



## Exclusión prenatal del síndrome de von Hippel-Lindau en una familia mexicana con una mutación nueva en el gen *VHL*

Oscar Francisco Chacón-Camacho,<sup>1</sup> Jesús Benítez-Granados,<sup>2</sup> Juan Carlos Zenteno<sup>1,3</sup>

### RESUMEN

El síndrome de von Hippel-Lindau es una enfermedad multisistémica, con herencia autosómica dominante, causada por la inactivación del gen *VHL* que se distingue por la aparición de diversos tumores hipervasculares benignos o malignos. En este trabajo se describen las características clínicas y el diagnóstico prenatal de una mujer con síndrome de von Hippel-Lindau, que constituye el primer caso de exclusión prenatal por análisis de ADN del síndrome de von Hippel-Lindau en Latinoamérica.

**Palabras clave:** síndrome de von Hippel-Lindau, gen *VHL*, diagnóstico prenatal, amniocentesis, hemangioblastoma.

### ABSTRACT

Von Hippel-Lindau syndrome is an autosomal dominant and familial multisystemic syndrome that is caused by the inactivation of the *VHL* gene and it is characterized by diverse types of high vasculated tumors of benign and malign nature. This paper reports the clinical characteristics and prenatal diagnosis of a woman with von Hippel-Lindau syndrome, who constitutes the first exclusion prenatal case by DNA analysis of the Von Hippel-Lindau syndrome in Latin-American population.

**Key words:** von Hippel-Lindau syndrome, *VHL* gene, prenatal diagnosis, amniocentesis, hemangioblastoma.

### RÉSUMÉ

El gen syndrome de von Hippel-Lindau es una maladie multisistémica, con herencia autosómica dominante, causée par la inactivation del gen *VHL* distingué par la apparition de plusieurs tumeurs bénignes hypervasculaires le mal. En cet article si décrivent las diagnostic prénatal et caractéristiques cliniques d'unau muer con syndrome de von Hippel-Lindau, constitue el primer c'est-à-dire par analyse ADN affaire prénatale fr de syndrome del von Hippel-Lindau Latinoamérica.

**Mots-clés:** syndrome de von Hippel-Lindau, diagnostic prénatal, gen *VHL*, amniocentèse, Hémangioblastome.

### RESUMO

A doença de Von Hippel-Lindau é um de vários sistemas, dominante autossômica, causada por a inativação do gene de *VHL* que se caracteriza pelo aparecimento de diversos tumores hipervasculares benignos ou malignos. Neste artigo descrevemos o diagnóstico clínico e pré-natal de uma mulher com doença de von Hippel-Lindau, que é o primeiro caso de exclusão pré-natal por análise de DNA de von Hippel-Lindau em Latinoamérica.

**Palabras-chave:** síndrome von Hippel-Lindau gene *VHL*, o diagnóstico pré-natal, a amniocentese, hemangioblastoma.

<sup>1</sup> Unidad de Investigación, Departamento de Genética, Instituto de Oftalmología Conde de Valenciana, México, DF.

<sup>2</sup> Departamento de Genética, Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, ISSSTE, México, DF.

<sup>3</sup> Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF.

Correspondencia: Dr. Juan Carlos Zenteno. Departamento de Genética, Unidad de Investigación, Instituto de Oftalmología Conde de Valenciana. Chimalpopoca 14, México 06800 DF. Correo electrónico: jczenteno@institutodeoftalmologia.org  
Recibido: marzo 2012. Aceptado: abril 2012.

Este artículo debe citarse como: Chacón-Camacho OF, Benítez-Granados J, Zenteno JC. Exclusión prenatal del síndrome de von Hippel-Lindau en una familia mexicana con una mutación nueva en el gen *VHL*. Ginecol Obstet Mex 2013;81:206-210.

