

---

Artículo original

---



REVISTA MEDICA DEL  
**HOSPITAL GENERAL**  
DE MEXICO, S.S.

Vol. 71, Núm. 3 • Jul.-Sep. 2008  
pp 141 - 145

## Análisis molecular del gen *PTPN11* en el síndrome de Noonan

**NC González Huerta,\* LM González Huerta,\*\* MR Rivera Vega,\*\*  
E Mendoza,\*\* L Márquez,\*\*\* SA Cuevas Covarrubias\*\***

### RESUMEN

El síndrome de Noonan (SN [MIM 163950]) es una entidad clínicamente heterogénea caracterizada por talla baja, dismorfías faciales y un amplio espectro de defectos cardiacos presentes al nacimiento. El diagnóstico de síndrome de Noonan se realiza clínicamente, aunque esto puede ser muy difícil debido a que se presenta una gran variabilidad en la expresión fenotípica. El objetivo del presente estudio fue el análisis molecular del gen *PTPN11* en una muestra de pacientes con síndrome de Noonan. En nuestros pacientes no fue posible caracterizar ninguna mutación en el gen *PTPN11* causante de síndrome de Noonan, esto quizás fue debido a que los casos eran esporádicos, por lo que descartamos la afección del gen *PTPN11* como causal en la génesis del síndrome de Noonan de nuestros pacientes.

**Palabras clave:** Gen *PTPN11*, síndrome de Noonan, proteína SHP-2.

### ABSTRACT

*Noonan syndrome (SN [MIM 163950]) is a clinically heterogeneous disease characterized by short stature, facial dysmorphism and a wide spectrum of cardiac defects present at birth. The diagnosis is made clinically, although this can be very difficult because it presents a great variability in phenotypic expression. The aim of this study was the molecular analysis of the gene PTPN11 in a sample of Mexican patients with sporadic Noonan syndrome. In our patients, it was not possible to characterize any mutation in the gene PTPN11 causative of Noonan syndrome, this was perhaps because the cases were sporadic. In this study we found that Noonan syndrome was not due to mutations in the gene PTPN11.*

**Key words:** *PTPN11 gene, Noonan syndrome, SHP-2 protein.*

### INTRODUCCIÓN

El síndrome de Noonan (SN [MIM 163950]) es una entidad clínicamente heterogénea caracterizada por talla baja, dismorfías faciales y un amplio espectro de defectos cardiacos presentes al nacimiento.<sup>1,2</sup> Las dismorfias faciales consisten en frente amplia, hipertelorismo, fisuras palpebrales oblicuas descendentes, paladar alto y arqueado y orejas malrotadas.

Las anomalías cardíacas están presentes hasta en 90% de los pacientes, siendo las más comunes estenosis pulmonar y cardiopatía hipertrófica (CMH), aunque también se observan defectos del septo atrioventricular y coartación aórtica.<sup>3,4</sup> Con relativa frecuencia, también pueden presentarse defectos esqueléticos múltiples que involucran columna y tórax. El diagnóstico de síndrome de Noonan (SN) se realiza clínicamente aunque esto puede ser muy difícil debido a que se presenta una gran variabilidad en la expresión fenotípica.<sup>5</sup> Diversos sistemas de puntuación han sido diseñados para ayudar a establecer el diagnóstico. El sistema actualmente utilizado para diagnosticar el SN fue desarrollado en 1994<sup>6</sup> (*Cuadro I*).

\* Instituto Nacional de Rehabilitación.

\*\* Hospital General de México.

\*\*\* Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.

Algunos síndromes que se caracterizan por presentar dismorfias faciales, talla baja y defectos cardiacos pueden ser a veces difíciles de diferenciar del SN.<sup>7</sup>

Se considera que el SN tiene una ocurrencia de 1 cada 1,000 o 2,500 recién nacidos vivos.<sup>2,8</sup> Puede presentarse en forma esporádica o bien presentar un patrón de herencia autosómica dominante. Aproximadamente, 50% de los pacientes con SN presentan mutaciones en sentido equivocado en el gen *PTPN11*. El gen *PTPN11* está constituido por 15 exones, se localiza en el brazo largo del cromosoma 12 en la banda 24.1 (12q24.1) y codifica para la proteína SHP-2 fosfatasa de tirosina no-receptora (SHP-2). Esta enzima participa en una amplia variedad de señales intracelulares cascadas río abajo de los re-

ceptores de factores de crecimiento, citocinas y hormonas, además de que se requiere en distintos procesos del desarrollo.<sup>9</sup> La proteína SHP-2 comprende 593 aminoácidos; está presente en todo tipo de tejidos, tanto embrionario como en adulto y está involucrada en varias vías de señalización intracelular transduccionales.<sup>10,11</sup> SHP-2 incluye en su estructura dos rearreglos en tandem de dominios SH2 amino terminal (N-SH2 y C-SH2), un dominio catalítico (PTP) y una cola carboxilo terminal.<sup>12</sup> Las mutaciones en *PTPN11* asociadas con SN dan como resultado una ganancia de función de SHP-2.<sup>13</sup> Por otro lado, el síndrome de LEOPARD puede ser igualmente causado por mutaciones en el gen *PTPN11*, por lo que corresponde a una forma alélica del síndrome

