

**CARACTERIZACIÓN GENÉTICA, DEMOGRÁFICA Y CLÍNICA DE  
PACIENTES CON RETINOBLASTOMA HEREDITARIO EN UNA POBLACIÓN  
DE MEDELLÍN.**

**GENETIC, DEMOGRAPHIC AND CLINICAL CHARACTERIZATION OF  
PATIENTS WITH HEREDITARY RETINOBLASTOMA IN A POPULATION OF  
MEDELLÍN – COLOMBIA.**

**Autores**

Nombre: Daniela Giraldo Ochoa  
Títulos: Médica.  
Filiación institucional: Universidad de Antioquia  
Correo electrónico: dgiraldoochoa@gmail.com

Nombre: Silvia Caballero Mojica.  
Títulos: Médica  
Filiación institucional: Universidad de Antioquia.  
Correo electrónico: silviaccm05@gmail.com

**Tutores y Co-directores del proyecto:**

Nombre: María Elena González Alviar  
Títulos: Oftalmóloga oncóloga.  
Filiación institucional: Hospital San Vicente Fundación.

Nombre: Martha Lía Gaviria Bravo  
Títulos: Oftalmóloga pediátrica  
Filiación institucional: Hospital San Vicente Fundación, UdeA

Nombre: Oscar Alonso Villada Ochoa  
Títulos: MD. Magister en epidemiología  
Filiación institucional: docente de cátedra investigación Universidad de Antioquia,  
Investigaciones Hospital San Vicente Fundación

## **RESUMEN:**

**Introducción:** Este estudio pretende describir las características clínicas, demográficas y genéticas de un grupo de pacientes con retinoblastoma hereditario del Hospital Universitario San Vicente Fundación (HUSVF) en la ciudad de Medellín, Colombia.

**Materiales y métodos:** Estudio descriptivo retrospectivo, en el que se incluyeron 22 pacientes con diagnóstico de retinoblastoma hereditario confirmado por estudio genético. Todos los pacientes fueron valorados y tratados en el programa de retinoblastoma más grande de Colombia, el cual cuenta además con un grupo multidisciplinario de especialistas.

**Resultados:** La mayoría de los pacientes tuvo menos de 5 años de edad al momento del diagnóstico, el síntoma más común fue la leucocoria y la presentación bilateral fue la más frecuente. Las pruebas más comúnmente realizadas fueron las basadas en secuenciación del genoma, encontramos 20 mutaciones en los 22 pacientes de este estudio, siendo la mayoría de tipo non-sense y los exones 14 y 17 fueron los más frecuentemente afectados por mutación. Solo tuvimos 2 mutaciones nuevas en nuestro grupo de pacientes y nos llamó la atención la presencia de 2 mutaciones germinales en un solo paciente.

**Conclusiones:** Este es uno de los pocos trabajos enfocados en describir las mutaciones en pacientes con retinoblastoma, de hecho, en Colombia no hay ningún estudio similar al nuestro.

**Palabras clave:** retinoblastoma, oncología ocular, genética, mutación.

## **ABSTRACT:**

**Introduction:** The principal aim of this study is to describe the clinical, demographic and genetic characteristics of patients with hereditary retinoblastoma at Hospital Universitario San Vicente Fundación (HUSVF) in the city of Medellín, Colombia.

**Materials and methods:** This is a retrospective descriptive study, which include 22 patients with hereditary retinoblastoma confirmed by genetic study. All patients were evaluated and treated in the retinoblastoma of the HUSVF, which counts with a multidisciplinary group of specialists.

**Results:** In this study most patients were less than 5 years old at the time of diagnosis, the most common symptom was leukocoria and bilateral presentation was the most frequent presentation of the retinoblastoma. The most common tests performed were those based on genome sequencing, this study found 20 mutations in the 22 patients, most of then being non-sense and the exons 14 and 17 were the most frequently affected. We found 2 new mutations in our patients and the presence of 2 germline mutations in only one patient.

**Conclusions:** This is one of the few works focused on describing mutations in patients with hereditary retinoblastoma, in fact, in Colombia there is no study similar to ours.

**Key words:** retinoblastoma, ocular oncology, genetics, mutation.

## **INTRODUCCIÓN:**

El retinoblastoma (RB) es la neoplasia maligna intraocular primaria más frecuente que afecta la población infantil, ocurriendo el 95% de los casos antes de los 5 años. Comprende alrededor del 4 al 6% de todas las neoplasias malignas pediátricas. Afecta 1 de cada 16.000 a 18.000 nacidos vivos aproximadamente, con una incidencia reportada de 7000 a 9000 casos anuales en el mundo. Las tasas de supervivencia en Estados Unidos son cercanas al 100%, siendo 80-89% en países de América Latina. El reporte aproximado de muertes anuales a nivel mundial se estima entre 3000 a 4000.(1-4)

El 75% de los pacientes presenta retinoblastoma unilateral con una media de edad de aparición entre los 2 a 3 años, en el caso del RB bilateral la edad media de inicio es hacia los 15 meses de edad.(2,5)

El retinoblastoma tiene un origen genético que se ha considerado la teoría Hudson del modelo del doble hit. Genéticamente el tumor requiere la inactivación de los 2 alelos del gen RB1 que está ubicado en el locus 13q14.2 y codifica la proteína RB1 (pRB1) encargada de regular el ciclo celular.(6) Los tumores bilaterales son causados por la presencia de una mutación germinal que puede ser heredada por uno de los padres solo en el 10%, o como resultado de una nueva mutación germinal.(18) Respecto al tumor unilateral la gran mayoría resulta de mutaciones somáticas del gen RB1 durante el desarrollo de la retina, solamente el 15% de los unilaterales tienen mutación germinal.(7)

