,49,50,51]).

El tipo 2 representa del 7 al 20% de las familias con VHL y se asocia principalmente a mutaciones en sentido erróneo reportadas en un 83.5% a 96% [6,46]. La mayoría de estas familias se caracterizan además por tener el subtipo 2B.

**Tabla 1. Correlacaión Genotipo – Fenotipo en VHL.**

VHL	Manifetaciones	Mutaciones
<b>1</b>	Menor resgo de Feocromocitoma	Sin sentido, otras.
<b>2</b>	Mayor riesgo de feocromocitoma	Sentido erróneo, otras.
<b>A</b>	Menor riesgo de CCCR	
<b>B</b>	Mayor riesgo de CCCR	
<b>C</b>	Feocromocitoma aislado	

### **2.5.2 Mutaciones fundadoras**

Las mutaciones fundadoras recurrentes están bien documentadas, las más caracterizadas son las originadas en Alemania: c.292T>C (anteriormente c.T505; p.Y98H) en familias de la región de la Selva Negra y c.334T>C (anteriormente c.T547C; p.Y112H) en familias de este central de Alemania [44-46]. Estas familias han emigrado a Europa y América, especialmente al oeste de Pensilvania. Ambas mutaciones predisponen a VHL subtipo 2A, con un alto riesgo de feocromocitoma, un riesgo moderado de Hb de retina y del SNC, pero un riesgo bajo de CCRcc. Está descrita una mutación recurrente (hot spot) en el codón 167 como resultado de la presencia de un dinucleótido CpG, con los consiguientes riesgos de desaminación. Más de 82 familias identificadas con mutaciones en esta ubicación, que representan aproximadamente el 43% de las mutaciones en familias estadounidenses y canadienses con VHL tipo 2. Las personas con mutaciones en esta ubicación tienen un alto riesgo de desarrollar feocromocitoma (aproximadamente 62%) y CCRcc. [6,46,47]..

### **2.5.3 Tipos de mutaciones y efecto en la p.VHL.**

Las mutaciones del gen *VHL* evitan el enlace de Elongina C con el dominio alfa de la p.VHL y así la ubiquitinación dirigida por pérdida de función de la proteína. Un segundo sitio de unión macromolecular se mapea en el dominio b, y este sitio se dirige a las subunidades reguladoras HIF-1a y HIF-2a para la degradación proteasomal. Mientras que las mutaciones de tipo 1 y tipo 2B alteran la unión de p. VHL a Elongin C, las mutaciones de tipo 2A se mapean al sitio de unión de HIF de dominio b y no afectan la capacidad de pVHL para unirse a Elongin C.

Los primeros 53 aminoácidos de la p. VHL<sub>30</sub> muestran una pobre conservación evolutiva, y no se han informado mutaciones patogénicas en este dominio. Modelos in vitro de mutaciones de la p. VHL asociadas con diferentes subtipos de VHL sugiere que el riesgo de desarrollar hemangioblastoma o CCRcc se correlaciona con la capacidad de la p. VHL mutante

para alterar la actividad de HIF [52 , 53 , 54] . Mientras que las mutaciones del síndrome de VHL tipo 1 y tipo 2B son extremadamente defectuosas con respecto a la regulación de HIF, las mutaciones en el fenotipo tipo 2A parecen estar mucho menos comprometidas con respecto a la regulación de HIF1 $\alpha$ . Por el contrario, ciertas mutaciones del síndrome de VHL de tipo 2C retienen su capacidad de regular negativamente HIF1 $\alpha$  [52] ,lo que implica mecanismos independientes de HIF en la patogénesis de VHL tipo 2C (feocromocitoma aislado) [53]. Se describe que las mutaciones relacionadas con riesgo aumentado de feocromocitoma implica mutaciones de SE con aminoácidos de la superficie proteica, comparado con los de ubicación central.

Varios estudios han sugerido que los pacientes con mutaciones sin sentido y con desplazamiento del marco de lectura tienen un mayor riesgo de CCCR y hemangioblastomas que los pacientes con mutaciones en sentido erróneo [55 ,56, 57] . Se puede especular que la pérdida completa de la función de p. VHL es letal o desventajosa para las células precursoras de feocromocitoma. Además de la variabilidad fenotípica asociada con la heterogeneidad alélica, los modificadores genéticos pueden influir en la expresión fenotípica del síndrome de VHL 1.

En un análisis de las correlaciones genotipo-fenotipo en 274 individuos de familias de VHL francesas [56] encontraron que las mutaciones en sentido erróneo en la región del grupo de mutación (MCR-1) (codones 74-90) y MCR-2 (codones 130-136) se asociaron con una mayor frecuencia de lesiones renales que las mutaciones en sentido erróneo fuera de estas regiones (93% vs. 55%,  $p < 0.009$ ) y que las mutaciones de sentido erróneo de MCR-1 se asociaron con una frecuencia más alta de CRRcc que las mutaciones de sentido erróneo fuera de MCR-1 (79% frente a 51%), en otro estudio MCR-1 y MCR-2 fueron similares a las mutaciones en sentido erróneo que ocurren fuera de estas regiones.

La edad media más temprana de inicio y mayor riesgo relacionado con la edad de aparición de hemangioblastomas retinianos y CCCR son reportadas en mutaciones que terminan en proteínas truncadas (recorriamiento del marco de lectura y sin sentido) que las mutaciones en sentido erróneo y deleciones. Gallou et al. [2004] informaron una mayor frecuencia de afectación renal en casos con una mutación truncada o reordenamiento grande que en aquellos con cambios de sentido erróneo. No está claro por qué las mutaciones truncadoras aparentemente deberían causar un fenotipo más severo que las deleciones o mutaciones en sentido erróneo, sin embargo, se ha informado que hay una menor frecuencia de CCRcc en pacientes con una deleción completa del gen *VHL* debido a un efecto protector por una deleción de genes contiguos que involucra a *VHL* y *HSPC300 (C3orf10)* [49], sin embargo esto no explica la diferencia entre las mutaciones truncadoras y las mutaciones en sentido erróneo. Las mutaciones sin sentido pueden asociarse con la expresión de un producto truncado que retiene un sitio de unión de HIF de dominio b pero no un sitio de unión de elongina C de dominio a funcional. Dicha proteína mutante podría competir con pVHL de tipo silvestre para unirse a las subunidades HIF-a en células renales normales.

## 2.6 Diagnóstico

### 2.6.1 Clínico

El diagnóstico del síndrome de Von Hippel-Lindau se establece en un individuo afectado con las siguientes características clínicas [Melmon and Rosen].

#### **1) Sin antecedentes familiares conocidos de síndrome de VHL**

##### ***(dos o más lesiones características):***

- Dos o más hemangioblastomas en retina, columna vertebral o cerebral o un único hemangioblastoma en asociación con una manifestación visceral (p. ej., quistes renales múltiples o pancreáticos).
- Carcinoma renal de células claras
- Feocromocitomas suprarrenales o extra suprarrenales
- Con menos frecuencia, tumores del saco endolinfático, cistoadenomas papilares del epidídimo o ligamento ancho, o tumores neuroendocrinos del páncreas.

#### **2) Con antecedente familiar de síndrome de VHL debe estar presente una o más de las siguientes manifestaciones de síndrome:**

- Hemangioblastoma retiniano
- Hemangioblastoma espinal o cerebeloso
- Feocromocitoma suprarrenal o extra suprarrenal
- Carcinoma de células renales
- Múltiples quistes renales y pancreáticos



### 2.6.2 Molecular.

La proporción del total de mutaciones en los afectados por síndrome de VHL tipo 1 y 2 se distribuyen de la siguiente manera: mutaciones en sentido erróneo (52%), recorrimiento del marco de lectura (13%), sin sentido (11%), deleciones grandes y completas (11%), deleciones o inserciones en el marco (6%), y sitio de corte y empalme (7%) [6].

Usando la secuenciación directa de la región codificante del gen *VHL* y la técnica de Southern, se informó una tasa de detección del 100% en las familias con síndrome de VHL [58]. Este porcentaje puede variar, Hes FJ et al. encontraron, en una población de 146 probandos con VHL clásico, una tasa de detección del 95%. En este estudio se sustituyó la técnica de Southern por MLPA, así como la validación de la misma para detección de deleciones y duplicaciones en el gen de *VHL*, que abarcó el 27% de detección. Sin embargo, esta cifra en otros estudios más grandes alcanza el 11% [6]. La detección de alguna mutación en línea germinal del gen *VHL* cuando hay daño a órgano único se reporta del 3.3% ( hemangioblastoma de SNC aislado o feocromocitoma que este último corresponde al subtipo 2C) [59].

### 2.7 Seguimiento.

La siguiente tabla menciona las recomendaciones para seguimiento de pacientes con diagnóstico de síndrome de VHL de acuerdo a la edad de diagnóstico [60-62].(**Tabla 2**)

**Tabla 2. Recomendaciones para vigilancia de pacientes con VHL.**

Edad	Tamizaje	Frecuencia
<b>0-4 años</b>	.Examen ocular con oftalmoscopia indirecta. -Examen físico y neurológico. -Toma de TA.	Anual.
<b>5- 15 años</b>	Todo lo anterior, más: -Prueba de metanefrinas en plasma u orina usando la prueba de orina de 24 horas - Ultrasonido abdominal en ≤ 8 años si está indicado; RM abdominal si se encuentran anomalías bioquímicas.  -Evaluación de audiología; en el caso de infecciones repetidas del oído, RM con contraste del conducto auditivo interno.	Anualmente          2-3 años (1 año si hay tinnitus, pérdida de la audición o vértigo).
<b>&gt;16 años</b>	- Todo lo anteriores más: - Ultrasonido de calidad del abdomen. -RM del abdomen con y sin contraste. - RM de cerebro y columna vertebral.	Anualmente  Cada 2 años  Cada 1 a 2 años.

## 2.8 Diagnóstico diferencial.

### 2.8.1 Hemangioblastoma aislado, o carcinoma renal de células claras esporádico.

La sensibilidad clínica de las pruebas genéticas moleculares de gen *VHL* permite descartar de forma efectiva el síndrome de Von Hippel-Lindau (VHL) con un alto grado de certeza en individuos con este tipo de afección. El mosaicismo somático para una variante patogénica de *VHL* aún podría considerarse en tales individuos. Un individuo más joven, especialmente uno con múltiples lesiones, es más probable que tenga una variante patogénica germinal en *VHL* que un individuo mayor con una sola lesión [63].

### 2.8.2 Feocromocitoma.

Aproximadamente el 25% de las personas con feocromocitoma y sin antecedentes familiares conocidos de feocromocitoma tienen una variante patogénica heterocigótica en uno de varios genes: *RET*, *VHL*, *SDHD*, *SDHB*, *SDHA*, *SDHC*, *SDHAF2*, *TMEM127* o *MAX*. Las variantes patógenas de *VHL* en la línea germinal son raras en casos simples de feocromocitoma unilateral (es decir, un individuo afectado sin antecedentes familiares de síndrome VHL), a menos que el individuo sea menor de 20 años [63].

### -Neoplasia endocrina múltiple tipo 2 (NEM2).

Las personas con NEM2A tienen un mayor riesgo de carcinoma medular de tiroides, feocromocitoma y adenoma o hiperplasia paratiroidea. Los feocromocitomas generalmente se presentan después del cáncer de tiroides medular o de forma concomitante; sin embargo, son el primer signo en el 13% a 27% de las personas con NEM2A [64]. Las características de NEM2B incluyen neuromas de la mucosa de los labios y la lengua, facies distintivas con bermellón grueso de los labios superiores e inferiores, ganglioneuromatosis del tracto gastrointestinal, un habitus "marfanoide" y un mayor riesgo de cáncer medular de tiroides y feocromocitoma. Los feocromocitomas ocurren en el 50% de los individuos con NEM2B; aproximadamente la mitad son

múltiples y, a menudo, bilaterales. Una variante patogénica heterocigota del gen *RET* se asocia con NEM2A.

