

Caracterización clínica y molecular de niños con síndrome de Noonan y otras RASopatías en Argentina

Clinical and molecular characterization of children with Noonan syndrome and other RASopathies in Argentina

Bioq. Josefina Chinton,^a Dra. Victoria Huckstadt,^b Dra. Angélica Moresco,^b
Bioq. L. Pablo Gravina^a y Dra. M. Gabriela Obregon^b

RESUMEN

Introducción. Las RASopatías son un conjunto de síndromes fenotípicamente superpuestos causados por mutaciones en genes implicados en la vía RAS/MAPK. La herencia es autosómica dominante, presentan características clínicas comunes, como baja talla, dismorfias craneofaciales, cardiopatía congénita, manifestaciones ectodérmicas y mayor riesgo de cáncer. El diagnóstico molecular es clave.

Objetivo. Identificar mutaciones en los genes *PTPN11*, *SOS1*, *RAF1*, *BRAF* y *HRAS*, y comparar las principales características clínicas en pacientes con confirmación molecular.

Población y métodos. Se estudiaron niños con diagnóstico clínico de RASopatía evaluados entre agosto de 2013 y febrero de 2017.

Resultados. Se identificaron mutaciones en el 71% (87/122) de los pacientes. El estudio molecular confirmó el diagnóstico en el 73% de los pacientes con síndrome de Noonan. La mutación más prevalente fue c.922A>G (p.Asn308Asp) en el gen *PTPN11*. Se detectó una variante no descrita en *RAF1*, c.1467G>C (p.Leu489Phe). Se confirmó el síndrome cardiofaciocutáneo en el 67% de los casos con mutaciones en el gen *BRAF*. El síndrome de Costello y el síndrome de Noonan con múltiples lentigos se confirmaron en todos los casos.

Conclusión. La confirmación del diagnóstico clínico permitió un diagnóstico diferencial más preciso. Se determinó la prevalencia de las mutaciones en *PTPN11* (el 58%), *SOS1* (el 10%) y *RAF1* (el 5%) en niños con síndrome de Noonan, en *PTPN11* (el 100%) en el síndrome de Noonan con múltiples lentigos, en *BRAF* (el 67%) en el síndrome cardiofaciocutáneo y en *HRAS* (el 100%) en el síndrome de Costello.

Palabras clave: RASopatías, síndrome de Noonan, *PTPN11*, *RAF1*, Argentina.

GLOSARIO

EP: estenosis pulmonar.

MCH: miocardiopatía hipertrófica.

SC: síndrome de Costello.

SCFC: síndrome cardiofaciocutáneo.

SN: síndrome de Noonan.

SNML: síndrome de Noonan con múltiples lentigos.

INTRODUCCIÓN

Las RASopatías son un grupo de entidades fenotípicamente superpuestas, entre las que se encuentran los síndromes de Noonan (SN), Noonan con múltiples lentigos (SNML), Costello (SC), cardiofaciocutáneo (SCFC) y neurofibromatosis-Noonan. Están causadas por mutaciones, principalmente, de ganancia de función, en los genes implicados en la vía de señalización RAS/MAPK. Esta participa en diversas funciones biológicas, como en la regulación de la proliferación celular, la supervivencia y la diferenciación celular.¹

Estos síndromes son de herencia autosómica dominante y comparten algunas características clínicas.

El SN (OMIM 163950) es el más frecuente de este grupo, con una incidencia de entre 1:1000 y 1:2500 nacidos vivos.¹ Las principales características son baja talla, cardiopatía congénita, dismorfias craneofaciales y malformaciones torácicas.² Ocasionalmente, pueden presentar discapacidad intelectual, pérdida de audición, cuello corto, alteraciones en la coagulación y criptorquidia en los varones.³ Los niños con SN tienen

- a. Laboratorio de Biología Molecular, Servicio de Genética.
b. Servicio de Genética. Hospital de Pediatría Garrahan, Buenos Aires, Argentina.

Correspondencia:
Bioq. L. Pablo Gravina:
pablogravina97@gmail.com

Financiamiento:
Ninguno.

Conflicto de intereses:
Ninguno que declarar.

Recibido: 26-7-2018
Aceptado: 14-2-2019

<http://dx.doi.org/10.5546/aap.2019.330>

Texto completo en inglés:

<http://dx.doi.org/10.5546/aap.2019.eng.330>

Cómo citar: Chinton J, Huckstadt V, Moresco A, Gravina LP, Obregon MG. Caracterización clínica y molecular de niños con síndrome de Noonan y otras RASopatías en Argentina. *Arch Argent Pediatr* 2019;117(5):330-337.

mayor riesgo de desarrollar diferentes tipos de cáncer.⁴ Es causado por mutaciones en el gen *PTPN11* en el 50 % de los casos, seguido por mutaciones en *SOS1* (el 10-15 %), *RAF1* (el 5-15 %), *RIT1* (el 4-9 %), *KRAS* (<5 %), *NRAS* (<1 %), *BRAF* (<1 %), *SHOC2* (<1 %), *MEK1* (<1 %) y *CBL* (<1 %).⁵⁻⁹ Se encuentran mutaciones en estos genes en el 70-80 % de los pacientes con SN.¹⁰ En el 20-30 % restante, las mutaciones causales no han sido identificadas.¹¹ Las mutaciones *de novo* representan el 60 % de los casos con SN.¹²

