

Alelo doble mutante en el gen *EXT1* no informado previamente en una adolescente con exostosis múltiple hereditaria

Double mutant alleles in the EXT1 gene not previously reported in a teenager with hereditary multiple exostoses

Dr. Francisco Cammarata-Scalisi,^a Téc. Mónica Cozar,^b Dr. Daniel Grinberg,^b Dra. Susana Balcells,^b Dra. Carla G. Asteggiano,^c Lic. E. Gustavo Martínez-Domenech,^c Dra. Ana Bracho,^d Dra. Yanira Sánchez,^d Dra. Frances Stock,^e Dr. Wilmer Delgado-Luengo,^d Dra. Carmen Zara-Chirinos^d y Dr. José Antonio Chacín^d

RESUMEN

Las formas hereditarias de exostosis múltiple, actualmente denominada *EXT1/EXT2*-CDG dentro de los desórdenes congénitos de la glicosilación, son los tumores óseos benignos más comunes y se caracterizan por la formación de lesiones óseas cubiertas de cartilago, localizadas en yuxtaposición a epífisis de huesos largos, aunque, en los casos graves, pueden presentar una amplia distribución. El inicio es variable desde los 2-3 años hasta los 13-15 y presenta una incidencia estimada que va de 1/18000 a 1/50000 casos en los países europeos. Se presenta el caso de un doble alelo mutante en el gen *EXT1* no informado previamente en una adolescente y su familia con exostosis múltiple hereditaria.

Palabras clave: exostosis múltiple hereditaria, *EXT1/EXT2*-CDG.

ABSTRACT

Hereditary forms of multiple exostoses, now called *EXT1/EXT2*-CDG within Congenital Disorders of Glycosylation, are the most common benign bone tumors in humans and clinical description consists of the formation of several cartilage-capped bone tumors, usually benign and localized in the juxta-epiphyseal region of long bones, although wide body dissemination in severe cases is not uncommon. Onset of the

disease is variable ranging from 2-3 years up to 13-15 years with an estimated incidence ranging from 1/18000 to 1/50000 cases in European countries. We present a double mutant alleles in the *EXT1* gene not previously reported in a teenager and her family with hereditary multiple exostoses.

Key words: hereditary multiple exostoses, *EXT1/EXT2*-CDG.

<http://dx.doi.org/10.5546/aap.2015.e109>

INTRODUCCIÓN

Las formas hereditarias de exostosis múltiple (EMH) u osteocondromatosis múltiple, actualmente denominadas *EXT1/EXT2*-CDG dentro de los desórdenes congénitos de la glicosilación, son entidades de herencia autosómica dominante debidas a defectos en la formación de O-glicoconjugados y caracterizadas por la formación de osteocondromas, que son los tumores óseos benignos más comunes. Se caracterizan por la formación de lesiones óseas cubiertas de cartilago, localizadas en yuxtaposición a epífisis de huesos largos, aunque, en los casos graves, pueden presentar una amplia distribución. Dependiendo de su número, tamaño y ubicación, pueden causar complicaciones, como deformidad con limitación funcional, compresión de estructuras adyacentes e, incluso, la transformación a condrosarcoma, que puede ocurrir en el 3-5% de los casos.¹⁻⁴

El inicio es variable, desde los 2-3 años hasta los 13-15. Presentan una incidencia estimada que va de 1/18000 a 1/50000 casos en los países europeos.⁵ Son causadas principalmente por mutaciones en genes supresores de tumores, como el *EXT1*, localizado en 8q24.11, que causa la EMH tipo 1 (OMIM 133700); el *EXT2*, ubicado en 11p11.2, que causa la EMH tipo 2 (OMIM 133701); y la EMH tipo 3 (OMIM 600209), cuyo locus ha sido localizado en el brazo corto del cromosoma 19 (19p), pero aún no se han detectado alteraciones de este.^{1,6,7} Las mutaciones en *EXT1* representan entre 56 y 78%

- Unidad de Genética Médica. Departamento de Puericultura y Pediatría. Facultad de Medicina. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.
- Departamento de Genética. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. CIBERER, IBUB. Barcelona, España.
- CONICET-CEMECO. Centro de Estudio de las Metabolopatías Congénitas (UNC). Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad Católica de Córdoba. Córdoba, Argentina.
- Instituto de Investigaciones Genéticas. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.
- Unidad de Oncología Pediátrica. Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes. Mérida, Venezuela.