#### - - **Síndrome de paraganglioma feocromocitoma hereditario.**

Aproximadamente el 8.5% de las personas con un feocromocitoma no sindrómico aparentemente no familiar tienen una variante patogénica en uno de los genes ( *SDHD* , *SDHB*, *SDHA* , *SDHC* y *SDHAF2* ) que codifica las sub unidades de succinato deshidrogenasa que causan los síndromes de paraganglioma-feocromocitoma hereditario [63.65]. La mutación de estos genes se asocia con paragangliomas familiares, que también se conocen como feocromocitomas extra-adrenales o tumores glómicos [66, 67]. Korpershoek et al [2011] encontraron una variante patógena de línea germinal *SDHA* en 3% de individuos con paragangliomas y feocromocitomas aparentemente esporádicos. Se observa una variante patogénica de la línea germinal del gen *MAX* en aproximadamente el 1% de los individuos con feocromocitoma familiar y no familiar [68].

#### - ***TMEM127*- susceptibilidad asociada a feocromocitoma.**

Estudios recientes estiman que el 1% -2% de los individuos con feocromocitoma familiar y no familiar tienen una variante patogénica de línea germinal en *TMEM127* [69.70]. Algunas personas con una variante patogénica de línea germinal en *TMEM127* tienen paragangliomas de la cabeza y cuello o en sitios extra-adrenales [71]. En ocasiones se observan feocromocitomas en la neurofibromatosis tipo 1 (NF1).

### **2.8.3 Carcinoma renal de células claras (CCCR).**

Las personas con CCCR familiar deben ser examinadas para detectar leiomiomatosis y cáncer de células renales hereditarias o síndrome de Birt-Hogg-Dubé.

### **2.8.4 Los tumores del saco endolinfático.**

Estos tumores en VHL a menudo se diagnostican erróneamente como enfermedad de Menière.

## 2.9 Asesoramiento genético

### 2.9.1 Riesgo de recurrencia

VHL se hereda de manera autosómica dominante. El riesgo para los miembros de la familia es:

#### a) Padres de un probando

Alrededor del 80% de las personas diagnosticadas con síndrome de VHL tienen un padre afectado. Un probando con síndrome VHL puede tener el trastorno como resultado de una mutación de *novo*. La proporción de individuos con una variante patogénica de *novo* es de aproximadamente 20%.

La incidencia del mosaicismo germinal es aún desconocida. Sin embargo, algunos resultados sugieren que el mosaicismo contribuye más al VHL de lo que se piensa actualmente. Se piensa que La secuenciación de próxima generación, aumentará la detección de mosaicismo en VHL [83 ,84].

Se recomiendan para los padres de un probando con mutación de *novo*, la realización de prueba molecular. Si no se conoce la mutación en el probando, se debe ofrecer, al menos, a ambos padres un examen oftalmológico y una evaluación ecográfica abdominal.

La historia familiar de algunos individuos diagnosticados con VHL puede parecer negativa debido a: falla en reconocer el trastorno en los miembros de la familia, la penetrancia reducida, la muerte temprana del padre antes del inicio de los síntomas o el inicio tardío del síndrome en el padre afectado. Por lo tanto, una historia familiar aparentemente negativa no puede confirmarse a menos que se hayan realizado pruebas genéticas moleculares en los padres del probando.

b) Hijos del probando

Cada niño de un individuo con síndrome de VHL tiene un riesgo del 50% de heredar la mutación de *VHL* y se debe de hacer énfasis en que el grado de gravedad clínica no es predecible.

Debido a que los hijos de pacientes con VHL tienen una probabilidad del 50% de resultar afectados, el tema de las pruebas genéticas para VHL en niños es uno que surge a menudo en la atención clínica. Para los niños sanos, muchos enunciados y directrices profesionales respaldan la recomendación de que se lleven a cabo pruebas genéticas solo si la afección se asocia con el inicio de la infancia y si un resultado positivo conduce a pruebas de detección efectivas y seguras y / o opciones de intervención, reduciendo así la morbilidad y la mortalidad [85, 86]. Aunque la edad promedio de aparición de los tumores VHL es en la tercera década de la vida, algunos pacientes desarrollan tumores a la edad de 10 años por lo tanto, las pruebas genéticas pre-sintomáticas para VHL están justificadas [86]. También puede identificar a aquellos niños que no heredaron la mutación, evitándoles de por vida una evaluación clínica.

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.**

El síndrome de von Hippel Lindau es una entidad genética rara, sin embargo, por ser una enfermedad con un modo de herencia autosómico dominante y que predispone a la aparición de múltiples neoplasias, resulta de gran importancia detectar a los portadores de la enfermedad para dar seguimiento y prevenir complicaciones.

Las mutaciones del gen *VHL* en la línea germinal se han demostrado en prácticamente todas las familias con VHL. Estudios realizados en otras poblaciones diferentes a la mexicana

reportan una clara correlación genotipo fenotipo. Entre el 11 a 27% de mutaciones reportadas en otras poblaciones son de tipo rearrreglo genómico grande (delección/duplicación) en el gen *VHL* que son detectadas por técnica de MLPA.

La detección de la mutación patogénica dentro de una familia permite identificar portadores asintomáticos que se deben de incluir en un programa de seguimiento de complicaciones de acuerdo a guías internacionales y de ser posible predecir los riesgos de desarrollar ciertas neoplasias relacionadas de acuerdo al genotipo de la familia. Sin embargo, debido a la marcada variabilidad fenotípica intra e interfamiliar y a la penetrancia dependiente de la edad, muchas veces es complicado y los reportes de esta correlación no se han evaluado ampliamente en nuestra población, por lo que no sabemos si el comportamiento es similar a lo reportado en la literatura. En la consulta de Genética del INCMNSZ tenemos la posibilidad de poder estudiar familias que reúnen criterios clínicos para el síndrome de VHL y ahora tenemos una oportunidad única de poder estudiar este tipo de población con diagnóstico molecular confirmado para tratar de establecer una correlación genotipo fenotipo. Recordemos que en México existen sólo 2 estudios que reportan 9 familias con afección ocular y del sistema nervioso como criterio de inclusión, sin embargo, las muestras son pequeñas para establecer el comportamiento de este síndrome en nuestra población. Además, en ninguno de ellos se estudiaron rearrreglos genómicos mediante la técnica de MLPA. La originalidad del presente proyecto radica en comparar los fenotipos inter e intrafamiliares entre familias mexicanas con diferentes tipos de mutaciones. De manera secundaria, permitirá instaurar programas de detección oportuna en familiares de primer grado de los casos diagnosticados con VHL, comparar las características clínicas con lo ya reportado en otras poblaciones y conocer a futuro los riesgos de neoplasias de las familias identificadas.

La pregunta de investigación del presenta trabajo es:

¿Existe variabilidad inter e intra familiar en familias mexicanas con diagnóstico de Síndrome de Von Hippel Lindau?

#### **4. HIPÓTESIS.**

Existe variabilidad inter e intrafamiliar y una posible relación genotipo fenotipo en familias mexicanas con diagnóstico de VHL, considerando la frecuencia con que aparecen las diferentes manifestaciones clínicas y el exón afectado en el gen *VHL*.

#### **5. OBJETIVOS.**

##### **5.1 Objetivo general.**

Identificar la variabilidad inter e intra familiar en familias mexicanas con diagnóstico de VHL, que acuden a la consulta externa de Genética en el INCMNSZ, considerando la frecuencia con que aparecen las diferentes manifestaciones clínicas y el exón afectado en el gen *VHL*

##### **5.2 Objetivos específicos:**

- 1) Describir la edad promedio de inicio de la enfermedad, la frecuencia de manifestaciones clínicas y el fenotipo de VHL de los portadores de mutación en el gen *VHL* en un grupo de familias mexicanas.
- 2) Determinar el tipo y frecuencia de mutaciones en familias mexicanas con VHL.
- 3) Identificar una posible correlación genotipo-fenotipo.
- 4) Establecer la frecuencia de rearrreglos genómicos grandes del tipo delección/duplicación en la muestra estudiada.

#### **6. MATERIAL Y MÉTODO.**

##### **6.1 Diseño General.**

**Estudio:** descriptivo, observacional, transversal y retrolectivo.



**Población del estudio:** familias que acudieron a la consulta externa de Genética del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, con diagnóstico de VHL. El periodo de estudio comprendió de enero de 1998 a marzo de 2018.

**Tamaño de muestra:** muestreo por conveniencia.

## **6.2 Criterios de selección.**

### **6.2.1 Criterios de inclusión.**

- Pacientes con diagnóstico de VHL que acudieron a la consulta externa de Genética del INCMNSZ con mutación identificada en el gen *VHL*.
- Familiar de primer o segundo grado de pacientes que cumplan con el criterio anterior y que hayan sido vistos en la consulta externa de Genética.

### **6.2.2 Criterios de exclusión.**

- Contar con resultado positivo de estudio molecular de VHL que haya sido reportado en estudios clínicos previos.

## **6.3 Metodología.**

Se revisaron todos los expedientes clínicos de 1998 a 2018 con diagnóstico de VHL, utilizando la codificación del CIE 10. Se comparó con la base de datos interna del laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Genética de los casos estudiados con resultados positivos y negativos de VHL. Las variables analizadas incluyeron información sobre características clínicas de la enfermedad, antecedentes heredofamiliares y tipo de mutación detectada. Para la presentación de estos datos se utilizó estadística descriptiva. Se hicieron comparaciones por género y se compararon nuestros hallazgos con lo reportado en otras poblaciones. Para identificar diferencias estadísticamente significativas se empleó la prueba exacta de  $\chi^2$  en el caso de variables cualitativas y para el caso de las variables numéricas se usó la prueba de rangos señalados de Wilcoxon, para todas las comparaciones se empleó un valor de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo. Se empleó el paquete estadístico SPSS ver. 13.0.

## 7. RESULTADOS.

### 7.1 Muestra.

Se obtuvieron registros institucionales de 20 individuos de 16 familias diferentes y por consiguiente las características clínicas de cada uno de ellos.

La proporción de número de mujeres: hombres es 3:1. Cinco eran hombres (25%) y quince mujeres (75%), la edad media del diagnóstico fue de 23.4 años (13-39), con una mediana de 21.5 años. De acuerdo con el análisis de las genealogías, 5 casos 31.3% no tenían historia familiar para VHL. (Tabla 3).

**Tabla 3. Características generales de la población estudiada.**

<b>Individuos</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>
Número de hombres	5	25.0%
Número de mujeres	15	75.0%
Total de individuos	21	100%
<b>Edad en años</b>	<b>Media (min-max)</b>	<b>mediana</b>
Edad al diagnóstico	23.4 (13-39)	21.5
<b>Familias</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>
Con antecedentes familiares	11	68.7%
Sin antecedentes familiares	5	31.3%
Total de familias	16	100.0%

### 7.2 Manifestaciones clínicas.

La manifestación clínica más frecuente fue el hemangioblastoma del SNC (Hb SNC) en 13/20 individuos (65%), con una edad media de diagnóstico de 30.0 años, la manifestación clínica inicial fue el hemangioblastoma de retina (Hb retina) en un individuo de 13 años y fue la segunda más frecuente: 10/20 (50%), con edad media de diagnóstico de 19.5 años. En tercer lugar están los quistes pancreáticos 8/20 (40%), con una media de edad de diagnóstico de 28.1 años. En cuarto lugar los quistes renales en 7/20 (35%), con una edad media de diagnóstico de 30.9 años. En quinto lugar e frecuencia se encuentran el feocromocitoma 6/20 (30%), con una

edad media de diagnóstico de 22.0 años y el CCCR, 6/20 (30%), con una edad media de diagnóstico de 32.8 años. Otras manifestaciones que se presentaron con una frecuencia de 20% o menor fueron: el tumor neuroendocrino de páncreas que conjuntamente con los quistes pancreáticos tuvieron una frecuencia de 55%, cistoadenoma de ligamento ancho (CALA), quistes hepáticos y hemangioblastoma renal. La hipertensión arterial sistémica (HAS) estuvo como manifestación secundaria en 5/6 individuos con feocromocitoma, un paciente presento HAS sin feocromocitoma a los 30 años. Las manifestaciones clínicas, edades medias de diagnóstico y comparación con 2 grandes estudios (**tabla 4 y gráfica 2**).

