

## Estudio clínico y molecular del síndrome de Noonan.

Francisco Cammarata-Scalisi<sup>1</sup>, Giovanni Neri<sup>2</sup>, Maria Grazia Pomponi<sup>2</sup>,  
Giorgia Mancano<sup>2</sup>, Gloria Da Silva<sup>1</sup>, Andrea Avendaño<sup>1</sup>, María Angelina Lacruz-Rengel<sup>3</sup>,  
Frances Stock<sup>4</sup> y Angel Sosa<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Unidad de Genética Médica, Departamento de Puericultura y Pediatría, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

<sup>2</sup>Istituto e Servizio di Genetica Medica, Università Cattolica del S. Cuore, Policlinico "A. Gemelli". Roma, Italia.

<sup>3</sup>Servicio de Neuropediatría, Departamento de Puericultura y Pediatría, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

<sup>4</sup>Unidad de Oncología Pediátrica, Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes. Mérida, Venezuela.

<sup>5</sup>Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

**Palabras clave:** síndrome de Noonan, *PTPN11*, G503R.

**Resumen.** El síndrome de Noonan es una entidad autosómica dominante relativamente común, clínicamente variable y genéticamente heterogénea, caracterizado por reducción del crecimiento postnatal, dismorfismo facial distintivo, alteraciones cardíacas y déficit cognitivo variable. El gen *PTPN11* se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 12 y es el principal responsable de los casos clínicamente diagnosticados de esta entidad. Se reporta el caso de un lactante mayor masculino, de 18 meses de edad, evaluado de forma multidisciplinaria con diagnóstico clínico y molecular de síndrome de Noonan, con la mutación en sentido errado del gen *PTPN11*, G503R (c.1507 G>A). Se discutieron los diversos hallazgos clínicos y las alteraciones genéticas asociadas con esta mutación.

## Clinical and molecular study of the Noonan syndrome.

*Invest Clin* 2012; 53(4): 395 - 401

**Keywords:** Noonan syndrome, *PTPN11*, G503R.

**Abstract.** Noonan syndrome is a relatively common autosomal dominant entity, clinically variable and genetically heterogeneous; characterized by postnatally reduced growth, distinctive facial dysmorphism, cardiac defects and variable cognitive deficits. The *PTPN11* gene is located on the long arm of chromosome 12 and is primarily responsible for the clinically diagnosed cases of this entity. We report the case of a 18 month-old boy, evaluated in a multidisciplinary way, with clinic and molecular diagnosis of Noonan syndrome, with the missense mutation in *PTPN11* gene, G503R (c.1507 G>A). Several clinical features and the genetic alterations associated with this mutation are discussed.

Recibido: 08-02-2012 Aceptado: 27-09-2012

### INTRODUCCIÓN

El síndrome de Noonan (SN, OMIM 163950) es una entidad clínica común con patrón de herencia autosómico dominante, caracterizado por hallazgos faciales distintivos (1, 2), déficit cognitivo variable, reducción del crecimiento postnatal, cardiopatía congénita (2, 3), cardiomiopatía hipertrófica (3), anomalías esqueléticas y ectodérmicas (2, 3), criptorquidia y tendencia al sangrado (2). Es genéticamente heterogéneo, con reportes de mutaciones heterocigóticas en por lo menos nueve genes (*PTPN11*, *SOS1*, *KRAS*, *NRAS*, *RAF1*, *BRAF*, *SHOC2*, *MEK1* y *CBL*) descritos en esta alteración o fenotipos clínicos relacionados. En base a estos recientes descubrimientos, el diagnóstico puede ser confirmado mediante estudios moleculares en aproximadamente 75% de los casos (1).

El gen *PTPN11* (OMIM 176876) está constituido por 15 exones y se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 12, (12q24.1). Codifica a SHP-2, una proteína citoplasmática tirosina fosfatasa no-receptora (4), componente crítico de la señal

de traducción de diversos factores de crecimiento, hormonas y vías de señalización de citoquinas de control que intervienen en el proceso de desarrollo y hematopoyesis, así como de balance de energía y metabolismo (5). En el siguiente informe se presenta un caso de un lactante mayor masculino, evaluado de forma multidisciplinaria, con diagnóstico clínico y molecular con mutación en el gen *PTPN11* de SN.

