



Síndrome de Noonan. Reavaliação clínica e estudo molecular de 16 casos

Sérgio B. Sousa¹, Margarida Venâncio¹, Helena Gabriel², Lina Ramos¹, Isabel Santos³, Sebastian Beck², Marta Jorge⁴, Luisa Simão⁴, Purificação Tavares², Jorge M. Saraiva¹

- 1 - Serviço de Genética Médica, Hospital Pediátrico de Coimbra
2 - Centro de Genética Clínica, Porto
3 - Serviço de Cardiologia Pediátrica, Hospital Pediátrico de Coimbra
4 - Consulta de Psicologia II, Hospital Pediátrico de Coimbra

Resumo

O Síndrome de Noonan (SN, MIM#163950) é uma patologia do desenvolvimento caracterizada por dismorfia facial típica, baixa estatura e cardiopatia congénita. Tem uma frequência estimada de 1:1000-2500 nascimentos e transmissão autossómica dominante, com neomutações frequentes. Em 30-60% dos casos é possível identificar uma mutação no gene PTPN11.

Foram reavaliados clínica, laboratorial e cognitivamente 16 indivíduos com a hipótese diagnóstica de SN, incluindo o estudo molecular do gene PTPN11. Onze dos casos cumpriam os critérios diagnósticos utilizados (SN definitivo) e em cinco casos apenas estavam presentes alguns critérios (SN possível). Os onze indivíduos com o diagnóstico definitivo de SN tinham idades compreendidas entre os 3 e os 33 anos. Neste grupo, dez eram casos *index*, um dos quais tinha SN/Neurofibromatose de tipo 1 – NF1, sendo nove casos esporádicos e um caso familiar (família com dois indivíduos afectados). Foi identificada uma mutação em cada um dos exões 3 e 8 do gene PTPN11 em dois dos casos *index*: no caso familiar e uma neomutação, num total de três indivíduos. Dez dos indivíduos (90,9%) apresentavam baixa estatura e cardiopatia congénita: sete com estenose pulmonar (dois com mutação), dois com miocardiopatia hipertrófica (nenhum com mutação), quatro com comunicação inter-ventricular, três com comunicação inter-auricular (nenhum com mutação) e dois com canal atrioventricular (ambos com mutação). A avaliação psicológica revelou um Q. I. médio de 57. Nos cinco casos com SN possível, não foram identificadas mutações (dois tinham também NF1).

Discute-se a correlação genótipo-fenótipo, tendo-se confirmado a menor prevalência de miocardiopatia hipertrófica no grupo com mutação identificada e a ausência de mutações do gene PTPN11 em indivíduos com SN/NF1.

Palavras-chave: Síndrome de Noonan, baixa estatura,

cardiopatia congénita, atraso de desenvolvimento psicomotor, transmissão autossómica dominante, gene PTPN11 – SHP2.

Acta Pediatr Port 2006;37(4):145-53

Noonan syndrome. Clinical review and molecular study of 16 cases

Abstract

Noonan syndrome (SN, MIM#163950) is characterized by typical facial features, short stature and congenital heart defect. Its prevalence is estimated in 1:1000-2500 newborns. Its transmission is autosomal dominant and neomutations are common. In 30-60% of the cases, a mutation in the gene PTPN11 can be identified.

We carried out a clinical, psychological and laboratorial evaluation in 16 patients with diagnostic hypothesis of SN, including the molecular analysis of the PTPN11 gene. In eleven cases, the criteria were fulfilled (definite SN) while in the five remaining patients, only some criteria were present (possible SN). The eleven individual with definite SN were aged between 3 and 33 years. In this group, ten were index cases, one with SN/Neurofibromatosis type 1 – NF1, nine sporadic cases and one familial (one family with two individual affected). Mutations were found in two index cases: in the familial case and one neomutation, in a total of three individual. Ten patients (90.9%) had short stature and congenital heart defect: seven with pulmonary stenosis (two with mutation identified), two with hypertrophic cardiomyopathy (none with mutation), four with ventricular septal defect (none with mutation), three with atrial septal defect (none with mutation) and two with atrioventricular canal (both with mutation). The psychological evaluation revealed a medium I.Q. of 57. In the five cases with possible SN, no mutations were found (two had also NF1).

Recebido: 10.03.2005
Aceite: 11.07.2006

Correspondência:

Sérgio Bernardo de Sousa
Serviço de Genética Médica, Hospital Pediátrico de Coimbra
Av. Bissaya Barreto – 3000-075 Coimbra
Tel. 239 480 638, Fax 239 717 216
www.chc.min-saude.pt/hp/genetica/
E-mail: sbsousa@hpc.chc.min-saude.pt

The genotype-phenotype correlation is discussed. We confirmed the lower prevalence of cardiomyopathy in patients with PTPN11 mutations and its absence in the SN/NF1 cases.

Key-words: Noonan syndrome, short stature, congenital heart defect, developmental delay, autosomal dominant transmission, PTPN11 gene – SHP2

Acta Pediatr Port 2006;37(4):145-53

Introdução

O Síndrome de Noonan (SN, MIM#163950), é uma patologia do desenvolvimento caracterizada por típicas dismorfias facial e cervical (hipertelorismo, fendas palpebrais oblíquas para fora e para baixo, ptose palpebral, epicanto, pavilhões auriculares de inserção baixa e posteriormente rodados, fronte larga, pescoço curto e largo, *pterygium colli*), baixa estatura, deformidades torácicas (*pectus carinatum* e/ou *excavatum*) e cardiopatia congénita^{1,2}. O envolvimento cardíaco atinge 50-90% dos indivíduos, estando presentes mais frequentemente estenose pulmonar (20-50%) e miocardiopatia hipertrófica (20-30%), embora possa ser encontrado um amplo espectro de outras anomalias (comunicações inter-auriculares e/ou inter-ventriculares, canal atrioventricular, coarctação da aorta)³. Outras alterações podem estar também presentes como: palato alto e arqueado, criptorquidismo, displasias linfáticas, anomalias vertebrais, diátese hemorrágica, trombocitopenia, risco aumentado de leucemia, disfunção tiroideia, anomalias renais e miopatia. O atraso de desenvolvimento psicomotor é frequente, estando descrito atraso mental em cerca de um terço dos casos.