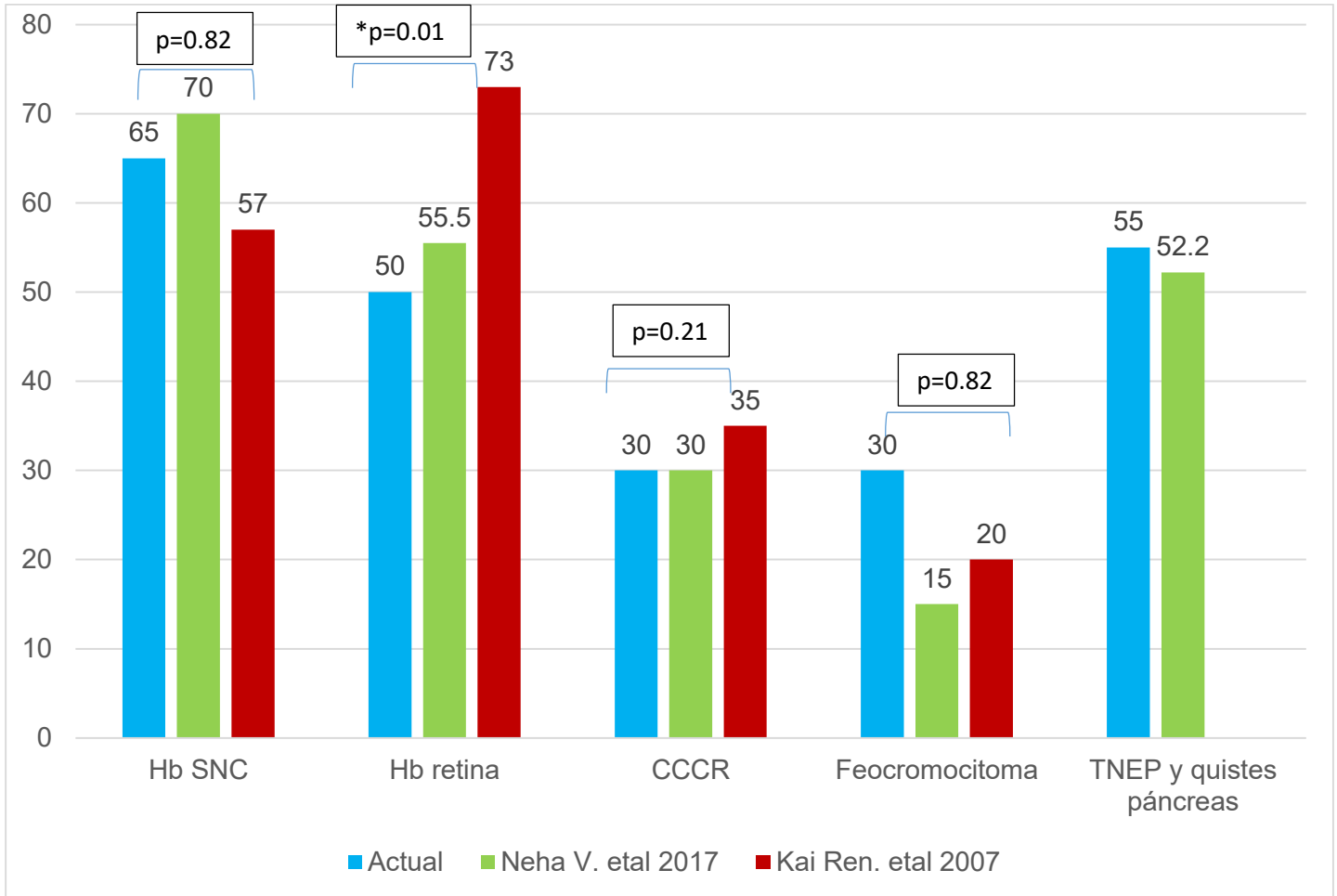
**Tabla 4. Frecuencia de manifestaciones clínicas en 20 casos con VHL y comparación con lo reportado en la literatura.**

Características clínicas	Edad media (mín-máx)	Frecuencia (%)	Kai Ren et al. 2007 edad media (%)	Neha V et al 2017 edad media (%)
Hb SNC	30.05 (18-55)	13/20 (65.0)	29.9-33.3 (57.0)	30.0 (60-80)
Hb retina	19.54 (13-30)	10/20 (50.0)	25.0 (73.0)	25.0 (49-62)
CCCR	32.8 (22-48)	6/20 (30.0)	39.7 (35.0)	39.0 (30-70)
Feocromocitoma	22.00 (16-29)	6/20 (30.0)	24.0 (20.0)	30.0 (10-20)
TNEP	21.3 (17-25)	3/20 (15.0)	-	36.0 (35-70)
Quistes renales	30.91 (20-68)	7/20 (35.0)	-	*
Quistes páncreas	28.1 (17-40)	8/20 (40.0)	-	*
TSE	--	0/2	-	31.0 (6-15)
CAE			-	16.0 -40.0 (25-60)
CALA	30	1/15 (6.6)	-	Desconocido
HAS	26.25 (17-43)	6/20 (30.0)	-	-
Quistes hepáticos	34 (29-39)	2/20 (10.0)	-	-
Hb renal	27	1/20 (5.0)	-	-

CCCR: cáncer de células claras renal, TNEP: tumor neuroendocrino de páncreas, TSE: tumor del saco endolinfático, CAE: cistoadenoma de epidídimo, CALA: cistoadenoma de ligamento ancho. HAS: hipertensión arterial, Hb: hemangioblastoma.

\* CCCR y TNEP se evaluaron conjuntamente.

**Gráfica 2. Comparación de la frecuencia de las manifestaciones clínicas en diferentes estudios.**



\*p=0.01 IC 95% (0.13-0,86).

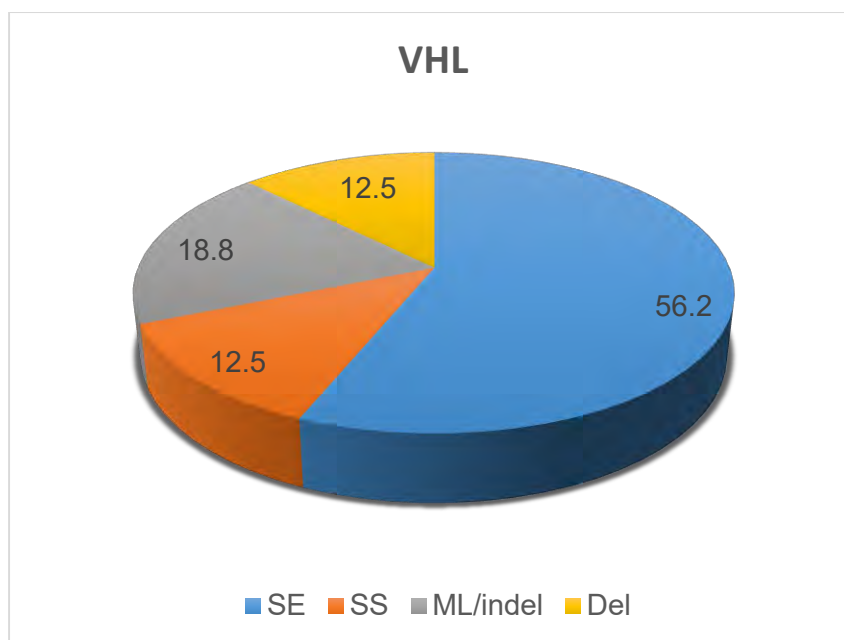
### 7.3 Frecuencia de mutaciones.

El tipo de mutaciones observadas fueron: de sentido erróneo (SE) 56.2%, corrimiento del marco de lectura: todas del tipo in/del (ML /In del) 18.8%, mutaciones sin sentido (SS) 12.5%; y rearrreglos genómicos grandes (Del) 12.5%. El diagnóstico molecular se realizó en 15 familias mediante secuenciación del gen *VHL* y en una familia mediante MLPA, que corresponde al 93.75% y 6.25% respectivamente. La Tabla 5 y la gráfica 3 muestran la comparación de nuestros hallazgos con otros estudios.

**Tabla 5. Proporción de mutaciones observadas en VHL comparada con otros estudios**

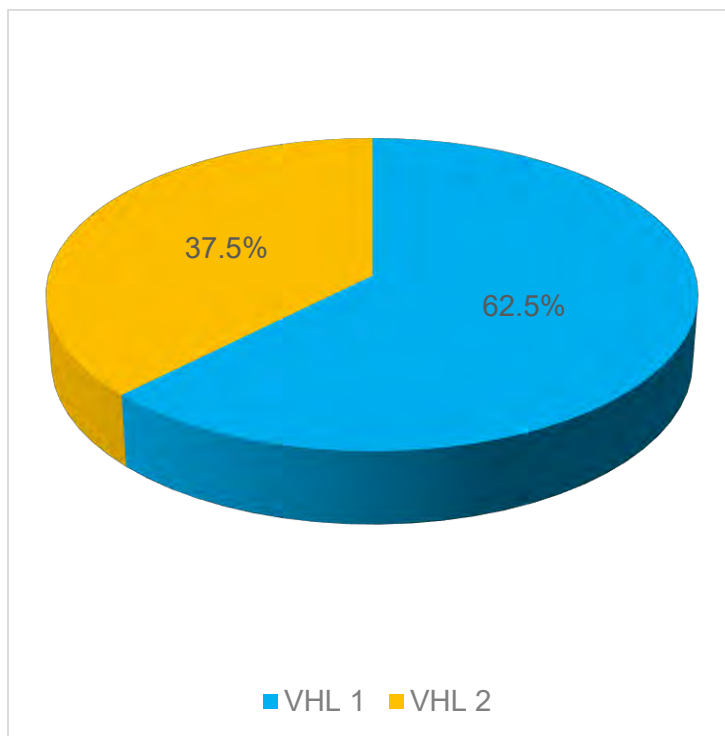
Autores	Presente estudio	Morgan et al.2010	Rasmussen et al. 2006	Chacón-Camacho et al. 2010
#Familias	16 (n= 21)	945 (n=1548)	6 (n= 26)	3 (n= 6)
Mutación	<b>Porcentaje</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>SE</b>	56.2	52.0	33.3	66.6
<b>SS</b>	12.5	11.2	16.4	-
<b>ML/In del</b>	18.8	18.8	50.0	33.4
<b>Del</b>	12.5	12.0	-	-
<b>CE</b>	-	6.0	-	-

**Gráfica 3. Distribución de mutaciones de VHL**



El VHL tipo 1 se observó en 62.5% y VHL tipo 2 en 37.5%, de este último, cuatro familias correspondieron al tipo A y dos al tipo C, no hubo un solo caso del tipo B. (Gráfica 4).