### CASO CLÍNICO

Lactante mayor masculino, de 18 meses de edad, natural y procedente de Mérida, Venezuela, quien fue referido por el Servicio de Cardiología Pediátrica del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes, para su evaluación en la Unidad de Genética Médica de la Universidad de Los Andes, por presentar cardiopatía congénita cianógena, estenosis pulmonar severa y dismorfia facial.

#### Antecedentes familiares

Padre 33 años y madre 22 años de edad, sanos y no consanguíneos. No se pre-

senta clínica similar al propósito, en ambas familias de los progenitores.

#### Antecedentes perinatales

El niño fue producto de primer embarazo, simple, de madre de 20 años de edad. El embarazo controlado, complicado por placenta previa, amenaza de parto al séptimo mes de gestación e infección de vías urinarias. El producto a término, obtenido por cesárea segmentaria a causa de presentación transversa. El peso al nacer fue 3300 g y la talla 52 cm. Respiró espontáneamente, con prueba de Apgar de 7 y 9 puntos, al primer y quinto minuto respectivamente. Presentó cianosis y taquipnea transitoria del recién nacido.

#### Antecedentes personales

Se evidenció erupción dental primaria precoz al tercer mes, reflujo gastroesofágico en el primer año de vida y discreto retardo en el lenguaje.

Es llevado a los 14 meses de edad, a la sala de hemodinamia, el cual se evidenció

válvula pulmonar displásica, y se realizó dilatación con balón en dos oportunidades. Se apreció disminución del gradiente en 10 mmHg aproximadamente, no presentó complicaciones y cursó con evolución clínica satisfactoria, por lo que se decidió el alta médica con control ambulatorio.

#### Examen físico

Parámetros somatométricos con los correspondientes percentiles a la edad de ingreso en la Unidad de Genética Médica de la Universidad de Los Andes, peso: 10 kg ( $P_{10}$ ), talla: 80 cm ( $P_{10-50}$ ) y perímetro cefálico: 46 cm ( $P_{25}$ ). Normocéfalo, dismorfias craneofaciales caracterizadas por frente amplia y prominente, cabello enroscado, hipertelorismo ocular, exoftalmo leve; raíz nasal ancha y deprimida con punta bulbosa, *filtrum* corto, labio superior fino e inferior grueso; pabellones auriculares rotados posteriormente, hélix plegado (Fig. 1). Tórax ancho y pezones separados. A nivel cardiopulmonar se auscultó murmullo ventilatorio audible rudo sin agregados y soplo me-



Fig. 1. A la izquierda región frontal amplia, cabello enroscado, hipertelorismo ocular, raíz nasal ancha, punta bulbosa, *filtrum* corto, labio superior fino e inferior grueso. A la derecha pabellones auriculares rotados posteriormente, hélix plegado.

sosistólico en foco pulmonar grado II/VI. Abdomen sin visceromegalias, ni defectos de pared. Genitales de configuración normal. Extremidades con hiperlaxitud articular en pequeñas articulaciones de manos. Las funciones neurológicas se encontraron conservadas.

### Estudios realizados

La ecocardiografía transtorácica realizada a los 7 meses de edad evidenció estenosis pulmonar severa.

La ecocardiografía de control realizada a los 24 meses de edad informó postoperatorio de valvuloplastia pulmonar con gradiente de 42 mmHg y estenosis pulmonar moderada.

Los potenciales evocados auditivos realizados a los 20 meses de edad, con estímulos en la frecuencia de audición, se encontraron dentro los parámetros normales en ambos oídos.

El electroencefalograma realizado a los 3 años y un mes de edad reportó anormalidad caracterizada por actividad paroxística focal dada por puntos en regiones fronto-bilateral, bisincrónica y simétrica de aparición aislada y escasa.

El estudio de hematología completa, la hemoglobina 12,11 g/dL (rango normal 13,0-17,0 g/dL) y el hematocrito 37% (rango normal 40-54 %). Los leucocitos 6300  $\mu$ L (rango normal 4000-10000  $\mu$ L), neutrófilos 2050  $\mu$ L (rango normal 2000-7500  $\mu$ L), linfocitos 3130  $\mu$ L (rango normal 1000-4000  $\mu$ L), monocitos 830  $\mu$ L (rango normal 200-1000  $\mu$ L), eosinófilos 220  $\mu$ L (rango normal 0-500  $\mu$ L) y basófilos 30  $\mu$ L (rango normal 0-200  $\mu$ L). Las plaquetas 212000  $\mu$ L (rango normal 150000-450000  $\mu$ L).