Esta síndrome foi descrita pela primeira vez em 1968 por Jacqueline Noonan¹. É uma situação relativamente frequente, com uma prevalência estimada de 1:1000-2500 nascimentos⁴, sendo, sem dúvida, a síndrome não cromossómica mais frequentemente associado a cardiopatia congénita^{2,3}.

O SN foi desde sempre associado a uma hereditariedade autossómica dominante, com neomutações frequentes e expressividade variável. Contudo, apenas nos últimos anos se conseguiu elucidar a fisiopatologia molecular deste síndrome.

Em 1994, através de estudos de ligação génica de famílias informativas, foi mapeado um *locus* do SN no braço longo do cromossoma 12^{5,6}, conseguindo-se nos anos seguintes reforçar este facto e delimitar melhor a região crítica – 12q24.1. A heterogeneidade génica é desde logo realçada⁵, havendo famílias que não segregam com o *locus* referido e, em alguns casos, sendo provável uma hereditariedade autossómica recessiva⁷ (MIM%605275).

Em 2001, um estudo multicêntrico liderado por M. Tartaglia⁸ identificou o gene PTPN11 (proteína-tirosina-fosfatase, não-receptor tipo 11), localizado na referida região crítica, como candidato para o SN. Posteriormente, o mesmo grupo⁹ e vários outros investigadores¹⁰⁻¹⁵ confirmaram que 30 a 60% dos indivíduos afectados com SN são heterozigotos para mutações *missense* do gene PTPN11. Este gene tem 15 exões e codifica a SHP-2, uma proteína citoplasmática fosfatase da tirosina composta por dois domínios Src homólogos dispostos

em *tandem* na porção N-terminal (N-SH2 e C-SH2) e um domínio proteína-fosfatase da tirosina (PTP) na porção C-terminal. Esta proteína é amplamente expressa em vários tecidos e tem um papel fundamental em diversos processos de desenvolvimento. Participa em numerosos mecanismos intracelulares de transdução de sinal como mediador de factores de crescimento, citocinas e hormonas. Modula, deste modo, a proliferação, diferenciação e migração celulares. Entre estes processos, destaca-se a valvulogénese cardíaca, nomeadamente no desenvolvimento das válvulas semilunares, através do receptor para o factor de crescimento da epiderme^{8,9,16}.

Embora ambos os domínios SH2 modulem a actividade fosfatásica da SHP-2, o N-SH2 tem papel preponderante na sua activação. A análise cristalográfica da SHP-2 indica que o domínio N-SH2 interage com o PTP na conformação inactiva, bloqueando o local catalítico. Aquando da ligação de um resíduo fosfotirosil ao domínio N-SH2, dá-se uma alteração conformacional que reduz a interacção molecular entre os domínios N-SH2 e PTP, deixando o local catalítico disponível para o substrato. Deste modo, o domínio N-SH2 actua como um interruptor molecular, activando e desactivando a SHP-2^{8,9}. Mutações do PTPN11 que alterem as porções interactuantes dos domínios N-SH2 e PTP poderão interferir na actividade catalítica da SHP-2. Modelos moleculares, análises estruturais e estudos de caracterização bioquímica das SHP-2 mutantes documentaram que estas mutações desestabilizam a conformação cataliticamente inactiva da proteína, resultando num ganho de função^{8,9,16}. Parece assim provável que o SN ocorra devido a um excesso de actividade da proteína SHP-2 com as consequentes alterações nas numerosas vias metabólicas em que participa e justificando a variabilidade fenotípica observada.

Estas conclusões estão de acordo com a localização das mutações do PTPN11. A grande maioria das mutações até ao momento descritas é *missense* e afectam aminoácidos altamente conservados comparando com as SHP-2 ortólogas de outros vertebrados⁹. Os exões mais frequentemente envolvidos são os exões 3 e 8, correspondendo às regiões interactuantes dos domínios NSH-2 e PTP^{9,15}. Foram também identificadas deleções de três pares de bases no gene PTPN11 causadoras de SN1^{14,18} associadas a mecanismos patogénicos semelhantes.

Um grupo distinto de mutações somáticas, aparentemente relacionado com um maior ganho de função (e provavelmente letais quando germinativas pois nunca foram identificadas como tal), contribui para o desenvolvimento de leucemia^{13,14,19}. A identificação destas mutações explica o risco aumentado de doenças mieloproliferativas e de leucemia aguda em indivíduos com SN.

À semelhança de outras doenças de transmissão autossómica dominante, como por exemplo as associadas a mutações em genes da família FGFR, é identificada uma origem paterna para as neomutações e a sua associação com a idade paterna avançada²⁰. Este fenómeno genético confirma uma maior prevalência de erros mitóticos na espermatogénese em relação à ovogénese.

O grupo de SN sem mutação no gene PTPN11 identificada permanece um desafio à investigação na tentativa de clarificar a sua origem genética.

Recentemente, foram identificados alguns casos de Síndrome de Noonan com neomutações germinativas no gene *KRAS*²¹ (MIM#609942).

Objectivos

O presente estudo teve como objectivo reavaliar clínica, laboratorial e cognitivamente todos os indivíduos com a hipótese diagnóstica de Síndrome de Noonan referenciados ao Serviço de Genética do Hospital Pediátrico de Coimbra. Foi proposta a realização do estudo molecular dos exões 3 e 8 do gene *PTPN11*, onde estão descritas cerca de 80% das mutações reportadas, considerada a abordagem que melhor se adequaria em termos de custo-benefício. Pretende-se explorar o estabelecimento de correlações genótipo-fenótipo e otimizar tanto a conduta como o aconselhamento genético perante a colocação deste diagnóstico.

Material e Métodos

Aceitaram participar no estudo 16 indivíduos com a hipótese diagnóstica de Síndrome de Noonan.

Foram utilizados os critérios diagnósticos desenvolvidos por van der Burgt⁶ (Quadro I).

Segundo estes critérios, a amostra foi dividida em dois grupos: os que cumpriam os critérios diagnósticos (tinham uma face típica – critério 1A – associada a um outro critério *major* – 2A-6A – ou a dois critérios *minor* – 2B-6B; ou tinham uma face sugestiva – 1B – associada a dois critérios *major* – 2A-6A), que foram classificados como SN definitivo; os que, sem cumprir os critérios referidos, tinham alguns deles, fazendo evocar este diagnóstico, que foram classificados como SN possível.