El SNML (antes llamado *síndrome de LEOPARD*, OMIM 151100) se caracteriza clínicamente por la presencia de múltiples lentigos, anomalías electrocardiográficas, hipertelorismo ocular, estenosis pulmonar (EP), anomalías genitales, retraso del crecimiento e hipoacusia. Es causado por mutaciones en los genes *PTPN11* (el 90 %), *RAF1* (el 5 %) y *BRAF* (el 5 %).⁶

El SCFC (OMIM 115150) se caracteriza por dismorfias craneofaciales, retraso neuromadurativo, cardiopatía congénita, manifestaciones ectodérmicas y musculoesqueléticas. Es causado por mutaciones *de novo* en los genes *BRAF* (el 75 %) y *MEK1/MEK2* (el 25 %). En un porcentaje menor de casos (<1 %), se reportaron mutaciones en el gen *KRAS*.^{13,14}

El SC (OMIM 218040) es una de las RASopatías menos frecuentes. Se caracteriza por discapacidad intelectual, alto peso al nacer, dificultades en la succión en el período neonatal, papilomas peribucales y perianales, pliegues palmares y plantares profundos. Los pacientes con SC tienen un 13 % de probabilidad de desarrollar tumores.¹⁵ Es causado por mutaciones heterocigotas en el protooncogén *HRAS* en más del 80 % de los casos.¹⁶

Dada la superposición clínica de estos síndromes y su expresión variable, el estudio molecular es clave para llegar a un diagnóstico preciso. El objetivo de este estudio fue identificar mutaciones en los genes *PTPN11*, *SOS1*, *RAF1*, *BRAF* y *HRAS* en niños con RASopatías, y comparar las principales características clínicas en los pacientes con confirmación molecular.

POBLACIÓN Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de corte transversal, observacional y descriptivo, en el que se incluyeron pacientes con diagnóstico clínico de RASopatía^{2,9,17} evaluados entre agosto de 2013 y febrero de 2017 en el Servicio de Genética del

Hospital de Pediatría Garrahan. Dos genetistas clínicos registraron la presencia de dismorfias, cardiopatía congénita, anomalías esqueléticas y renales, manifestaciones ectodérmicas, criptorquidia, hipoacusia, alteraciones en la coagulación, esplenomegalia, displasia linfática, discapacidad intelectual y cáncer.

Los parámetros antropométricos se analizaron según sexo y edad, y se expresaron en desviaciones estándar (DE). Se utilizaron tablas argentinas de peso y talla como población de referencia¹⁸ y las tablas de Nellhaus para el perímetro cefálico.¹⁹

Se obtuvo un consentimiento informado por escrito aprobado por el Comité de Ética del Hospital de los pacientes y/o de los padres.

Análisis molecular

Se estudiaron muestras de ácido desoxirribonucleico (ADN) obtenidas de linfocitos de sangre periférica para detectar mutaciones mediante secuenciación por Sanger (ABI BigDye Terminator Sequencing Kit V1.1; Applied Biosystems) usando un secuenciador capilar automatizado (ABI 3130, Applied Biosystems). Se analizaron los exones 2, 3, 4, 7, 8, 12 y 13 del gen *PTPN11*, los exones 6 y 10 del gen *SOS1*, los exones 7, 14 y 17 del gen *RAF1*, los exones 6, 12 y 15 del gen *BRAF* y el exón 2 del gen *HRAS*. La secuenciación se realizó por etapas, en orden de relevancia, de acuerdo con la frecuencia de mutaciones descritas en los principales exones de cada gen.^{6,9,13,14,20} El gen *HRAS* se estudió en aquellos pacientes con sospecha clínica de SC.¹⁶

Análisis estadístico

Se realizó la prueba exacta de Fisher. Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

RESULTADOS

Se evaluaron 122 pacientes (56 mujeres y 66 varones) con diagnóstico de RASopatía. La mediana de edad al momento del diagnóstico clínico fue de 6 años (rango de 0-19 años). La mayoría de los pacientes fueron de ascendencia europea, mayormente, española e italiana.

Se detectaron mutaciones en 87 pacientes (el 71 %). En el inicio, 100 pacientes recibieron el diagnóstico clínico de SN; 16, de SCFC; 3, de SNML, y 3, de SC.

En 3 pacientes, la mutación identificada llevó a una modificación en el diagnóstico inicial. En uno de estos niños, al evaluarlo a los 2 años de

edad por dismorfias, baja talla y manifestaciones ectodérmicas, el diagnóstico inicial fue SCFC. Se reevaluó a los 16 años y no presentaba ni discapacidad intelectual ni cardiopatía y la detección de una variante nueva en el gen *RAF1* hizo que el diagnóstico cambiara a SN. En otro paciente de dos años de edad sin manifestaciones cutáneas al momento de la evaluación y con diagnóstico inicial de SN, se le detectó la mutación p.Thr468Met, en *PTPN11*, previamente asociada con el SNML, y la evaluación posterior de su padre, que presentaba múltiples lentigos al momento del examen físico, hizo que el diagnóstico cambiara a SNML. El último caso fue un paciente con diagnóstico clínico de SC, pero

la detección de una mutación en el gen *BRAF* cambió el diagnóstico a SCFC.