Las características clínicas del retinoblastoma varían según la extensión del tumor, el tamaño y la ubicación. La manifestación clínica más común es la leucocoria en un 56% de los casos, seguida por estrabismo (20- 24%) y disminución de agudeza visual en un 5 al 8%. (6,7) Otra presentación clínica es el glaucoma secundario, el cual se presenta en un 17% de los afectados.(8)

En la actualidad se usa la Clasificación Internacional de Retinoblastoma, la cual es útil para elegir tratamiento y predice el pronóstico de salvamento ocular usando quimio-reducción y quimioterapia intraarterial.(9,10) Los pacientes con enucleación o diseminación metastásica se estadifican según el Sistema de Estadificación Internacional de Retinoblastoma (IRSS por sus siglas en ingles), el cual otorga factores pronósticos en los estadios bajos y predice supervivencia libre de enfermedad en estadios más altos.(2)

El estudio molecular y asesoramiento genético en los pacientes con retinoblastoma, especialmente en el hereditario, es esencial para identificar el tipo de mutación y determinar la heredabilidad a la futura descendencia, el porcentaje de herencia en el retinoblastoma hereditario es del 5% a los hermanos y de un 50% a los hijos.(11) Mas del 80% de las mutaciones se detectan realizando análisis de secuenciación de la región codificante con metodologías como Sanger y/o NGS (Secuenciación de última generación), un 10 al 20% se producen por deleciones detectadas con MLPA (Amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples) o microarrays, otra mecanismo a nivel somático serán metilaciones del promotor o mutaciones del N-MYC intratumorales; en nuestro caso estas pruebas genéticas

deben ser enviadas fuera del país para su procesamiento y realización, lo que causa un retraso en la obtención de los resultados.(12–16)

En nuestro medio no se encuentra registro ni estudios que evalúen las mutaciones y su relación con las variables clínicas, además no se han realizado publicaciones en Colombia que comparen las características de las mutaciones locales con la literatura mundial. Este estudio pretende describir la caracterización genética, demográfica y clínica de los pacientes con retinoblastoma hereditario vistos en una institución de Medellín-Colombia.

## **MATERIALES Y MÉTODOS:**

**Tipo de estudio y población:** Estudio descriptivo retrospectivo, basado en revisión de historias clínicas y exámenes genéticos. No se calculó tamaño de muestra, se describen los pacientes con retinoblastoma hereditario que hacen parte del programa de retinoblastoma del Hospital Universitario San Vicente Fundación (HUSVF), a quienes se le ha realizado prueba genética que demuestre mutación, de los cuales 22 cumplieron criterios de inclusión para el estudio.

**Criterios de inclusión:** Pacientes de ambos sexos, de cualquier edad y raza que hacen parte del programa de retinoblastoma del HUSVF, y que contaban con reporte de estudio genético positivo entre los años 2014 y 2019.

### **Criterios de exclusión:**

- Paciente sin información completa en historia clínica.
- Pacientes sin estudio genético que describiera una mutación en el gen del retinoblastoma
- Prueba genética negativa

**Variables de estudio:** Se estudiaron variables socio demográficas (edad, género, procedencia, antecedente familiar); clínicas (clasificación, motivo de consulta, lateralidad); genéticas (prueba genética, tipo de variante, exón, categorización de la variante, estado de la variante) y desenlaces (enucleación, metástasis, muerte).

**Procedimiento de recolección de estudio genético:** A todos los pacientes del programa de retinoblastoma del HUSVF desde el año 2015 se les solicita por medio del sistema general de seguridad social en salud colombiano el estudio genético y la valoración clínica por el especialista en genética, por lo tanto no existe uniformidad en la realización de cual prueba genética se realiza como primera opción, esto depende del genetista encargado de la valoración, dicha consulta no se realiza siempre por el mismo especialista en nuestro medio.

**Recolección de la información:** Las fuentes de información fueron secundarias (registros de historias clínicas, bases de datos del programa de retinoblastoma del HUSVF y resultados de las pruebas genéticas). La información fue recolectada por los investigadores y registrada en un formulario de recolección de la información con doble verificación de los datos con el fin evitar sesgos de información. El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación del Hospital San Vicente Fundación antes de su ejecución (Acta # 01-2020).

**Análisis de datos:** El análisis de información se realizó en el paquete estadístico SPSS V21. Para la descripción de las características demográficas y clínicas de los pacientes, se realizó un análisis univariado en el que se reportaron frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas.

Para las variables cuantitativas se probó el supuesto de normalidad. Para las variables con distribución normal, se reportó la media aritmética (promedio) con su respectiva desviación estándar. En caso de no seguir una distribución cercana a la normal, se reporta la mediana y el rango intercuartil.

## **RESULTADOS**

Se revisaron las historias de 37 pacientes con resultado de estudio genético, de los cuales 22 resultados contaban con prueba positiva y cumplían criterios de inclusión. El retinoblastoma ocurrió en el 95% de los casos antes de los 5 años de edad, en nuestro estudio encontramos una edad promedio en el momento del diagnóstico de 11 meses (DE:12) con una predilección por el sexo masculino en el 59,1% de los pacientes. El compromiso bilateral se presentó en el 81,8% de los pacientes, siendo esta presentación del retinoblastoma hereditario la más frecuente en nuestra población con un promedio de edad de 7,94 meses al momento del diagnóstico, el 18,2% restante fueron retinoblastomas hereditarios unilaterales diagnosticados a los 25,2 meses en promedio.

