

# Neuro-cardio-facio-cutana syndrom och dysreglering av RAS-MAPK signaleringen

Lars Hagenäs<sup>1,2</sup>, Pål Rasmus Njølstad<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Barnendokrinologiska Enheten, Astrid Lindgrens Barnklinik,  
Karolinska Sjukhuset, Stockholm, Sverige;

<sup>3</sup>Institut för klinisk medicin, Universitetet i Bergen og

<sup>4</sup>Barneklivnikken, Haukeland Universitetssykehus, Bergen, Norge

## Dysreglering av RAS-MAPK signaleringen orsakar en rad syndrom hos människa

En störd intracellulär RAS-MAPK (mitogen-activated protein kinase) signalering orsakar Noonans syndrom och flera andra syndrom som har Noonan-överlappande fenotyp. Dessa omfattar CFC (cardio-facio-cutant) syndrom, Costellos syndrom, neurofibromatos typ 1 (NF1), LEOPARD-syndrom och Neurofibromatos-Noonans syndrom. Gemensamma drag är speciella ansiktsdrag, hjärtfel, kortvuxenhet, hudabnormiteter, inlärningssvårigheter eller mental retardation och ökad risk för maligniteter (1). På grund av den likartade cellbiologiska bakgrunden och de fenotypiska likheterna har man föreslagit samlingsnamnet "Neuro-cardio-facio-cutana syndrom" (NCFC) alternativt RAS/MAPK-syndrom.

(Fotnote):

<sup>2</sup>: Korrespondans till:  
Docent Lars Hagenäs  
Barnendokrinologiska Enheten  
Astrid Lindgrens Barnklinik  
Karolinska Sjukhuset  
S-171 76 Stockholm  
Sverige  
E-post: lars.hagenas@ki.se

## Presentation av RAS-MAPK signaleringsvägen

Den intracellulära RAS-MAPK-signaleringen aktiveras som svar på extracellulära stimuli; speciellt sådana förmedlade via tyrosinkinaser, cytokinreceptorer, calciumkanaler och integriner. Signaleringen leder, via en signalförstärkande proteinkinaskaskad, till fosforylering av nukleära komponenter och påverkar gentranskription. Speciellt är extracellulärt initierade processer som proliferation, differentiering och celldöd förmedlade via denna signalväg (se Figur 1).

Starten utgörs av en cellmembranbunden komponent; t.ex. en tyrosinkinaserceptor som efter att ha aktiverats av sin extracellulära ligand fungerar som ett förankrings- (docking-) protein för det intracellulära Grb2-SOS1 komplexet som därmed rekryteras till cellmembranen. Detta kan därefter binda RAS-GDP varvid utbytet av GDP mot GTP faciliteras. RAS-GTP är den effektormolekyl som startar en signalförstärkande enzymkaskad via en rad kinaser RAF-MEK-ERK. Det sista kinaset passerar efter aktivering in i cellkärnan och fosforylerar nukleära transkriptionsreglerande komponenter. Signaleringen termineras genom att RAS, som har en inneboende GTP:as-aktivitet, hydrolyserar RAS-GTP till det inaktiva RAS-GDP. GTP:as-aktiviteten stimuleras av specifika proteiner, speciellt NF1 (neu-

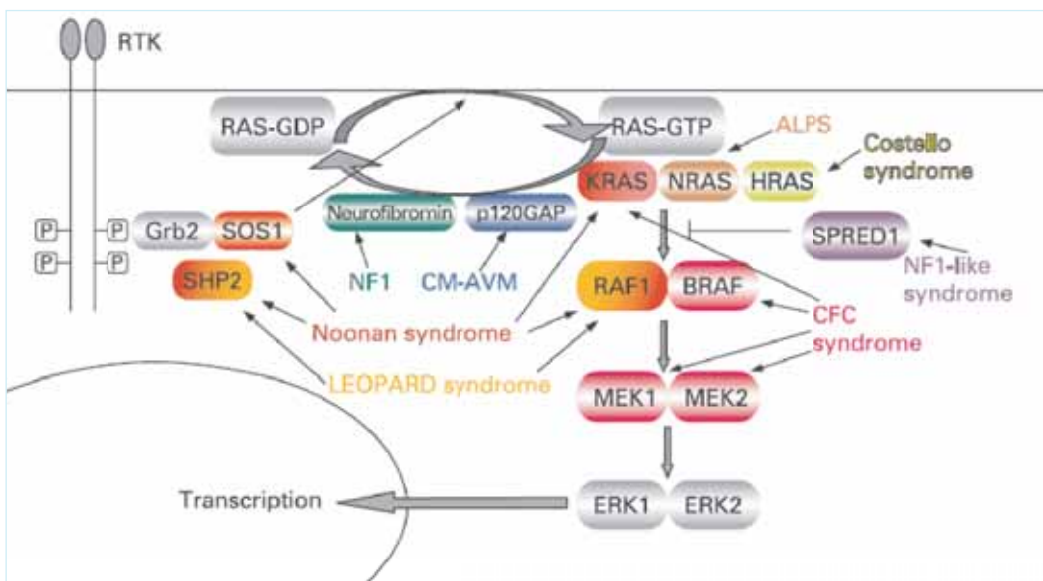
rofibrin). Intracellulära fosfataser defosforylerar dessutom de olika kinaserna och inaktiverar därigenom dem (2-4).

## Mer om RAS och RAS-reglering

De små intracellulära RAS-proteinerna (H-RAS, N-RAS och K-RAS) är medlemmar i en stor familj GTP-aktiverade signalmolekyler som reglerar viktiga cellulära funktioner. I och med upptäckten av mutationer i komponenter som reglerar RAS-aktiviteten, neurofibromingenen vid neurofibromatos typ-1 (NF1) och PTPN11 genen vid Noonans syndrom, började man förstå att en störd RAS-signalering ligger bakom dessa och andra likartade syndrom. Gemensamt för de flesta av dessa mutationer är att de åstadkommer en aktivering av RAS-signaleringsvägarna. Förutom Noonans syndrom och NF1 är de fenotypiskt överlappande Costellos, CFC (cardiofaciocutant)

och LEOPARD-syndrom orsakade av RAS-dysreglering. RAS-familjen är annars främst känd för att vara associerad till olika cancerformer och RAS samt dess närmaste "nedströms" aktiverade komponent RAF betecknas som protoonkogen (5,6). Somatiska mutationer som ger ökad signalering i MAPK-vägarna återfinns i upp till en tredjedel av alla humana tumörer med högst prevalens för adenocarcinom i pancreas, colon tyreoidea och lunga. De flesta av dessa tumörer har aktiverande KRAS-mutationer och en mindre andel HRAS-mutationer. Aktiverande RAF-mutationer finns i 7 % och i en liten andel finns PTPN11-mutationer.