Además, un paciente con clínica de SCFC por manifestaciones ectodérmicas, como queratosis pilar, pelo rizado y cejas escasas, sin déficit cognitivo ni cardiopatía congénita, presentó la mutación c.806 C> T (p.Met269Thr) en *SOS1*, raramente asociada a SCFC.

En 5 pacientes con análisis molecular negativo, el seguimiento evolutivo condujo a un diagnóstico diferente al de RASopatía. La reevaluación clínica llevó a un total de 96 pacientes con diagnóstico de SN, 15 de SCFC, 4 de SNML y de 2 de SC.

El estudio molecular confirmó el diagnóstico en 71/96 pacientes con SN (el 73 %);

TABLA 1. Características clínicas de pacientes con RASopatías

	Síndrome de Noonan (N = 96)				Síndrome de Noonan con múltiples lentigos (N = 4)	Síndrome cardiofaciocutáneo (N = 15)		Síndrome de Costello (N = 2)
	<i>PTPN11</i> (n = 56)	<i>SOS1</i> (n = 10)	<i>RAF1</i> (n = 5)	Sin mutaciones detectadas (n = 25)	<i>PTPN11</i> (n = 4)	<i>BRAF</i> (n = 10)	Sin mutaciones detectadas (n = 5)	<i>HRAS</i> (n = 2)
Varón/mujer	(28 : 28)	(8 : 2)	(2 : 3)	(15 : 10)	(3 : 1)	(5 : 5)	(2 : 3)	(0 : 2)
Dismorfias craneofaciales	56 (100 %)	10 (100 %)	5 (100 %)	25 (100 %)	4 (100 %)	10 (100 %)	5 (100 %)	2 (100 %)
Cardiopatía	44 (78 %)	9 (90 %)	4 (80 %)	16 (64 %)	4 (100 %)	7 (70 %)	4 (80 %)	2 (100 %)
Estenosis valvular pulmonar (EP)	30/44 (68 %)	6/9 (67 %)	1/4 (25 %)	10/16 (63 %)	0	3/7 (42 %)	1/4 (25 %)	1 (50 %)
Miocardopatía hipertrófica (MCH)	1/44 (2 %)	-	2/4 (50 %)	2/16 (13 %)	4 (100 %)	-	2/4 (50 %)	-
EP y MCH	6/44 (14 %)	1/9 (11 %)	-	2/16 (13 %)	-	2/7 (29 %)	-	-
Otros defectos estructurales*	7/44 (16 %)	2/9 (22 %)	1/4 (25 %)	2/16 (13 %)	-	2/7 (29 %)	1/4 (25 %)	1 (50 %)
Malformaciones torácicas	43 (77 %)	9 (90 %)	3 (60 %)	19 (76 %)	3 (75 %)	9 (90 %)	4 (80 %)	2 (100 %)
Escoliosis	3 (5 %)	-	1 (20 %)	1 (4 %)	-	1 (10 %)	-	-
Cúbito valgo	20 (36 %)	4 (40 %)	1 (20 %)	9 (36 %)	2 (50 %)	2 (20 %)	3 (60 %)	-
Manifestaciones ectodérmicas (piel/pelo)	18 (32 %)	5 (50 %)	5 (100 %)	13 (52 %)	3 (75 %)	10 (100 %)	5 (100 %)	2 (100 %)
Criptorquidea (varones)	18/28 (64 %)	4/8 (50 %)	-	5 (20 %)	-	1 (10 %)	2 (40 %)	n/a
Hipoacusia neurosensorial	7 (13 %)	-	1 (20 %)	-	1 (25 %)	4 (40 %)	1 (20 %)	-
Alteraciones en la coagulación	8 (14 %)	1 (10 %)	-	4 (16 %)	-	-	-	-
Esplenomegalia	6 (11 %)	-	1 (20 %)	1 (4 %)	-	-	-	-
Displasia linfática	4 (7 %)	1 (10 %)	-	5 (20 %)	-	1 (10 %)	1 (20 %)	1 (100 %)
Cáncer	3 (5 %)	-	-	-	-	-	-	-
Talla (-2 DE)	34 (61 %)	4 (40 %)	2 (40 %)	9 (36 %)	-	7 (70 %)	3 (60 %)	2 (100 %)
Microcefalia	16 (29 %)	2 (20 %)	1 (20 %)	-	-	-	-	1 (50 %)
Macrocefalia	-	-	1 (20 %)	1 (4 %)	-	3 (30 %)	3 (60 %)	-
Retraso global del desarrollo o discapacidad intelectual	33 (59 %)	4 (40 %)	2 (40 %)	16 (64 %)	-	10 (100 %)	3 (60 %)	2 (100 %)
Alteraciones renales	5 (9 %)	1 (10 %)	-	4 (16 %)	1 (25 %)	3 (30 %)	1 (20 %)	-

*Defecto septal atrial y ventricular, válvula aórtica bicúspide, estenosis aórtica, coartación aórtica, tetralogía de Fallot.

56 presentaron mutaciones en *PTPN11* (el 58 %); 10, en *SOS1* (el 10 %), y 5, en el gen *RAF1* (el 5 %). En los 25 pacientes restantes, no se encontraron mutaciones con la metodología utilizada. Todos los pacientes con SNML presentaron mutaciones en *PTPN11*. El SCFC se confirmó en 10/15 casos con mutaciones en el gen *BRAF*. El SC se confirmó en 2 pacientes con mutaciones en *HRAS*.