Em onze casos, com idades compreendidas entre os 3 e os 33 anos, os critérios diagnósticos eram cumpridos e foi neste grupo de indivíduos com o diagnóstico definitivo de SN que se procedeu a uma cuidada análise comparativa. Neste grupo, 10 eram casos *index* (referidos neste artigo como casos de 1 a 10), um dos quais tinha SN/Neurofibromatose de tipo 1 – NF1 (caso 3), sendo: seis do sexo masculino e quatro do sexo

feminino; nove casos esporádicos e um caso familiar (caso 2 – uma família com dois indivíduos afectados, pai e filha).

Os cinco casos restantes foram classificados como SN possível. Eram todos casos *index* esporádicos, havendo dois deles que tinham também NF1.

Além da observação de todos os doentes, fez-se o rastreio de possíveis patologias associadas, caso este ainda não tivesse sido efectuado, através de ecografia renal, radiografias ósseas (se a clínica o justificasse), hemograma, estudo da coagulação, doseamento de CPK e de hormonas e anticorpos tiroideus. Foi realizado o estudo molecular parcial do gene *PTPN11* no Centro de Genética Clínica, através da sequenciação automática dos produtos de PCR contendo os exões 3 e 8 e respectivas regiões intrónicas adjacentes. Foi efectuada avaliação psicológica, sempre que possível, utilizando as escalas WISC-III^a ou WPPSI-R^b.

- nota de rodapé a colocar no final da pagina:

^aWISC-III, Wechsler Intelligence Scale for Children – third edition. Adaptação Portuguesa: Mário Simões, Faculdade de Psicologia e Ciências da Educação da Universidade de Coimbra (FPCEUC); António Menezes Rocha e Carla Ferreira, Departamento de Investigação e Publicações Psicológicas, CEGOC-TEA. CEGOC-TEA-2003.

^bWPPSI-R, Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence – Revised Administration and Scoring Manual, by the Psychological Corporation, USA. Adaptação Portuguesa: Maria João Seabra e Mário Simões, FPCEUC; António Menezes Rocha e Carla Ferreira, Departamento de Investigação e Publicações Psicológicas, CEGOC-TEA. CEGOC-TEA-2003.

O cariótipo em todos os casos já tinha sido realizado e fora normal, incluindo a confirmação da ausência de microdelecção 22q11.2 por citogenética molecular nos casos em que a clínica fosse compatível. Na maioria dos casos, a investigação etiológica tinha incluído ainda a realização de outros exames complementares, nomeadamente havendo atraso do desenvolvimento psicomotor, de modo a excluir outros diagnósticos.

Foi realizado consentimento informado escrito para participação no estudo e solicitada autorização, caso estivessem de acordo, de recolha e publicação de imagens fotográficas, por parte do próprio ou dos seus responsáveis legais, no caso de menores ou com défice intelectual.

Quadro I – Critérios de diagnóstico utilizados (adaptado de van der Burgt, 1994⁶). O diagnóstico de SN é feito na presença dos seguintes critérios: 1A + um de 2A-6A; 1A + dois de 2B-6B; ou 1B + dois de 2A-6A.

CARACTERÍSTICAS	A - CRITÉRIO MAJOR	B - CRITÉRIO MINOR
Faciais	Facies típico	Facies sugestivo
Cardíacas	Estenose pulmonar Cardiomiopatia hipertrófica ECG típico	Outro defeito cardíaco
Estatura	<P3	<P10
Torácicas	<i>Pecus carinatum / excavatum</i>	Tórax largo
Antecedentes Familiares	Familiar em 1º grau com diagnóstico de SN	Familiar em 1º grau com SN possível
Outros	Presença de três (sexo masculino); atraso mental criptorquidismo displasia linfática	Presença de um: atraso mental criptorquidismo displasia linfática

Resultados

No grupo de indivíduos com SN definitivo foram identificados dois casos *index* (em dez) com mutações no gene PTPN11: o caso 1, esporádico, com uma mutação *de novo* no exão 3 (D61G; 182A>G), já descrita; o caso 2, o único caso familiar avaliado, com uma mutação herdada num *hotspot* do exão 8 (N308D; 922A>G). O pai do caso 2 tinha a mesma mutação N308D, tendo sido assim identificados 3 indivíduos com mutação no total dos onze indivíduos deste grupo.

O Quadro II resume os resultados obtidos nos onze casos com SN definitivo avaliados.

Em seis casos havia referência a alterações ecográficas pré-natais: dois com higroma quístico, um com “pregas cervicais exuberantes” e três com dilatação pielocalicial uni ou bilateral, dois deles com resolução espontânea pós-natal.

Dez dos onze indivíduos deste grupo (90,9%) tinham baixa estatura e cardiopatia congénita: sete com estenose pulmonar - EP (dois com mutação identificada), dois com cardiomiopatia hipertrófica - CMH (nenhum com mutação), quatro com comunicação inter-ventricular - CIV, três com comunicação inter-auricular - CIA (nenhum com mutação) e dois com canal atrioventricular - CAV (ambos com mutação identificada).

Dos sete indivíduos do sexo masculino, quatro tinham criptorquidia (um com mutação identificada e três não). Dois indivíduos tinham alterações renais no momento desta reavaliação (ambos sem mutação), um com uma dilatação pielocalicial bilateral e o outro com um bacinete exorrenal direito e uma dilatação pielocalicial esquerda. Foi identificado um indivíduo com tiroidite auto-imune (sem mutação). Apenas foi identificado um caso com alterações hematológicas (trombocitopenia persistente), não havendo nenhum caso com provas

Quadro II – Resultados da avaliação clínica, laboratorial e cognitiva dos onze casos estudados com SN definitivo.