La mayoría de los pacientes eran procedentes del departamento de Antioquia (45%), seguidos de los provenientes de Cundinamarca (36%), siendo el departamento con menor número de pacientes Córdoba (4,5%). Tuvimos un paciente extranjero proveniente de Ecuador lo cual correspondió al 4,5% del total de pacientes. Los datos sociodemográficos y clínicos se encuentran en la tabla 1.

Los síntomas que motivaron la consulta fueron variados, sin embargo, la leucocoria fue la manifestación inicial más frecuente en el 59,09% de los pacientes, el estrabismo y la disminución de la agudeza visual se presentaron en un 22% y 9% respectivamente, siendo el glaucoma, el desprendimiento de retina y síntomas de superficie ocular presentes solo en el 4,5% de los pacientes de nuestro estudio. No tuvimos pacientes con metástasis o fallecimiento, la enucleación se realizó en el 59,1% de los pacientes y se realizó cirugía bilateral solo en un paciente correspondiente al 4,5%.

Generalmente se usan varias pruebas genéticas para diagnosticar mutaciones en pacientes con retinoblastoma, por lo tanto, casi la mitad de los sujetos en este estudio (45,5%) tienen reportados 2 exámenes o más.

Como se observa en la tabla 2, la prueba realizada con mayor frecuencia en nuestro estudio fue NGS en el 68,2% de los pacientes, encontrando mutación en todos los pacientes a quienes se les realizó esta prueba; seguida por la prueba Sanger usada en el 50% y encontrando mutación en el 40,9% , ya que en 2 pacientes (9,1%) en los que fue usada como primera prueba diagnóstica no se encontró mutación inicial, sin embargo se confirmó su presencia

con NGS en uno de ellos y en el otro con MLPA. Las pruebas MLPA y Microarrays se realizaron solo en el 27,2% y 4,5% respectivamente.

Las mutaciones encontradas en este estudio fueron 20 en total y se mencionan en la tabla 4. En 2 de ellas, se encontraron 2 pacientes con la misma mutación y se describen a continuación:

- Para la mutación c.1333C>T hubo diferencias de género, edad de diagnóstico y presentación clínica, ya que la paciente femenina tuvo diagnóstico unilateral a los 21 meses, mientras que el paciente masculino tuvo presentación temprana y bilateral. Sin embargo, ambos estaban en estadios avanzados y requirieron enucleación de un ojo.
- En cuanto a la mutación c.763C>T, ambos eran pacientes masculinos con retinoblastoma bilateral en estadio avanzado en al menos un ojo, ambos requirieron enucleación y fueron diagnosticados con prueba Sanger.

Los exones más comúnmente afectados por mutaciones fueron el exón 14 y el exón 17 (4 pacientes en cada uno), en segundo lugar, el exón 22 (3 pacientes) y finalmente el exón 8 (en 2 pacientes que requirieron enucleación). Los retinoblastomas del grupo E tuvieron más mutaciones en el exón 17 (3 pacientes) y en el exón 22 (2 pacientes). Algunos intrones tuvieron defectos en el sitio de splicing.

Las mutaciones descritas anteriormente en la tabla 3, tienen diferentes efectos en el ADN, de modo que por ejemplo el cambio de un solo nucleótido puede ocasionar tanto una mutación Non-Sense (codón de parada prematura) como una mutación Miss-Sense (cambio de codón, sin parada prematura); la mutación de tipo Non-Sense fue la más común en este estudio y se presentó en el 50% de los pacientes, mientras que la segunda en frecuencia (22,7%) fue la mutación del sitio de splicing, seguida por las mutaciones tipo Miss-Sense y Frameshift cada una con un 9,1% de los casos, como se muestra en la Figura 1.

Dos de los cuatro pacientes reportados con retinoblastoma unilateral, tuvieron mutaciones que afectaban el sitio de splicing (2520+1\_2520+4delGTGA y c.1389+6T>C) y uno de ellos requirió enucleación. Los retinoblastomas bilaterales de mayor gravedad presentaron mutaciones Non-Sense en su mayoría (7 de 9 pacientes), dentro de los cuales está el único paciente que requirió enucleación bilateral (mutación c.2284C>T, en el exón 22).

Las variantes genéticas se categorizan en las bases de datos (como OMIM, HGMD) según su capacidad para producir enfermedad, y pueden ser: patogénicas, probablemente patogénicas, inciertas, probablemente no patogénicas y no patogénicas. Además, se describe su estado según si es una mutación conocida (estudios in-vivo o in-vitro), In silico (simulación con modelos matemáticos y software), nueva, o si es un polimorfismo. Esta información se describe en la tabla 3.

En nuestro estudio el 86,4% eran mutaciones patogénicas, siendo la minoría de carácter incierto (9,1%, 2 pacientes); acá además se evidenció el caso de un solo paciente con retinoblastoma bilateral (clasificado grado D y E) con antecedente familiar en la madre,

diagnosticado con NGS quien presentó 2 mutaciones, una patogénica conocida en el exón 14 (c.1472T>C) y otra incierta In silico en el exón 6 (c.890T>C).

La mayoría de las mutaciones fueron descritas como conocidas (77.3%, 17 casos) y solo en 2 casos fueron nuevas. Llama la atención que se encontró un paciente con retinoblastoma bilateral grupo D en ambos ojos con mutación incierta In silico; mientras que otro paciente con retinoblastoma unilateral presentó una variante genética descrita como polimorfismo. Ambos pacientes con mutación In silico tuvieron también significado incierto.