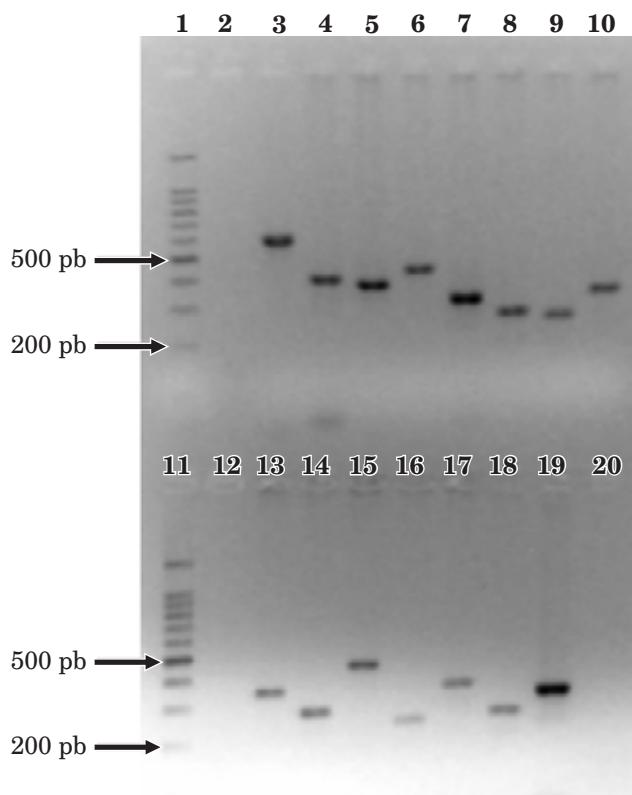
**Cuadro I.** Sistema de puntuación para el síndrome de Noonan.

| Característica    | Principal  | Menor  |
|-------------------|--|--|
| Facial            | Facies característica de síndrome de Noonan                          | Facies sugestiva de síndrome de Noonan                     |
| Cardiaca          | Estenosis valvular pulmonar, cardiomiopatía obstructiva hipertrófica | Otros defectos   |
| Talla             | < Percentila 3   | < Percentila 10  |
| Tórax             | <i>Pectus carinatum</i> o <i>excavatum</i>                           | Tórax ancho  |
| Historia familiar | Familiar con síndrome de Noonan                                      | Familiar con síndrome de Noonan sugestivo                  |
| Otros             | Retardo mental, criotorquidia y displasia linfática juntos           | Retardo mental, criotorquidia displasia linfática aislados |

Tomado de van der Burgt I.<sup>6,14</sup>

**Cuadro II.** Secuencia de oligonucleótidos, temperatura de alineamiento (Tm) y tamaño del producto amplificado de los exones analizados del gen *PTPN11*.

| Exón | Secuencia de oligonucleótidos<br>(5'-3') |                          | Tm<br>(°C) | Tamaño de<br>producto<br>(pb) |
|------|--|--------------------------|------------|-------------------------------|
|      | Forward                                  | Reverse                  |            |                               |
| 2    | ACTGAATCCCAGGTCTTACCAAG                  | ACCATGCTTGGATAGCTTGCTG   | 61         | 405                           |
| 3    | CGACGTGGAAGATGAGATCTGA                   | CTGACTCCAAGGCTTGTGACTG   | 61         | 384                           |
| 4    | AGGAGAGCTGACTGTATACAGTAG                 | TCTTGCTCTATCACCTACAGATG  | 61         | 447                           |
| 5    | CTGCAGTGAACATGAGAGTGTG                   | CATGTACCCATTGAGCTTCAC    | 57         | 329                           |
| 6    | TGCATTAACACCGTTTCTGT                     | GACCTGAGAGACTGAAACTGAC   | 57         | 282                           |
| 7    | GAACATTCCTAGGATGAATTCC                   | TGATTCTAGCACCTCTGTACC    | 57         | 271                           |
| 8    | GACATCAGGCAGTGTTCACGTTAC                 | CATGTCCTGAAAGTAACCTTAAGG | 57         | 350                           |
| 9    | GTAAGCTTGCTTTCACAGTG                     | GACATGTCAGATAGGCCATGTTAG | 57         | 357                           |
| 10   | GCAAGACTTGAACATTGTTGTC                   | GATGGTGTGAGGAATTCAAGGTC  | 61         | 284                           |
| 11   | CAAAGGAGACGAGTCTGGAAC                    | CTGTTGAGGCATAGAGCAACTGC  | 61         | 453                           |
| 12   | GCTCCAAAGAGTAGACATTGTT                   | GAAAGTGCACGAAAACAGTC     | 61         | 250                           |
| 13   | CAACACTGTAGCCATTGCAACA                   | CTTGCTAGGCCTTGGATACG     | 61         | 356                           |
| 14   | ACCATTGTCCTCACATGTGC                     | GTTTGTAGCACATGCCCTCACTG  | 61         | 259                           |
| 15   | CAGGTCTAGGCACAGGAAGT                     | AGGCAAGCAATTGGGAATGT     | 61         | 321                           |