**Gráfica 4. Proporción de VHL tipo 1 y VHL tipo 2 en INCMNSZ**

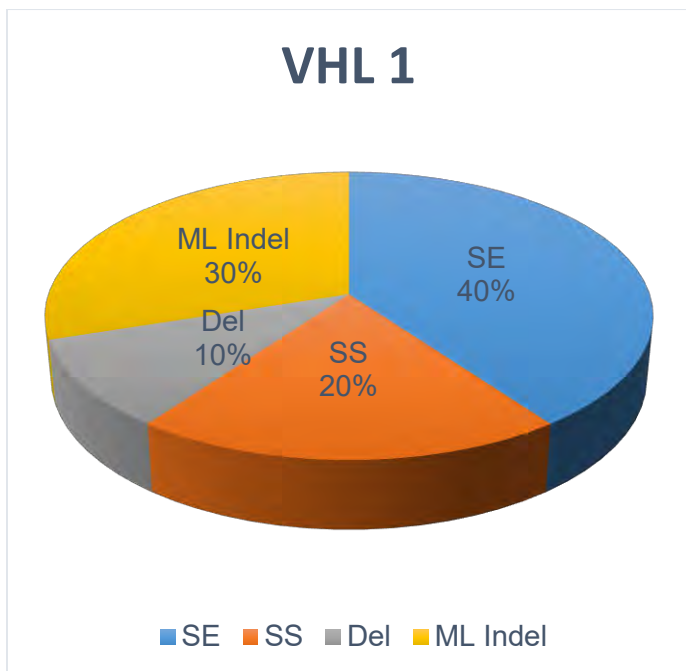


La proporción de mutaciones observadas en VHL tipo 1 son: SE (40%), ML/ In del (30%), SS (20%), rearrreglo genómico grande (10%). En cuanto al VHL tipo 2, se distribuyó de la siguiente manera: mutaciones de SE (83%) y un rearrreglo genómico grande (17%). (Tabla 6, gráficas 5 y 6).

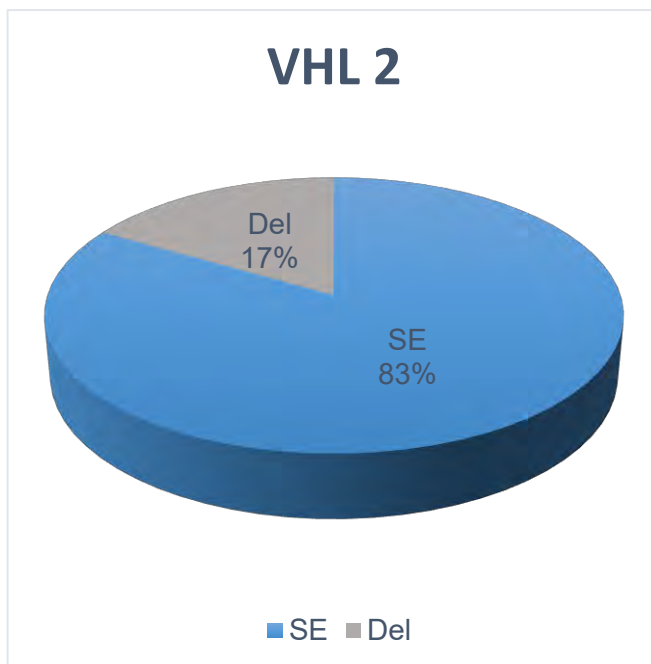
**Tabla 6. Frecuencia de fenotipos de VHL y mutaciones relacionadas**

Fenotipo	Frecuencia (%)	Tipo de mutación
<b>1</b>	10/16 (62.5)	SE (4), SS (2), del (1), ML/in del (3)
<b>2</b>	6/16 (37.5)	SE (5), Del(1)
<b>A</b>	4/6 (66.7)	SE (3), Del (1)
<b>B</b>	-	-
<b>C</b>	2/6 (33.3)	SE (2)

**Gráfica 5 Proporción de mutaciones en VHL tipo 1**



**Gráfica 6. Proporción de mutaciones en VHL 2**



De acuerdo a la ubicación de las mutaciones dentro del gen, observamos que el 31.3% se presentó en el exón 1, 12.5% en el exón 2 y 56.2% en el exón 3. (Tabla 7).

**Tabla 7. Localización de las mutaciones por exón en el gen *VHL* y comparación con diferentes estudios.**

Exón	Total	Porcentaje	Morgan etal.2010	Chacón-Camacho etal. 2010
1	5	31.3	43.2	100
2	2	12.5	17.0	-
3	9	56.2	39.8	-

Se describieron 15 mutaciones diferentes en 16 familias no relacionadas. 4/16 familias se localizaron en el codón 161, que corresponden al 25% del total de las mutaciones, 2/16 en el codón 86 que corresponde al 12.5% del total de mutaciones. Se describieron dos mutaciones nuevas en nuestra muestra (c.209A>G / p.Glu70Gly y c.218insC / p.Gln73ProfX58) que corresponden a la familia

2 y 16. El fenotipo de acuerdo a la mutación de cada familia se resume en la tabla 8 y en la tabla del anexo 1.

**Tabla 8. Descripción del tipo de mutación y fenotipo identificado en las 16 familias estudiadas**

Familia	Mutación DNA	Cambio en la proteína Exón	Mutación	VHL 1	2A	2B	2C	Otro
16	c.209A>G	p.Glu70Gly	1	SE			+	
3	c.218insC	p.Gln73ProfsX58	1	In del/ML	+			Quiste ovario
1	c.257C>T	p.Pro86Leu	1	SE	+			Quistes hepáticos
12	c.256C>T	p.Pro86Ser	1	SE	+			
11	c.266T>C	p.Leu89Pro	1	SE	+			Ca páncreas
14	c.insA329	p.His110GlnfsX21	1	In del/ML	+			
13	c.362A>G	p.Asp121Gly	2	SE			+	
10	c.439delA	p.Ile147PhefsX12	2	In del/ML	+			
4	c.470C>T	p.Thr157Ile	3	SE		+		Sordera
5	c.481 C>T	p.Arg161X	3	SS	+			
6	c.482G>A	p.Arg161Gln	3	SE		+		
9	c.481 C>T	p.Arg161X	3	SS	+			
15	c.482G>A	p.Arg161Gln	3	SE		+		
2	c.499C>T	p.Arg167Trp	3	SE	+			
8	c.del592_607	p.Leu198ArgfsX209	3	Del		+		
7	c.delexón3	-	3	Del	+			Hb renal

Hb renal: hemangioblastoma renal, Ca P: cáncer de páncreas.

Comparando la frecuencia de manifestaciones clínicas con el tipo de mutación, se observó que de las nueve mutaciones de SE, 55.5% se relaciona a feocromocitoma, 44.4% a Hb retina y CCCR, 33.3% a quistes renales y TNEP y 22.2% a Hb SNC. De las 2 mutaciones de tipo SS, el 100% se relacionó a Hb SNC y 50% a Hb retina. De las 3 mutaciones del tipo ML/In del, 100% se relacionó a Hb SNC, 66.6% a Hb retina y quistes renales y 33.3% a CCCR. De las dos mutaciones tipo Del, 100% se relacionó a Hb SNC y 50% a Hb retina, CCCR, TNEP, feocromocitoma y quistes renales. (**Tabla 9**).



**Tabla 9. Frecuencia de tipo de mutación de acuerdo a manifestación clínica**

Manifestación/ mutación	SE (9)	SS (2)	ML/In del (3)	Del (2)
Hb SNC	2/9 (22.2%)	2/2 (100%)	3/3 (100%)	2/2 (100%)
Hb retina	4/9 (44.4%)	1/2 (50.0%)	2/3 (66.6%)	1/2 (50.0%)
CCCR	4/9 (44.4%)	0/2 (0.0%)	1/3 (33.3%)	1/2 (50.0%)
Quistes renales	3/9 (33.3%)	0/2 (0.0%)	2/3 (66.6%)	1/2 (50.0%)
Feocromocitoma	5/9 (55.5%)	0/2 (0.0%)	0/3 (0.0%)	1/2 (50.0%)
TNEP	3/9 (33.3%)	0/2 (0.0%)	0/2 (0.0%)	1/2 (50.0%)

Las mutaciones de tipo SE relacionadas a VHL tipo 2 son p.Thr157Ile, p.Arg161Gln, p.Asp121Gly, p.Arg161Gln y p.Glu70Gly, cuatro de ellas relacionadas al dominio alfa y una al dominio beta. Se comparan estas mutaciones de acuerdo al dominio, su interacción con HIF alfa y el fenotipo resultante.(Tabla 10).

**Tabla 10. Comparación de mutaciones de SE relacionadas a VHL tipo 2**

Mutación	Dominio	Interacción con HIF alfa	Fenotipo
c.470C>T/p.Thr157Ile	A	-	2A
c.482G>A / p.Arg161Gln	A	-	2A
c.362A>G/ p.Asp121Gly	C	-	2C
c.482G>A/ p.Arg161Gln	A	-	2A
c.209A>G/ p.Glu70Gly	B	+	2C

## 8. DISCUSIÓN.

VHL es un trastorno multisistémico con una forma de herencia autosómica dominante que predispone a la formación de una variedad de tumores benignos y malignos en varios órganos [87]. Hasta la fecha, se han identificado más de 200 mutaciones del gen *VHL* en sujetos con este síndrome o con formas esporádicas de ciertos tipos de tumores comúnmente asociados con el trastorno [6].

La edad media al momento del diagnóstico de VHL en el estudio publicado por Kai Ren Ong et al. [2007] fue de 24.7 años (mediana de 22), un poco menor que la reportada previamente en 1990 con media de 26.3 años (mediana de 23.5) [31]. En nuestro estudio, la edad media del diagnóstico fue de 23.4 años y una mediana de 21.5 la cual es similar (Tabla 3).

La frecuencia de individuos con VHL sin antecedentes familiares reportada por los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos es del 23%, los cuales podrían atribuirse a un evento de mutación *de novo*. En el estudio de Nordstrom-O'Brien et al. [2010] se estableció que sólo el 3% de las 945 familias afectadas podrían corresponder a casos probablemente *de novo*. Cabe destacar que el mosaicismo germinal está documentado en individuos con VHL aunque no se conoce su frecuencia. Sin embargo, el mosaicismo tendría que considerarse al momento de estudiar individuos sin historia familiar positiva para VHL. Otro aspecto a considerar es que VHL tiene una penetrancia incompleta y dependiente de edad. Nuestro estudio mostró que el 31.3% (5/16) no tenía historia familiar positiva (**tabla 3**), de ellos, 2/5 tenían estudio molecular extendido a familiares incluidos ambos progenitores y hermanos (familias No. 4 y 5, ver tabla anexo 1). Muy probablemente sean casos *de novo* y el porcentaje del mismo sea de 12.5%- En el resto de los casos la causa pudiese corresponder a una mutación *de novo*, mosaicismo germinal o padres portadores asintomático no estudiado

molecularmente, lo que explicaría el porcentaje elevado de casos aparentemente de *novo* en nuestra población.

Las manifestaciones clínicas detalladas por familia se reportan en la tabla del anexo 1. En nuestro estudio las manifestaciones clínicas presentes fueron : Hb SNC, Hb retina, quistes renales y pancreáticos, feocromocitoma , TNEP, CCCR, CALA, quistes hepáticos, HAS y cáncer de páncreas. No hubo un solo caso de TSE ni CAE en nuestra población, los cuales se han reportado con una frecuencia del 6%-15% y del 25%-60% ,respectivamente [25]. En nuestra muestra el TSE sólo se estudió en dos probandos de familias diferentes y no se considera un tamizaje de rutina a pesar de las recomendaciones de las guías de seguimiento en pacientes con VHL, las cuales recomiendan: valoración audiológica en menores de 15 años y RM con contraste cada tres años en individuos asintomáticos; y anualmente en pacientes sintomáticos. En cuanto al CAE. el 83% puede detectarse mediante exploración física y el restante con ultrasonido testicular. La búsqueda de rutina de CAE en pacientes con VHL no está indicada debido a que la mayoría son asintomáticos y raramente requieren tratamiento, por lo que pudo no haberse buscado en estos. Otra posible explicación podría ser la poca cantidad de hombres 5/21 (23.8%) en nuestra muestra.

La manifestación clínica mas común (61.9%) fue el Hb SNC, con una edad media de diagnóstico de 30 años, muy similar a lo reportado por Neha V. et al [25], quienes reportaron una frecuencia del 60-80% y edad media al diagnóstico de 30 años. Al igual que en nuestro estudio fue la manifestación más común. En la publicación de Kai Ren et al. [2007] fue la segunda manifestación más común (57.0%), precedida por el Hb retina, la edad al diagnóstico fue de 29.9 a 33.3 años.