Entre los pacientes con mutación detectada, 72 casos fueron esporádicos y 15 fueron familiares, y la transmisión fue materna en 11 de ellos.

Las características clínicas se resumen en la Tabla 1. Los 96 pacientes con SN presentaron dismorfias faciales; el 51 % presentó baja talla, que fue más frecuente entre los que tuvieron mutaciones en *PTPN11*. El 76 % de los pacientes presentaron cardiopatía; la EP fue la más habitual. También se detectó miocardiopatía hipertrófica (MCH), estenosis aórtica, tetralogía de Fallot, comunicación interauricular y comunicación ventricular.

Al comparar las principales características fenotípicas entre los pacientes con confirmación molecular con SN y SNML (Tabla 2), se observó, en estos últimos, una fuerte asociación con MCH, menor presencia de baja talla y retraso global del desarrollo o discapacidad intelectual ($p < 0,05$). Se observaron manifestaciones en la piel en 3/4 de los pacientes con SNML, pero no se encontraron diferencias significativas en esta característica

clínica al compararlos con los pacientes con SN (Tabla 2).

Se observó una fuerte asociación entre los pacientes con SCFC y las manifestaciones ectodérmicas e hipoacusia al compararlos con los pacientes con SN ($p < 0,05$) (Tabla 2).

No se observaron diferencias significativas en las manifestaciones ectodérmicas, baja talla y el retraso global del desarrollo o discapacidad intelectual cuando se compararon las manifestaciones clínicas entre pacientes con SN con mutaciones en los genes *PTPN11* y *SOS1*. Los pacientes con SN con mutaciones en *RAF1* presentaron mayor incidencia de MCH en comparación con los pacientes con SN con mutaciones en *PTPN11* ($p = 0,015$).

Características moleculares y distribución de las mutaciones

El mayor número de mutaciones se detectó en el gen *PTPN11* (60), seguido por los genes *SOS1* (10) y *BRAF* (10) (Tabla 3). Las mutaciones en *RAF1* y *HRAS* se detectaron en 5 y 2 pacientes, respectivamente. Todas las mutaciones detectadas han sido reportadas antes en la literatura, excepto por una variante nueva en el gen *RAF1*, c.1467G> C (p.Leu489Phe). Esta se registró en la *Leiden Open Variation Database* (LOVD).²¹

Se encontraron casos familiares en 12 pacientes con mutación en *PTPN11*, 2 en *SOS1* y 1 en *RAF1*

Tabla 2. Comparación de las principales características clínicas entre pacientes con síndrome de Noonan, síndrome cardiofaciocutáneo y síndrome de Noonan con múltiple lentigos

	SN (N = 71)	SCFC (N = 10)	p	SNML (N = 4)	p
Dismorfias craneofaciales	71 (100 %)	10 (100 %)		4 (100 %)	
Cardiopatía:	57 (80 %)	7 (70 %)	0,68	4 (100 %)	0,58
Estenosis pulmonar valvular (EP)	37/57 (65 %)	3/10 (42 %)	0,41	0	0,02
Miocardiopatía hipertrófica (MCH)	3/57 (5 %)	0/10	1	4 (100 %)	0,00006
EP y MCH	7/57 (12 %)	2/10 (29 %)	0,25	0	1
Otras*	10/57 (18 %)	2/10 (29 %)	0,61	0	0,6
Malformaciones torácicas	55 (77 %)	9 (90 %)	0,45	3 (75 %)	1
Cúbito valgo	25 (35 %)	2 (20 %)	0,48	2 (50 %)	0,62
Malformaciones ectodérmicas (piel/pelo)	28 (39 %)	10 (100 %)	0,0003	3 (75 %)	0,3
Criptorquidia (varones)	22/38 (58 %)	1/5 (20 %)	0,17	0/3	0,09
Hipoacusia neurosensorial	8 (11 %)	4 (40 %)	0,04	1 (25 %)	0,41
Alteraciones en la coagulación	9 (13 %)	0	0,36	0	1
Esplenomegalia	7 (9 %)	0	0,59	0	1
Displasia linfática	5 (7 %)	0	1	0	1
Cáncer	3 (4 %)	0	1	0	1
Talla (-2 DE)	40 (56 %)	7 (70 %)	0,51	0	0,04
Retraso global del desarrollo o discapacidad intelectual	55 (77 %)	10 (100 %)	0,2	0	0,04
Alteraciones renales	10 (14 %)	3 (30 %)	0,35	1 (25 %)	0

*Defecto septal atrial y ventricular, válvula aórtica bicúspide, estenosis aórtica, coartación aórtica, tetralogía de Fallot. SN: síndrome de Noonan; SCFC: síndrome cardiofaciocutáneo; SNML: síndrome de Noonan con múltiples lentigos.