	Caso 1	Caso 2	Pai Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6	Caso 7	Caso 8	Caso 9	Caso 10	
MUTAÇÃO PTPN11	D61G	N308D	N308D	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	
IDADE (anos)	9	4	33	7	15	13	8	10	10	3	9	
SEXO	M	F	M	M	M	F	M	F	F	M	M	
IDADE GESTACIONAL (semanas)	38	38	?	37	40	41	38	36	40	37	38	
DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL	Higroma quístico	-	?	-	-	-	Dilat. PC dta	Dilat. PC esq. Pregas cervicais exuberantes	-	Higroma quístico Hidramnios	Dilat. PC bilat.	
NASCIMENTO	Peso <P10 Comp. <P10 PC <P10	P50 P3 P25	?	P10-25 P25 P25	P75-90 P25 >P90	P50 P3 P75	P90 P10 >>P90	P90 P25 P90	P90 P50-75 P75-90	P75-90 P50-75 P75	P10-25 P3 P50	
ESTATURA	<P5 Percenti geral P50 4,5A Percentil Noonan <-1DP	<P5 P50 2A -1DP	<P5 P50 12A6M Média	<P5 P50 5A6M Média	<P5 P50 9A6M <-1DP	<P5 P50 6A <-1DP	<P5 P50 6A Média	<P5 P50 7A Média	P25-50 >+1DP	<P5 P50 1A6M <-1DP	<P5 P50 4A6M <-1DP	
PERÍMETRO CEFÁLICO	<P3	<P3	P25-50	P10-25	P97	P25	>P97	?	P50	P90	P90	
FACE:												
Hipertelorismo	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	
Pav. auriculares displásicos	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	
Fendas palpebrais oblíquas	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	
Ptose palpebral	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/-	+/-	+/+	+/+	
Epicanto	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	
Estrabismo	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	
Alts couro cabeludo	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	
Anomalias dentárias	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
REGIÃO CERVICAL:												
Pescoço curto	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Pterygium colli	+/-	-	+/-	-	+	+/-	+/-	+	+	+	+	
TÓRAX:												
Pectus excavatum	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	
Pectus carinatum	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	
Mamilos afastados	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
GENITAIS	Criptorq. bilat	-	N	N	Criptorq. à dta	-	Criptorq. à dta	-	-	Criptorq. bilat	N	
CARDIOPATIA	CAV parcial EP	CAV completo	EP severa	N	CMH EP CIA	CMH EP lig. CIA	CIV EP lig.	EP CIV encer.	CIV encer.	EP CIA	CIV encer.	
ECOGRAFIA RENAL	N	N	-	N	Dup. PC esq Bac. Ex. dta	N	N	Dilat. PC bilat.	N	N	N	
ALTS HEMATOLÓGICAS	Trombocitopenia lig.	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
FUNÇÃO TIROIDEIA	N	N	N	N	N	Tiroidite Hashimoto	N	N	N	N	N	
CK	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
DESENVOLVIMENTO:												
QI-T	AM	AM		AM	AM	AM	Médio	AM	AM	AM		
QI-R	51	51	-	53	52	58	90	48	64	50	N possível	
QI-V	51	56		50	46	52	86	46	75	50		
	56	56		60	63	60	99	56	64	60		
OUTROS	Quielotórax Pé boto Esplenomegália	Quielotórax Laxidez artic. Difíc. aliment.		NF1 (+pai) Difíc. aliment. Defeito ósseo occipital	Atraso puberdade Hérnia inguinal	Atraso puberdade Manchas hipopigm. Cubitus valgus	Manchas hiperpigmentadas	Difíc. aliment. Laxidez artic. Asma HPLV	Escoliose Laxidez artic. Asma HPLV Hipermetropia	Cubitus valgus Difíc. aliment. Nevos	Difíc. aliment.	

Legenda: EP – estenose pulmonar; CMH – cardiomiopatia hipertrófica; CAV – canal atrioventricular; CIA – comunicação inter-auricular; CIV – comunicação inter-ventricular; Dilat. PC – dilatação pielocalicial; Dup PC – duplicação pielocalicial; Bac. Ex. – bacinete exorrenal; Criptorq. – criptorquidia; HPLV – hipersensibilidade às proteínas de leite de vaca; Q.I. – quociente de inteligência (T – total, R – realização, V – verbal); AM – atraso mental; NF – neurofibromatose.

de coagulação alteradas. Não foram identificados indivíduos com elevações da CPK.

A avaliação psicológica revelou um Q. I. total médio de 57, variando entre 51 e 90.

Com o intuito de melhor comparar os dois grupos, com e sem mutação identificada, apresentamos o Quadro III, o qual inclui também dados dos vários estudos publicados¹⁰⁻¹⁶.

No grupo de cinco casos com SN possível não foram identificadas mutações nos exões 3 e 8 do gene PTPN11. Os dados referentes a este grupo não serão apresentados integralmente neste artigo.

Discussão

As taxas de detecção de mutações no gene PTPN11, através do seu estudo molecular completo, em indivíduos com diagnóstico de SN referidas nos estudos publicados mais significativos variam entre 29 e 60 % e constam do Quadro IV. A análise dos exões 3 e 8 do gene PTPN11 revela cerca 80% das

mutações e permite identificar uma mutação patogénica em cerca de 23 a 46% do total de casos de SN (Quadro IV).

Neste estudo, foi identificada uma mutação nos exões 3 e 8 em apenas 2 dos 10 casos *index* com diagnóstico definitivo de SN, um valor inferior ao estimado, sendo uma das duas, uma neomutação. Este aspecto pode implicar, à semelhança do que outros estudos apontam, a necessidade de estudar os outros exões do gene PTPN11 (nomeadamente o exão 13), por sequenciação directa ou usando previamente um método de rastreio de mutações, o que na nossa amostra não está programado.

No único caso familiar avaliado, foi identificada uma mutação do gene PTPN11, o que reafirma o facto de haver um predomínio de mutações neste gene nos casos em que existem outros familiares afectados (Quadro IV), evidenciado em estudos anteriores^{8,9,13}. Nos casos familiares, verifica-se uma penetrância quase completa^{9,13,15}.