Correspondencia:
Dr. Francisco Cammarata-Scalisi:
francocammarata19@gmail.com

Conflicto de intereses: ninguno que declarar.

Recibido: 29-8-2014
Aceptado: 7-11-2014

de todos los casos de EMH y, en *EXT2*, entre 21 y 44%. Ambos genes codifican las enzimas glicosiltransferasas localizadas en retículo endoplásmico, N-acetilglucosamina transferasa y ácido D-glucorónico transferasa, implicadas en la síntesis de las cadenas del heparán sulfato (HS) y proteoglicanos de heparán sulfato, el cual interviene en el mecanismo de señalización en la placa de crecimiento del hueso endocondral y cuyas alteraciones conducirían a la formación de osteocondroma.^{1,6}

Se presenta el caso de una adolescente evaluada de forma multidisciplinaria con diagnóstico clínico, estudio radiológico y molecular de EMH con doble alelo mutante en el gen *EXT1* no informado previamente.

CASO CLÍNICO

Adolescente femenina de 12 años y 7 meses, referida para su evaluación por presentar prominencias óseas en extremidades desde el año de edad.

Padre de 39 años y madre de 38 años, no consanguíneos. El padre y otros integrantes de su familia presentan un fenotipo similar (Figura 1).

Producto de V gesta, obtenida por cesárea segmentaria a las 38 semanas. El peso y la talla al nacer fueron 3100 g y 49 cm.

Evidenció adecuado desarrollo psicomotor y presentó buen desenvolvimiento escolar.

Fue intervenida en tres ocasiones por exéresis de lesiones; a los cuatro años, en ambos antebrazos y en el pie derecho; a los ocho años, en el fémur derecho; y a los diez años, en el húmero izquierdo y radio y cúbito ipsilateral.

Examen físico: talla de 138 cm (P 10-3); peso de 31 kg (P 10-3); circunferencia cefálica de 54 cm (P 50-75). Normocefalia con región frontal

amplia. Puente nasal en silla de montar con punta bulbosa. El paladar era ojival, con malposición y maloclusión dentaria y piezas dentales con cambios en la coloración. En las extremidades, se evidenció acortamiento de miembro superior izquierdo, con limitación en la extensión del codo, *genu valgum* e inserción proximal del 4° orjejo derecho.

Estudios de radiografía simple de antebrazos evidenciaron distorsión de la arquitectura con lesiones encondromatosas a nivel de la región epifisiaria y metafisiaria distal de radio y cúbito a predominio izquierdo (Figura 2) y en tercio distal de fémur bilateral.

Mediante la técnica de amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR), seguida de secuenciación automática, se detectaron las mutaciones en heterocigosis c.1284+1G>A en el intrón 4 y la c.1184C>G (p.Ser395Cys) en el exón 4 del gen *EXT1*, además de la c.710C>T (p.Ser237Leu) igualmente en heterocigosis, en el exón 6 del gen *EXT2*.

La mutación encontrada en una de las dos copias del gen *EXT1* altera el empalme del exón 4 del gen; situada en el sitio dador de empalme del intrón 4, es un cambio de guanina por adenina. Esta posición es 100% conservada, por lo que su modificación debe considerarse patogénica. Se trata, además, de una mutación no descrita en la base de datos: "Multiple Osteochondroma Mutation Database" (<http://medgen.ua.ac.be/LOVDv2.0/home.php>) ni en HGMD® Professional 2013, 4-15 de diciembre de 2013. En la misma copia del gen *EXT1* y en el mismo exón 4, se ha identificado otra mutación, que provoca la sustitución del aminoácido serina por cisteína, en la posición 395 de la exostosina 1, e igualmente se trata de una mutación no descrita en las dos bases de datos ya mencionadas. En la segunda copia de *EXT1*, no se encontró ninguna mutación.