TABLA 3. Mutaciones detectadas en pacientes con RASopatía

Gen	Exón	Cambio nucleotídico	Cambio aminoácido	Dominio	N	Diagnóstico inicial	Ocurrencia	Diagnóstico final							
PTPN11 (N = 60)	2	c.124A/G	p.Thr42Ala	Regulador	1	SN	Esporádico	SN							
		3	c.179 G/C	p.Gly60Ala	Regulador	1	SN	Familiar	SN						
	c.181 G/A		p.Asp61Asn	Regulador	3	SN	Esporádico	SN							
	c.182A/C		p.Asp61Ala	Regulador	1	SN	Esporádico	SN							
	c.184T/G		p.Tyr62Asp	Regulador	2	SN	Esporádico	SN							
	c.188A/G		p.Tyr63Cys	Regulador	1	SN	Esporádico	SN							
	c.205G/C		p.Glu69Gln	Regulador	1	SN	Esporádico	SN							
	c.214G/T		p.Ala72Ser	Regulador	1	SN	Esporádico	SN							
	c.215C/G		p.Ala72Gly	Regulador	1	SN	Esporádico	SN							
	c.218C/T		p.Thr73Ile	Regulador	1	SN	Esporádico	SN							
	c.228G/C		p.Glu76Asp	Regulador	2	SN	Esporádico	SN							
	c.236A/G		p.Gln79Arg	Regulador	1	SN	Esporádico	SN							
									2	Familiar	SN				
	4		c.417G/C	p.Glu139Asp	Región puente	3	SN	Esporádico	SN						
		2								Familiar	SN				
	7	c.836A/G	p.Tyr279Cys	Centro activo	2	SNML	Esporádico	SNML							
									c.844A/G	p.Ile282Val	Centro activo	2	SN	Esporádico	SN
	c.846C/G	p.Ile282Met	Centro activo	1	SN	Esporádico	SN								
								c.853T/C	p.Phe285Leu	Centro activo	2	SN	Esporádico	SN	
	8	c.922A/G	p.Asn308Asp	Centro activo	8	SN	Esporádico	SN							
									4	Familiar	SN				
	c.923A/G	p.Asn308Ser	Centro activo	1	SN	Esporádico	SN								
								c.1403C/T	p.Thr468Met	Centro activo	1	SN	Familiar	SNML	
	13	c.1471C/T	p.Pro491Ser	Centro activo	1	SN	Familiar	SN							
									c.1472C/A	p.Pro491His	Centro activo	1	SN	Esporádico	SN
	c.1472C/T	p.Pro491Lys	Centro activo	1	SN	Esporádico	SN								
								c.1507G/C	p.Gly503Arg	Centro activo	3	SN	Esporádico	SN	
c.1510A/G	p.Met504Val	Centro activo	7	SN	Esporádico	SN									
							1	Familiar	SN						
c.1529A/C	p.Gln510Pro	Centro activo	1	SNML	Esporádico	SNML									
							c.1530G/C	p.Gln510His	Centro activo	1	SN	Esporádico	SN		
SOS (N = 10)	6	c.797C/A	p.Thr266Lys	DH	2	SN	Esporádico	SN							
									c.806C/T	p.Met269Thr	DH	1	SCFC	Esporádico	SCFC/SN
	10	c.1300G/A	p.Gly434Arg	PH	1	SN	Familiar	SN							
									c.1322G/A	p.Cys441Tyr	PH	1	SN	Esporádico	SN
	c.1642A/C	p.Ser548Arg	unión PH-REM	1	SN	Esporádico	SN								
								c.1649T/C	p.Leu550Pro	unión PH-REM	1	SN	Esporádico	SN	
	c.1654A/G	p.Arg552Gly	unión PH-REM	2	SN	Esporádico	SN								
								c.1656G/C	p.Arg552Ser	unión PH-REM	1	SN	Familiar	SN	
RAF1 (N = 5)	7	c.770C/T	p.Ser257Leu	CR2	1	SN	Esporádico	SN							
									c.788T/G	p.Val263Gly	CR2	1	SN	Esporádico	SN
	14	c.1423T/C	p.Phe475Leu	Activación	1	SN	Esporádico	SN							
									c.1467G/C	p.Leu489Phe*	Activación	1	SCFC	Familiar	SN
	17	c.1837C/G	p.Leu613Val	Activación	1	SN	Esporádico	SN							
BRAF (N = 10)	6	c.735A/C	p.Leu245Phe	CR1	1	SCFC	Esporádico	SCFC							
									c.736G/C	p.Ala246Pro	CR1	2	SCFC	Esporádico	SCFC
									c.770A/G	p.Gln257Arg	CR1	5	SCFC/SC	Esporádico	SCFC
	12	c.1495A/G	p.Lys499Glu	Activación	1	SCFC	Esporádico	SCFC							
	15	c.1787G/T	p.Gly596Val	Activación	1	SCFC	Esporádico	SCFC							
HRAS (N = 2)	2	c.34G>A	p.Gly12Ser	Centro activo	1	SC	Esporádico	SC							
									c.35G>C	p.Gly12Ala	Centro activo	1	SC	Esporádico	SC

Mutación nueva.

SN: síndrome de Noonan; SCFC: síndrome cardiofaciocutáneo; SNML: síndrome de Noonan con múltiples lentigos; SC: síndrome de Costello; DH: Dbl homology domain; PH: pleckstrin homology domain; REM: RAS exchanger motif domain; CR: región conservada.

(Tabla 3). El 75 % de las mutaciones detectadas en el gen *PTPN11* se encontraron en los exones 3, 8 y 13.