El tiempo de protrombina 16 seg (control 12,5  $\pm$  2 seg) y el tiempo parcial tromboplastina 36 seg (control 30  $\pm$  2 seg).

La química sanguínea, la glicemia 81 mg/dL (rango normal 60-110 mg/dL) y la

creatinina 0,3 mg/dL (rango normal 0,4-1,4 mg/dL).

El perfil tiroideo, la TSH 1,26 uIU/mL (rango normal 0,4-4,10 uIU/mL) y la T4 libre 1,12 ng/dL (rango normal 0,7-2,0 ng/dL).

EL estudio de análisis molecular de ADN genómico aislado en linfocitos de sangre periférica, reportó mutación en sentido errado del gen *PTPN11*, G503R (c.1507 G>A), sustitución de un aminoácido de glicina por una arginina en posición 503 de la proteína, debido a una mutación de una base nitrogenada guanina por una adenina en posición 1507 del gen. Este estudio se realizó en el *Istituto e Servizio di Genetica Medica. Università Cattolica del S. Cuore, Policlinico "A. Gemelli"*, en la ciudad de Roma, Italia, analizando para este caso sólo el gen *PTPN11*.

La metodología usada en la realización del estudio molecular, comprendió todas las regiones traducidas e intrones del gen *PTPN11* que fueron amplificadas por la técnica de PCR. Esta reacción fue llevada a cabo con 100 ng de ADN genómico en una reacción de 25  $\mu$ L de volumen final conteniendo 1x mezcla master (Promega)/ mezcla Accuzyme (Bioline), 0,4 pmol de cada cebador. Las reacciones fueron llevadas a cabo en GeneAmp PCR Systems 9700 (Applied Biosystems), el esquema de amplificación empleado fue: 1 min a 95°C, 1 min a 54-58°C y 1 min a 72°C por 35 ciclos. Inicialmente la mutación fue analizada por DHPLC (Wave MD System, Transgenomic) y el análisis de los datos fue realizado con el programa Navigator 1.5.4 (Transgenomics). Posteriormente las reacciones de secuenciación fueron realizadas en ambas direcciones empleando el ABI BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit v 3.1, en una dilución 1:5 de la mezcla terminator y se analizó con ABI3500 Genetic Analyzer.

### Evolución del paciente

Actualmente acude a terapias en el Centro de Desarrollo Infantil y a valoraciones periódicas en el Servicio de Cardiología Infantil, Neuropediatría y en la Unidad de Genética Médica de la Universidad de Los Andes.

### DISCUSIÓN

En 1968, la pediatra cardiólogo, Jacqueline Noonan, describió a nueve pacientes con estenosis pulmonar y dismorfia facial distintiva caracterizada por hipertelorismo, ptosis palpebral, pabellones auriculares de implantación baja, cuello en esfíngel, deformidades en el tórax y criptorquidia, de allí surgió el epónimo del síndrome (2, 6). En la infancia el rostro es con frecuencia toscoso, con ojos prominentes y ptosis palpebral uni o bilateral, los labios son gruesos y los pliegues nasolabiales igualmente prominentes. El contorno de la cara se hace más triangular con la edad. En la adolescencia y en adultos jóvenes los ojos son menos prominentes y el cuello impresiona menos corto y en ocasiones, se aprecia una marcada banda o trapecio prominente. Los adultos mayores presentan pliegue nasolabial prominente, el cabello de implantación alta anterior, los párpados son gruesos, caídos y la piel es arrugada; los rasgos faciales pueden ser sutiles en edades posteriores (7). Además de la estenosis pulmonar, los hallazgos faciales descritos en el examen físico fueron necesarios para establecer el diagnóstico clínico inicial, entre ellos y presentes en el paciente se destacaron, la región frontal amplia, el hipertelorismo, las hendiduras palpebrales descendentes y el cabello de implantación posterior baja, entre otros.