Além do SN, foram em diversos estudos pesquisadas mutações do gene PTPN11 em outras patologias distintas mas consideradas pertencentes ao mesmo espectro, tendo em conta o

Quadro III – Indivíduos com SN definitivo, comparando os dados observados no grupo de doentes com mutação identificada com o grupo sem mutação encontrada neste estudo e relativamente a dados semelhantes referidos em publicações anteriores⁸⁻¹⁵.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	Total de Indivíduos Nº/total (%)	Com mutação PTPN11		Sem mutação PTPN11	
		Nº/total (%)	Estudos anteriores	Nº/total (%)	Estudos anteriores
		3/11 (27,3)	%	8/11 (72,7)	%
Hipertelorismo	9/11 (81,8)	2/3 (66,7)	12,5-54	7/8 (87,5)	75
Pavilhões auriculares displásicos	7/11 (63,8)	1/3 (33,3)	32-80	6/8 (75)	75-78
Fendas palpebrais oblíquas	9/11 (81,8)	3/3 (100)	50-68	6/8 (75)	50
Ptose palpebral	9/11 (81,8)	2/3 (66,7)	25-62	7/8 (87,5)	37,5
Face					
Epicantero	3/11 (27,3)	1/3 (33,3)	54	2/8 (25)	-
Estrabismo	4/11 (36,4)	0/3 (0)	-	4/8 (50)	-
Alterações do couro cabeludo	7/11 (63,8)	1/3 (33,3)	50-68	6/8 (75)	37,5-61
Anomalias dentárias	6/11 (54,6)	0/3 (0)	-	6/8 (75)	-
Região					
Pescoço curto	11/11 (100)	3/3 (100)	12,5-52	8/8 (100)	62,5
Cervical					
Pescoço largo/ <i>Pterigium coli</i>	9/11 (81,8)	2/3 (66,7)	17,4-50	7/8 (87,5)	30-40
Macrocefalia	4/11 (36,4)	0/3 (0)	39,1	4/8 (50)	50
Baixa estatura	10/11 (90,9)	3/3 (100)	45-87,5	7/8 (87,5)	40-75
Deformidades do Tórax	6/11 (54,5)	2/3 (66,7)	16,7-91,3	4/8 (50,0)	22,2-86
NF tipo 1	1/11 (9,1)	0/3 (0)	-	1/8 (12,5)	-
Criptorquidia	4/7 (57,1)	1/2 (50,0)	43-94	3/5 (60,0)	71,4
Cardiopatia	10/11 (90,9)	3/3 (100)	80-87	7/8 (87,5)	48,1-91,7
- Estenose pulmonar	7/11 (63,6)	2/3 (66,7)	55,6-88	5/8 (62,5)	22,2-62,5
- Cardiomiopatia hipertrófica	2/11 (18,2)	0/3 (0)	0-13	2/8 (25,0)	8,3-50
- Comunicação interauricular	3/11 (27,3)	0/3 (0)	8,7-62,5	3/8 (37,5)	8,3-37,5
- Comunicação interventricular	4/11 (36,4)	0/3 (0)	0-12,5	4/8 (50)	6,3-37,5
- Canal atrioventricular	2/11 (18,2)	2/3 (66,7)	8,7	0/8 (0)	14,6
Alts. coagulação ou Hematológicas	1/11 (8,0)	1/3 (33,3)	27,8-62,5	0/8 (0)	0-25
Alterações renais	2/11 (16,0)	0/3 (0)	-	2/8 (25,0)	-
Alterações da Função Tiroideia	1/11 (8,0)	0/3 (0)	-	1/8 (12,5)	-
Elevação do CK	0/11 (0)	0/3 (0)	-	0/8 (0)	-
Avaliação Psicológica:					
QI – total (média)	57,1	51		59,3	
- Médio (90-109)	1/9 (11,1)	0/2 (0)	ADPM	1/7 (14,3)	ADPM
- Médio Inferior (80-89)	0/9 (0)	0/2 (0)	23,5-53	0/7 (0)	26,9-74
- Inferior (70-79)	0/9 (0)	0/2 (0)		0/7 (0)	
- Atraso Mental (<70)	8/9 (88,9)	2/2 (100)		6/7 (85,7)	

Legenda: ADPM – atraso do desenvolvimento psico-motor.

Quadro IV – Taxas de detecção de mutações do gene PTPN11 em indivíduos com SN nos estudos publicados mais significativos^{9,11-15}.

ESTUDOS	Nº casos <i>index</i> Mutações PTPN11/Total (%)	Nº casos familiares Mutações PTPN11/Total (%)	Nº casos esporádicos Mutações PTPN11/Total (%)	Nº casos Mutações exões 3 e 8 PTPN11/Total (%)
Tartaglia et al. 2002	54/119 (45)	28/49 (59)	26/70 (37)	43/119 (36)
Musante et al. 2002	23/79 (29)	5/11 (45)	18/68 (26)	18/79 (23)
Sarkozy et al. 2003	38/84 (40)	5/10 (50)	29/74 (39)	
<i>S. Noonan</i>	23/71 (33)	4/9 (44)	19/62 (31)	17/71 (24)
<i>S. LEOPARD</i>	11/13 (85)	1/1 (100)	10/12 (83)	
Yoshida et al. 2004	18/45 (40)	1/2 (50)	17/43 (40)	15/45 (33)
Zenker et al. 2004	34/57 (60)	9/9 (100)	25/48 (52)	26/57 (46)
Jongmans et al. 2004	68/150 (45)			

elevado grau de sobreposição clínica. Foram identificadas mutações germinativas na síndrome Noonan-like/lesão de múltiplas células gigantes (MIM#163955), uma mutação também encontrada em doentes com SN⁹; e na síndrome LEOPARD - *multiple lentiginos, ECG conduction abnormalities, ocular hypertelorism, pulmonar stenosis, abnormal genitalia, retardation of growth, sensorineural deafness* (ML/LS, MIM#151100)^{12,22}. Neste último, foram até agora identificadas mutações distintas do SN, sobretudo localizadas nos exões 7 e 12 e provavelmente associadas a uma diminuição da função da proteína SHP-2, sendo também nesta situação a heterogeneidade génica uma realidade uma vez que já tinha sido associado a mutações no gene NF1. Não foram encontradas mutações do gene PTPN11 noutras entidades como: síndrome cardiofaciocutâneo (CFC, MIM#115150) esporádico^{11, 23}, excepto eventualmente em formas familiares²⁴, tendo sido no entanto neste síndrome como no SN identificadas recentemente mutações nos genes *KRAS* e *BRAF*²⁵; síndrome Noonan-Neurofibromatose tipo 1 (SN/NF1, MIM#601321) ou de Watson (MIM#193520), os quais foram associados a mutações no gene *NF1*²⁶; e síndrome de Costello (MIM#218040)²⁷, no qual foi recentemente identificado o gene *HRAS* como responsável²⁸.

Na nossa amostra, confirmámos a ausência de mutações do gene PTPN11 em indivíduos com SN/NF1. Tanto no indivíduo com SN/NF1 (caso 3) como nos dois casos adicionais com NF1 e SN possível, não foram identificadas mutações. Nesta situação, pode justificar-se o estudo molecular do gene NF1²⁷.