Los pacientes con mutaciones del tipo sin sentido, con delección y de corrimiento del marco de lectura, tienen un mayor riesgo de CCCR y hemangioblastomas que los pacientes con mutaciones de sentido erróneo [6, 55 ,56, 57]. Aunque las mutaciones de SE confieren un menor

riesgo de Hb que los otros tipos de mutaciones, la mutación p.Pro86Leu ha sido reportada en familias japonesas y caucásicas con VHL tipo 1. La familia japonesa tuvo hemangioblastomas de SNC de inicio más temprano y recurrentes que causaron hidrocefalia en dos niñas de 8 y 14 años. Otras manifestaciones de VHL en esta familia incluyeron hemangioblastomas retinianos, quistes pancreáticos y quistes renales. Dos familias de VHL caucásicas con esta misma mutación tenían 9/12 individuos con hemangioblastoma cerebeloso (sin hidrocefalia) y 6/12 tenían CCCR y Hb retina Fukino et al., [2000]. En nuestro estudio, la familia 1 constituida por 4 integrantes tuvo la mutación p.Pro86Leu. Los 4 integrantes desarrollaron Hb de cerebelo, con la edad al diagnóstico más joven de 18 años (18-33). Esta paciente fue la más joven con Hb SNC de nuestra muestra, otras manifestaciones de VHL en esta familia incluyeron Hb retina en 3/4, CCCR en 2/4, quistes pancreáticos en 2/4 y quistes renales en 2/4. Una manifestación exclusiva de esta familia son los quistes a nivel hepático y vía biliar en 2/4 individuos. Esta mutación se localiza en el dominio beta de la p. VHL, alterando la unión de HIF alfa al complejo p.VHL-CBCR, lo que condiciona un error en la unión de la p.VHL con las subunidades reguladoras HIF-1a y HIF-2a para la degradación proteasomal. Los tumores más frecuentemente relacionados son los que tienen un componente vascular y son dependientes de HIF, como lo son los hemangioblastomas o el CCCR, por lo que se explicarían los casos con presentación conjunta de CCCR y Hb.

Otra mutación de SE, reportada en el mismo codón en la familia 12, es p.Pro86Ser. La mutación, a pesar de estar en el mismo codon, no desarrolló Hb en el probando de 36 años de edad. Las manifestaciones clínicas presentes fueron CCCR y quistes renales, ambos diagnosticados a los 31 años. Esta mutación esta reportada en familias con fenotipos 1 y 2B con múltiples Hb SNC y Hb retina; y CCCR con feocromocitoma, respectivamente [6]. El riesgo incrementado de ambas mutaciones de CCCR esta documentado por su ubicación en la región MCR-1.

El 100% de las mutaciones de tipo SS,Del y ML/ In del se correlacionaron con desarrollo de Hb SNC , comparado con el 22.2% de las mutaciones de SE (tabla 9). Nuestros resultados concuerdan con lo reportado previamente, un mayor riesgo de desarrollar hemangioblastomas con este tipo de mutaciones que los pacientes con mutaciones de SE.

El Hb retina se considera la primera manifestación clínica ya que la pérdida de la agudeza visual es común en estos pacientes. En nuestra población, fue la manifestación a edad más joven (13 años) en la familia 3, por lo que se consideraría la manifestación más temprana y la segunda más frecuente (47.6%) y una edad media de diagnóstico de 19.5 años. Kai Ren et al. [2007] reportaron una proporción de 73% con edad media de diagnóstico de 25 años y Neha V. et al [2017] mencionan una frecuencia que va del 49-62% con edad media de diagnóstico de 25 años, teniendo el paciente más joven un año de edad. Por lo anterior, se considera al Hb retina la manifestación más temprana de VHL. Nuestro estudio apoya que sea la segunda manifestación clínica más común. En los pacientes analizados, la edad media de diagnóstico obtenida fue la más joven reportada de los tres estudios [3, 11, ]. La frecuencia fue mucho menor que la de Kai Ren et al. [11], siendo esta estadísticamente significativa ( $p=0.01$ ).

Del total de mutaciones de tipo ML/In del, el 66.6% se relacionó con el desarrollo de Hb de retina. Del total de las mutaciones SS y Del, el 50% se relacionaron con el desarrollo de Hb retina comparado con el 44.4% del total de mutaciones de SE (**tabla 9**). Lo anterior apoya un mayor riesgo de Hb con mutaciones diferentes de SE, sobre todo con las mutaciones de ML y SS. En nuestro estudio ambas mutaciones terminaron en una proteína truncada, lo que se ha reportado con mayor riesgo de Hb retiniano y de CCCR [1] .

El cáncer renal de células claras es otra de las manifestaciones más comunes de VHL, la frecuencia en nuestra población y la edad media de diagnóstico fue similar a lo publicado por otros autores como Neha V. et al (30%) [2017] y Kai Ren et al. 30-35% [2007]. La mediana de edad al diagnóstico fue más joven (32.8 vs 39 y 39.9 años). Las mutaciones que confieren

mayor riesgo de desarrollar CCCR son las conducen a una proteína truncada (SS/ML), ya que confieren 40% más de riesgo de desarrollar CCCR en comparación con los pacientes con mutaciones de la línea germinal de SE [56,57]. Nuestro estudio no reporta ninguna mutación SS y del ML que termine en proteína truncada relacionada a CCCR, del total de mutaciones de tipo SE (4/9) el 44.4% se relacionó con desarrollo de CCCR, de las cuales dos están en la zona denominada "Missense Cluster Regions" (MCR-1). Esta región se encuentra ubicada en los codones 74 a 90, confiere mayor riesgo de CCCR en mutaciones de SE a comparación de otras regiones. Gallou et al. [2004] encontraron que las mutaciones de SE en la región MCR-1 y MCR-2 (codones 130-136) se asociaron con una mayor frecuencia de lesiones renales que las mutaciones en sentido erróneo fuera de estas regiones (93% vs. 55%,  $p < 0.009$ ) y que las mutaciones de sentido erróneo de MCR-1 se asociaron con una frecuencia más alta de CCCR que las mutaciones de sentido erróneo fuera de MCR-1 (79% vs 51%). En otro estudio, la frecuencia de MCR-1 y MCR-2 fueron similares a las mutaciones en sentido erróneo que ocurren fuera de estas regiones [1]. Nosotros encontramos que del total de mutaciones en SE, 4/9 (44.4%) desarrollaron CCCR, de estas 3/4 (75%) cayeron en la región MCR-1 y (1/4) 25% restante no se localizó en esta zona. Observamos diferencias en nuestra muestra entre las mutaciones de SE en región MCR-1 y fuera de esta, generando mayor riesgo de CCCR en las mutaciones localizadas entre los codones 79 y 90. Dos de estas mutaciones, son las que se describieron previamente en el codón 86 relacionada a mayor riesgo de Hb SNC y CCCR. La tercera mutación es p.Leu89Pro, presente en la familia 11 (**tabla de anexo 1**). Las manifestaciones clínicas comprendieron: CCCR, CALA, Ca. páncreas y Hb retina. Lo reportado en esta mutación en la literatura es un fenotipo VHL tipo 1 [6], algunos autores lo subclasifican en VHL tipo 1B por el riesgo aumentado de CCCR, la familia reportada en este estudio presentó Hb SNC, CCCR, quistes renales y pancreáticos. Nuestra familia adicionalmente desarrolló cáncer de páncreas en 2 familiares (estirpe histológica desconocida), lo cual pudiese sugerir

afección pancreática. Una de las dos mutaciones tipo rearrreglo genómico grande (deleciones) presentes en nuestro estudio se relacionó a CCCR , específicamente la deleción del exón 3. Gallou et al. [2004] informaron una mayor frecuencia de afección renal en casos con una mutación truncada o reordenamiento grande. Se ha establecido un fenotipo amplio de VHL con esta mutación, sin especificar tumores asociados [6]. La familia 7 de nuestro estudio presentó involucro de prácticamente todos los órganos a excepción de las glándulas suprarrenales (feocromocitoma) y ligamento ancho.No encontramos deleciones de todo el gen las cuales se han reportado como protectoras para el desarrollo de CCCR por el involucro del gen *HSPC300*.

El feocromocitoma se presentó con más frecuencia que lo reportado por Kai Ren et al. [2007] y Neha V. et al 2017, 30% vs 20 y 10-20%, respectivamente. La edad media al diagnóstico fue un poco menor que la reportada por estos autores (**Tabla 4 y Gráfica 2**).

Del total de mutaciones de SE, 5/9 (55.5%) se correlacionaron con el desarrollo de feocromocitoma, y 1/2 rearrreglo genómico grande (Del) fue el otro tipo de mutación relacionado con feocromocitoma. No se presentó algún otro tipo de mutación en el desarrollo de feocromocitoma. Liu S et al. [2018] demostraron que las mutaciones de SE conferían un mayor riesgo de feocromocitoma (HR = 1.854, p = 0.047) en comparación con mutaciones SS. Las mutaciones de SE que no interaccionan con HIF alfa, tenían mayor riesgo de generar feocromocitoma que aquellas con interacción con HIF alfa o que terminan en proteínas truncadas (HR = 3.134, p <0.001). Nuestro estudio apoya este fundamento ya que no hubo ninguna mutación SS relacionada a feocromocitoma. De las 6 familias afectadas con VHL tipo 2, cinco tenían una mutación de SE que correspondió al 55.5% del total de mutaciones de SE. De estas 5 mutaciones, 4 (80%) no afectaron la interacción con HIF alfa al localizarse en el dominio alfa y una en el dominio C de la p.VHL, la restante se encontraba en el dominio beta. (**Tabla 10**) . Las cuatro mutaciones SE descritas en base de datos se habían relacionando a VHL tipo 2 (todas había reporte de feocromocitoma). Con ello se observó que las mutaciones de SE

predisponen a mayor riesgo de feocromocitoma en VHL y de estas, las que no interaccionan con HIF alfa tienen mayor frecuencia de desarrollo de feocromocitoma. Esto implica mecanismos independientes de HIF en la patogénesis de VHL tipo 2, especialmente el tipo 2C. La mutación p.Glu70Gly que afectó la interacción con HIF alfa no se ha reportado previamente en bases de datos por lo que se considera una mutación nueva que mediante pruebas *in silico* (*Poly-Phen 2, MCAP, mutation taster, UMD VHL*) se cataloga como patogénica. La mutación corresponde a la familia 16 integrada por dos miembros, la probando de 31 años presentó feocromocitoma aislado unilateral a lo 17 años, tiene una hija de 8 años portadora de la mutación asintomática. Por el tipo de localización y la disrupción de HIF alfa, se esperaría la aparición de otros tumores como Hb retina o CCCR por su gran componente vascular.

Dos familias (6 y 15) presentaron la mutación p.Arg161Gln, Ambas con VHL tipo 2A, la familia 6 presentó a los 21 años feocromocitoma y TNEP. La familia 15 presentó feocromocitoma a los 29 años y Hb retina los 55 años. Se han reportado familias en su mayoría con VHL tipo 2C con esta mutación, aunque VHL tipo 2A y 2B también se han reportado, con un mayor riesgo de desarrollar Hb SNC y CCCR. No se han descrito casos de TNEP en estos pacientes, como fue el caso de nuestro estudio. Esta mutación afecta la unión de p.VHL a elongina C, generando pérdida de función de la p. VHL, inestabilidad y degradación proteosomal. Todo ello explicaría la aparición de otro tipo de tumor diferente a feocromocitoma. Aunque no queda claro por que la tendencia de esta mutación es el feocromocitoma aislado o acompañado de paraganglioma bilateral, como se reportó en un paciente de 13 años. Estas características clínicas implicarían efectos independientes de HIF alfa en la patogénesis de VHL tipo 2C (feocromocitoma aislado). Otras mutaciones previamente informadas son: p.Arg167Trp, p.Arg167Gln, p.Tyr98His, p.Ser111Cys, p.Arg161Gln, p.Leu178Gln y p.Leu188Val que confieren un alto riesgo de desarrollo de feocromocitoma de hasta el 60% [Brauch et al., 1995; Chen et al., 1995; Glavac y otros, 1996; Stolle et al., 1998].