Los pacientes con retinoblastoma bilateral, con al menos un ojo clasificado en grupo E tuvieron mutaciones patogénicas conocidas en su mayoría, como las 2 descritas anteriormente (c.1333C>T, c.763C>T) entre otras como c.1659T>A, c.2284C>T y c.1079delG. Sin embargo, un paciente presentó la mutación c.1686dupA, descrita como nueva e incierta en el exón 17. En la tabla 6 se resumen las características de las mutaciones en relación a los pacientes correspondientes.

## **DISCUSIÓN**

El avance en el conocimiento acerca de la genética del retinoblastoma y las diferentes formas de mutación promotoras de este tumor, han llevado a un mejor entendimiento de la enfermedad y abren la posibilidad de nuevas terapias mejorando la supervivencia y calidad de vida de estos pacientes. A pesar de los avances científicos en la genética del retinoblastoma, aún sigue siendo limitada su aplicación en países en vías de desarrollo, lo cual ha llevado a que la consejería genética no tenga el alcance ni impacto esperado en el abordaje multidisciplinario del paciente con retinoblastoma.

En nuestro estudio encontramos que la edad promedio de diagnóstico de retinoblastoma hereditario fue de 11 meses, siendo un poco menos de lo reportado en la literatura, la cual se encuentra alrededor de los 18 meses(8)(17). Nuestro estudio fue realizado en pacientes con retinoblastoma de tipo hereditario, el cual suele tener una presentación clínica más temprana en la vida(9), se han reportado en otras poblaciones hispánicas como México, diagnósticos tempranos incluso antes de los 6 meses de vida(18), en nuestro estudio la edad promedio de los pacientes con retinoblastoma bilateral fue de 7.9 meses, obedeciendo así el curso descrito en la literatura donde el tumor unilateral sigue siendo de diagnóstico más tardío que el bilateral a pesar de tener mutación germinal. El 95% de los pacientes con retinoblastoma se diagnostican antes de los 5 años, lo cual ocurrió en todos los pacientes de nuestro estudio.

Los síntomas principales en nuestro estudio fueron la leucocoria en el 59,09%, seguido de estrabismo y disminución de la agudeza visual en un 22% y 9 % respectivamente. El glaucoma, desprendimiento de retina y síntomas de la superficie ocular en un 4,5%. Estos hallazgos son equiparables a lo reportado en la literatura, puesto que la leucocoria y el estrabismo son los 2 principales motivos de consulta en los pacientes con este tumor(8), otros síntomas descritos como ojo rojo doloroso, hemorragia vítrea, celulitis o proptosis(19) no se reportaron en nuestro estudio.

El retinoblastoma hereditario típicamente se presenta de forma bilateral, y se reporta que alrededor del 10-15% de los unilaterales tiene mutaciones de tipo germinal(7), en nuestro estudio encontramos compromiso bilateral en el 81,8% de los casos y 18,2% fueron unilaterales.

Los pacientes con retinoblastoma tienen gran variedad de desenlaces, no hubo metástasis ni muerte en nuestro estudio, sin embargo, un paciente desarrolló un quiste en la glándula pineal, lo cual generó una sospecha inicial de retinoblastoma trilateral (retinoblastoma bilateral más neoplasia maligna intracraneal), pero luego, con resonancia magnética nuclear contrastada de cerebro, se concluyó que se trataba de un quiste pineal benigno, caso ya reportado por nuestro grupo de retinoblastoma (20). En este estudio fueron enucleados 13 ojos de 12 pacientes, en la literatura suele haber un mayor salvamento ocular en general(21), sin embargo, nuestro estudio incluye solamente retinoblastomas germinales los cuales tienen pronóstico más pobre (11).

En este estudio tuvimos 22 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión, en estos pacientes encontramos 20 mutaciones en total, ya que 2 mutaciones se repitieron en 2 pacientes. Estas 2 mutaciones repetidas fueron c.1333C>T, ambos pacientes tuvieron tumor en estadio avanzado, uno de los pacientes fue de presentación unilateral y requirió enucleación de ese ojo, el otro paciente con tumor bilateral requirió enucleación de un ojo. La segunda mutación repetida fue c.763C>T, con presentación bilateral en ambos casos con estadios avanzados requiriendo enucleación en un ojo. Ambas mutaciones han sido también reportadas como recurrentes en 3 y 2 pacientes respectivamente de un mismo estudio(22)

Las mutaciones c.1333C> T (exón 14) y c.763C> T (exón 8) se describen con gran frecuencia dentro del espectro mutacional de los pacientes con retinoblastoma sin distinción geográfica, de hecho hay literatura reportándolas en China, Singapur, Madrid, Argentina, Tailandia.(23)(22)(24)(25)(26). En nuestro estudio éstas fueron las únicas 2 mutaciones con 2 pacientes afectados cada una, lo cual, teniendo en cuenta el tamaño de muestra, nos da una idea de lo frecuentes que pueden llegar a ser ambas mutaciones.