Además, en una copia del gen *EXT2*, se ha encontrado un cambio de citosina a timina en la

FIGURA 1. Genealogía en la que se muestra transmisión de las formas hereditarias de exostosis múltiple en cuatro generaciones y un patrón de herencia autosómico dominante

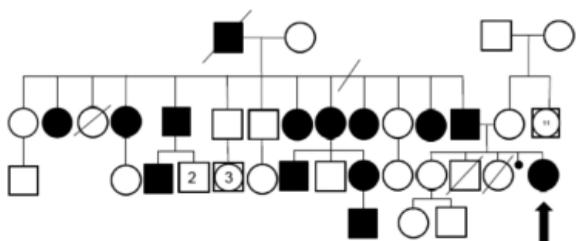


FIGURA 2. Radiografía de antebrazo, en la que se evidencian osteocondromas en la región epifisiaria y metafisiaria distal de radio y cúbito izquierdo



posición 710 del exón 6, que produce un cambio de aminoácido serina por leucina en la posición 237 de la exostosina 2. Esta mutación ha sido documentada por Wuyts, et al.⁸ que la consideran de patogenicidad dudosa, pues la presenta un paciente y también su padre no afecto.

DISCUSIÓN

La EMH se caracteriza por una amplia variabilidad clínica intrafamiliar e interfamiliar.³ La limitación de la movilidad articular se encuentra entre las complicaciones más frecuentes. La estatura puede verse afectada en 37% en el sexo masculino y 44% en el femenino. Dado que la mayoría de los casos son asintomáticos al momento del nacimiento, el diagnóstico precoz solo se puede realizar por cribado en las familias con antecedentes de la entidad. La articulación de la rodilla está afectada en 94% de los casos y, en las EMH graves, se pueden producir escoliosis⁹ o compresión de la médula espinal.¹⁰

La paciente descrita presenta solo lesiones en huesos largos de las extremidades y, según la clasificación mostrada en la *Tabla 1*,³ representa el tipo III A, debido a la limitación en la extensión del codo en el miembro superior izquierdo. La evaluación médica debe ser multidisciplinaria, en forma individual, seguir la evolución natural y la aparición de posibles complicaciones.

Las dos mutaciones en heterocigosis encontradas en el gen *EXT1* son consideradas patogénicas y no fueron documentadas en las bases de datos consultadas. Además, en el gen *EXT2* de este caso, se consiguió una mutación ya conocida, pero de patogenicidad dudosa.⁸ Las mutaciones encontradas en el gen *EXT1* fueron

igualmente encontradas en una tía paterna afectada, pero esta no presentó la mutación en el gen *EXT2*. Estos análisis se realizaron en el Departamento de Genética, de la Facultad de Biología de la Universidad de Barcelona, en España. En dicha institución, estudiaron a 39 pacientes españoles, 37 de ellos con mutaciones, 29 (74,4%) en el gen *EXT1* y 8 (20,5%) en *EXT2*, 18 de estas no documentadas. Con el objeto de establecer correlación genotipo-fenotipo, se evidenció un menor número de exostosis en mutaciones con cambio de sentido.¹¹

En el Instituto Ortopédico de Rizzoli, en Boloña, Italia, se estudiaron 529 pacientes. De estos, 344 (65%) presentaron mutaciones en el gen *EXT1* y, 134 (25,3%), en *EXT2*. Las pacientes de sexo femenino, las mutaciones en el gen *EXT2* y la ausencia de mutaciones en *EXT1/2* se asociaron con un fenotipo leve. En contraste, un fenotipo grave se asoció con el sexo masculino y las mutaciones en *EXT1*. La transformación maligna se observó en 26 (5%) de los pacientes, pero no se encontró asociación en la aparición de condrosarcoma y las variables anteriormente comentadas.³

En Argentina, en el Centro de Estudio de las Metabolopatías Congénitas (CEMECO), se desarrolla un programa latinoamericano para la detección de esta entidad y, hasta el momento, fueron detectados los alelos mutantes en 78% de los pacientes con EMH. Por PCR y MLPA (*Multiplex ligation-dependent probe amplification*), se detectaron 21 mutaciones patogénicas: 15 en el gen *EXT1* y 6 en *EXT2*. De estas, 10 mutaciones fueron no descritas previamente. Los datos clínicos en 21 (78%) de los pacientes demostraron un fenotipo moderado en 15% y presentación grave en 63%. Dos pacientes desarrollaron transformación maligna a condrosarcoma en pelvis, que ocasionó una compresión vascular y de órganos cercanos muy grave.⁴