RAS-proteinerna blir vid aktivering associerade till cytoplasmamembranen efter det att farnesyltransferas kopplat på en lipidkedja. De fungerar som strömbrytare för signalöverföring från olika membranreceptorer genom att pendla mellan aktiv, GTP-bunden och inaktiv, GDP-bunden form. Det GTP-bundna RAS interagerar med



Figur 1

Översikt av RAS-MAPK signaleringen och de syndrom som är associerade med denna signalering. Den normala signaleringen inkluderar aktivering av t.ex. en tyrosinkinaserceptor (tyrosinautofosforylering) via sin extracellulära ligand. Denna binder därefter till SH2 domäner på Grb2-SOS1 komplexet som därigenom blir associerat till cellmembranet. SOS1 är ett GEF (guanin-nucleotide exchange) protein som faciliterar utbyte av GDP bundet till RAS mot GTP varvid RAS aktiveras. Förutsättningen för RAS-aktivering är membranassociation vilket sker efter modifiering av RAS med en acylgrupp vilket ombesörjes av farnesyltransferas. RAS-GTP aktiverar RAF och en "nedströms" kaskad av kinaser varav den sista, ERK, translokeras intranukleärt och fosforylerar nukleära komponenter som är aktiva i transkriptionsregleringen. Bild från Denayer et al. 2008 (1).

fler än 20 effektormolekyler inkluderande RAF och fosfatidylinositol-3-kinas (PI3K). Rasproteinerna har en inneboende, svag, GTPas-aktivitet som regleras genom inflytande från andra proteiner; dels GAPs (GTPase activating proteins) som ökar GTPas-aktiviteten och därigenom terminerar signaleringen och dels GEFs (guanine nucleotide exchange factors) som faciliterar utbytet av GDP mot GTP och därigenom startar en ny aktiveringscykel. Balansen mellan GAP och GEF proteinerna reglerar därför normalt RAS-aktiviteten (7).

## Andra komponenter i MAPK (RAS/RAF/MEK/ERK)-signaleringsvägen

**SHP2** är ett allmänt förekommande protein-tyrosin-fosfatase (PTP) som kodas av PTPN11-genen. SHP2 aktiverar intracellulära signaleringsvägar, speciellt RAS/MAPK-signaleringen, i motsats till de flesta andra fosfataser som istället reglerar signalering. Det binder till och aktiveras normalt av komponenter uppströms i signaleringsvägen såsom IRS1 (insulin receptor substrate 1) och Gab1 (Grb2-associated binder 1) eller direkt av tyrosinkinaser såsom PDGF, FGFR och EGFR.

SHP2 fungerar dels som ett adaptorprotein vilket gör att andra signaleringsmolekyler lokaliserar sig membran nära och dels som ett enzymatiskt aktivt fosfatase. Vid aktivering binder SHP2 bland annat Grb2-SOS1. Mutationer av PTPN11 som ger en konstitutionell aktivering av enzymaktiviteten finns vid Noonans syndrom samt också vid olika cancerformer, i synnerhet leukemi. Gemensamt för de somatiska tumörmutationerna är att de ger en högre fosfataseaktivitet än "syndrommutationerna". Inaktiverande mutationer av PTPN11 finns vid LEOPARD-syndrom.

**Neurofibromin** är NF1 genens proteinprodukt och ett GAP-protein som normalt är en negativ regulator av RAS/MAPK-signaleringen. Vid neurofibromatos är NF1 muterat eller deleterat vilket "läser" RAS i en aktiv, GTP-bunden form. Homozygot inaktivering av NF1 återfinns i tumörer vid NF1-syndromet.

**RAF** är ett serin/treoninkinase och existerar i tre former hos människa A-, B- och C-RAF (CRAF kallas vanligen RAF1). Dessa är de effektormolekyler som aktiveras av RAS i MAPK-signaleringen.

RAF aktiverar i sin tur ERK1/2 via de intermediära kinaserna MEK 1/2. ERK1/2 reglerar sedan en rad transkriptionsfaktorer. Till skillnad mot ARAF- och CRAF- är BRAF-mutationer vanliga vid många cancerformer.

**Grb2** är en "adapter"molekyl som är konstitutionellt bunden till SOS1 via sin SH3-domän. SOS1-Grb2 komplexet binder via SH2 domäner på Grb2 till den aktiverade tyrosinkinase-receptorn.

**SOS1** är ett GEF-protein och är konstitutivt associerat med Grb2. När detta komplex binds till en aktiverad membranreceptor, kan SOS (som därigenom blir associerat till cellmembranen) aktivera RAS-signaleringen genom att facilitera utbytet av RAS-GDP mot GTP som finns i tio gånger högre koncentration i cytoplasman än GDP. SOS1-mutationer är efter PTPN11 mutationer de näst vanligaste vid Noonans syndrom. De beskrivna mutationerna drabbar i likhet med dem för PTPN11 den autoinhibitoriska regionerna vilket medför konstitutionell aktivering av respektive SOS1 och PTPN11. SOS1-mutationspositiva Noonan-individer har på gruppnivå en distinkt fenotyp inom Noonan-spektrat (vide infra).

## Noonans syndrom

Den amerikanska kardiologen Jaqueline Noonan beskrev redan 1962 barn med kongenitala hjärtfel och speciella kroppsliga drag (se ref 8 för återblick) men det var först 2001 som man fick en definitiv genetisk bakgrund i och med att Marco Tartaglia et al. påvisade mutationer i PTPN11-genen hos omkring hälften av individerna med Noonans syndrom (9). 2007 upptäcktes mutationer i SOS1-genen, den näst vanligaste kända orsaken bakom Noonans syndrom (10-13). Mutationer i flera andra gener associerade till MAPK-signaleringen har därefter påvisats (14) (Tabell 1 och 2).

**Incidens:** Noonans syndrom är sannolikt påtagligt underdiagnostiserat. I litteraturen anges en incidens av en per 1.000 till 2.500 levande födda vilket skulle motsvara upp till 100 nya fall i Sverige och 50 i Norge per år. Hjärtfel anges finnas hos 55-85 % av fallen men detta är säkerligen en överskattad frekvens eftersom diagnosen ofta etableras via förekomsten av hjärtfel.