Como ya mencionamos anteriormente, cada tipo de mutación producirá uno o varios efectos diferentes en el ADN llevando a una deficiencia variable de la proteína RB, en este estudio la más frecuente fue la mutación Non-Sense – con pérdida de sentido (50%) lo cual concuerda con lo descrito en la literatura en general, con un porcentaje cercano a lo descrito en Amsterdam, Jordania y Singapur, pero ampliamente mayor a lo descrito en China (entre 28 – 30%).(24)(27)(28). En segundo lugar, tuvimos la mutación del Sitio de splicing al igual que lo reportado por Valverde y col(25), además en otras descripciones suele ser la tercera en frecuencia. Mientras que en la mayoría de la literatura encontramos en segundo lugar el Frameshift, que en este estudio ocupó los últimos lugares.(23)(25)

Las mutaciones puntuales son mutaciones recurrentes conocidas, que se localizan en “hot spots” mutacionales del RB1 ricos en CpG como lo son el exón 8, 10, 11, 14, 15, 17, 18, 20 y 23, (22) que se reportan en la literatura con frecuencias variables. Dentro de nuestro estudio un 20% de las mutaciones se ubicó en el exón 14, otro 20% se ubicó en el exón 17 y el 4,5% en el exón 8; con frecuencia codificarán para codones de parada prematuros.(22)(25) Hubo



presentación escasa de mutaciones en otros exones como el 1 y el 6 similar a lo detectado en otros estudios.(29) Nos llama la atención que un 13,5% de las mutaciones recurrentes en nuestro estudio se ubicó en el exón 22, el cual no está descrito en la literatura como un “hot spot”, por lo tanto es posible que en nuestra región geográfica si sea un punto frecuente de mutaciones, sin embargo al ser éste el primer estudio descriptivo sobre mutaciones del gen RB1 en Colombia no es posible realizar comparaciones geográficas.

También encontramos 5 mutaciones en los intrones, todas con alteración del Sitio de Splicing menos una, lo cual concuerda con otras descripciones donde las mutaciones en dichos sitios involucran exones continuos. (30)

En nuestro estudio tuvimos 11 mutaciones Non-Sense, de las cuales 7 (63,3%) son cambios C por T, varios metaanálisis sobre el espectro de mutaciones en el gen RB1 revelan que entre el 79 – 80% de estas mutaciones son efectivamente sustituciones de base única (cambios de Citocina por Timina), generalmente en codones CGA-Arginina produciendo codones de parada (CGA> UGA), que al parecer sucede por desequilibrio entre metilación del ADN vs Reparación de desajustes (22)(28)(27). Los cambios de C por T en general fueron de 31,8% sin especificar mutaciones, similar a lo encontrado en otros artículos donde se acerca al 40%. (22)

En algunos estudios se ha intentado correlacionar el tipo de mutación con la presentación clínica y el resultado final, se ha asociado la presentación bilateral y temprana (antes de los 10 meses de edad) a las mutaciones tipo Non- Sense e Indel (inserciones y deleciones) y de manera contraria con las alteraciones del Sitio de Splicing (presentación tardía) como lo describen Mustafa, Lan, y Alonso entre otros.(28)(31) Estos hallazgos pueden sugerir que las mutaciones Non-Sense e Indel desarrollan tumores de manera temprana al detener prematuramente la traducción de ARNm, dejando un producto truncado e incompleto, no funcional.(24) Sin embargo, otros autores como Lan y col, no encontraron que la edad de diagnóstico difiera según los tipos de mutación (24), al igual que en nuestro estudio donde 10 de 14 pacientes con mutaciones Non-Sense e Indel fueron diagnosticados tempranamente, mientras que solo 1 de 5 pacientes que tenía mutación del sitio de Splicing fue diagnosticado tardíamente (39 meses).

La presentación grave (Grupo D y E) en el momento de diagnóstico se ha asociado a deleción y cambio de marco de lectura, mientras que los pacientes con mutación Non-Sense tienen probabilidad variable de presentación grave. En nuestro estudio el tipo de mutación tampoco dictó un patrón de gravedad al momento del diagnóstico. En cuanto al resultado final no se ha asociado significativamente con el tipo de mutación, sino con el estadio en el momento del diagnóstico. (28)

Solo 1 de nuestros pacientes tenía retinoblastoma con antecedente familiar, que concuerda en parte con el bajo porcentaje (5-10%) de casos reportados con antecedente familiar(32,33), nos llama la atención que este paciente tenía un retinoblastoma de comportamiento agresivo requiriendo enucleación y el examen encontró dos mutaciones germinales, una conocida patogénica en el exón 14 (c.1472T>C), y otra incierta en el exón 6 (c.890T>C), existe la posibilidad de que la agresividad pudiera estar asociada a la presencia de ambas mutaciones,

en la literatura no encontramos otros casos con 2 mutaciones germinales reportadas; pero sí encontramos que los factores de severidad dependen de las mutaciones desarrolladas dentro del tumor después de la inactivación del gen RB1 (34).

Es de anotar la presencia de una mutación incierta cuyo análisis in silico sugiere patogenicidad en un paciente con retinoblastoma bilateral grupo D, y es posible que con estudios futuros se pueda definir la patogenicidad de esta variante, consideramos la posibilidad de que sea una mutación patogénica. Además, en este estudio encontramos 2 nuevas mutaciones germinales, la mutación c.1686dupA en un paciente con enfermedad bilateral diagnosticada en el primer mes de vida por leucocoria con estado avanzado en ambos ojos, y la mutación c.1389+6T>C en un paciente con cuadro unilateral diagnosticado a los 5 meses por estrabismo. Ambos sin antecedente familiar. Consideramos trascendental resaltar tanto las mutaciones nuevas como las inciertas junto con sus características clínicas en este tipo de estudios, con el fin de atribuir patogenicidad cuando sean encontradas en otros pacientes no relacionados (22).