Con el fin de predecir el efecto funcional de la variante nueva detectada en *RAF1*, c.1467G> C, se realizaron análisis *in silico*. La variante fue analizada con diferentes herramientas bioinformáticas que examinaban los efectos funcionales de variantes de un solo nucleótido en humanos (Mutation Taster, PolyPhen2 y SIFT), la cual resultó, probablemente deletérea (puntaje: 0,997) por Polyphen, patogénica por Mutation Taster y deletérea (puntaje: -3,605) por SIFT. Esta variante fue detectada anteriormente en la piel de un paciente con melanoma maligno (COSM5398071) y está descrita en la base de datos COSMIC (catálogo de mutaciones somáticas en cáncer).

DISCUSIÓN

En este estudio, se identificaron mutaciones en el 71 % de los pacientes con SN y otras RASopatías. La mutación más prevalente en nuestra cohorte fue p.Asn308Asp en el gen *PTPN11*. Esta es también una de las mutaciones más prevalentes en la población europea,^{20,22} pero no ha sido reportada en las poblaciones chilena ni brasileña.^{23,24} Esto podría deberse a la ascendencia de los pacientes argentinos. El origen étnico de nuestra población es la consecuencia de la mezcla de genes nativos con genes que proceden, predominantemente, de países mediterráneos europeos, sobre todo, Italia y España, y, en menor medida, de Europa Central y del Este, y del Medio Oriente.²⁵

Con respecto al SN, el estudio molecular confirmó el diagnóstico clínico en el 73 % de los casos, en concordancia con la literatura.²⁶ En esta cohorte, solo el 15 % de los casos fueron familiares, menor que lo publicado por Tartaglia et al., quienes reportaron que el 30-75 % de los casos de SN eran familiares.²⁷ Esta observación podría deberse a que no todos los padres estuvieron disponibles para la evaluación clínica y el análisis genético.

Los pacientes con SN y mutaciones en *PTPN11* o *SOS1* se caracterizan por una alta incidencia de EP y una menor prevalencia de MCH.⁵ En nuestro estudio, se encontraron resultados similares; el 68 % de los pacientes con mutaciones en *PTPN11* presentaron EP, y el 2 %, MCH. Entre los pacientes con mutaciones en *SOS1*, el 90 % presentó cardiopatía, y la EP fue la más prevalente.

Las mutaciones en *SOS1* están asociadas con un fenotipo que se encuentra dentro del espectro clínico del SN, pero se caracteriza por una alta prevalencia de características ectodérmicas, baja incidencia de déficit cognitivo y de baja talla.¹⁴ En nuestra cohorte, las manifestaciones ectodérmicas estuvieron presentes en el 50 % de los pacientes con SN con mutaciones en *SOS1*; la mayoría de estos pacientes presentaban cejas escasas. La baja talla y la discapacidad intelectual se observó en el 40 % de los pacientes. Es probable que esto no haya estado en concordancia con la bibliografía,¹⁴ debido al relativamente pequeño número de pacientes con mutaciones en *SOS1* y a la temprana edad en que fueron evaluados nuestros pacientes.

Las mutaciones en *RAF1* se han asociado con MCH, arritmia y discapacidad intelectual.⁶ Algunas publicaciones previas proponen que alrededor del 85 % de los pacientes con mutaciones en *RAF1* son propensos a desarrollar MCH.²⁸ Por ello por lo que es muy importante realizar un seguimiento cardiológico intensivo en estos pacientes. En este gen, se detectó una variante no descrita previamente, c.1467 G> C (p.Leu489Phe), en la que tanto los análisis *in silico* como las características clínicas del paciente y su madre permiten asociarla al síndrome.

Según se describe en la literatura, los pacientes con RASopatías se caracterizan por presentar riesgo aumentado de desarrollar tumores. En nuestra cohorte, también se observó esta característica y se encontraron tres pacientes con diagnóstico de SN y mutaciones en *PTPN11* que desarrollaron leucemia linfoblástica aguda y ganglioneuroma paravertebral.

En el SNML, unas de las principales características clínicas son las manifestaciones cutáneas que, en algunas oportunidades, no aparecen sino hasta después de la pubertad. En nuestra cohorte, un solo paciente no presentó manifestaciones cutáneas, pero tenía dos años al momento de la evaluación.

Entre los pacientes con diagnóstico clínico de SCFC, el análisis molecular confirmó el diagnóstico en el 67 % de los casos, en concordancia con publicaciones anteriores.¹³ Dichos pacientes presentaron alta frecuencia de discapacidad intelectual y manifestaciones ectodérmicas. Estas dos características también prevalecieron entre los pacientes de nuestra cohorte. En este estudio, se encontró una alta incidencia de hipoacusia (el 40 %), la cual, a pesar de no ser un rasgo distintivo en el SCFC, ya había sido reportada por Carcavilla et al.²⁹

Como se mencionó en los resultados, en uno de nuestros pacientes con diagnóstico de SCFC, se identificó una mutación en el gen *SOS1*, c.806 C> T (p.Met269Thr). Si bien este gen no estaba asociado al SCFC, Tartaglia et al.³⁰ reportaron a pacientes con fenotipo de SCFC con mutaciones en *SOS1* y propusieron que las características clínicas del SN y del SCFC se superponían. Nuestro caso apoyó las observaciones realizadas por estos autores.