Em relação à correlação genótipo-fenótipo, os nossos resultados estão globalmente de acordo com o até agora descrito⁹⁻¹⁵. A análise comparativa discutida diz respeito apenas aos onze casos com SN definitivo.

O espectro de cardiopatias encontrado em doentes com mutação identificada é semelhante ao já descrito para o SN¹². A estenose pulmonar (EP), a anomalia mais comum no SN, tem sido associada a uma maior frequência nos casos com mutação no gene PTPN11^{8-11,13-15}. No entanto, neste estudo encontramos uma frequência de estenose pulmonar semelhante nos casos com e sem mutação identificada, tal como descrito noutras publicações¹². A cardiomiopatia hipertrófica (CMH), o segundo defeito cardíaco mais comum, está presente num número significativamente inferior de indivíduos com mutação neste gene^{8-11,13,14}. Confirmámos este facto na medida em que em

ambos os casos de CMH não foram identificadas mutações. Um aspecto interessante é que a CMH é encontrada em doentes com ML/LS, associada a mutações nos exões 7 e 12¹².

Neste estudo, ambos os casos *index* com mutação identificada apresentavam canal atrioventricular (CAV), anomalia ausente nos restantes casos de SN sem mutação identificada. O CAV é uma anomalia normalmente pouco frequente no global das cardiopatias isoladas e sindrómicas (excepção feita naturalmente em relação ao Síndrome de Down) e particularmente em indivíduos com SN, embora estejam descritos coortes de SN com elevada prevalência de CAV parcial³. A observação na nossa amostra (apesar da sua reduzida dimensão) de uma frequência bastante superior de CAV no grupo com mutação identificada parece ser um aspecto significativo e a ter em conta em futuros estudos.

Outras anomalias cardíacas, como tetralogia de Fallot ou coarctação da aorta, não foram até agora encontrados em indivíduos com mutação no gene PTPN11¹². Foi proposto, por outro lado, uma maior frequência de mutações na região N-SH2, em relação à região PTP, em doentes com cardiopatia congénita¹².

A expressividade variável já conhecida no SN é aqui bem documentada na família identificada com a mutação N308D (caso 2): a mesma mutação origina no pai estenose pulmonar e na filha canal atrioventricular completo. A etiologia das cardiopatias congénitas é certamente multifactorial e o gene PTPN11 desempenha um papel significativo apenas numa minoria dos casos uma vez que não foram identificadas mutações neste gene em amostras de doentes com cardiopatia congénita isolada²⁹.

Quanto a características extracardíacas, não há consensos, mas a regra será não haver associações relevantes⁹, como se pode constatar pela análise do Quadro III, que mostra a variabilidade encontrada nos dados dos vários estudos publicados. Contudo, alguns deles encontram correlações como por exemplo: entre mutação identificada e baixa estatura^{12,13} ou com alterações hematológicas¹⁴. Foi colocada a hipótese de mutações específicas estarem associadas ao desenvolvimento de doenças mieloproliferativas, nomeadamente leucemia mielomonocítica juvenil^{9,15}. É o caso da mutação D61G identificada no caso 1. Esta criança tem esplenomegália e trombocitopenia ligeira sem causa identificada e necessita naturalmente de vigilância adequada, sendo de referir que já passou a idade crítica para o desenvolvimento de leucemia mielomonocítica juvenil e que a evolução desta é normalmente favorável nestes doentes.

A definição de características sugestivas de envolvimento do gene PTPN11 não foi até agora conseguida. Indivíduos com mutação no gene PTPN11 identificada são fenotipicamente indistinguíveis dos sem mutação identificada. Este facto está patente no Quadro III e nas Figuras 1 e 2 (que contêm fotografias de indivíduos sem e com mutação identificada, respectivamente). De notar apenas, a menor prevalência de macrocefalia nos três casos com mutação identificada, uma característica de SN, não referida em outras publicações mas de significado difícil de avaliar.

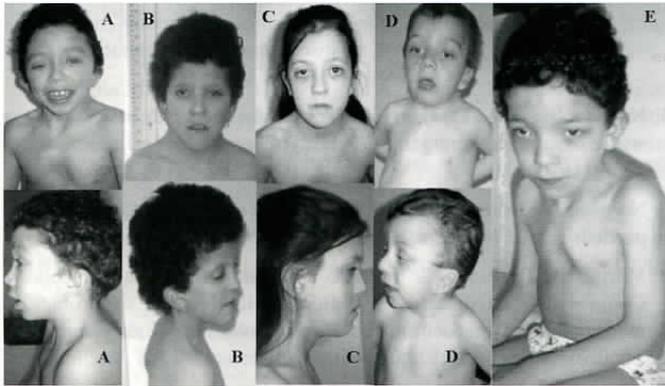


Figura 1 – Exemplos de características fenotípicas dos indivíduos com SN sem mutação identificada no presente estudo. A – caso 6 aos 8 anos; B – caso 7 aos 8 anos; C – caso 8 aos 8 anos e 6 meses; D – caso 9 aos 3 anos e 11 meses; E – caso 10 aos 9 anos.

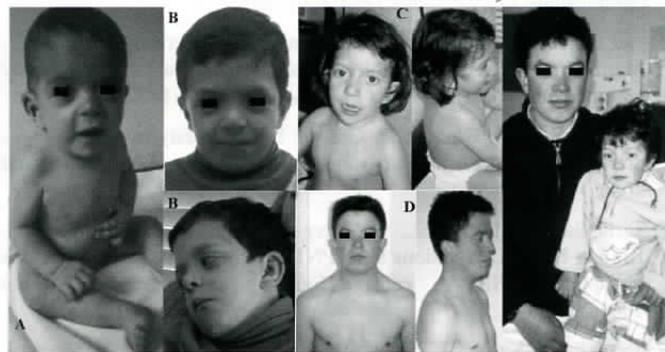


Figura 2 – Características fenotípicas dos 3 indivíduos com mutação identificada no gene PTPN11. A e B – caso 1 com 1 ano e 9 anos e 10 meses, respectivamente; C – caso 2 aos 4 anos; D – pai do caso 2 aos 33 anos.