Este es uno de los pocos trabajos realizados en nuestro medio que ha reportado la presencia de mutaciones en pacientes con retinoblastoma. El primero en Colombia en caracterizar las mutaciones de estos pacientes, su presentación clínica y características demográficas, comparando los resultados con lo descrito en la literatura mundial.

Reconocemos como limitaciones de nuestra investigación, que es un estudio de tipo retrospectivo, con información obtenida de fuentes secundarias. Otra limitación fue el tamaño de muestra restringido, esto debido a las fallas en el sistema de salud de nuestro país que retrasa la adquisición de estudios genéticos. Por lo ya expuesto recomendamos la realización de estudios prospectivos con mayor número de pacientes.

## **CONCLUSIONES**

Nuestro estudio permitió no solo la identificación de mutaciones sino el fenotipo de la enfermedad, caracterizando edad de diagnóstico y lateralidad entre otros, en pacientes colombianos con retinoblastoma hereditario.

Describimos el espectro de mutaciones germinales de los pacientes del grupo de retinoblastoma del HUSVF, encontrando 2 nuevas mutaciones que no habían sido descritas previamente, así como una mutación de comportamiento incierto que en nuestro estudio tuvo comportamiento patogénico.

La alta tasa de mutaciones en el gen RB1 indica el beneficio de la realización de pruebas y el asesoramiento genéticos en pacientes con retinoblastoma y sus familias, ya que el resultado define la heredabilidad y el tipo de seguimiento a largo plazo en estos pacientes.

## **CONFLICTOS DE INTERES:**

Los autores declaramos no tener conflicto de intereses. Este trabajo de investigación no contó con ningún tipo de financiamiento.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kim JW, Mansfield NC, Murphree AL. Retinoblastoma. In: Ryan's Retina. 2019. p. 2375–420.
2. Ortiz M V, Dunkel IJ. Retinoblastoma. *J Child Neurol* [Internet]. 2016 Feb 28;31(2):227–36. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0883073815587943>
3. Leiderman YI, Kiss S, Mukai S. Molecular Genetics of RB1 —The Retinoblastoma Gene. *Semin Ophthalmol* [Internet]. 2007 Jan 2;22(4):247–54. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/08820530701745165>
4. Houston SK, Murray TG, Wolfe SQ, Fernandes CE. Current Update on Retinoblastoma. *Int Ophthalmol Clin* [Internet]. 2011 [cited 2019 Apr 15];51(1):77–91. Available from: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00004397-201105110-00005>
5. AlAli A, Kletke S, Gallie B, Lam W-C. Retinoblastoma for Pediatric Ophthalmologists. *Asia-Pacific J Ophthalmol* [Internet]. 2018 [cited 2018 Aug 1];7(3):160–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29737052>
6. Schachat, Andrew P., MD; Sadda, Srinivas R., MD; Hinton, David R., MD; Wilkinson, C.P., MD; Wiedemann, Peter M. Tumors of the Retina. In: Elsevier, editor. *Ryan's Retina*. Sixth Edit. 2018. p. 2375–429.
7. Rao R, Honavar SG. Review article. *Indian J Pediatr*. 2017;84(12):937–44.
8. Gallie BL, Soliman SE. Retinoblastoma [Internet]. Fifth Edit. Taylor and Hoyt's *Pediatric Ophthalmology and Strabismus*. Elsevier Ltd; 2019. 424-442.e2 p. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6616-0.00043-8>
9. Damario MA, Rock JA. Classification and Staging of Retinoblastoma. In: *Endometriosis* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 1995. p. 27–36. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4613-8404-5\\_4](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4613-8404-5_4)
10. Shields Jerry A SCL. *Intraocular Tumors An Atlas And Text Book*. Third Edit. Wolters Kluwer; 2016. 859–1009 p.
11. Skalet AH, Gombos DS, Gallie BL, Kim JW, Shields CL, Marr BP, et al. Screening Children at Risk for Retinoblastoma: Consensus Report from the American

- Association of Ophthalmic Oncologists and Pathologists. *Ophthalmology* [Internet]. 2018;125(3):453–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2017.09.001>
12. Gudiseva H V., Berry JL, Polski A, Tummina SJ, O'brien JM. Next-generation technologies and strategies for the management of retinoblastoma. *Genes (Basel)*. 2019;10(12).
  13. Shahraki K, Ahani A, Sharma P, Faranoush M, Bahoush G, Torktaz I, et al. Genetic screening in Iranian patients with retinoblastoma. *Eye* [Internet]. 2017;31(4):620–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/eye.2016.289>
  14. Grotta S, D'Elia G, Scavelli R, Genovese S, Surace C, Sirleto P, et al. Advantages of a next generation sequencing targeted approach for the molecular diagnosis of retinoblastoma. *BMC Cancer* [Internet]. 2015;15(1):1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12885-015-1854-0>
  15. Li WL, Buckley J, Sanchez-Lara PA, Maglinte DT, Viduetsky L, Tatarinova T V., et al. A Rapid and Sensitive Next-Generation Sequencing Method to Detect RB1 Mutations Improves Care for Retinoblastoma Patients and Their Families. *J Mol Diagnostics* [Internet]. 2016;18(4):480–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmoldx.2016.02.006>
  16. Ahani A, Akbari MT, Saliminejad K, Behnam B, Akhondi MM, Vosoogh P, et al. Screening for large rearrangements of the RB1 gene in Iranian patients with retinoblastoma using multiplex ligation-dependent probe amplification. *Mol Vis*. 2013;19(January 2012):454–62.
  17. Pandey AN. Retinoblastoma: An overview. *Saudi J Ophthalmol* [Internet]. 2014;28(4):310–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjopt.2013.11.001>
  18. Capellà D, Laporte JR, Vidal X, Wiholm BE, Bégaud B, Langman MJ, et al. European network for the case-population surveillance of rare diseases (Euronet). A prospective feasibility study. *Eur J Clin Pharmacol* [Internet]. 1998 Jan;53(5):299–302. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9516026>
  19. Dimaras H, Kimani K, Dimba EAO, Gronsdahl P, White A, Chan HSL, et al. Preface. *Oncogene* [Internet]. 2006;379(9824):1436–40. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/sj.onc.1209721>
  20. Vivas Giraldo JP, Giraldo Ochoa D, Gaviria Bravo ML, Gonzalez Alviar ME, Lopez Posada M, Vargas Vélez SA. Quiste benigno de la glándula pineal en paciente con retinoblastoma bilateral: Reporte de caso y revisión de la literatura. *Rev Soc Colomb Oftalmol* [Internet]. 2019;52(1):53–9. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7025761.pdf> <https://dialnet.unirioja.es/servlet/extart?codigo=7025761>
  21. González ME, Gaviria ML, Lópezf M, Escudero PA, Bravo A, Vargas SA. Eye Salvage with Intra-Arterial and Intra-Vitreous Chemotherapy in Patients with Retinoblastoma: 8-Year Single-Institution Experience in Colombia. *Ocul Oncol Pathol*. 2021;050010:1–9.