Tabell 1

RAS-MAPK-associerade gener och tillstånd med köncells- och somatiska mutationer

Gen	Protein	OMIM	Köncellsmutationer	Somatiska mutationer
PTPN11	SHP-2	176876	Noonan, LEOPARD	Leukemier, solida tumörer
KRAS	KRAS	190070	Noonan, CFC, Costello	Lung-, colon- och pankreascancer
HRAS	HRAS	190020	Costello	Cancer i urinblåsan
BRAF	BRAF	164757	CFC	Malignt melanom, colon- och thyreoideacancer
MAP2K1	MEK1	176872	CFC	
MAP2K2	MEK2	601263	CFC	

Tabell 2

Genetiska syndrom orsakade av köncellsmutationer i gener relaterade till RAS-MAPK signaleringen

Syndrom	Gen	Frekvens (%)
Noonan	PTPN11	50
	SOS1	10-15
	RAF1	3-17
	KRAS	<5
	BRAF	<1
	MEK1	<1
CFC	BRAF	40-75
	MAP2K1	5-12
	MAP2K2	5-12
	KRAS?	<1
Costello	HRAS	90-100
LEOPARD	PTPN11	85
	RAF1	5

## Fenotyp vid Noonans syndrom

Den kliniska diagnosen ställs ofta med utgångspunkt från speciella ansiktsdrag som finns tillsammans med hjärtfel och något annat särdrag enligt van der Burgts klassifikation (Tabell 3 och Figur 2).

**Hjärtfel:** Det typiska hjärtfelet vid Noonans syndrom är pulmonalisstenos som rapporteras hos 20-50 %. Andra vitier som förekommer är ASD och VSD. Dessutom diagnosticeras hypertrofisk kardiomyopati, ofta redan under tidig barndom, hos 20-30 % .

**Neurologiskt och kognitiv utveckling:** Variabel, oftast mild, utvecklingsförsening (16) både motoriskt och kognitivt hos 25-35 %. Muskulär hypotoni är bidragande. Ofta föreligger inlärningssvårigheter men de flesta barnen går i vanliga klasser med eller utan specialstöd. Talutvecklingen är ofta försenad och verbal prestationsförmåga är lägre än den icke verbala. Det är vanligt med artikulationssvårigheter. Hörselnedsättning och dövhet förekommer.

**Ansiktsfenotyp:** Bred, välvd panna, hypertelorism, ptos eller tunga tjocka ögonlock, lätt grad av myotoni av ansiktsmuskulaturen, antimongolställda ögonspringor, klarblå eller grönblå iris, lågt sittande bakåtroterade öron med vulstig helix, hög gom, bred nacke - ibland med pterygium, lågt härfäste, grova krusiga samt ibland

spröda och glesa hårstrån på huvudet. Den typiska ansiktsfenotypen blir mindre uttalad för den vuxne.

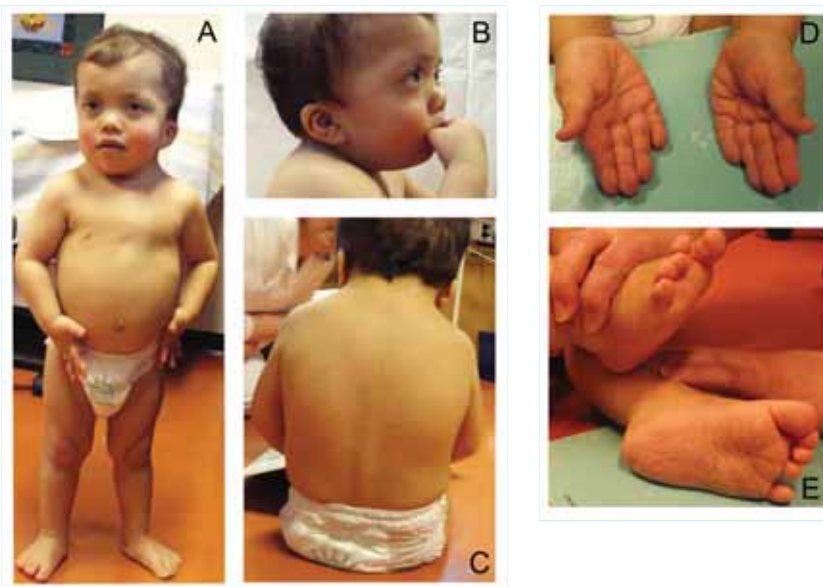
**Övrig fenotyp:** Det är vanligt med uppfödningssproblem inklusive gastrointestinala problem med kräkningar, reflux, uppblåsthet, buksmärtor och förstoppning. Nutritionsproblemen kan delvis bero på muskulär hypotoni. Ledlaxitet förekommer. En mild blödningsbenägenhet beroende på olika koagulationsdefekter (cave salicylika) är vanlig. Thoraxdeformitet eller skolios finns hos 95 %, typiskt är pectus carinatum överst och pectus excavatum nederst. Café-au-lait-pigmentering eller pigmenterade nevus (lentiginos). Follikulär keratos. Brytningsfel - myopi. Skelning. Nystagmus. Epicantus. Lymfkärlsanomalier med lymfödem; någon gång intestinal eller pulmonell lymfangiektasi. Ökad risk för vissa tumörer bl.a. juvenil myelomonocytär leukemi - JMML, ALL, rhabdomysarcom samt jättecellstumörer i skelettet (17).

**Prenatala fynd:** På grund av lymfkärlsdefekt är fetalt cystiskt hygrom; eventuellt med polyhydramnios, ascites, pleurala eller pericardiella effusioner förekommande och bör då föranleda fetalt hjärtultraljud. Ett uttalat nackhygrom kan orsaka det postnatala fyndet med extra nackskin.

Tabell 3

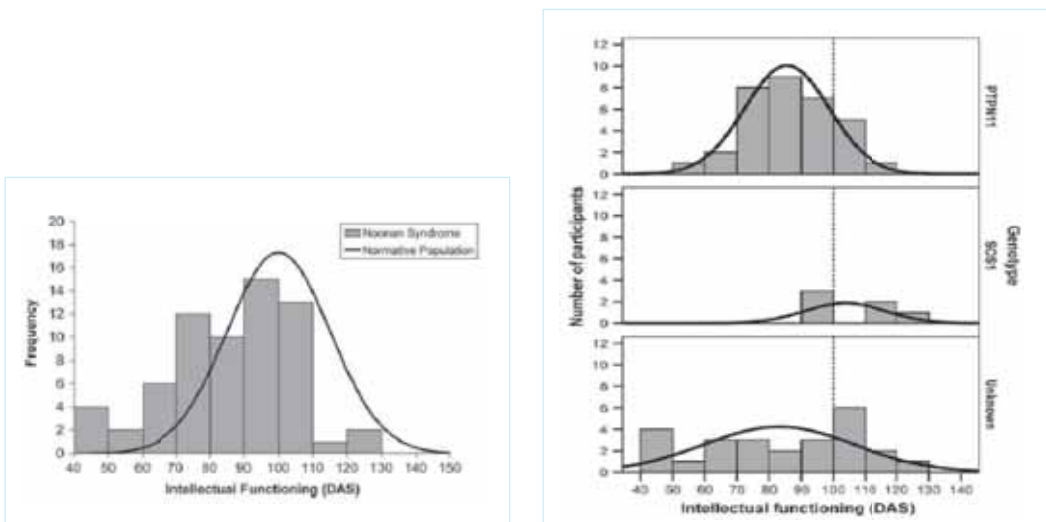
van der Burgts klassifikationssystem för Noonans syndrom (1994). Primärt bedöms ansiktsfenotyp. Typiska ansiktsdrag tillsammans med något annat av huvudkriterierna alternativt tillsammans med två av bikriterierna räcker för att ställa den kliniska diagnosen (15).