La enfermedad de von Hippel-Lindau (*VHL*; *OMIM* 193300) es un síndrome autosómico dominante que se distingue por la aparición de diversos tumores malignos y benignos que incluyen hemangioblastomas del sistema nervioso central y la retina, feocromocitoma, carcinoma de células renales, quistes renales y tumores pancreáticos, entre otros.<sup>1</sup> La enfermedad es causada por inactivación germinal del gen *VHL*, un gen supresor localizado en el brazo corto del cromosoma 3.<sup>2,3</sup> A la fecha, se han demostrado mutaciones en este gen en prácticamente todas las familias analizadas con enfermedad de von Hippel-Lindau; sin embargo, hay una variabilidad considerable en el espectro mutacional, que puede

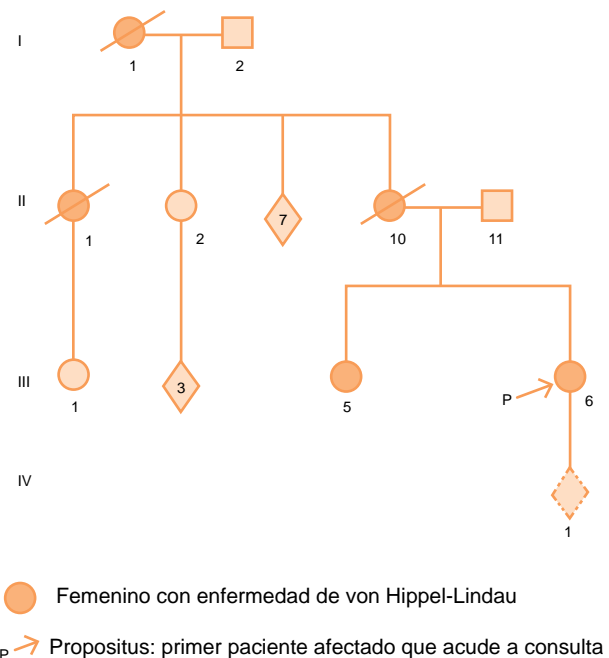
abarcando desde mutaciones puntuales hasta eliminaciones completas del gen. Las manifestaciones fenotípicas de la enfermedad también son muy variadas, incluso dentro de una misma familia.<sup>4</sup> El embarazo exagera y acelera el crecimiento de los tumores cerebrales y del ojo en las pacientes con enfermedad de von Hippel-Lindau, debido a los grandes cambios hormonales y hemodinámicos que ocurren durante este periodo.<sup>5,6</sup> En las últimas décadas ha habido enormes progresos en el campo de los exámenes prenatales en genética molecular. Con base en los patrones de herencia de la enfermedad y el tipo de mutación, el diagnóstico prenatal es posible a través de métodos de detección directos o indirectos (métodos de tamizaje o *screening*).<sup>7</sup> Debido a los avances en la tecnología y la investigación del origen genético de muchas afecciones, la cantidad de enfermedades genéticas susceptibles de detección prenatal por análisis de ADN ha mostrado un aumento considerable.

El diagnóstico molecular prenatal de la enfermedad de von Hippel-Lindau se ha descrito pocas veces en la bibliografía médica<sup>8-10</sup> y hasta donde sabemos no hay reportes en familias latinoamericanas. En este artículo se describe el análisis molecular del gen *VHL* en una mujer afectada con enfermedad de von Hippel-Lindau (con hermana también enferma) durante el primer trimestre del embarazo para establecer rápidamente si el feto tenía o no la afección familiar. También se describe la nueva mutación identificada en esta familia, con lo que se expande el espectro mutacional conocido para el gen *VHL*.

## CASO CLÍNICO

### Historia familiar

Se estudió una familia mexicana con tres generaciones afectadas por el síndrome de von Hippel-Lindau. La familia incluyó cinco sujetos enfermos (I-1, II-1, II-10, III-5 y III-6, Figura 1). Los pacientes I-1, II-1 y II-10 fallecieron durante la quinta década de la vida debido a la enfermedad. Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto de Oftalmología Conde de Valenciana y la paciente dio su consentimiento informado para participar. Los individuos I-1 y II-1 tuvieron antecedente de tumores cerebrales. En estos pacientes no se determinó la localización anatómica exacta ni la edad al diagnóstico de estos tumores al interrogar a sus parientes estudiados. La paciente II-10 tuvo antecedentes de hemangioblasto-