La mutación Arg167Gln se presentó en la familia 2, el probando tiene 31 años de edad y las manifestaciones clínicas que presenta son Hb retina, CCCR, quistes renales, TNEP, quistes pancreáticos, quistes hepáticos y no ha desarrollado hasta el momento feocromocitoma, teniendo en cuenta que esta mutación se relaciona sobre todo con VHL tipo 2B [Lee et al., 2009], de acuerdo a la penetrancia incompleta y dependiente de edad pudiese explicar la falta de feocromocitoma ya que el riesgo aumenta hasta en un 63% con esta mutación [6], la alteración proteica en esta mutación afecta el dominio alfa y por ende la unión a la elongina C, lo que altera la estabilidad de la p. VHL, llevándola a una pérdida de función y degradación proteosomal. Algo interesante es que el residuo del codón 167, se considera un hot spot, cerca del 43–46% de estadounidenses y canadienses presenta una mutación en esta localización, preferentemente VHL tipo 2 [46]. El estudio de Nordstrom-O'Brien M reveló que el 9.5% de todas las familias de VHL y el 35.3% de las familias de VHL 2B tienen esta mutación [6]. Nuestro estudio solo tuvo una familia con esta mutación que corresponde al 6.25% del total de nuestra muestra. Chacon-Camacho et al. 2010 y Rasmussenm.D et al. 2006 [9, 27] en sus estudios de familias mexicanas con VHL, reportaron ocho mutaciones diferentes, sin embargo no hubo mutación alguna que se localizara en el codon 167, lo que pudiera sugerir que en México el hot spot no corresponda a este codón por lo que se necesitarán más estudios en nuestra población para poder establecer si este codón pudiese correlacionarse como un punto recurrente de mutación en el gen *VHL*.

En nuestro estudio mutaciones de *VHL* en el codón 161 se presentaron en 4 familias, lo que corresponde al 25% del total de las familias estudiadas. Este codón está reportado en 44 de 945 familias con VHL [6], que corresponde al 4.65%. En este mismo estudio se reportó que las mutaciones de *VHL* se produjeron con mayor frecuencia en los codones 65 (20 familias), 76 (34 familias), , 78 (17 familias), 98 (24 familias), 155 (23familias), 158 ( 20 familias), 162 (18 familias) y 167 (82 familias).

Las dos mutaciones reportadas en el codón 161 en estas 4 familias de nuestro estudio (familias 5, 6, 9 y 15) son: p.Arg161X y p.Arg161Gln, relacionadas a VHL tipo1 y VHL tipo 2A respectivamente. La segunda mutación ya se discutió previamente. La mutación p.Arg161X, se presentó en dos familias; la primera familia (familia 5) el probando tiene 28 años de edad, presentó Hb retina a los 19 años y Hb SNC a los 20 años y la segunda familia (familia 9) el probando tiene 30 años, presentó Hb SNC, Hb renal y quistes pancreáticos a los 21 años. Ambos tienen VHL tipo 1. Lo reportado en la literatura en familias con esta mutación son VHL tipo 1 y 2B , dentro de las manifestaciones reportadas incluyen: Hb SNC, Hb retina, quistes pancreáticos, feocromocitoma, CCCR y quistes renales. Lo constante en esta mutación son los Hb, que se explica por el riesgo aumentado dado por mutaciones que terminan en proteína truncada y disminuye el riesgo de presentar feocromocitoma. La mutación se localiza a nivel proteico en el dominio alfa que regula la unión y formación del complejo VCBCR, los tumores asociados y la desregulación de HIF alfa esta comprometida, que se correlaciona con la constante manifestación de Hb.

Los TNEP y quistes pancreáticos se evaluaron conjuntamente para la discusión , la prevalencia fue un poco mayor que la reportada por [Neha V. etal 2017]. 57% vs 52% con una edad media más joven de diagnóstico de 24.7 años vs 36 años. Las mutaciones asociadas con TNEP fueron: del total de SE un 3/9 (33.3%) y 1/2 (50%) rearrreglos genómico grandes (Del). Los fenotipos abarcaron tanto VHL tipo 1 en dos familias y VHL tipo 2A en dos familias con TNEP. No esta establecido la correlación genotipo-fenotipo a nivel pancreático. En nuestro estudio no se correlacionó a ninguna mutación SS ni del ML/in del. Todas se localizaron en el exón 3 en los codones 157, 161, 167 y la cuarta fue delección completa del exón 3. Del total de mutaciones localizadas en el exón 3, el 50% se correlacionó con desarrollo de TNEP, no reportado previamente. La mutación en el codón 167 analizada previamente, en el sureste de Asia se

describieron 2 familias con esta mutación y presencia de TNEP incluido en el fenotipo 2A. En nuestro estudio esta mutación se clasificó en el fenotipo 1 por la ausencia de feocromocitoma.

El CALA se presenta en la probando de la familia 11 con una edad al diagnóstico de 30 años, ella es portadora de una mutación p.Leu89Pro, su fenotipo corresponde a VHL tipo 1B por el desarrollo de CCCR y su localización en la región MCR-1. La frecuencia y edad media del diagnóstico de CALA se desconocen, así como su correlación genotipo fenotipo. Las familias que presentan esta mutación presentan características clínicas de VHL tipo 1, solo se ha informado un caso de VHL tipo 2C. Dentro de las manifestaciones clínicas reportadas están: CCCR, Hb SNC, Hb retina, quistes renales y pancreáticos. Otros casos con Hb SNC múltiples. Chacón–Camacho et al reportaron en población mexicana una familia con Hb de SNC en cerebelo y médula espinal con esta misma mutación. Dada su localización en MCR-1 se incrementa el riesgo de generar CCCR en las mutaciones de tipo SE. Ninguna de las familias reportadas desarrollo CALA.

Otras mutaciones encontradas en nuestro estudio son: p.Gln73ProfsX58 , p.Leu198ArgfsX209 y p.Ile147PhefsX12, las tres dan como resultado una proteína truncada. La primera mutación no se encontró en alguna base de datos y se consideró patogénica con pruebas *In silico*, por lo que sería nuestra segunda variante nueva reportada. La familia esta constituida por madre e hija, ambas con la variante en *VHL*, las características presentes en la familia identificada como la familia 3 son: la madre presentó Hb retina 51 a los años y quistes renales a los 20 años, la hija Hb SNC a los 26 años, Hb retina a los 13 años, quistes renales y pancreáticos a los 20 años. Esta presentó el Hb retina a edad más joven de nuestra muestra. El fenotipo correspondiente a esta variante es VHL tipo 1 y se correlaciona con el mayor riesgo de desarrollar Hb ya que la mutación terminó en proteína truncada, que es compatible con lo reportado en la literatura.

La variante p.Leu198ArgfsX209, secundaria a una deleción de 14pb, se ha reportado previamente en CCCR esporádico. En nuestra muestra correspondió a la mutación de la familia 8, integrada por el probando de 31 años de edad, quien presentó Hb SNC a los 28 años y feocromocitoma a los 29 años, correspondiendo al fenotipo 2A de VHL.

La última variante de nuestra estudio corresponde a p.Ile147PhefsX12, presente en la familia 12, que esta constituida por el probando de 42 años de edad, quien presentó Hb SNC a los 39 años, quistes pancreáticos y renales a los 29 años de edad. Correspondiente al fenotipo VHL tipo 1. Esta variante se ha reportado en CCCR esporádico.

La frecuencia por tipo de mutación en nuestro estudio de VHL, fue similar a la reportada por Nordstrom-O'Brien M [6]. Las mutaciones encontradas son: (SE) 56.2%, corrimiento del marco de lectura, todas del tipo in/del (ML /In del) 18.8%, sin sentido (SS) 12.5%, y rearrreglos genómicos grandes (Del) 12.5% vs (SE) 52.0%, corrimiento del marco de lectura, (ML /In del) 18.8%, sin sentido (SS) 11.2%, rearrreglos genómicos grandes (Del) 12.0% y del sito de corte y empalme 7.0% (tabla 4 y gráfica 2). Ambos estudios establecen que más de la mitad de mutaciones en VHL son de SE y que la frecuencia de rearrreglos genómicos grandes es de 12.0% a 12.5%.

En estudios reportados en población mexicana, Rassmusen et al [2006] encontró que el 50% de las mutaciones fueron de tipo ML/indel y el 33.3% de SE; no se reportó ningún rearrreglo genómico grande. Chacón-Camacho et al. [2010], reportó que el 66.3% correspondió a mutaciones de SE y 33.4% de tipo ML /in del (tabla 4). Estas variaciones pudiesen deberse a que la muestra en ambos estudios era pequeña.

La distribución de las mutaciones por exón fueron diferentes a la reportadas por Nordstrom-O'Brien M [6]. La mayor frecuencia de mutaciones en nuestro estudio se encuentra en el exón 3, seguida del exón 1 y la menor en el exón 2 (tabla 6). Datos de Nordstrom-O'Brien M reportaron mayor número de mutaciones en el exón 1, seguido del exón 3 y por último el

exón 2. La proporción de mutaciones en el exón 2 es similar en ambos estudios. Chacón-Camacho et al. reportó la totalidad de mutaciones en el exón 1, aunque solo fueron 3 familias las estudiadas. La mayor proporción de las mutaciones se encontraron en los exones 1 y 3. Lo que suena lógico, ya que en estos dos exones se encuentran los dominios de la p. VHL que actúan durante la regulación proteosomal de la p. VHL y la interacción con HIF 1 alfa involucrados en la patogénesis de la mayor parte de neoplasias de VHL. (tabla.7).

La frecuencia de VHL tipo 1 fue mayor que la de VHL tipo 2, esta proporción es muy similar a la reportada en el estudio de Human Mutation [6] (62.5% y 32.5% vs 60.48% y 40.26%). Las mutaciones SS son las características de VHL tipo 1, ya que no se reportó ninguna de este tipo en VHL tipo 2, lo que es similar a lo reportado en la literatura. En VHL tipo 2 las mutaciones más frecuentes y características son las de SE, debido a que este tipo de mutaciones pueden predisponer al desarrollo de feocromocitoma y CCCR. Las mutaciones en VHL tipo 1 SS y ML fueron un poco más frecuentes y las de SE y Del fueron similares que lo reportado por Human Mutation [6]. (SE 40%, ML/ In del 30%, SS 20%, Del 10% vs SE 43.4%, ML/ In del 24.4%, SS 13.1% y Del 9.9%).

VHL tipo 2 se reportó solo dos tipos de mutaciones, la mayor frecuencia fue de SE (83%) seguida de un rearrreglo genómico grande Del (17%), comparando con lo reportado en Human Mutation, la proporción de mutaciones de SE fue similar, con más del 80% en VHL tipo 2 [6]. La Del fue más frecuente en nuestro estudio (17% vs 0.5%), probablemente porque nuestra muestra poblacional era pequeña. Otras mutaciones reportadas por Human Mutation VHL tipo 2 son: SS, ML y sitio de corte y empalme (6.8, 4.8 y 4% respectivamente) no reportadas en nuestro estudio.

Las familias constituidas con dos o más individuos (familia 1 y 3) presentaron expresividad variable de las manifestaciones clínicas, pero fueron consistentes en el fenotipo (VHL tipo 1). La variabilidad interfamiliar se observó en familias que presentaron la misma

mutación o mismo codón. El fenotipo se respetó en todos los casos, la expresividad variable fue más evidente en los casos con mutaciones diferentes en el mismo codón, como se observó en la familia 1 y 12. Otra diferencia interfamiliar evidente fue la familia 2, con mutación en el codón 167 quién no correspondió al fenotipo relacionado con esta mutación.