Kliniska karakteristika	Huvudkriterier	Bikriterier
Ansikte	Typiska ansiktsdrag	Misstänkta ansiktsdrag
Hjärta	Pulmonalisstenos och/eller EKG defekter	Andra hjärtfel
Längd	Under -2 SDS	Under -1,5 SDS
Bröstkorg	Pectus carinatum/excavatum	Bred torax
Familjär förekomst	Förstagradssläkting med definitiv diagnos	Förstagradssläkting med trolig diagnos
Övriga:	Alla tre övriga	Någon av de tre övriga
Mental retardation		
Kryptorkism		
Lymfödem		



Figur 2

Treårig pojke med Noonans syndrom på grund av S259C mutation i RAF1-genen. Bilderna visar A) de typiska dragen med kort och satt kroppsform, stort, fyrkantigt huvud, tendens till trattbröst och plattfothet. B) visar lågt sittande öron med horisontell linje på örsnibbarna. C) visar typiskt bred och kort hals med lågt härfäste liksom pigmenterade naevi. Patienten har lös och skrynklig hud på D) händer och E) fötter. Bilderna är återgivna med tillstånd från barnets vårdnadshavare.



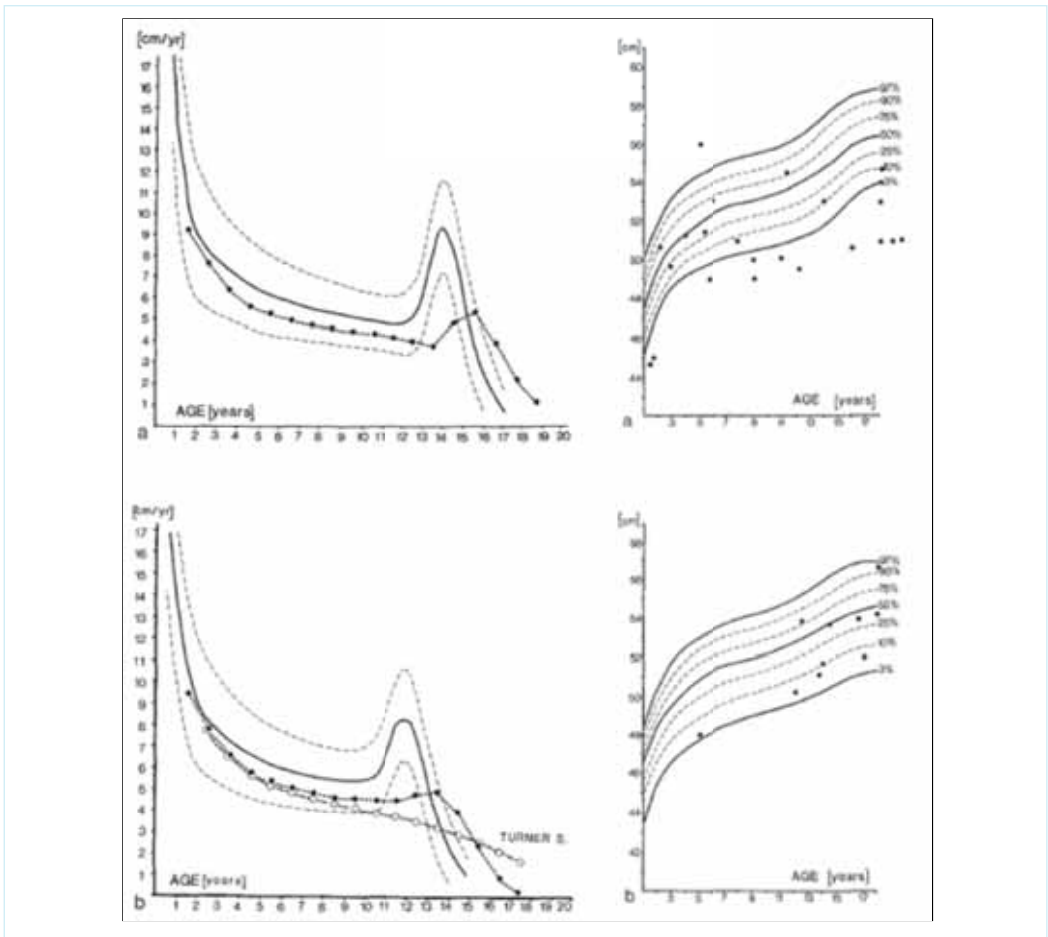
Figur 3

A: Fördelning av kognitiva funktioner hos 65 barn (4-18 år) med Noonans syndrom. Testning med Differential Ability Scales (DAS) som mäter både verbal och nonverbal förmåga. B: Fördelning av kognitiva funktioner för barn med Noonans syndrom fördelat på de med PTPN11- och SOS1- mutationer respektive mutationsnegativa alternativt ej genetiskt testade. Normalkurvan för respektive grupp utritad och normalpopulationens medel är markerad med streckad linje. Från Pierpont et al. 2009 (16).

**Tillväxt och pubertet:** Tillväxten vid Noonans syndrom är generellt sett påverkad först post-natalt med en genomsnittslängd i vuxen ålder motsvarande cirka -2 SDS för båda könen (Figur 4) (18-23). Kroppsproportionerna är normala. Tillväxtfasen är förlängd upp mot 20-årsåldern beroende på försenad pubertet. Det saknas tillräckliga data på kopplingen mellan grad av tillväxtstörning och de olika "Noonan-generna" även om de med SOS1-mutation tycks bli normallånga och de med KRAS-mutation särskilt korta. Variabiliteten för längdpåverkan av en specifik mutation för en viss gen samt den intrafamiljära

längdvariabiliteten behöver också kartläggas. En hypogonadism resulterande i kryptorkism hos hälften av männen samt, för båda könen, en mer än två år försenad pubertet är typiskt. Männen kan dessutom ha tecken till gonadskada med förhöjt FSH och sub normalt inhibin B (24). Fertiliteten är antagligen ibland nedsatt hos männen.