22. Tomar S, Sethi R, Sundar G, Quah TC, Quah BL, Lai S. Mutation spectrum of RB1 mutations in retinoblastoma cases from Singapore with implications for genetic management and counselling. 2017 [cited 2019 Apr 15]; Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178776>
23. Dommering CJ, Mol BM, Moll AC, Burton M, Cloos J, Dorsman JC, et al. RB1 mutation spectrum in a comprehensive nationwide cohort of retinoblastoma patients. *J Med Genet*. 2014;51(6):366–74.
24. Lan X, Xu W, Tang X, Ye H, Song X, Lin L, et al. Spectrum of RB1 Germline Mutations and Clinical Features in Unrelated Chinese Patients With Retinoblastoma. *Front Genet* [Internet]. 2020 Mar 11;11(March):1–9. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fgene.2020.00142/full>
25. Valverde JR, Alonso J, Palacios I, Pestaña A. RB1 gene mutation up-date, a meta-analysis based on 932 reported mutations available in a searchable database. *BMC Genet* [Internet]. 2005 Nov 4;6:53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16269091>
26. Rojanaporn D, Boontawon T, Chareonsirisuthigul T, Thanapanpanich O, Attaseth T, Saengwimol D, et al. Spectrum of germline RB1 mutations and clinical manifestations in retinoblastoma patients from Thailand. *Mol Vis* [Internet]. 2018;24(December):778–88. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30636860>
27. Price EA, Price K, Kolkiewicz K, Hack S, Reddy MA, Hungerford JL, et al. Spectrum of RB1 mutations identified in 403 retinoblastoma patients. *J Med Genet* [Internet]. 2014 Mar;51(3):208–14. Available from: <https://jmg.bmj.com/lookup/doi/10.1136/jmedgenet-2013-101821>
28. Mehyar M, Mosallam M, Tbakhi A, Saab A, Sultan I, Deebajah R, et al. Impact of RB1 gene mutation type in retinoblastoma patients on clinical presentation and management outcome. *Hematol Oncol Stem Cell Ther* [Internet]. 2020;13(3):152–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.hemonc.2020.02.006>
29. Ottaviani D, Parma D, Giliberto F, Ferrer M, Fandino A, Davila MT, et al. Spectrum of RB1 Mutations in Argentine Patients: 20-years Experience in the Molecular Diagnosis of Retinoblastoma. *Ophthalmic Genet* [Internet]. 2013 Dec 10;34(4):189–98. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/13816810.2012.755553>
30. Kiet NC, Khuong LT, Minh DD, Nguyen The Vinh, Quan NHM, Xinh PT, et al. Spectrum of mutations in the RB1 gene in Vietnamese patients with retinoblastoma. *Mol Vis* [Internet]. 2019;25(February 2018):215–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30996590>
31. Alonso J, Frayle H, Menéndez I, López A, García-Miguel P, Abelairas J, et al. Identification of 26 new constitutional RB1 gene mutations in Spanish, Colombian, and Cuban retinoblastoma patients. *Hum Mutat* [Internet]. 2005 Jan;25(1):99–99. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/humu.9299>

32. Soliman SE, ElManhaly M, Dimaras H. Knowledge of genetics in familial retinoblastoma. *Ophthalmic Genet* [Internet]. 2017 May 4 [cited 2019 Apr 15];38(3):226–32. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13816810.2016.1195846>
33. Leiderman YI, Kiss S, Mukai S. Molecular Genetics of *RB1* —The Retinoblastoma Gene. *Semin Ophthalmol* [Internet]. 2007 Jan 2 [cited 2019 Apr 15];22(4):247–54. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/08820530701745165>
34. Afshar AR, Pekmezci M, Bloomer MM, Cadenas NJ, Stevers M, Banerjee A, et al. Next-Generation Sequencing of Retinoblastoma Identifies Pathogenic Alterations beyond RB1 Inactivation That Correlate with Aggressive Histopathologic Features. *Ophthalmology* [Internet]. 2020;127(6):804–13. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2019.12.005>