La incidencia reportada para el SN es 1 en 1000-2500 nacidos vivos (2, 7, 8). Presenta un patrón de herencia autosómica dominante (2), con predominio de transmisión materna (7, 9). Un significativo, pero no

precisado porcentaje de casos, se deben a mutaciones nuevas o esporádicas (2), con predominante origen paterno (10). Sin embargo, van der Burgt y Brunner (9), reportaron cuatro pacientes con fenotipo típico de SN y cardiomiopatía obstructiva hipertrofica, productos de padres no afectados y consanguíneos, lo que orientó a un patrón de herencia autosómico recesivo. El SN es una entidad genéticamente heterogénea y actualmente es considerado una alteración sobrerreguladora de la señalización RAS-MAPK, la cual es activada en respuesta a citoquinas con factor de estimulación y hormona de crecimiento, esta vía de señalización es la principal mediadora en el proceso de desarrollo temprano y tardío que incluye: la determinación de la morfología, la organogénesis, los procesos de plasticidad sináptica, el crecimiento y la oncogénesis (2, 11).

Las mutaciones en el gen *PTPN11*, fueron descritas por primera vez en el SN, en el 2001, por Tartaglia y col (12). Es responsable desde 29% (13), hasta 60% (14), de los casos clínicamente diagnosticados. Codifica a la ya comentada proteína SHP-2, constituida por 593 aminoácidos, que se encuentra presente en todos los tejidos, tanto embrionario como en el adulto e interviene en diversas vías de señalización intracelular traduccionales (4), incluyendo la ya mencionada RAS-MAPK. La proteína SHP-2 presenta dos rearrreglos en tándem de dominios SH2 (N-SH2 y C-SH2) en N-terminal, un único dominio catalítico PTP y una cola C-terminal que contiene dos sitios de fosforilación tirosilo y una porción rica en prolina, cuya función no es bien conocida (2). La mutación G503R (c.1507 G>A) reportada en el paciente presentado en este informe se encuentra en el exón 13 del gen *PTPN11* que codifica al dominio PTP de la proteína SHP-2 y estuvo presente en dos casos de los reportados por Tartaglia y col (5), como una mutación ya previamente reportada.

Las mutaciones del gen *PTPN11* han sido clasificadas en seis principales grupos. La presente en el paciente estudiado pertenece al grupo III, el cual junto a las del grupo II, incluyen cambios que afectan la exposición de la superficie de los residuos PTP, alterando a la proteína SHP-2, entre su conformación catalíticamente inactiva y activa y/o su actividad catalítica/especificidad de sustrato. La mutación G503R (c.1507 G>A) ha sido encontrada en pacientes con malignidad hematológica y evidencia que las mutaciones fueron eventos somáticos adquiridos en los clones leucémicos, ya que el análisis del ADN de muestras de la médula ósea durante la remisión de la enfermedad demostró ausencia del alelo mutado en todos los casos. Sin embargo, los estudios previos citan a la mutación estudiada en este informe como una excepción, ya que ha mostrado una clara predominancia de origen germinal (5).

Además del gen *PTPN11* y los ya mencionados anteriormente como posibles causantes del SN, recientemente se han mencionado otros genes candidatos *SPRY1-4* y *SPRED1*. Estos con el objeto de identificar las correlaciones genotipo-fenotipo, en el proceso de diagnóstico diferencial y entender mejor la etiología de la entidad (15). Los pacientes con mutaciones del gen *PTPN11* presentan con más frecuencia estenosis pulmonar, presenta correlación positiva con la talla baja, deformidades en el tórax y la deficiencia del factor VIII y correlación negativa con la cardiomiopatía hipertrofica y la deficiencia del factor XI. Finalmente, solo con el fenotipo facial es insuficiente predecir el genotipo, ya que las características faciales en el SN no apuntan a un genotipo específico (16).

Se presentó un paciente con hallazgos clínicos y moleculares para el SN, con mutación en sentido errado del gen *PTPN11*, G503R (c.1507 G>A). El *PTPN11* constituye el principal gen causante de la entidad.

La presencia del tipo de cardiopatía congénita y deformidades en el tórax presentes en el paciente reportado en este informe se han asociado con la mutación de dicho gen. Conocer esta entidad clínica y el tipo de alteración genética es de relevancia para el seguimiento del fenotipo, el progreso ponderoestatural, la vigilancia del perfil hematológico, así como impartir un oportuno consejo genético familiar.

### AGRADECIMIENTOS

A la Licenciada Rosalia Gumina F. Directora de la Biblioteca del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes-Universidad de Los Andes.