**Figura 1.** Árbol genealógico simplificado de una familia mexicana con enfermedad de von Hippel-Lindau.

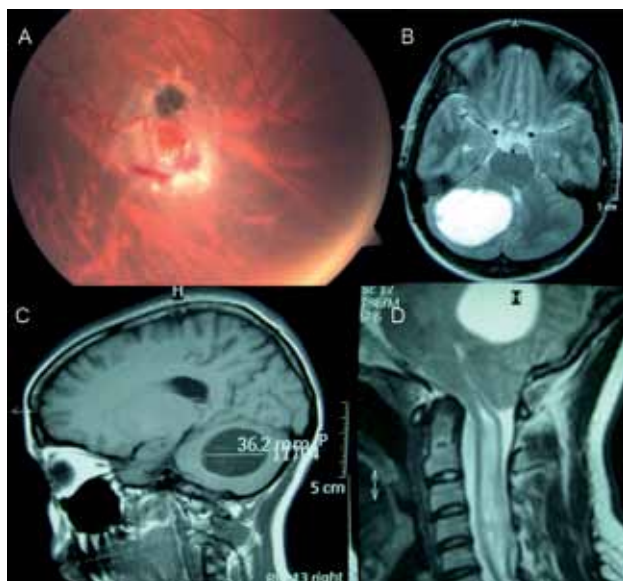
mas en el tallo cerebral y la retina, así como de tumores pancreáticos. El sujeto III-5 tuvo a los 13 años de edad hemangioblastomas retinianos bilaterales, que provocaron desprendimiento de retina y enucleación de ambos ojos. Esta paciente también tuvo quistes pancreáticos de diagnóstico reciente.

### Caso índice

El caso III-6 es el de una mujer de 24 años de edad referida al servicio de Genética con diagnóstico de síndrome de von Hippel-Lindau y embarazo de siete semanas. La paciente solicitó consejo genético y cuidado prenatal debido a su antecedente familiar y personal de síndrome de von Hippel-Lindau. A la edad de 11 años se le diagnosticaron hemangioblastomas retinianos bilaterales. Poco después se le realizó una resonancia magnética de columna en la que se identificaron hemangioblastomas medulares. A la edad de 21 años tuvo cefaleas y vómitos intensos por lo que se le efectuó un estudio de imagen de resonancia magnética de la cabeza en la que se encontró un hemangioblastoma quístico en el hemisferio cerebelar derecho (Figuras 2B, C y D). Los tumores se trataron con intervención quirúrgica y radioterapia un año

después. La exploración oftalmológica completa reveló hemangioblastomas retinianos multifocales y cicatrices retinianas debido al tratamiento previo con láser (Figura 2A). En la séptima semana de embarazo se le extrajo una muestra de sangre periférica para aislar el ADN genómico y realizar el análisis molecular del gen *VHL*.

Durante la semana 12 de embarazo se le realizó la prueba de cribado del primer trimestre de embarazo en suero materno (*duotest*), que incluyó PAPP-A (*pregnancy-associated plasma protein A*) y  $\beta$ -hCGH (*human chorionic gonadotropin  $\beta$ -subunit*). Asimismo, se efectuó un examen ultrasonográfico estructural del primer trimestre (semana 13) que valoró la translucencia nuchal, el hueso nasal y el ducto venoso. Durante la semana 15 de embarazo se efectuó una amniocentesis con el propósito de obtener células fetales y aislar ADN a partir de ellas. Simultáneamente, parte del líquido amniótico se utilizó y sembró en dos diferentes frascos de cultivo para realizar cariotipo mediante técnica de bandas GTG.



**Figura 2.** Características clínicas del caso índice con enfermedad de von Hippel-Lindau. **A.** Fotografía de fondo de ojo que muestra un hemangioblastoma retiniano en el ojo izquierdo. También se observan vasos sanguíneos dilatados adyacentes al tumor. **B.** Imagen de resonancia magnética en corte axial, preoperatoria, que muestra un área bien circunscrita de intensidad incrementada en el hemisferio cerebelar derecho, que corresponde a un hemangioblastoma cerebelar. **C.** Imagen de resonancia magnética en corte sagital, preoperatoria, que muestra el mismo tumor sin medio de contraste. **D.** Imagen de resonancia magnética en corte sagital que muestra el mismo tumor con medio de contraste. También se observa siringomielia cervical.