**Tabla 1. Características sociodemográficas y clínicas de los pacientes con retinoblastoma hereditario**

<b>VARIABLES</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>n: número de pacientes: 22</b>		
<b>Edad, meses Me (RIQ)</b>	5 (2-15.5)	
<b>Género, masculino</b>	13	59,1
<b>Procedencia (n: 22 pacientes)</b>		
Antioquia	10	45,5
Otros departamentos	11	50
Ecuador	1	4,5
<b>Lateralidad (n: 22 pacientes)</b>		
Unilateral	4	18,2
Bilateral	18	81,8
<b>Motivo consulta, (n: 22 pacientes)</b>		
Leucocoria	13	59,09
Estrabismo	5	22,7
Disminución agudeza visual	2	9,1
Glaucoma + desprendimiento de retina	1	4,5
Ojo rojo + epifora + blefaroespasma	1	4,5
<b>n: número de ojos: 40</b>		
<b>Estadio en el momento del diagnóstico. (n: 40 número de ojos)</b>		
A	2	5
B	5	12,5
C	6	15
D	17	42,5
E	10	25

Me (RIQ): Mediana (Rango intercuartil)

**Tabla 2. Resultados de pruebas genéticas realizadas a la población de estudio**

<b>Resultado de las pruebas</b>	<b>n*</b>	<b>% *</b>
<b>NGS (n= 15 pacientes)</b>		
Positivo (con mutación)	15	100
Negativo (sin mutación)	0	0
<b>Sanger (n= 11 pacientes)</b>		
Positivo (con mutación)	9	81,8
Negativo (sin mutación)	2	18,2
<b>MLPA (n= 6 pacientes)</b>		
Positivo (con mutación)	1	16,7
Negativo (sin mutación)	5	83,3
<b>Microarrays (n=1 paciente)</b>		
Positivo (con mutación)	0	0
Negativo (sin mutación)	1	100

NGS: Secuenciación de segunda generación

MLPA: Amplificación dependiente de sondas de ligandos

\*La información corresponde al número total de pacientes al que se le realizó cada prueba. Varios pacientes tienen más de una prueba en este tipo de estudios.



**Tabla 3. Tipo y características de mutaciones en pacientes con retinoblastoma hereditario**

<b>Mutación</b>	<b>N (22 paciente)</b>	
2520+1_2520+4delGTGA	1	
c. 2664-10T>A	1	
c.103C>T (p.Gln35*)	1	
c.1079delG	1	
c.1333C>T	2	
c.1389+6T>C	1	
c.1448_1449delAT	1	
c.1472T>C, c.890T>C	1	
c.1526delG	1	
c.1529C>T	1	
c.1659T>A	1	
c.1686dupA	1	
c.1735C>T	1	
c.1821C>T	1	
c.2284C>T	1	
c.264+2T>G	1	
c.265-1G>A	1	
c.607+1G>A	1	
c.763C>T	2	
Deleción 8 nucleótidos	1	
<b>Categorización (n: 22pacientes)</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Patogénica	19	86,4
Incierto	2	9,1
Patogénica e Incierto	1	4,5
<b>Estado ( n: 22 pacientes)</b>		
Conocida	17	77,3
Nueva	2	9,1
In silico	1	4,5
Polimorfismo	1	4,5
conocida, In silico	1	4,5



**Tabla 4. Pacientes y características de mutaciones**

Caso	Sexo	Lateralidad	Edad Diagnostico (meses)	Localización	Mutación	Tipo de mutación
Paciente 1	M	B	10	EXON 14	c.1529C>T	NON SENSE
Paciente 2	M	B	14	EXON 8	c.763C>T	NON SENSE
Paciente 3	M	B	3	EXON 18	c.1735C>T	NON SENSE
Paciente 4	M	B	3	EXON 17	c.1448_1449delAT	FRAMESHIFT
Paciente 5	F	B	11	EXON 21 al 27	Delección 8 nucleótidos	DELECIÓN
Paciente 6	F	U	39	INTRON 24- EXON 11	2520+1_2520+4delGTGA	SITIO SPLICING
Paciente 7	F	B	9	EXON 17	c.1659T>A	NON SENSE
Paciente 8	M	B	2	EXON 14	c.1333C>T	NON SENSE
Paciente 9	F	B	2	INTRON 14	c.265-1G>A	SITIO SPLICING
Paciente 10	F	B	10	INTRON 4	c.264+2T>G	SITIO SPLICING
Paciente 11	M	B	1	EXON 17	c.1686dupA	NON SENSE
Paciente 12	F	B	3	EXON 22	c.2284C>T	NON SENSE
Paciente 13	F	B	2	EXON 22	c.1079delG	NON SENSE
Paciente 14	M	B	5	EXON 20	c.1821C>T	MISSENSE
Paciente 15	M	B	3	EXON 1	c.103C>T (p.Gln35*)	NON SENSE
Paciente 16	M	U	36	INTRON 25	c. 2664-10T>A	SINGLE NUCLEOTIDE VARIANT
Paciente 17	M	B	20	EXON 14, EXON 6	c.1472T>C, c.890T>C	MISSENSE
Paciente 18	M	B	1	EXON 6	c.607+1G>A	SITIO SPLICING
Paciente 19	M	B	43	EXON 17	c.1526delG	FRAMESHIFT
Paciente20	M	B	2	EXON 8	c.763C>T	NON SENSE
Paciente 21	F	U	5	INTRON 14	c.1389+6T>C	SITIO SPLICING
Paciente 22	F	U	21	EXON 14	c.1333C>T	NON SENSE

M: masculino, F: femenino U: unilateral B: bilateral



**Fig 1: Distribución del tipo de mutación encontrada.**