**Figura 1.** PCR donde se muestra la amplificación normal de los exones 1-15 del gen PTPN11 analizado en los pacientes con síndrome de Noonan. Todos ellos mostraron una amplificación normal. Los carriles 2,12 y 20 corresponden a blanco. Únicamente se muestra un paciente exemplificando el análisis de todos los casos.

LEOPARD es el acrónimo en inglés de las manifestaciones del síndrome y significa lentiginosis múltiple, alteraciones electrocardiográficas, hipertelorismo, estenosis de la pulmonar, genitales anormales, retardo del crecimiento y sordera neurosensorial.

Resulta por demás interesante conocer lo que ocurre en nuestra población con respecto a los cambios moleculares en el SN, por lo que el objetivo del presente estudio fue el análisis molecular del gen *PTPN11* en una muestra de pacientes con SN espontáneo.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron cuatro pacientes no relacionados que acudieron a los Servicios de Cardiología y Genética del Hospital General de México. Estos pacientes cumplen con los criterios clínicos propuestos por van der Burget y colaboradores.<sup>6,14</sup> Todos los pacientes consintieron en participar en el estudio. Para la obtención de ADN se extrajeron 5 mL de sangre mediante punción venosa. La recolección de muestra se

| Carril | Muestra            | Tamaño de fragmento (pb) |
|--------|--------------------|--------------------------|
| 1      | Marcador comercial | 100                      |
| 2      | —                  | —                        |
| 3      | Exón 1             | 589                      |
| 4      | Exón 2             | 405                      |
| 5      | Exón 3             | 384                      |
| 6      | Exón 4             | 447                      |
| 7      | Exón 5             | 329                      |
| 8      | Exón 6             | 282                      |
| 9      | Exón 7             | 271                      |
| 10     | Exón 8             | 350                      |
| 11     | Marcador comercial | 100                      |
| 12     | —                  | —                        |
| 13     | Exón 9             | 357                      |
| 14     | Exón 10            | 284                      |
| 15     | Exón 11            | 453                      |
| 16     | Exón 12            | 250                      |
| 17     | Exón 13            | 356                      |
| 18     | Exón 14            | 259                      |
| 19     | Exón 15            | 321                      |
| 20     | —                  | —                        |

realizó en tubos de vidrio que contenían EDTA como anticoagulante, para posteriormente, mediante el método salino, realizar la extracción de ADN como se refiere previamente.<sup>15</sup> Una vez obtenido y cuantificado el ADN, se realizó la amplificación de las regiones codificadoras del gen *PTPN11*, en un termociclador (Gene Amp PCR System 9700, PE Applied Biosystems). Para la amplificación de los exones se utilizó solución amortiguadora 1X (Tris-HCl 10 mM pH 8.3, KCl 500 mM), 0.2 μM de desoxinucleótidos trifosfatados (dNTPs), 0.25 μM de cada oligonucleótido, 1.5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 1U de Taq polimerasa y 250 ng de ADN en un volumen final de reacción de 30 μL. El programa de amplificación fue una desnaturación inicial a 94 °C seis minutos, seguido por 30 ciclos, 45 segundos de desnaturación a 94 °C, 30 segundos de alineamiento a 57-61 °C, 45 segundos de extensión a 72 °C y una extensión final de siete minutos a 72 °C. La secuencia de los oligonucleótidos, temperatura de alineamiento y tamaño de los productos se enlistan en el cuadro II. Posteriormente, los productos de PCR fueron purificados con un kit de purifica-