Entre los principales diagnósticos diferenciales, se encuentran la enfermedad de Ollier, entidad de etiología incierta, con una incidencia de 1/100 000, la cual se caracteriza por múltiples encondromas con marcada predominancia unilateral y riesgo de transformación maligna, que se puede incrementar a 35%. Además, el síndrome de Maffucci, igualmente de etiología incierta, es más infrecuente y se caracteriza por la asociación de encondromas con hemangiomas. Tanto la enfermedad de Ollier como el síndrome de Maffucci pueden presentar lesiones en diferentes regiones, con especial predilección en manos.⁷

Tabla 1. Clasificación clínica de formas hereditarias de exostosis múltiple³

Clase	Hallazgos
I	Sin deformidad y limitación funcional
I A	≤ 5 sitios con exostosis
I B	> 5 sitios con exostosis
II	Con deformidad y sin limitación funcional
II A	≤ 5 sitios con deformidad
II B	> 5 sitios con deformidad
III	Con deformidad y limitación funcional
III A	Limitación funcional en un sitio
III B	Limitación funcional en más de un sitio

Se presentó un caso de EMH con diagnóstico clínico, radiológico y molecular, y se encontraron dos mutaciones patogénicas no informadas previamente en el gen *EXT1* y otra considerada dudosa en el gen *EXT2*. Este hallazgo molecular muestra mutaciones que hacen importante el seguimiento clínico, ante la posibilidad de asociar estas mutaciones a una eventual característica de presentación de la entidad. Además, se debe brindar un oportuno asesoramiento genético, ya que los integrantes de la familia que presentan la alteración tienen un riesgo de 50% de transmitir la entidad a sus descendientes. ■

REFERENCIAS

1. Ciavarella M, Coco M, Baorda F, Stanziale P, et al. 20 novel point mutations and one large deletion in *EXT1* and *EXT2* genes: report of diagnostic screening in a large Italian cohort of patients affected by hereditary multiple exostosis. *Gene* 2013;515(2):339-48.
2. Kok HK, Fitzgerald L, Campbell N, Lyburn ID, et al. Multimodality imaging features of hereditary multiple exostoses. *Br J Radiol* 2013;86(1030):20130398.
3. Pedrini E, Jennes I, Tremosini M, Milanesi A, et al. Genotype-phenotype correlation study in 529 patients with multiple hereditary exostoses: identification of "protective" and "risk" factors. *J Bone Joint Surg Am* 2011;93(24):2294-302.
4. Delgado MA, Sarrión P, Azar N, Zecchini L, et al. A novel nonsense mutation of the *EXT1* gene in an Argentinian patient with multiple hereditary exostoses: a case report. *J Bone Joint Surg Am* 2012;94(11):e76.
5. De Andrea CE, Hogendoorn PC. Epiphyseal growth plate and secondary peripheral chondrosarcoma: the neighbours matter. *J Pathol* 2012;226(2):219-28.
6. Jamsheer A, Socha M, Sowi ska-Seidler A, Telega K, et al. Mutational screening of *EXT1* and *EXT2* genes in Polish patients with hereditary multiple exostoses. *J Appl Genet* 2014;55(2):183-8.
7. Cammarata-Scalisi F, Sánchez-Flores R, Stock-Leyton F, Labrador-Chacón N, et al. Exostosis múltiple hereditaria. Reporte de un caso y diagnóstico diferencial de las endondromatosis. *Acta Ortop Mex* 2012;26(6):388-92.
8. Wuyts W, Radersma R, Storm K, Vits L. An optimized DHPLC protocol for molecular testing of the *EXT1* and *EXT2* genes in hereditary multiple osteochondromas. *Clin Genet* 2005;68(6):542-7.
9. Ryckx A, Somers JF, Allaert L. Hereditary multiple exostosis. *Acta Orthop Belg* 2013;79(6):597-607.
10. Ashraf A, Larson AN, Ferski G, Mielke CH, et al. Spinal stenosis frequent in children with multiple hereditary exostoses. *J Child Orthop* 2013;7(3):183-94.
11. Sarrión P, Sangorrin A, Urreizti R, Delgado A, et al. Mutations in the *EXT1* and *EXT2* genes in Spanish patients with multiple osteochondromas. *Sci Rep* 2013;3:1346.