**Mutationsspektrum vid Noonans syndrom:** En rad gener har visats vara muterade vid Noonans syndrom (Tabell 2 och 4). Mellan 30-75 % rapporteras vara familjära fall med någon afficerad förälder. De novo mutationer tycks vara exklusivt paternella och associerade till ökad paternell



Figur 4

A: Åldersrelaterad genomsnittlig tillväxthastighet för individer med Noonans syndrom jämfört med Tanners standard. Pojkar (ovan) och flickor (nedan). Tillväxthastighet för flickor med Turners syndrom (öppna cirklar) visas som jämförelse. Pubertetsspurten är för båda könen klart försenad och tillväxtfasen är tydligt förlängd. B: Skallomfång för 23 pojkar (ovan) och 10 flickor (nedan) med Noonans syndrom jämfört med Praders 1980 standard. Från Ranke et al. 1988 (20).

## Tabell 4

OMIM listar fem varianter av Noonans syndrom (NS1-5). Strategi vid genetisk testning

NS1 Autosomalt dominant form orsakad av mutationer i PTPN11
NS2 Autosomal recessiv form med oklar genetisk bakgrund. Enbart enstaka fall rapporterade. Fenotypiskt anges en mer uttalad form av hypertrofisk kardiomyopati än vid de autosomalt dominanta formerna. Möjlighet att NS2 istället orsakas av könscellslinjer
NS3 Autosomalt dominant form associerat till mutationer i KRAS
NS4 Autosomalt dominant associerat till mutationer i SOS1
NS5 Autosomalt dominant form som är associerat till mutationer i RAF1
Dessutom orsakas neurofibromatos-Noonans syndrom av mutationer i neurofibromingenen (NF1) som också orsakar neurofibromatos typ 1.
I Gene Tests som är kopplat till OMIM föreslås följande analysstrategi vid misstänkt Noonans syndrom. Initialt analys av PTPN11 exon 3, 8, 9 och 13. Vid negativt fynd analys av SOS1 exon 1-23. Först därefter sekvensering av resterande exon i PTPN11 samt av RAF1 exon 7, 14 och 17. I sista hand analys av resterande RAF1 exon och KRAS exon 1-6.

ålder. Mutationsnegativa för kända gener är 35 %. Deletioner av större genavsnitt har med något undantag inte rapporterats och CGH-array är därför ingen screeningmetod vid misstänkt Noonans syndrom.

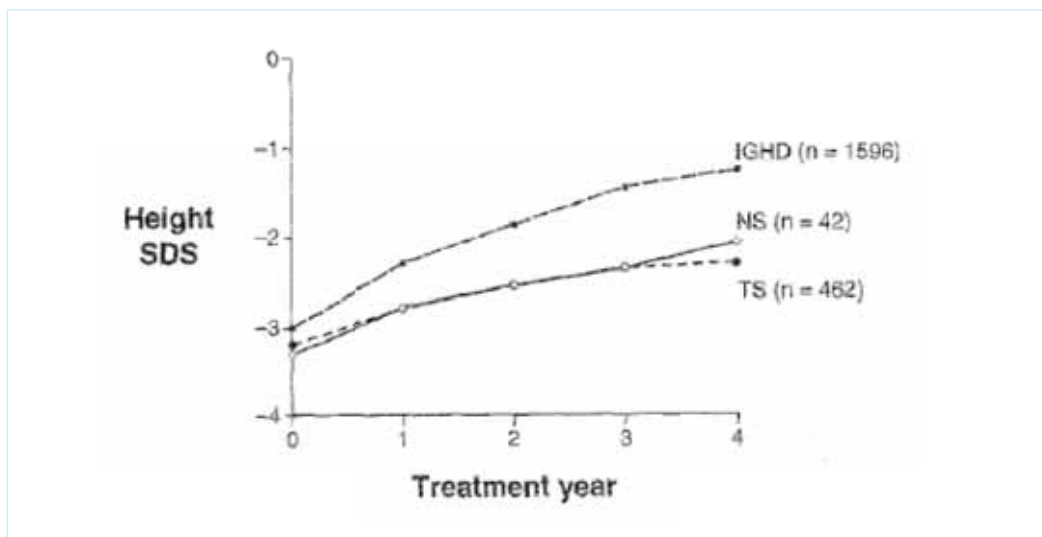
*Fenotyp-genotyp korrelation vid Noonans syndrom:* Det finns en fenotypisk överlappning för mutationer i de olika generna men även en avsevärd intrafamiljär fenotypisk variation för samma mutation där mutationspositiva individer kan ha mycket diskreta tecken. Screening av populationer med idiopatisk kortvuxenhet har dock hittills inte kunnat påvisa Noonan-associerade mutationer. Till exempel har Ferreira et al. (25) visat att hos 50 ISS-individer som selekterats för minst två Noonan-associerade fenotypiska drag ingen hade mutation i PTPN11. Vissa symtom är oftare förekommande vid speciella mutationer. T.ex. är pulmonalisstenos kopplat till PTPN11-mutationer medan kardiomyopati är typiskt för RAF1-mutationer. Vid SOS1-mutationer är det vanligt med ektodermala symtom, normal kroppslängd och normal kognitiv utveckling. En mer allvarlig fenotyp med kortvuxenhet och mental retardation är associerat till KRAS och BRAF-mutationer (26).

## Tillväxthormonbehandling vid Noonans syndrom och frågan om GH-resistens

Sedan 1996 har en rad studier om GH-behandling vid Noonans syndrom publicerats (27-39). Antalet individer i studierna är ofta litet och publicerade data lider av svagheterna att vara heterogent och/eller oklara med avseende på genetisk bakgrund, pubertetsstadium och GH-behandlingsdos. Många studier redovisar retrospektiv sammanställning av data från flera behandlingscentra vilket försvagar analyserna. När det gäller publikationer som gör genotyp-fenotyp jämförelser så har mutationsanalys gjorts så gott som enbart för PTPN11-genen. Längder vid behandlingsstart är påfallande uniforma mellan studierna, omkring -3 SDS, oftast utan signifikant skillnad mellan PTPN11-mutationspositiva och -negativa. Detta gäller även spontan eller GH-behandlad vuxen slutlängd. Startålder är typiskt omkring 9-10 år och pubertetsdata är ofta påfallande dåligt redovisat. GH-provokationstestning visar normala GH-nivåer men låga IGF-I och IGFBP3-nivåer. Med något undantag finns det inga signifikanta skillnader mellan PTPN11-mutationspositiva och -negativa för GH, IGFI eller IGFBP3 basalt eller under GH-behandling.