## 9. CONCLUSIONES.

- 1) Existe variabilidad inter e intrafamiliar relacionada con la expresividad variable de VHL, pero la correlación genotipo fenotipo es constante en una muestra de pacientes con VHL de la población mexicana.
- 2) El *hot spot* localizado en el codón 167 no se reportó con mayor frecuencia en nuestra población. El codón 161 muestra afectación en el 25% de las familias estudiadas, lo cual sugiere un posible *hot spot* diferente en población mexicana. Se necesitan más estudios para observar el comportamiento de la localización de las mutaciones en nuestra población.
- 3) Los casos sin antecedente familiar es mayor a lo reportado (31.3%), sin embargo este porcentaje baja a 12.5% al considerar casos con estudios moleculares extendidos a familiares que pudieran corresponder a casos probablemente de *novos*. En el resto de los casos sin antecedentes familiares, es necesario considerar: mosaicismo germinal, mutaciones *de novo* y portadores asintomáticos en familiares no estudiados a nivel molecular.
- 4) Las mutaciones de tipo SS, Del y ML/ In-del se correlacionaron con mayor riesgo de desarrollar Hb SNC.
- 5) La mutación p.Pro86Leu se correlaciona con aparición a edad más temprana de Hb SNC.
- 6) Las mutaciones diferentes a SE tienen mayor riesgo de desarrollar Hb retina, sobre todo las que terminan en proteína truncada.
- 7) Las mutaciones más frecuentes en CCCR son de SE localizadas en la MCR-1, por lo que confiere mayor riesgo de desarrollo de este tipo de neoplasia a comparación de las que se localizan fuera de esta región.
- 8) Las mutaciones de SE predisponen a mayor riesgo de feocromocitoma en VHL y de estas, las que no interaccionan con HIF alfa, tienen mayor frecuencia de desarrollo de feocromocitoma.

- 9) Las mutaciones que involucran el exón 3 e interaccionan con el dominio alfa tienen mayor riesgo de desarrollar TNEP.
- 10) Se describen dos mutaciones nuevas en población mexicana, correspondientes a VHL tipo 1 y 2C.
- 11) La manifestación más común en VHL fue el Hb SNC y la manifestación más temprana es el Hb retina
- 12) La mayor proporción de mutaciones de VHL se localizaron en los exones 1 y 3.
- 13) Las mutaciones SS son características de VHL tipo 1. Las mutaciones más frecuentes y características de VHL tipo 2 son las de SE, este tipo de mutaciones pueden predisponer al desarrollo de feocromocitoma y CCCR.
- 14) La frecuencia de rearrreglos genómicos detectados por MLPA fue del 6.35 % en nuestra población.



## 10. BIBLIOGRAFÍA.

1. Gossage L, Eisen T, Maher ER. VHL, the story of a tumour suppressor gene. *Nat Rev Cancer*. 2015 Jan;15(1):55-64. doi: 10.1038/nrc3844.
2. Nielsen SM, Rhodes L, Blanco I, Chung WK, Eng C, Maher ER, Richard S, Giles RH. Von Hippel Lindau disease of role and genetic counseling in a multiple neoplasia syndrome. *J Clin Oncol*. 2016 Jun, 20;34(18):2172-81. doi: 10.1200/JCO.2015.65.6140.
3. Maher ER, Neumann HP, Richard S. Von Hippel–Lindau disease: A clinical and scientific review. *Eur J Hum Genet*. 2011 Jun;19(6):617-23. doi: 10.1038/ejhg.2010.175.
4. Maher ER, Iselius L, Yates JR. Von Hippel-Lindau disease: A genetic study. *J Med Genet*. 1991 Jul;28(7):443-7.
5. Neumann HP, Wiestler OD. Clustering of features and genetics of von Hippel-Lindau syndrome. *Lancet*. 1991 May 4;337(8749):1052-4.
6. Nordstrom-O'Brien M, van der Luijt RB, van Rooijen E. Genetic analysis of Von Hippel-Lindau disease. *Hum Mutat*. 2010 May;31(5):521-37. doi: 10.1002/humu.21219.
7. B'eroud C, Joly D, Gallou C. Software and database for the analysis of mutations in the VHL gene. *Nucleic Acids Res*. 1998 Jan 1; 26(1): 256–258.
8. Richards FM, Payne SJ, Zbar B. Molecular Analysis of De-Novo Germline Mutations in the von Hippel-Lindau Disease Gene. *Hum Mol Genet*. 1995 Nov;4(11):2139-43.
9. Chacon-Camacho OF, Rodriguez-Dennen F, Camacho-Molina A, Rasmussen A, Alonso-Vilatela E, Zenteno JC. Clinical and molecular features of familial and sporadic cases of von Hippel-Lindau disease from Mexico. *Clin Exp Ophthalmol*. 2010 Apr;38(3):277-83. doi: 10.1111/j.1442-9071.2010.02241.x.
10. Lonser RR, Glenn GM, Walther M. Von Hippel-Lindau disease. *Lancet*. 2003 Jun 14;361(9374):2059-67.

11. Ong KR, Woodward ER, Killick P, Lim C. Genotype–Phenotype Correlations in von Hippel-Lindau Disease. *Hum Mutat.* 2007 Feb;28(2):143-9. Doi: 10.1002/humu.20385.
12. Iliopoulos, O., Ohh, M. & Kaelin, W. G. Jr. pVHL19 is a biologically active product of the von Hippel–Lindau gene arising from internal translation initiation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Sep 29;95(20):11661-6.
13. Schoenfeld, A., Davidowitz, E. J. & Burk, R. D. A second major native von Hippel–Lindau gene product, initiated from an internal translation start site, functions as a tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Jul 21;95(15):8817-22.
14. Kamura, T. et al. Rbx1, a component of the VHL tumor suppressor complex and SCF ubiquitin ligase. *Science* 284, 657–661 (1999).
15. Pause, A. et al. The von Hippel–Lindau tumorsuppressor gene product forms a stable complex with human CUL-2, a member of the Cdc53 family of proteins. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 94, 2156–2161 (1997).
16. Duan, D. R. et al. Inhibition of transcription elongation by the VHL tumor suppressor protein. *Science* 269, 1402–1406 (1995).
17. Kibel, A., Iliopoulos, O., DeCaprio, J. A. & Kaelin, W. G. Jr. Binding of the von Hippel–Lindau tumor suppressor protein to Elongin B and C. *Science* 269, 1444–1446 (1995).
18. Kishida, T., Stackhouse, T. M., Chen, F., Lerman, M. I. & Zbar, B. Cellular proteins that bind the von Hippel–Lindau disease gene product: mapping of binding domains and the effect of missense mutations. *Cancer Res.* 55, 4544–4548 (1995).
19. Sato, Y. et al. Integrated molecular analysis of clearcell renal cell carcinoma. *Nature Genet* 2013;45:860–867
20. Hon, W. C. et al. Structural basis for the recognition of hydroxyproline in HIF-1 $\alpha$  by pVHL. *Nature* 417, 975–978 (2002).

21. Min, J. H. et al. Structure of an HIF-1 $\alpha$ -pVHL complex: hydroxyproline recognition in signaling. *Science* 296, 1886–1889 (2002).
22. Bishop, T. et al. Genetic analysis of pathways regulated by the von Hippel–Lindau tumor suppressor in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Biol.* 2, e289 (2004).
23. Zatyka, M. et al. Identification of cyclin D1 and other novel targets for the von Hippel–Lindau tumor suppressor gene by expression array analysis and investigation of cyclin D1 genotype as a modifier in von Hippel–Lindau disease. *Cancer Res.* 62, 3803–3811 (2002).
24. M. Barontini, P.L.M. Dahia 402 / *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 24 (2010) 401–413.
25. Neha Varshney, A Review of Von Hippel-Lindau Syndrome, *Journal of Kidney Cancer and VHL* 2017; 4(3): 20–29.
26. Binderup MLM, et al. Survival and causes of death in patients with von Hippel-Lindau disease , *J Med Genet* 2017;54:11–18.
27. Rasmussenm.D etal, Von Hippel–Lindau diseasegermline mutations in Mexican patients with cerebellar hemangioblastoma, *JNeurosurg* 104:389–394, 2006.
28. Wong WT, Agron E, Coleman HR et al. Genotypephenotype correlation in von Hippel-Lindau disease with retinal angiomatosis. *Arch Ophthalmol* 2007; 125: 239–45.
29. Ying CE. Ocular manifestations of von Hippel-Lindau disease: clinical and genetic investigations. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2005; 103: 496–511.
30. Wong WT, Yeh S, Chang CC et al. Retinal vascular proliferation as an ocular manifestation of von HippelLindau disease. *Arch Ophthalmol* 2008; 126: 637–43.
31. Maher ER, Yates JRW, Harries R et al: Clinical-Features and Natural-History of von Hippel-Lindau Disease. *Quart J Med* 1990; 77: 1151–1163.
32. Choyke PL, Glenn GM, Walther MM et al: The natural history of renal lesions in Von Hippel-Lindau disease: a serial CTstudy in 28 patients. *American J Roentgenology* 1992; 159: 1229–1234.

33. Walther MM, Choyke PL, Glenn G et al: Renal cancer in families with hereditary renal cancer: Prospective analysis of a tumor size threshold for renal parenchymal sparing surgery. *J Urol* 1999; 161: 1475–1479.
34. Steinbach F, Novick AC, Zincke H et al: Treatment of Renal-Cell Carcinoma in von Hippel-Lindau Disease - a Multicenter Study. *J Urol* 1995; 153: 1812–1816.
35. Lonser RR, Glenn GM, Walther M, Chew EY, Libutti SK, Linehan WM, et al. Von Hippel-Lindau disease. *Lancet*. 2003 Jun; 361(9374):2059–67.
36. Cassol C, Mete O. Endocrine manifestations of von Hippel-Lindau disease. *Arch Pathol Lab Med*. 2015 Feb; 139(2):263–8.
37. Chittiboia P, Lonser RR. Von Hippel-Lindau disease. *Handb Clin Neurol*. 2015; 132:139–56.
38. Hammel PR, Vilgrain V, Terris B et al: Pancreatic involvement in von Hippel-Lindau disease. The Groupe Francophone d'Etude de la Maladie de von Hippel-Lindau. *Gastroenterology* 2000; 119: 1087–1095.
39. Mukhopadhyay B, Sahdev A, Monson JP, Besser GM, Reznick RH & Chew SL. Pancreatic lesions in von Hippel-Lindau disease. *Clinical Endocrinology* 2002 Nov; 57(5): 603–608.
40. Manski TJ, Heffner DK, Glenn GM et al: Endolymphatic sac tumors—A source of morbid hearing loss in von Hippel-Lindau disease. *Jama-Journal of the American Medical Association* 1997; 277: 1461–1466.
41. Shanbhogue KP, Hoch M, Fatterpaker G, Chandarana H. Von Hippel-Lindau Disease: Review of genetics and imaging. *Radiol Clin North Am*. 2016 May; 54(3):409–22.
42. Choyke PL, Glenn GM, Wagner JP et al: Epididymal cystadenomas in von Hippel-Lindau disease. *Urology* 1997; 49: 926–931.
43. Zbar B, et al, Germline mutations in the Von Hippel-Lindau disease (VHL) gene in families from North America, Europe, and Japan. *Hum Mutat*. 1996; 8(4):348-57.