ción para PCR (Quiaex II, Qiagen, Hilden, Germany). La secuenciación del ADN fue llevada a cabo en el analizador automatizado ABI PRISM 310 (Applied Biosystems, Foster City, CA). En cada ensayo se incluyó un control negativo y el estudio se llevó a cabo por duplicado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los pacientes tenían 11, 15, 29 y 32 años de edad, tres mujeres y un hombre, ninguno de ellos presentaba antecedentes familiares del padecimiento. En general, los datos clínicos fueron los establecidos para el SN: corta estatura, asimetría facial, hipertelorismo, fisuras palpebrales oblicuas descendentes, puente nasal deprimido, implantación baja de cabello, *filtrum* amplio y largo, cuello corto, paladar alto, retrorragognatia, deformidad en tórax, diversas anomalías cardíacas, *cubitus valgus* y múltiples nevos. Dos pacientes presentaron retraso mental. Todos los casos tuvieron un cariotipo correspondiente a su sexo sin anomalías numéricas ni estructurales.

Por lo que respecta al estudio molecular, todos los exones amplificaron normalmente, por lo que se descartó alguna delección del gen *PTPN11* (Figura 1). Por otra parte, no se detectaron cambios en la secuencia de ADN del gen *PTPN11*, ya fuera presencia de mutaciones puntuales o bien de polimorfismos (Figura 2), por lo que descartamos la afección del gen *PTPN11* como causal en la génesis del SN de nuestros pacientes.

El SN puede ocurrir en forma esporádica o con un patrón de herencia autosómica dominante. Cuando es el caso de este último, existe un predominio de la

transmisión materna. En aproximadamente 50% de los pacientes con SN se encuentra una mutación en el gen *PTPN11*, que generalmente es en sentido equivocado. Las mutaciones asociadas con SN dan como resultado una ganancia de función de la proteína SHP-2.<sup>13</sup> Este tipo de mutaciones son encontradas en casi 60% de los casos familiares y en casi 40% de los casos esporádicos. La mayoría de las mutaciones hasta ahora reportadas ocurren en los exones 3, 8 y 13. Al parecer existe una relación genotipo:fenotipo cuando está presente la mutación en *PTPN11*, ya que estos pacientes tienen estenosis de la pulmonar; a diferencia de los pacientes sin mutaciones en *PTPN11*, los cuales presentan cardiomiopatía. También se ha reportado que los pacientes con la mutación C-T en el nucleótido 218, la cual condiciona la sustitución de isoleucina en lugar de treonina en el aminoácido 73, son más susceptibles de padecer trastornos mieloproliferativos.<sup>12,13,16</sup> Por mucho, la mutación más frecuentemente observada es la transición G-A presente en el nucleótido 922, lo que produce la sustitución de aspartato en lugar de asparagina en el aminoácido 308. Recientemente, se han identificado mutaciones en el gen *KRAS* en algunos casos con SN. En nuestros pacientes no fue posible caracterizar ninguna mutación en el gen *PTPN11* causante de SN, esto quizás fue debido a que todos los casos eran esporádicos. Muy probablemente las afecciones moleculares del gen *PTPN11* son observadas principalmente en los casos familiares, por lo que se requiere de un análisis de un mayor número de pacientes para caracterizar los cambios genéticos presentes en el gen *PTPN11* en el SN de nuestra población, así como análisis de los casos familiares.

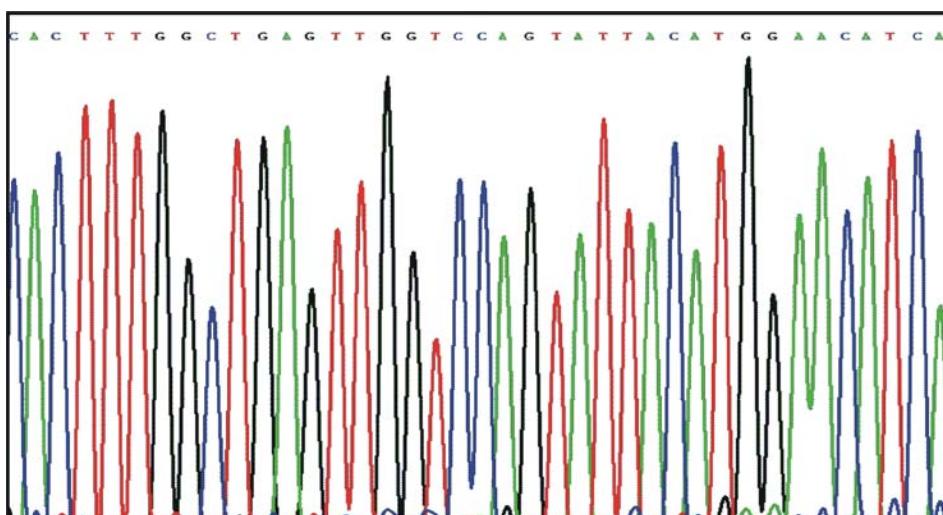


Figura 2.