A importância da selectividade dos critérios utilizados é, contudo, realçada em praticamente todos os estudos, sendo sugerido que a presença de um número maior de critérios diagnósticos se relacionaria com uma maior probabilidade de encontrar mutações¹³. O grupo analisado de onze casos com SN definitivo preenchia claramente os critérios diagnósticos (van der Burgt⁶, os mesmos utilizados por Tartaglia⁹), não podendo esta questão justificar a baixa taxa de detecção encontrada. Por outro lado, o facto de não terem sido identificadas mutações nos cinco casos estudados com SN possível, nos quais apenas alguns critérios estavam presentes, corrobora a relevância deste aspecto. Não podemos deixar de referir que os vários estudos utilizam critérios de diagnóstico com ligeiras diferenças, o que adiciona alguma ambiguidade à subjectividade inerente da classificação de um *facies* como sugestivo/típico de SN.

Nos dois casos *index* com mutação identificada neste estudo, encontramos antecedentes pessoais de quilotórax, não descritos nos outros doentes, o que confirma uma maior susceptibilidade para anomalias do sistema linfático neste grupo. Não existem dados referidos em outros estudos que possam esclarecer melhor este aspecto. Apenas um estudo discute este assunto e encontra frequências semelhantes de quilotórax nos dois grupos¹⁴.

A avaliação psicológica dos casos de SN tem sido relativamente pouco estudada. A referência continua a ser o estudo de van der Burgt *et al*, 1999³⁰, que avalia a função cognitiva em indivíduos com SN em idade escolar (n=35). O Quadro V pretende comparar os nossos resultados com este estudo. Com base nas características fenotípicas, naquele artigo os indivíduos foram classificados, consoante o padrão de características fenotípicas/critérios de diagnóstico observados em cada caso, em “SN moderado” e “SN grave” (grupo onde se enquadraria a grande maioria da nossa amostra), tendo-se associado este segundo grupo a um défice cognitivo mais importante. Verificou-se uma variabilidade evidente nas diferentes funções cognitivas e sociais, também observada na nossa avaliação. Discrepâncias extremas entre o QI-Verbal (QI-V) e o QI-Realização (QI-R) são mais frequentes em indivíduos com SN grave, enquanto que indivíduos com SN moderado apresentam mais frequentemente um padrão particular em que QI-V>QI-R. Paradigma desta situação particular é, por exem-

Quadro V – Quadro comparativo dos resultados da avaliação psicológica no grupo de doentes com SN definitivo neste estudo com o estudo de van der Burgt, 1999³⁰.

	Presente estudo	total	van der Burgt <i>et al</i> . 1999 SN moderado	SN grave
QI Total média (min-max)	57,1 (51-90)	86,14 (48-130)	90,8	80,6
QI Verbal média	63,78	89,26	95,26	82,13
QI Realização Média	56,89	85,86	87,37	84,06
Atraso Mental (QI<70)	88,9%	23%	-	-
QI normal (>85)	11,1%	34%	-	-
Ensino especial	90%	43%	21%	70%

plo, no nosso estudo, o caso 6, com QI-V de 99 e um QI-R de 86. Aliás, este é o nosso único caso *index* avaliado com um QI considerado normal, superior a 85.

Observamos no nosso estudo uma frequência de atraso mental (88,9%) extremamente elevada, o que pode estar relacionado com o facto de esta ser uma situação claramente subdiagnosticada e em que apenas serão referenciados a consultas de genética os casos mais graves com o correspondente enviesamento da nossa amostra (o que também é demonstrado pela elevada prevalência de baixa estatura assim como de outras características fenotípicas). De referir que, como é habitual neste tipo de patologia, existem limitações importantes neste tipo de avaliação de desenvolvimento, não só relacionadas com a adaptação da escala utilizada para idades precoces como pelas dificuldades de compreensão e de concentração/atenção notadas que, por exemplo, impossibilitaram a realização de qualquer tipo de avaliação num dos casos (caso 10). Por outro lado, nunca é demais referir o carácter multifactorial no desenvolvimento intelectual e que outras causas podem estar envolvidas, sendo imperativo a realização de uma investigação etiológica apropriada nestes casos, podendo ser necessário prosseguir a investigação nos casos com mutação identificada e com um défice intelectual grave.

Quanto à comparação entre os grupos com e sem mutação PTPN11 (Quadro III), os vários estudos são pouco detalhados neste campo mas tudo indica que a variabilidade será a regra em ambos os grupos, sem diferenças significativas entre eles. Foi sugerido em alguns estudos que a mutação no *hotspot* N308D (922A>G) estaria associada a uma menor prevalência de défice cognitivo^{9,15}. Na família identificada, o pai recusou a avaliação psicológica (embora aparentemente normal) e a filha tem um QI total de 51.

Uma criança com SN deverá ser sempre submetida a uma cuidada avaliação do desenvolvimento em idade precoce de modo a permitir a implementação das medidas antecipatórias de intervenção adequadas. Esta é uma das principais áreas de intervenção dos cuidados médicos na promoção e vigilância de saúde em crianças/adultos com SN.

Conclusões

Sendo o SN uma patologia frequente, subdiagnosticada e que se relaciona com diversas áreas de intervenção médica, tanto em crianças como em adultos, o seu seguimento através de um correcta abordagem interdisciplinar não pode ser negligenciado. Este passa impreterivelmente por aconselhamento genético cuidadoso, pelo acompanhamento dos resultados da investigação e pela realização de mais estudos na população portuguesa de modo a clarificar todos estes aspectos.

O estudo molecular do gene PTPN11, pelo menos dos exões 3 e 8, deve ser, na nossa opinião, incluído na prática clínica quando cumpridos os critérios diagnósticos de SN. As vantagens desta medida são múltiplas: confirmar o diagnóstico e permitir um aconselhamento genético mais preciso (e mesmo possibilitar um diagnóstico pré-natal, nos casos em que a gravidade o justifique); permitir um melhor seguimento de alguns casos, como nos casos com mutações que confirmam maior

susceptibilidade para doenças mieloproliferativas; explorar o estabelecimento de outras correlações genótipo-fenótipo; seleccionar os casos para futuras terapêuticas específicas, dirigidas ao bloqueio da via metabólica da proteína SHP-2, tendo já havido alguns estudos neste sentido e, por exemplo, na eventualidade de haver alguma conclusão sobre os benefícios da terapêutica com hormona do crescimento, também objecto de múltiplos estudos; permitir avaliar melhor os casos sem mutação identificada no estudo completo, na tentativa de esclarecer a sua etiopatogenia como é o caso do pequeno número de casos de SN com mutação no gene *KRAS*.