### Análisis mutacional del gen *VHL*

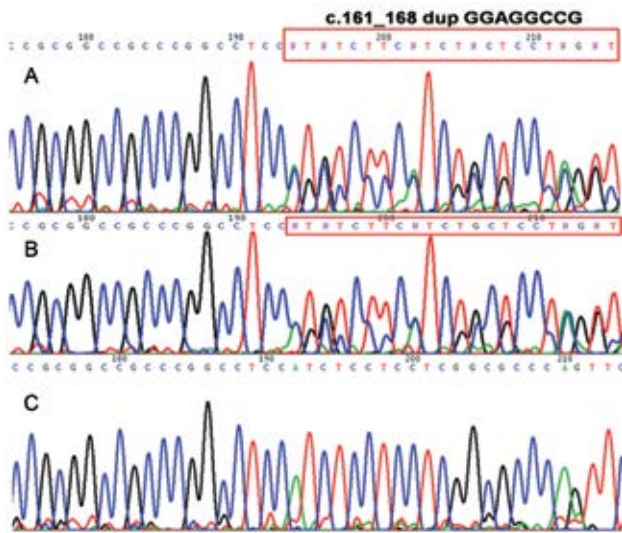
El ADN genómico fetal se aisló de células de la amniocentesis (aproximadamente 10 mL) con el *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* (Promega, Madison, WI, EUA). Además, el ADN genómico del propólitus y de su hermana afectada se extrajeron con el sistema *Quickgene system* (Fujifilm, Tokio, Japón). Se amplificaron por PCR los tres exones de la secuencia codificante del gen *VHL* con nucleótidos derivados de la secuencia de *VHL* (*Ensembl transcript ID VHL-001: ENST00000256474*). Cada 25 mL de reacción de amplificación de PCR contienen 1X buffer, 200 ng de ADN genómico, 0.2 mM de cada dNTP, 2 U de Taq polimerasa, 1mM de primer sentido y antisentido. Los productos de PCR se analizaron en geles de agarosa donde las bandas se escindieron y posteriormente se purificaron con el paquete *Qiaex II* (Qiagen, Hiden, Alemania).

Se realizó la secuenciación directa-automatizada del gen *VHL* con el paquete *BigDye Cycle Sequencing* (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), agregando 15 ng de ADN templado en cada reacción y utilizando 25 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 30 segundos, alineamiento a 50°C durante 15 segundos y extensión a 60° durante cuatro minutos. Todas las muestras se analizaron en un secuenciador *ABI Prism 310 Genetic Analyzer* (Applied Biosystems). Las secuencias silvestres (*Ensembl transcript ID VHL-001: ENST00000256474*) y la mutada se compararon manualmente.

### RESULTADOS

Después de realizar la secuenciación completa de la región codificante del gen *VHL* se identificó una inserción-duplicación de ocho nucleótidos c. 161\_168 dup GGAGGCCG en el ADN del caso índice (Figura 3A) y de su hermana (Figura 3B). Esta mutación causó un desplazamiento del marco de lectura y la introducción de un codón de paro (UGA) 16 codones “corriente abajo” (M54Mfs\*16). Esta mutación nueva no fue identificada por secuenciación directa en la región codificante completa del gen *VHL* del ADN genómico del feto (Figura 3C), lo que indica que el alelo mutado no se transmitió de la madre al feto.

No se encontraron anomalías en el *duotest* ni en el ultrasonido fetal del primer trimestre. El análisis citogenético mostró un cariotipo femenino en 36 metafases analizadas (46, XX [36]).



**Figura 3.** Secuencias nucleotídicas parciales del exón 1 del gen *VHL* en el caso índice (A), hermana del caso índice (B) y en el feto (C). La cadena antisentido se muestra en los electrofotogramas. **A y B.** El rectángulo rojo indica la sobreposición de los alelos debido al estado heterocigoto de la mutación nueva c.161\_168 dup GGAGGCCG. **C.** La mutación no se identificó en el ADN fetal.