Tillväxtresponen under det första GH-behandlingsåret är mycket varierande; typiskt





Figur 5

Längdutveckling under de fyra första GH-behandlingsåren för diagnoserna Turners och Noonans syndrom samt idiopatiskt tillväxthormonbrist. Från National Cooperative Growth Study; en post marketing study för Genentech som registrerar GH-behandlade patienter i USA och Canada. Den innehåller totalt 150 patienter med Noonans syndrom (28).

mellan 0,3-0,6 SDS i ökning av relativ längd). Längdökningen år två och tre är oftast blygsam eller obefintlig. Sammantaget är längdresponser under de första tre-fyra behandlingsåren liknande den vid andra icke GH-bristiga tillstånd som Turners syndrom och ISS (Figur 5). Den använda GH-dosen är i många av studierna högre än normaldosen 33 µg/kg/dag men det finns ingen konsekvent dos-respons relation.

Data för GH-behandlad slutlängd redovisas i några publikationer. De två post marketing register rapporterna om slutlängd beräknar vinsten till respektive 3,1 cm (29) och 0,6 SDS (39). De två formella, prospektiva studierna har däremot betydligt bättre resultat. Den ena, svenska studien, med beräknad vinst av respektive 1,8 och 1,5 SDS för flickor och pojkar och utan signifikant skillnad mellan normal (33 µg/kg/dag) eller hög (66 µg/kg/dag) GH-dos (35). Den andra, holländska studien, beräknade vinsten vid slutlängd till 1,3 SDS med användande av medelhög (50 µg/kg/dag) GH-dos (38). Effekten på slutlängd tycks därmed vara liknande den vid GH-behandling av Turners syndrom och ISS. Noonans syndrom är nu en i USA godkänd indikation för GH-behandling i doser upp till 66 µg/kg/dag.

Gällande slutlängd skall noteras att längdtill-

växten avslutas senare än normalt vid Noonans syndrom beroende på försenad pubertetsutveckling; den återstående tillväxten vid 17 års ålder är för pojkar genomsnittligt 8,6 cm för pojkar och 2,0 cm för flickor (19). För slutlängdsangivelser, både för spontantillväxt och efter GH-behandling, bör därför en så gott som avstannad tillväxt dokumenteras. De konventionellt använda kriterierna på nära adult längd; <2 cm/år är troligen mindre relevanta i de fall tillväxtfasen är förlängd som vid Noonans syndrom då en långsam tillväxt kan ske under längre tid.

## Mild GH-resistens? SHP2 och JAK/STAT signalering

Padidela et al. (40) diskuterar liksom Binder et al. (41) omkring möjligheten av mild GH-resistens hos PTPN11 mutationspositiva individer med Noonans syndrom. En ökad SHP2-aktivitet skulle stimulera RAS/MAPK-signaleringen men nedreglera JAK/STAT-signaleringen genom att defosforilera GH-receptorn samt JAK2 och därmed bromsa GH-receptormedierade processer inklusive IGF-I produktionen. Indicierna för en sådan GH-resistens måste emellertid betecknas som

svaga. Till dags dato saknas information om spontantillväxt och effekt av GH-behandling separat för mutationer i de olika Noonanrelaterade generna. Det teoretiska resonemanget grundar sig huvudsakligen publicerade skillnader i längdrespons, vid GH-behandling samt IGF-I och IGFBP3-nivåer mellan de som har eller inte har PTPN11-mutationer. Skillnaderna mellan grupperna i de olika studierna är dock i många fall osäkra eller motsägelsefulla (42).

## Övriga NCFC syndrom

### Costellos syndrom (CS)

Costellos syndrom karakteriseras av ökad födelsevikt, neonatala uppfödningssproblem och postnatal tillväxtretardation (se Søvik et al. i detta nummer av *Pediatrik Endokrinologi*). Typiskt är också diffus hyperpigmentering, vulstig hud i nacken samt i handflator och fotsulor med djupa fårar, nageldystrofi, karakteristiska grova ansiktsdrag med bred panna, intryckt näsrot, epikantusveck, tjocka läppar, periorala papillom, lågt sittande bakåtroterade öron och relativ makrocefali. Mental retardation som är mild till moderat (IQ 25-85) är också karakteristiskt. Hjärtfel finns hos 63 % (pulmonalisstenos, cardiomyopati, rytmrubbningar). Tumörfrekvensen är ökad (förekommer hos 11-17 % av individerna); de vanligaste formerna är rhabdomyosarkom, neuroblastom och blåscancer (43).

Mutationer i HRAS återfinns i 85-90 % av individerna med Costellos syndrom (CS), frekvensen är beroende på hur strikta de kliniska kriterierna är (Tabell 2). De fenotypiska dragen är relativt homogena i fallen med de vanligaste HRAS-mutationerna. Nästan alla av de beskrivna HRAS-mutationerna återfinns som somatiska mutationer i olika cancerformer hos människa. Mutationer av BRAF, MEK1, MEK2 eller KRAS återfinns i mer atypiska Costellofall och visar den fenotypiska överlappningen mellan CS och CFC (44-46).

### CFC - cardio-facio-cutant syndrom

CFC syndrom är fenotypiskt överlappande med Noonans syndrom men med mer uttalad ansiktsfenotyp (se också Søvik et al. i detta nummer av *Pediatrik Endokrinologi*). Som differentiering mot de andra neuro-cardio-facio-cutana

syndromen anges ektodermala, ichtyosliknande symtom med torr, hyperkeratotisk fjällande hud och sparsamt lockigt sprött hår på huvudet. Avsaknad av ögonbryn på grund av hyperkeratos är ett typiskt fynd. Palmoplantar hyperkeratos kan utvecklas vid högre ålder. Liksom vid Costellos syndrom är utvecklingsföreningen mer uttalad än vid Noonans syndrom. Hjärtfel finns hos tre fjärdedelar av individerna (pulmonalisstenos, ASD och hypertrofisk kardiomyopati). I motsats till de andra NCFC-syndromen tycks tumörfrekvensen vid CFC inte vara ökad. Kroppslängden är moderat minskad, enligt en rapport har en fjärdedel en längd nedom 3:e percentilen (47).

BRAF mutationer finns hos 40-78 % (Tabell 2). Mutationer i MEK1 och MEK2 finns hos vardera 5-10 %. PTPN11 mutationer har däremot inte beskrivits vid typisk CFC. Hos en tredjedel av individerna med CFC är den genetiska bakgrunden fortfarande oklar (48).

### LEOPARD-syndrom

Namnet är en akronym för Lentiginos EKG-abnormiteter Okulär hypertelorism Pulmonalisstenos Abnormiteter av genitalia Retardation av tillväxten och sensorineuronal Dövhet.