44. Chen F, Kishida T, Yao M, et al: Germline mutations in the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene: Correlations with phenotype. *Hum Mutat* 5:66-75, 1995.
45. Mulvihill JJ, Ferrell RE, Carty SE, et al: Familial pheochromocytoma due to mutant von Hippel-Lindau disease gene. *Arch Intern Med* 157:1390-1391, 1997.
46. Crossey PA, Eng C, Ginalska-Malinowska M, et al: Molecular genetic diagnosis of von Hippel-Lindau disease in familial pheochromocytoma. *J Med Genet* 32:885-886, 1995.
47. Stolle C, Glenn G, Zbar B, et al: Improved detection of germline mutations in the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. *Hum Mutat* 12:417-423, 1998.
48. Cascon, A. et al. Loss of the actin regulator HSPC300 results in clear cell renal cell carcinoma protection in Von Hippel-Lindau patients. *Hum. Mutat.* 28, 613-621 (2007).
49. Maranchie, J. K. et al. Solid renal tumor severity in von Hippel Lindau disease is related to germline deletion length and location. *Hum. Mutat.* 23, 40-46 (2004).
50. McNeill, A. et al. Genotype-phenotype correlations in VHL exon deletions. *Am. J. Med. Genet. A* 149A, 2147-2151 (2009).
51. Franke, G. et al. Alu-Alu recombination underlies the vast majority of large VHL germline deletions: molecular characterization and genotype-phenotype correlations in VHL patients. *Hum. Mutat.* 30, 776-786 (2009).
52. Hoffman, M. A. et al. von Hippel-Lindau protein mutants linked to type 2C VHL disease preserve the ability to downregulate HIF. *Hum. Mol. Genet.* 10, 1019-1027 (2001).
53. Clifford, S. C. et al. Contrasting effects on HIF-1 $\alpha$  regulation by disease-causing pVHL mutations correlate with patterns of tumorigenesis in von Hippel-Lindau disease. *Hum. Mol. Genet.* 10, 1029-1038 (2001).
54. Li, L. et al. Hypoxia-inducible factor linked to differential kidney cancer risk seen with type 2A and type 2B VHL mutations. *Mol. Cell. Biol.* 27, 5381-5392 (2007).

55. Ong, K. R. et al. Genotype–phenotype correlations in von Hippel–Lindau disease. *Hum. Mutat.* 28, 143–149 (2007).
56. Gallou C, Chauveau D, Richard S. Genotype-phenotype correlation in von Hippel-Lindau families with renal lesions. *Hum Mutat.* 2004 Nov;24(5):435-6. doi: 10.1002/humu.20082
57. Gallou, C. et al. Mutations of the VHL gene in sporadic renal cell carcinoma: definition of a risk factor for VHL patients to develop an RCC. *Hum. Mutat.* 13, 464–475 (1999).
58. Stolle C, Glenn G, Zbar B et al. Improved detection of germline mutations in the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. *Hum Mutat* 1998; 12: 417–423.
59. Hes FJ, Frequency of Von Hippel-Lindau germline mutations in classic and non-classic Von Hippel-Lindau disease identified by DNA sequencing, Southern blot analysis and multiplex ligation-dependent probe amplification. *Clin Genet.* 2008 Apr;73(4):399.
60. VHL Family Alliance: The VHL Handbook: What You Need to Know About VHL: A Reference Handbook For People With von Hippel-Lindau Disease, Their Families, and Support Personnel. Boston, MA, VHL Family Alliance, 2014.
61. Binderup ML, Budtz-Jørgensen E, Bisgaard ML: Risk of new tumors in Von Hippel-Lindau patients depends on age and genotype. *Genet Med* 18:89-97, 2016 113.
62. Poulsen ML, Budtz-Jørgensen E, Bisgaard ML: Surveillance in von Hippel-Lindau disease (vHL). *Clin Genet* 77:49-59, 2010.
63. Neumann HP, Germ-line mutations in nonsyndromic pheochromocytoma. *N Engl J Med.* 2002;346:1459–66.
64. Rodriguez JM, Pheochromocytoma in MEN 2A syndrome. Study of 54 patients. *World J Surg.* 2008;32:2520–6.
65. Neumann HP, Distinct clinical features of paraganglioma syndromes associated with SDHB and SDHD gene mutations. *JAMA.* 2004;292:943–51.

66. Baysal BE, Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. *Science*. 2000;287:848–51.
67. Astuti D, Gene mutations in the succinate dehydrogenase subunit SDHB cause susceptibility to familial pheochromocytoma and to familial paraganglioma. *Am J Hum Genet*. 2001;69:49–54.
68. Burnichon N, The genetics of paragangliomas. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*. 2012;129:315–8.
69. Yao L, Spectrum and prevalence of FP/TMEM127 gene mutations in pheochromocytomas and paragangliomas. *JAMA*. 2010;304:2611–9.
70. Abermil N, TMEM127 screening in a large cohort of patients with pheochromocytoma and/or paraganglioma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97:E805–9.
71. Neumann HP, Germline mutations of the TMEM127 gene in patients with paraganglioma of head and neck and extraadrenal abdominal sites. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:E1279–82.
72. Ang, S. O. et al. Disruption of oxygen homeostasis underlies congenital Chuvash polycythemia. *Nature Genet*. 32, 614–621 (2002).
73. Pastore, Y. D. et al. Mutations in the VHL gene in sporadic apparently congenital polycythemia. *Blood* 101, 1591–1595 (2003).
74. Bento, C. et al. Molecular study of congenital erythrocytosis in 70 unrelated patients revealed a potential causal mutation in less than half of the cases (Where is/are the missing gene(s)?). *Eur. J. Haematol*. 91, 361–368 (2013).
75. Bento, C. et al. Genetic basis of congenital erythrocytosis: mutation update and online databases. *Hum. Mutat*. 35, 15–26 (2014).
76. Capodimonti, S. et al. Von Hippel–Lindau disease and erythrocytosis. *J. Clin. Oncol*. 30, e137–e139 (2012).
77. Da Silva, J. L. et al. Tumor cells are the site of erythropoietin synthesis in human renal cancers associated with polycythemia. *Blood* 75, 577–582 (1990).

78. Krieg, M., Marti, H. H. & Plate, K. H. Coexpression of erythropoietin and vascular endothelial growth factor in nervous system tumors associated with von Hippel–Lindau tumor suppressor gene loss of function. *Blood* 92, 3388–3393 (1998).
79. Russell, R. C. et al. Loss of JAK2 regulation via a heterodimeric VHL–SOCS1 E3 ubiquitin ligase underlies Chuvash polycythemia. *Nature Med.* 17, 845–853 (2011).
80. Hickey, M. M. et al. The von Hippel–Lindau Chuvash mutation promotes pulmonary hypertension and fibrosis in mice. *J. Clin. Invest.* 120, 827–839 (2010).
81. Gruber, M. et al. Acute postnatal ablation of Hif-2 $\alpha$  results in anemia. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 104, 2301–2306 (2007).
82. Scortegagna, M. et al. HIF-2 $\alpha$  regulates murine hematopoietic development in an erythropoietin-independent manner. *Blood* 105, 3133–3140 (2005).
83. Murgia A, Martella M, Vinanzi C, Polli R, Perilongo G, Opocher G. Somatic mosaicism in von Hippel-Lindau Disease. *Hum Mutat.* 2000;15:114.
84. Coppin L, Grutzmacher C, Crépin M, Destailleur E, Giraud S, Cardot-Bauters C, Porchet N, Pigny P. VHL mosaicism can be detected by clinical next-generation sequencing and is not restricted to patients with a mild phenotype. *Eur J Hum Genet.* 2014;22:1149–52.
85. Ross LF, Saal HM, David KL, et al: Technical report: Ethical and policy issues in genetic testing and screening of children. *Genet Med* 15:234-245, 2013 [Erratum: *Genet Med* 15:321, 2013]
86. Schiffman JD, Geller JI, Mundt E, et al: Update on pediatric cancer predisposition syndromes. *Pediatr Blood Cancer* 60:1247-1252, 2013.
87. Kim WY, Kaelin WG. Role of VHL gene mutation in human cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22: 4991–5004.



## 11. ANEXOS.

**Tablas de cada familia incluida en el estudio con descripción clínica detallada, edad actual, edad de diagnóstico y tipo de Mutación.**

<b>Familia 1 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	FC	TNEP	QP	QR	CAE/QE/CALA	Otro	Mutación
1 (48)	+ (24)	+ (24)	+ (31)	-	-	+ (29)	+ (29)	-	QH (29)	p.Pro86Leu
2 (53)	+ (33)	-	+ (48)	-	-	+ (39)	+ (39)		QH Y VB (39)	
3 (22)	+ (18)	+ (19)	-	-	-	-	-	-	-	
4 (24)	+ (19)	+ (21)	-	-	-	-	-	-	-	

<b>Familia 2 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	FC	TNEP	QP	QR	CAE/QE/CALA	Otro	Mutación
1 (30)	-	+ (24)	+ (31)	-	+ (25)	+ (25)	+ (29)	-	QH (29)	Arg167Trp

<b>Familia 3 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	FC	TNEP	QP	QR	CAE/QE/CALA	Otro	Mutación
1 (39)	+ (26)	+ (13)	-	-	-	+ (20)	+ (20)	-		p.Gln73Profsx58
2 (59)	+ (51)	-		-	-	-	+ (20)	-	Quistes ovario	

FAMILIARES ESTUDIADOS.

<b>Familia 4 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	FC	TNEP	QP	QR	CAE/QE/CALA	Otro	Mutación
1 (30)	-	+ (17)	-	+ (16)	+ (17)	+ (17)	-	-	Sordera	p.Thr157Ile

FAMILIARES ESTUDIADOS

<b>Familia 5 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	FC	TNEP	QP	QR	CAE/QE/CALA	Otro	Mutación
1 (28)	+ (20)	+ (19)	-	-	-	-	-	-		p.Arg161X

<b>Familia 6 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	FC	TNEP	QP	QR	CAE/QE/CALA	Otro	Mutación
1 (26)	-	-	-	+ (22)	+ (22)		-	-	HAS	p.Arg161Gln

<b>Familia 7 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	FC	TNEP	QP	QR	CAE/QE/CALA	Otro	Mutación
1 (31)	+ (29)	+ (13)	+ (30)	-	+ (22)	+ (27)	+ (27)	-	Hb renal	Delección exón 3

<b>Familia 8 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	FC	TNEP	QP	QR	CAE/QE/CALA	Otro	
1 (31)	+ (28)	-	-	+ (29)	-	-	-	-	HAS	p.Leu198ArgfsX209

<b>Familia 9 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	FC	TNEP	QP	QR	CAE/QE/CALA	Otro	
1 (30)	+ (21)	-	-	-	-	+ (21)	-	-	Hb renal	p.Arg161X

<b>Familia 10 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	FC	TNEP	QP	QR	CAE/QE/CALA	Otro	
1 (42)	+ (39)	-	-	-	-	+ (29)	+ (29)	-		p.Ile147PhefsX12

<b>Familia 11 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	FC	TNEP	QP	QR	CAE/QE/CALA	Otro	
1 (31)	-	+ (30)	+ (30)	-	-	-	-	+ (30)	Ca páncreas	p.Leu89Pro

<b>Familia 12 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	FC	TNEP	QP	QR	CAE/QE/CALA	Otro	
1 (36)	-	-	+ (32)	-	-	-	+ (32)	-	-	p.Pro86Ser

<b>Familia 13 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	FC	TNEP	QP	QR	CAE/QE/CALA	Otro	
1 (26)	-	-	-	+(19)	-	-	-	-	HAS	p.Asp121Gly

<b>Familia 14 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	FC	TNEP	QP	QR	CAE/QE/CALA	Otro	
1 (30)	+ (24)	+ (20)	+ (30)	-	-	-	-	-	HAS	p.His110GlnfsX21

<b>Familia 15 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	QR	FC	TNEP	QP	CAE/QE/CALA	Otro	
1 (72)	+ (55)	-	-	-	+ (29)	-	-	-	HAS	p.Arg161Gln

<b>Familia 16 (edad)</b>	Hb SNC	Hb R	CCCR	QR	FC	TNEP	QP	CAE/QE/CALA	Otro	
1 (31)	-	-	-	-	+ (17)	-	-	-	-	p.Glu70Gly
2 (8)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

HbR: hemangioblastoma de retina, Hb SNC: hemangioblastoma SNC, CCCRcc: cáncer renal de células claras, QR: quistes renales, FC: feocromocitoma, TNEP: tumor neuroendocrino de páncreas, QP: quistes pancreáticos. CAE/CALA: cistoadenoma de epidídimo y ligamento ancho.

SE: sentido erróneo. SS: sin sentido. ML/ Indel: corrimiento del marco de lectura. Del: deleción grande.