## DISCUSIÓN

El síndrome de von Hippel-Lindau es una enfermedad neoplásica multisistémica heredada de manera dominante; se diagnostica con los siguientes criterios: 1) uno o más hemangioblastomas en el sistema nervioso central (principalmente el cerebelo); 2) lesiones viscerales (tumores o quistes renales o pancreáticos) y 3) incidencia familiar.<sup>11</sup> La herencia de un alelo mutado del gen tumor supresor *VHL* predispone a la enfermedad siguiendo las reglas de Knudson en la teoría del “doble golpe”.<sup>12</sup> En este estudio describimos el análisis molecular de una familia mexicana, incluida una mujer embarazada a la que se le realizó diagnóstico prenatal por análisis de ADN. En el ADN de esta paciente y de su hermana afectada se identificó una mutación nueva de *VHL*, mientras que el análisis del ADN fetal demostró que el feto heredó el alelo normal de su madre.

De acuerdo con la Sociedad Americana de Oncología Clínica, el síndrome de von Hippel-Lindau es una afección en la que el examen genético molecular, incluido el diagnóstico prenatal-molecular, es el patrón de referencia para evaluar el riesgo de los miembros de la familia.<sup>13</sup> En este estudio se identificó una nueva mutación (c. 161\_168 dup GGAGGCCG), que introduce una señal de paro que

produce una proteína truncada no funcional. Aunque hay una considerable variabilidad clínica en el síndrome de von Hippel-Lindau, incluso en individuos con la misma mutación, se han establecido algunas correlaciones genotipo-fenotipo. Los primeros estudios descritos compararon el riesgo de tumores específicos en pacientes con mutaciones de sentido equivocado con otro tipo de mutaciones y encontraron que las primeras tienen un riesgo más elevado de feocromocitoma.<sup>14</sup> Hace poco, Ong y su grupo describieron en 573 pacientes las edades de inicio al diagnóstico de las cinco lesiones mayores en el síndrome de von Hippel-Lindau: hemangioblastomas retinianos, cerebelares y espinales, carcinoma de células renales y feocromocitoma. El promedio de edad al diagnóstico y la frecuencia de estas lesiones fueron: hemangioblastoma retiniano, 25 años (73%); hemangioblastomas cerebelares, 29.9 años (57%); carcinoma de células renales, 39.7 años (35%); hemangioblastoma espinal, 33.3 años (25%), y feocromocitoma, 24 años (20%). En la paciente estudiada y su hermana los hemangioblastomas retinianos fueron los primeros tumores en aparecer a la edad de 11 y 13 años, respectivamente, lo que coincide con lo descrito en la bibliografía.<sup>15,16</sup> La paciente también padeció hemangioblastomas espinales y un hemangioblastoma quístico cerebeloso antes de la edad de 20 y 23 años, respectivamente; mientras que a su hermana hace poco se le diagnosticaron quistes pancreáticos sin hallazgo de hemangioblastomas en el sistema nervioso. Estos datos apoyan la gran variabilidad fenotípica que hay en esta enfermedad, incluso dentro de una misma familia.<sup>16</sup> Asimismo, las dos pacientes estudiadas tuvieron edad de inicio mucho más temprana de sus tumores; sin embargo, estas características también coinciden con lo descrito, que menciona que las mutaciones pequeñas por eliminación o inserción que provocan desplazamiento del marco de lectura y, por tanto una proteína truncada, originan que la edad de inicio sea más temprana en la aparición de los hemangioblastomas en el sistema nervioso central (ojo y cerebelo).<sup>4,15</sup> La importancia de nuestro estudio también radica en que, de acuerdo con el tipo de mutación y la relación genotipo-fenotipo descrita hasta la fecha, nuestras pacientes con síndrome de von Hippel-Lindau, aunque aún no tienen datos relacionados con quistes renales o carcinoma de células renales, tienen alto riesgo de padecerlos en los próximos años, por lo que debe mantenerse una estrecha vigilancia para evitar su aparición o sus complicaciones.<sup>17</sup>

Los síntomas de ciertos tumores intracraneanos, como los hemangioblastomas en pacientes con síndrome de von Hippel-Lindau, suelen empeorar durante el embarazo, quizá debido a los cambios endocrinológicos y al incremento del volumen sanguíneo materno propio de la fisiología materna del embarazo. No obstante, la mayor parte de los embarazos tiene resultados favorables e, incluso, 96.4% de los fetos sobrevive y sólo 5.4% de las madres afectadas con síndrome de von Hippel-Lindau tiene alguna morbilidad.<sup>18</sup> El caso índice no tuvo síntomas relacionados con el síndrome de von Hippel-Lindau durante el embarazo debido a que la enfermedad tiene un carácter autosómico dominante, por lo que la descendencia de una persona afectada tiene riesgo de 50% de heredar la enfermedad durante cada embarazo. El caso índice acudió a nuestra consulta para recibir asesoría genética y realizarse algún examen genético-molecular, que identificó la mutación nueva en la embarazada, pero no en el feto, quien heredó el alelo silvestre materno.