Syndromet är fenotypiskt överlappande med Noonans syndrom. Typiskt vid LEOPARD är debut av lentiginer från 5-6 årsålder och kraftigt ökande i utbredning mot puberteten. Café au lait pigmenteringsmaculae kan finnas från födelsen. Ansiktsfenotypen är ofta Noonanliknande med hypertelorism, ptos, tjocka läppar och lågt sittande dysmorfa öron. Andra karakteristika är EKG-abnormiteter, hjärtfel - ofta pulmonalisstenos, och progressiv hypertrofisk vänsterkammarmyopati med debut redan i tidig ålder. Thoraxdeformiteter med pectus carinatum och/eller excavatum samt skolios finns hos en stor andel (upp till 75 %). Mild utvecklingsrubbning kan förekomma liksom sensineuronal dövhet. Kryptorkism, hypospadi, kortvuxenhet, försenad pubertet hos båda könen samt, sannolikt, nedsatt fertilitet hos männen är andra fenotypiska drag. På grund av den fenotypiska överlappningen kan en initial Noonandiagnos reklassificeras till LEOPARD-syndrom då en lentiginos blir uttalad (49,50).

Heterozygota mutationer av PTPN11 finns i de flesta fallen (LEOPARD typ 1) men i motsats till

dem vid Noonans syndrom är de inaktiverande (Tabell 2). Mutationer av RAF1 är också beskrivna (LEOPARD typ 2). Enbart omkring 5 % av fallen är mutationsnegativa för dessa gener.

### **Neurofibromatos typ 1 (NF1) och neurofibromatos-Noonan syndrom**

NF1 är ett autosomt dominant tillstånd som karakteriseras av pigmenteringsanomalier i huden –dels hyperpigmenterade makulae s.k. café-au-lait förändringar som uppträder under första levnadsåret (typiskt fler än 6 som är >0,5 cm prepubertalt eller >1,5 cm postpubertalt) och dels fräcknar (freckling) i armhålor och ljumskar samt pigmenterade hamartom-noduli i iris (Lisch-noduli). Typiskt är också makrocefali, kognitiv påverkan med inlärningsproblem och uppmärksamhetsstörning, tumörer i huden och perifera nerver (benigna neurofibrom). Optikusgliom förekommer hos cirka 15 %. De är låggradigt maligna och ger synproblem enbart i 30-50 % av fallen. Tumörlokalisering i synnervskorsningen kan ge pubertas praecox. Hjärnstamsgliom finns hos 17 % av fallen med NF1 relaterade CNS-tumörer och blir lägesmaligna. Även andra tumörer är överrepresenterade inkluderande maligna nervskidetumörer, juvenil myelomonocytär leukemi, feokromocytom, rhabdomyosarkom och neuroblastom (51). NF1 betecknas som en tumorsuppressorgen och en somatisk mutation hos en NF1 individ med förlust även av den normala allelen och resulterande total avsaknad av neurofibrominaktivitet kan vara en orsak till tumörutveckling (52,53).

Kortvuxenhet förekommer och cirka 14 % av individerna har en längd <2 SDS. Av skeletala symtom skall nämnas skolios som ibland blir allvarlig. Vidare generell osteopeni och förtunnad cortex som kan medföra anterolateral böjning av tibia med utveckling till pseudoartros - ett för NF1 typiskt tillstånd. Hjärtfel, ofta pulmonalisstenos, är liksom njurartärstenos och andra kärlmissbildningar överrepresenterat vid NF1.

Majoriteten av individerna har heterozygota mutationer av NF1 genen och cirka 50 % representeras av nymutationer. Genotyp-fenotyp korrelationen är dålig. En minoritet av individerna har mikrodeletioner i NF1 regionen omfattande flera gener vilket är associerat med en mer uttalad tumörfenotyp inkluderande cutana neurofibrom och har vidare tydligare bindvävsymtom med

ledlaxitet och risk för mitralisprolaps. De är ofta längre, har mer inlärningsproblem och mer dysmorfa ansiktsdrag än de med intrageniska NF1-mutationer. Incidensen av NF1 uppskattas till en på 2500 till 3000. Penetransen för tillståndet är nära 100 % men den fenotypiska variabiliteten är påtaglig.

En del individer med NF1-mutationer och NF1-fenotyp har Noonandrag vilket har gett upphov till benämningen neurofibromatos-Noonan syndrom.

### **Sammanfattande kommentarer**

Av NCFC-syndromen är Noonan och neurofibromatos-1 vanliga, vardera med en incidens på en per 1000–3000. De övriga medlemmarna i NCFC-gruppen är däremot klart ovanliga. Det finns en påtaglig fenotypisk överlappning mellan de olika syndromen som i dessutom i vissa fall har gemensamma genetiska defekter (54). Detta gör det svårt att definiera entydiga diagnostiska kriterier som separerar syndromen, i synnerhet som fenotypen ofta förändras med individens ålder. Man kan därför diskutera om det finns behov av en reklassifikation (Se också diskussion i Søvik et al i detta nummer av *Pediatrisk Endokrinologi*). För närvarande kan, sammanfattningsvis, Noonans syndrom kopplas till: PTPN11, SOS1 eller RAF1 (=CRAF) och CFC syndromet till BRAF, MEK1, MEK2 samt Costellos syndrom till HRAS (Tabell 2). Dessutom är LEOPARD syndrom kopplat till PTPN11 eller RAF1 och NF1 kopplat till mutationer i neurofibromingenen.

En reklassifikation skulle kunna bygga på, i första hand den berörda genen, och i andra hand den specifika mutationen. Fenotypen är sannolikt till del beroende av ökningsgraden i MAPK-signaleringsringen och de specifika somatiska mutationer som återfinns i tumörer (och ger en starkare ökning av signaleringsringen) saknas som regel i köns-cellsmutationerna vid NCFC-syndromen. Det är uppenbart att dessa mutationer inte är kompatibla med embryonal utveckling. I motsatt riktning är mutationerna vid NCFC-syndromen förhållandevis sällan associerade till tumörer, undantaget är Costellos syndrom som har en påtaglig tumörutvecklingsrisk (55).