Mediante la secuenciación por Sanger, técnica utilizada en este estudio y disponible en nuestro Hospital, no se detectaron mutaciones en el 29 % de los casos. Si bien esta metodología es sensible y específica, resultaba laboriosa, lenta y costosa en el estudio de síndromes genéticamente heterogéneos. En consecuencia, un panel de secuenciación de próxima generación (*next generation sequencing*; NGS, por sus siglas en inglés) enfocado en un conjunto de genes asociados con RASopatías es una alternativa más adecuada y rentable para el diagnóstico de estos síndromes.

En conclusión, en este estudio, se determinó la prevalencia de las mutaciones en los genes *PTPN11* (el 58 %), *SOS1* (el 10 %) y *RAF1* (el 5 %), en niños argentinos con SN, en *PTPN11* (el 100 %) en el SNML, en *BRAF* (el 67 %) en el SCFC y en *HRAS* (el 100 %) en el SC. Dado que hay una superposición importante en las características clínicas de estos síndromes, especialmente, durante la infancia, el estudio molecular se transforma en una herramienta fundamental para su confirmación diagnóstica. Además, permite un asesoramiento más preciso sobre el pronóstico, el control adecuado de algunas complicaciones particulares, como cardiológicas, hematológicas y oncológicas, el riesgo de recurrencia y el estudio de otros familiares en riesgo. ■

Agradecimientos

Se hace extensivo un especial agradecimiento a los pacientes y a sus familiares que han participado en este estudio, a los médicos de otras instituciones quienes derivan pacientes a nuestra Institución y a todos los profesionales y técnicos del Hospital Garrahan.

REFERENCIAS

- Tartaglia M1, Kalidas K, Shaw A, Song X, et al. *PTPN11* mutations in Noonan syndrome: molecular spectrum, genotype-phenotype correlation, and phenotypic heterogeneity. *Am J Hum Genet.* 2002; 70(6):1555-63.
- Van der Burgt I, Berends E, Lommen E, Van Beersum S, et al. Clinical and molecular studies in a large Dutch family with Noonan Syndrome. *Am J Med Genet.* 1994; 53(5):187-91.
- Kosaki K, Suzuki T, Muroya K, Hasegawa T, et al. *PTPN11* (protein-tyrosine phosphatase, nonreceptor-type 11) mutations in seven Japanese patients with Noonan syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87(8):3529-33.
- Villani A, Greer MC, Kalish JM, Nakagawara A, et al. Recommendations for Cancer Surveillance in Individuals with RASopathies and Other Rare Genetic Conditions with Increased Cancer Risk. *Clin Cancer Res.* 2017; 23(12):e83-90.
- Tartaglia M, Mehler EL, Goldberg R, Zampino G, et al. Mutations in *PTPN11*, encoding the protein tyrosine phosphatase SHP-2, cause Noonan syndrome. *Nat Genet.* 2001; 29(4):465-8.
- Pandit B, Sarkozy A, Pennacchio LA, Carta C, et al. Gain-of-function *RAF1* mutations cause Noonan and LEOPARD syndromes with hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Genet.* 2007; 39(8):1007-12.
- Roberts AE, Araki T, Swanson KD, Montgomery KT, et al. Germline gain-of function mutations in *SOS1* cause Noonan syndrome. *Nat Genet.* 2007; 39(1):70-4.
- Allanson JE. The clinical phenotype of Noonan syndrome. In: Zenker M (ed.). *Noonan Syndrome and Related Disorders.* Monogr Hum Genet. Basel: Karger, 2009; 17:9-19.
- Sarkozy A, Digilio MC, Zampino G, Dallapiccola B, et al. Leopard syndrome: clinical aspects and molecular pathogenesis. In: Zenker M (ed.). *Noonan Syndrome and Related Disorders - A Matter of Dereglated Ras Signaling.* Monogr Hum Genet. Basel: Karger, 2009; 17:55-65.
- Hernández-Porras I, Guerra C. Modeling RASopathies with Genetically Modified Mouse Models. *Methods Mol Biol.* 2017; 1487:379-408.
- Aoki Y, Niihori T, Inoue S, Matsubara Y. Recent advances in RASopathies. *J Hum Genet.* 2016; 61(1):33-9.
- Shaw AC, Kalidas K, Crosby AH, Jeffery S, et al. The natural history of Noonan syndrome a long term-follow up study. *Arch Dis Child.* 2007; 92(2):128-32.
- Sarkozy A, Carta C, Moretti S, Zampino G, et al. Germline *BRAF* mutations in Noonan, LEOPARD, and cardiofaciocutaneous syndromes: molecular diversity and associated phenotypic spectrum. *Hum Mutat.* 2009; 30(4):695-702.
- Lepri F, De Luca A, Stella L, Rossi C, et al. *SOS1* mutations in Noonan syndrome: molecular spectrum, structural insights on pathogenic effects, and genotype-phenotype correlations. *Hum Mutat.* 2011; 32(7):760-72.
- Niihori T, Aoki Y, Okamoto N, Kurosawa K, et al. *HRAS* mutants identified in Costello syndrome patients can induce cellular senescence: possible implications for the pathogenesis of Costello syndrome. *J Hum Genet.* 2011; 56(10):707-15.
- Aoki Y, Niihori T, Kawame H, Kurosawa K, et al. Germline mutations in *HRAS* proto-oncogene cause Costello syndrome. *Nat Genet.* 2005; 37(10):1038-40.
- Roberts A, Allanson J, Jadico SK, Kavamura MI, et al. The cardiofaciocutaneous syndrome. *J Med Genet.* 2006; 43(11):833-42.
- Lejarraga H, Del Pino M, Fano V, et al. Referencias de peso y estatura desde el nacimiento hasta la madurez para niñas y niños argentinos. Incorporación de datos de la OMS de 0 a 2 años, recálculo de percentilos para la obtención de valores LMS. *Arch Argent Pediatr.* 2009; 107(2):126-33.
- Nelhaus G. Head circumference from birth to eighteen years: practical composite international and interracial graphs. *Pediatrics.* 1968; 41(1):106-14.
- Carcavilla A, Santomé JL, Galbis L, Ezquieta B. Síndrome de Noonan. *Rev Esp Endocrinol Pediatr.* 2013; 4(Suppl):71-85.
- LOVD. Leiden Open Variation Database. Leiden (Netherlands): Leiden University Medical Center; 2004. [Consulta: 15 de febrero de 2019]. Disponible en: www.