## CONCLUSIÓN

Este estudio es el primer ejemplo de diagnóstico prenatal genético-molecular del síndrome de von Hippel-Lindau en una familia latinoamericana. Esto es importante debido a que puede asistirse a parejas en las que hay un afectado con alguna enfermedad mendeliana, al permitirles saber antes del nacimiento que tendrán un hijo saludable. Además, describimos una nueva duplicación en el gen *VHL*, lo que expande el espectro mutacional conocido de dicho gen en la bibliografía internacional.

## Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por el Patronato de la Fundación Conde de la Valenciana.

## REFERENCIAS

1. Shuin T, Yamasa K, Tamura K, Okuda H, et al. Von Hippel-Lindau disease: molecular pathological basis clinical criteria, genetic testing, clinical features of tumors and treatment. *Jpn J Clin Oncol* 2006;36:337-343.
2. Chan C, Collins A, Chew E. Molecular pathology of the eyes with von Hippel-Lindau (VHL) disease. A review. *Retina* 2007;27:1-7.
3. Kaelin WG. Von Hippel-Lindau disease. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2007;2:145-173.
4. Wong WT, Agron E, Coleman HR, Reed GF, et al. Genotype-phenotype correlation in von Hippel-Lindau disease with retinal angiomas. *Arch Ophthalmol* 2007;125:239-245.
5. Depret-Mosser S, Jomin M, Monnier JC, Vinater D, et al. Cerebral tumors and pregnancy. Apropos of 8 cases. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 1993;22:71-80.
6. Brown PF, Dababo MA, Hladick CL, Eagan KP, et al. Hormone receptor immunoreactivity in hemangioblastomas and clear renal cell carcinomas. *Mod Pathol* 1998;11:55-59.
7. Tantravahi U, Wheeler P. Molecular genetic testing for prenatal diagnosis. *Clin Lab Med* 2003;23:481-502.
8. Levy M, Richard S. Attitudes of von Hippel-Lindau disease patients towards presymptomatic genetic diagnosis in children and prenatal diagnosis. *J Med Genet* 2000;37:476-478.
9. Stanojevic BR, Lohse P, Neskovic GG. Germline VHL gene mutations in three Serbian families with von Hippel-Lindau disease. *Neoplasma* 2007;54:402-406.
10. Siu WK, Ma RC. Molecular basis of von Hippel-Lindau syndrome in Chinese patients. *Chin Med J* 2011;124:237-241.
11. Melmon KL, Rosen SW. Lindau's disease. Review of the literature and study of a large kindred. *Am J Med* 1964;36:595-617.
12. Frew IJ, Krek W. pVHL: a multipurpose adaptor protein. *Sci Signal* 2005;1:30.
13. [www.asco.org](http://www.asco.org)
14. Maher ER, Webster AR, Richards FM, Green JS, et al. Phenotypic expression in von Hippel-Lindau disease: correlations with germline VHL gene mutation. *J Med Genet* 1996;33:328-332.
15. Ong KR, Woodward ER, Killick P, Lim C, et al. Genotype-phenotype correlations in von Hippel-Lindau disease. *Hum Mut* 2007;28:143-149.
16. Maher ER, Yates JR, Harries R, Benjamin C, et al. Clinical features and natural history of von Hippel-Lindau disease. *QJ Med* 1990;77:1151-1163.
17. Nordstrom-O'Brien M, van der Luijt RB, van Rooijen E, van den Ouweland, et al. Genetic analysis of von Hippel-Lindau disease. *Hum Mut* 2010;31:521-537.
18. Grimbirt P, Chauveau D, Remy SR, Grunfeld JP, et al. Pregnancy in von Hippel-Lindau disease. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:110-111.