Análisis de secuenciación del ADN. Se muestra sólo un fragmento del exón 3 del gen *PTPN11*, indicando una secuencia normal. En ningún paciente se detectó cambio alguno en la secuencia normal del gen *PTPN11*.

Finalmente, la mayoría los individuos con SN presentan un patrón normal de adaptación en la sociedad, exceptuando los casos que observan retraso psicomotor importante, ya que ellos requieren de terapia de estimulación temprana. Es importante mencionar que el paciente debe estar bajo supervisión constante de distintos especialistas como genetistas clínicos, cardiólogos, cirujanos, anestesistas, ginecólogos, pediatras y dermatólogos.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado por PAPIIT- IN204508, DGAPA. UNAM.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Noonan JA. Hypertelorism with Turner phenotype. A new syndrome with associated congenital heart disease. Am J Dis Child 1968; 116: 373-380.
2. Allanson JE. Noonan syndrome. J Med Genet 1987; 24:9-13.
3. Marino B, Digilio MC, Toscano A, Giannotti A, Dallapiccola B. Congenital heart diseases in children with Noonan syndrome: An expanded cardiac spectrum with high prevalence of atrioventricular canal. J Pediatr 1999; 135: 703-706.
4. Bertola DR, Pereira AC, Albano LMJ, De Oliveira PSL, Kim ChA, Krieger JE. PTPN11 gene analysis in 74 Brazilian patients with Noonan syndrome or Noonan-like phenotype. Genet Test 2006; 10 (3): 186-191.
5. Allanson JE, Hall JG, Hughes HE, Preus M, Witt RD. Noonan syndrome: The changing phenotype. Am J Med Genet 1985; 21: 507-514.
6. van der Burgt I, Berends E, Lommen E, van Beersum S, Hamel B, Mariman E. Clinical and molecular studies in a large Dutch family with Noonan syndrome. Am J Med Genet 1994; 53: 187-191.
7. Preus M. Differential diagnosis of the Williams and the Noonan syndromes. Clin Genet 1984; 25: 429-434.
8. Sharland M, Burch M, McKenna WM, Patton MA. A clinical study of Noonan syndrome. Arch Dis Child 1992; 67: 178-183.
9. Neel BG, Gu H, Pao L. The Shping news: SH2 domain-containing tyrosine phosphatases in cell signaling. Trends Biochem Sci 2003; 28: 284-293.
10. Tartaglia M, Mehler EL, Goldberg R, Zampino G, Brunner HG, Kremer H et al. Mutations in PTPN11 encoding the protein tyrosine phosphatase SHP-2 cause Noonan syndrome. Nat Genet 2001; 29: 465-468.
11. Tartaglia M, Cordeddu V, Chang H, Shaw A, Kalidas K, Crosby A et al. Paternal germline origin and sex-ratio distortion in transmission of PTPN11 mutations in Noonan syndrome. Am J Hum Genet 2004; 75: 492-497.
12. Tartaglia M, Gelb BD. Noonan syndrome and related disorders: Genetics and pathogenesis. Ann Rev Genomics Hum Genet 2005; 6: 45-68.
13. 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.
14. van der Burgt I. Review Noonan syndrome. Orphanet J Rare Dis 2007; 2: 4.
15. Cuevas-Covarrubias SA, Jimenez-Vaca AL, Gonzalez-Huerta LM, Valdes-Flores M, Del Refugio Rivera-Vega M, Maya-Nunez G, Kofman-Alfaro SH. Somatic and germinal mosaicism for the steroid sulfatase gene deletion in a steroid sulfatase deficiency carrier. J Invest Dermatol 2002; 119 (4): 972-975.
16. Jongmans M, Sistermans EA, Rikken A, Nillisen WM, Tamminga R, Patton M, Maier EM, Tartaglia M, Noordam K, van der Burgt I. Genotypic and phenotypic characterization of Noonan syndrome: New data and review of the literature. Am J Med Genet A 2005; 134: 165-170.

#### Correspondencia:

**Sergio A Cuevas Covarrubias**  
Dr. Balmis 148 Col. Doctores C.P. 06726  
México D.F., México  
E-mail: sergioa@servidor.unam.mx