- lovd.nl/3.0/home.
22. Čizmarová M, Hlinková K, Bertok S, Krotnik P, et al. New Mutations Associated with Rasopathies in a Central European Population and Genotype-Phenotype Correlations. *Ann Hum Genet.* 2016; 80(1):50-62.
 23. Rodríguez FA, Unanue N, Hernández MI, Heath KE, et al. Molecular characterization of Chilean patients with a clinical diagnosis of Noonan syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2014; 27(3-4):305-9.
 24. Bertola DR, Pereira AC, Albano LM, De Oliveira PS, et al. *PTPN11* gene analysis in 74 Brazilian patients with Noonan syndrome or Noonan-like phenotype. *Genet Test.* 2006; 10(3):186-91.
 25. Maccio GA, Elizalde D. La población no nativa de la Argentina. Buenos Aires: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos; 1996.
 26. Tafazolli A, Eshraghi P, Pantaleoni F, Vakili R, et al. Novel mutations and their genotype-phenotype correlations in patients with Noonan syndrome, using next generation sequencing. *Adv Med Sci.* 2018; 63(1):87-93.
 27. Tartaglia M, Cordeddu V, Chang H, Shaw A, et al. Paternal germline origin and sex-ratio distortion in transmission of *PTPN11* mutations in Noonan syndrome. *Am J Hum Genet.* 2004; 75(3):492-7.
 28. Gelb BD, Roberts AE, Tartaglia M. Cardiomyopathies in Noonan syndrome and the other RASopathies. *Prog Pediatr Cardiol.* 2015; 39(1):13-9.
 29. Carcavilla A, García-Miñaur S, Pérez-Aytés A, Vendrell T, et al. Síndrome cardiorfaciocutáneo, un trastorno relacionado con el síndrome de Noonan: hallazgos clínicos y moleculares en 11 pacientes. *Med Clin (Barc).* 2015; 144(2):67-72.
 30. Tartaglia M, Pennacchio LA, Zhao C, Yadav KK, et al. Gain-of-function *SOS1* mutations cause a distinctive form of Noonan syndrome. *Nat Genet.* 2007; 39(1):75-9.

Archivos hace 75 años

ACTUALIDADES

Facultad de Ciencias Médicas de Buenos Aires. Instituto de Pediatría y Puericultura
Profesor: Dr. Juan P. Garrahan

**LOS GLUCIDOS EN LA ALIMENTACION ARTIFICIAL
DEL LACTANTE**

POR EL
Dr. JOSE M. ALBORES

El niño de los primeros meses, necesita para su crecimiento y desarrollo, un alimento que desde el punto de vista *cuantitativo* cubra con su valor energético, expresado por lo general en calorías, las necesidades siguientes por kilo de peso:

<i>Meyer y Nassau (48):</i>	<i>Glanzmann (29):</i>
Metabolismo basal ... 45 cal.	Metabolismo basal ... 50 cal.
Crecimiento ... 50 "	Actividad muscular ... 25 "
Trabajo muscular ... 10 "	Impulso de crecimiento ... 15 "
Pérdida con las excreciones ... 10 "	Actividad digestiva ... 5 "
Calorías perdidas ... 5 "	Calorías perdidas ... 5 "
Total ... 115 "	Total ... 100 "

Dicho alimento debe proporcionar, desde el punto de vista *cuantitativo*, ciertos y determinados materiales que emplea el organismo para la construcción de sus propias células y que no es capaz de fabricar a partir de otras sustancias, algunos aminoácidos como la lisina, triptófano, etc., y determinados minerales, así como reguladores o excitantes más o menos específicos y siempre necesarios —vitaminas, hormonas y fermentos—⁽²⁸⁾. Debe recibir asimismo una cantidad de agua que se calcula entre 150 c.c. y 200 c.c. por kilo de peso.

La leche de mujer, cuando la madre en un ambiente adecuado se alimenta en forma variada y completa, reúne el óptimo de condiciones.

Seguimos pensando como Schlossmann⁽²⁹⁾, que el médico debe convertirse en un fanático consciente de la crianza del niño al pecho, pues a pesar de los adelantos que en materia de alimentación artificial del lactante se han venido efectuando en los últimos sesenta años (1947) (se ha escrito sobre la superioridad de la alimentación artificial con respecto a la natural), la obtención de un alimento que la sustituya es todavía hoy un ideal inalcanzable.

El texto completo se encuentra disponible en la versión electrónica de este número.