Referências

- Noonan JA. Hypertelorism with Turner phenotype. A new syndrome with associated congenital heart disease. *Am J Dis Child* 1968;116:373-80.
- Noonan, JA. Noonan syndrome. An update and review for the primary paediatrician. *Clin Paediatr* 1994;33:548-55.
- 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 Paediatr* 1999;135:703-6.
- Nora JJ, Nora AH, Sinha AK, Spangler RD, Lubs HA. The Ullrich-Noonan syndrome (Turner phenotype). *Am J Dis Child* 1974;127:48-55.
- Jamieson CR, van der Burgt I, Brady AF, van Reen M, Elswawi MM, Hol F, et al. Mapping a gene for Noonan syndrome to the long arm of chromosome 12. *Nat Genet* 1994;8:357-60.
- 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;53:187-91.
- 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.
- 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;29:465-8.
- Tartaglia M, Kalidas K, Shaw A, Song X, Musat DL, van der Burgt I, et al. PTPN11 mutations in Noonan syndrome: molecular spectrum, genotype-phenotype correlation, and phenotypic heterogeneity. *Am J Hum Genet* 2002;70:1555-63.
- Maheshwari M, Belmont J, Fernbach S, Ho T, Molinari L, Yakub I, et al. PTPN11 Mutations in Noonan syndrome type I: detection of recurrent mutations in exons 3 and 13. *Hum Mutat* 2002;20:298-304.
- Musante L, Kehl HG, Majewski F, Meinecke P, Schweiger S, Wiczorek D, et al. 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;11:201-6.
- Sarkozy A, Conti E, Seripa D, Digilio MC, Grifone N, Tandoi C, et al. Correlation between PTPN11 gene mutations and congenital heart defects in Noonan and LEOPARD syndromes. *J Med Genet* 2003;49:704-8.
- Zenker M, Buheitel G, Rauch R, Koenig R, Bosse K, Kress W, et al. Genotype-phenotype correlations in Noonan syndrome. *J Paediatr* 2004;144:368-74.
- Yoshida R, Hasegawa T, Hasegawa Y, Nagai T, Kinoshita E, Tanaka Y, et al. Protein-tyrosine phosphatase, nonreceptor type 11 mutation analysis and clinical assessment in 45 patients with Noonan syn-

- drome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:3359-64.
15. Jongmans M, Otten B, Noordam K, van der Burgt I. Genetics and Variation in Phenotype in Noonan Syndrome. *Horm Research* 2004;62(3):56-9.
 16. Chen B, Bronson RT, Klamann LD, Hampton TG, Wang JF, Green PJ, et al. Mice mutant for *Egfr* and *Shp2* have defective cardiac semilunar valvulogenesis. *Nat Genet* 2000;24:296-9.
 17. Fragale A, Tartaglia M, Wu J, Gelb BD. Noonan syndrome-associated SHP2/PTPN11 mutants cause EGF-dependent prolonged GAB1 binding and sustained ERK2/MAPK1 activation. *Hum Mutat* 2004;23:267-77.
 18. Lee WH, Raas-Rotschild A, Miteva MA, Bolesco G, Rein A, Gillis D, et al. Noonan Syndrome type 1 with PTPN11 3 bp deletion: structure-function implications. *Proteins* 2005;58:7-13.
 19. Tartaglia M, Niemeyer CM, Fragale A, Song X, Buechner J, Jung A, et al. Somatic mutations in PTPN11 in juvenile myelomonocytic leukemia, myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Nat Genet* 2003;34:148-50.
 20. Tartaglia M, Cordeddu V, Chang H, Shaw A, Kalidas K, Crosby A, et al. Paternal germline and sex-ratio distortion in transmission of PTPN11 mutations in Noonan syndrome. *Am J Hum Genet* 2004;75:492-7.
 21. Schubert S, Zenker M, Rowe SL, Boll S, Klein C, Bollag G, et al. Germline *KRAS* mutations cause Noonan syndrome. *Nat Genet* 2006;38:331-6.
 22. Legius E, Schrandt-Stumpel C, Schollen E, Pulles-Heintzberger C, Gewillig M, Fryns JP. PTPN11 mutations in LEOPARD syndrome. *J Med Genet* 2002;39:571-4.
 23. Ion A, Tartaglia M, Song X, Kalidas K, van der Burgt I, Shaw AC, et al. Absence of PTPN11 mutations in 28 cases of cardiofaciocutaneous (CFC) syndrome. *Hum Genet* 2002;111:421-7.
 24. Schollen E, Matthijs G, Legius E, et al. Mutation in the gene for protein tyrosine phosphatase SHP-2 (PTPN11) in a large family with Noonan/cardio-facio-cutaneous syndrome. *Eur J Hum Genet* 2002:P0775
 25. Nihori T, Aori Y, Narumi Y, Neri G, Cave H, Verloes A, et al. Germline *KRAS* and *BRAF* mutations in cardio-facio-cutaneous syndrome. *Nat Genet* 2006; 38:294-6.
 26. De Luca A, Botillo I, Sarkozy A, Carta C, Neri C, Bellachio A, et al. *NF1* gene mutations represent the major molecular event underlying Neurofibromatosis-Noonan Syndrome. *Am J Hum Genet* 2005. 77:1092-101.
 27. Troger B, Kutshe K, Bolz H, Luttgen S, Gal A, Almassy Z, et al. No mutation in the gene for Noonan syndrome, PTPN11, in 18 patients with Costello syndrome. *Am J Med Genet* 2003;121:82-4.
 28. Aoki Y, Nihori T, Kwame H, Kurosawa K, Ohashi H, Tanaka Y, et al. Germline mutations in *HRAS* proto-oncogene cause Costello Syndrome. *Nat Genet* 2005;37:1038-40.
 29. Weisman C, Hager A, Kaenmmerer H, Maslen C, Morris C, Schranz D, et al. *PTPN11* mutations play a minor role in isolated congenital heart disease. *Am J Med Genet* 2005;136A:146-51.
 30. van der Burgt I, Thoonen G, Roosenboom N, Assman-Hulsmans C, Gabreels F, Otten B, et al. Patterns of cognitive functioning in school-aged children with Noonan syndrome associated with variability in phenotypic expression. *J Paediatr* 1999;135:707-13.