### REFERENCIAS

1. Romano AA, Allanson JE, Dahlgren J, Gelb BD, Hall B, Pierpont ME, Roberts AE, Robinson W, Takemoto CM, Noonan JA. Noonan syndrome: clinical features, diagnosis, and management guidelines. *Pediatrics* 2010; 126:746-759.
2. Tartaglia M, Zampino G, Gelb BD. Noonan syndrome: clinical aspects and molecular pathogenesis. *Mol Syndromol* 2010; 1:2-26.
3. Tartaglia M, Gelb BD, Zenker M. Noonan syndrome and clinically related disorders. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011; 25:161-179.
4. González NC, González LM, Rivera MR, Mendoza E, Márquez L, Cuevas SA. Análisis molecular del gen *PTPN11* en el síndrome de Noonan. *Rev Med Hosp Gen Mex* 2008; 71:141-145.
5. Tartaglia M, Martinelli S, Stella L, Bocchinfuso G, Flex E, Cordeddu V, Zampino G, Burgt I, Palleschi A, Petrucci TC, Sorcini M, Schoch C, Foa R, Emanuel PD, Gelb BD. Diversity and functional consequences of germline and somatic *PTPN11* mutations in human disease. *Am J Hum Genet* 2006, 78:279-290.
6. Noonan JA. Hypertelorism with Turner phenotype. A new syndrome with associ-

- ated congenital heart disease. *Am J Dis Child* 1968; 116:373-380.
7. **Van der Burgt I.** Noonan syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2007; 2:4.
  8. **Briggs BJ, Dickerman JD.** Bleeding disorders in Noonan syndrome. *Pediatr Blood Cancer* 2012; 58:167-172.
  9. **Van der Burgt I, Brunner H.** Genetic heterogeneity in Noonan syndrome: evidence for an autosomal recessive form. *Am J Med Genet* 2000; 94:46-51.
  10. **Tartaglia M, Cordeddu V, Chang H, Shaw A, Kalidas K, Crosby A, Patton MA, Sorcini M, van der Burgt I, Jeffery S, Gelb BD.** Paternal germline origin and sex-ratio distortion in transmission of *PTPN11* mutations in Noonan syndrome. *Am J Hum Genet* 2004; 75:492-497.
  11. **Rajalingam K, Schreck R, Rapp UR, Albert S.** Ras oncogenes and their downstream targets. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773:1177-1195.
  12. **Tartaglia M, Mehler EL, Goldberg R, Zampino G, Brunner HG, Kremer H, van der Burgt I, Crosby AH, Ion A, Jeffery S, Kalidas K, Patton MA, Kucherlapati RS, Gelb BD.** Mutations in *PTPN11*, encoding the protein tyrosine phosphatase SHP-2, cause Noonan syndrome. *Nat Genet* 2001; 29:465-468.
  13. **Musante L, Kehl HG, Majewski F, Meinecke P, Schweiger S, Gillessen-Kaesbach G, Wieczorek D, Hinkel GK, Tinschert S, Hoeltzenbein M, Ropers HH, Kalscheuer VM.** Spectrum of mutations in *PTPN11* and genotype-phenotype correlation in 96 patients with Noonan syndrome and five patients with cardio-facio-cutaneous syndrome. *Eur J Hum Genet* 2003; 11:201-206.
  14. **Zenker M, Buheitel G, Rauch R, Koenig R, Bosse K, Kress W, Tietze HU, Doerr HG, Hofbeck M, Singer H, Reis A, Rauch A.** Genotype-phenotype correlations in Noonan syndrome. *J Pediatr* 2004; 144: 368-374.
  15. **Lee BH, Kim JM, Jin HY, Kim GH, Choi JH, Yoo HW.** Spectrum of mutations in Noonan syndrome and their correlation with phenotypes. *J Pediatr* 2011; 159: 1029-1035.
  16. **Allanson JE, Bohring A, Dörr HG, Dufke A, Gillessen-Kaesbach G, Horn D, König R, Kratz CP, Kutsche K, Pauli S, Raskin S, Rauch A, Turner A, Wieczorek D, Zenker M.** The face of Noonan syndrome: Does phenotype predict genotype. *Am J Med Genet A* 2010; 152A:1960-1966.