## Referenser

1. Denayer E, de Ravel T, Legius E. Clinical and molecular aspects of RAS related disorders. *J Med Genet.* 2008;45:695-703.
2. Dance M, Montagner A, Salles JP, Yart A, Raynal P. The molecular functions of Shp2 in the Ras/Mitogen-activated protein kinase (ERK1/2) pathway. *Cell Signal.* 2008;20:453-9.
3. Aoki Y, Niihori T, Narumi Y, Kure S, Matsubara Y. The RAS/MAPK syndromes: novel roles of the RAS pathway in human genetic disorders. *Hum Mutat.* 2008;29:992-1006.
4. Tidyman WE, Rauen KA. Noonan, Costello and cardio-facio-cutaneous syndromes: dysregulation of the Ras-MAPK pathway. *Expert Rev Mol Med.* 2008;10:e37.
5. Saxena N, Lahiri SS, Hambarde S, Tripathi RP. RAS: target for cancer therapy. *Cancer Invest.* 2008;26:948-55.
6. Wang S, Yu WM, Zhang W, McCrae KR, Neel BG, Qu CK. Noonan syndrome/leukemia-associated gain-of-function mutations in SHP-2 phosphatase (PTPN11) enhance cell migration and angiogenesis. *J Biol Chem.* 2009;284:913-20.
7. Schubbert S, Bollag G, Shannon K. Deregulated Ras signaling in developmental disorders: new tricks for an old dog. *Curr Opin Genet Dev.* 2007;17:15-22.
8. Noonan J. Noonan syndrome a historical perspective. *Heart Views* 2002;3.
9. 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;29:465-8.
10. Zenker M, Horn D, Wieczorek D, Allanson J, Pauli S, van der Burgt I, Doerr HG, Gaspar H, Hofbeck M, Gillessen-Kaesbach G, Koch A, Meinecke P, Mundlos S, Nowka A, Rauch A, Reif S, von Schnakenburg C, Seidel H, Wehner LE, Zweier C, Bauhuber S, Matejas V, Kratz CP, Thomas C, Kutsche K. SOS1 is the second most common Noonan gene but plays no major role in cardio-facio-cutaneous syndrome. *J Med Genet.* 2007;44:651-6.
11. Roberts AE, Araki T, Swanson KD, Montgomery KT, Schiripo TA, Joshi VA, Li L, Yassin Y, Tamburino AM, Neel BG, Kucherlapati RS. Germline gain-of-function mutations in SOS1 cause Noonan syndrome. *Nat Genet.* 2007;39:70-4.
12. Tartaglia M, Pennacchio LA, Zhao C, Yadav KK, Fodale V, Sarkozy A, Pandit B, Oishi K, Martinelli S, Schackwitz W, Ustaszewska A, Martin J, Bristow J, Carta C, Lepri F, Neri C, Vasta I, Gibson K, Curry CJ, Siguero JP, Digilio MC, Zampino G, Dallapiccola B, Bar-Sagi D, Gelb BD. Gain-of-function SOS1 mutations cause a distinctive form of Noonan syndrome. *Nat Genet.* 2007;39:75-9.
13. Shannon K, Bollag G. Sending out an SOS. *Nat Genet.* 2007;39:8-9.
14. Jorge AA, Malaquias AC, Arnhold IJ, Mendonca BB. Noonan syndrome and related disorders: a review of clinical features and mutations in genes of the RAS/MAPK pathway. *Horm Res.* 2009;71:185-93.
15. van der Burgt I. Noonan syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* 2007;2:4.
16. Pierpont EI, Pierpont ME, Mendelsohn NJ, Roberts AE, Tworog-Dube E, Seidenberg MS. Genotype differences in cognitive functioning in Noonan syndrome. *Genes Brain Behav.* 2008 Dec 10.

17. Flotho C, Kratz CP, Niemeyer CM. How a rare pediatric neoplasia can give important insights into biological concepts: a perspective on juvenile myelomonocytic leukemia. *Haematologica*. 2007;92:1441-6.
18. Witt DR, Keena BA, Hall JG, Allanson JE. Growth curves for height in Noonan syndrome. *Clin Genet*. 1986;30:150-3.
19. Ranke MB, Heidemann P, Knupfer C, Enders H, Schmaltz AA, Bierich JR. Noonan syndrome: growth and clinical manifestations in 144 cases. *Eur J Pediatr*. 1988;148:220-7.
20. Noonan JA, Raaijmakers R, Hall BD. Adult height in Noonan syndrome. *Am J Med Genet A*. 2003;123A:68-71.
21. Yoshida R, Hasegawa T, Hasegawa Y, Nagai T, Kinoshita E, Tanaka Y, Kanegane H, Ohyama K, Onishi T, Hanew K, Okuyama T, Horikawa R, Tanaka T, Ogata T. Protein-tyrosine phosphatase, nonreceptor type 11 mutation analysis and clinical assessment in 45 patients with Noonan syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:3359-64.
22. Limal JM, Parfait B, Cabrol S, Bonnet D, Leheup B, Lyonnet S, Vidaud M, Le Bouc Y. Noonan syndrome: relationships between genotype, growth, and growth factors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:300-6.
23. Shaw AC, Kalidas K, Crosby AH, Jeffery S, Patton MA. The natural history of Noonan syndrome: a long-term follow-up study. *Arch Dis Child*. 2007;92:128-32.
24. Marcus KA, Sweep CG, van der Burgt I, Noordam C. Impaired Sertoli cell function in males diagnosed with Noonan syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2008;21:1079-84.
25. Ferreira LV, Souza SC, Montenegro LR, Malaquias AC, Arnhold IJ, Mendonca BB, Jorge AA. Analysis of the PTPN11 gene in idiopathic short stature children and Noonan syndrome patients. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008;69:426-31.
26. Sarkozy A, Carta C, Moretti S, Zampino G, Digilio MC, Pantaleoni F, Scioletti AP, Esposito G, Cordeddu V, Lepri F, Petrangeli V, Dentici ML, Mancini GM, Selicorni A, Rossi C, Mazzanti L, Marino B, Ferrero GB, Silengo MC, Memo L, Stanzial F, Faravelli F, Stuppia L, Puxeddu E, Gelb BD, Dallapiccola B, Tartaglia M. Germline BRAF mutations in Noonan, LEOPARD, and cardiofaciocutaneous syndromes: molecular diversity and associated phenotypic spectrum. *Hum Mutat*. 2009 Feb 10.
27. Cotterill AM, McKenna WJ, Brady AF, Sharland M, Elsayi M, Yamada M, Camacho-Hübner C, Kelnar CJ, Dunger DB, Patton MA, Savage MO. The short-term effects of growth hormone therapy on height velocity and cardiac ventricular wall thickness in children with Noonan's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:2291-7.
28. Romano AA, Blethen SL, Dana K, Noto RA. Growth hormone treatment in Noonan syndrome: the National Cooperative Growth Study experience. *J Pediatr*. 1996;128(5 Pt 2):S18-21.
29. Kirk JM, Betts PR, Butler GE, Donaldson MD, Dunger DB, Johnston DI, Kelnar CJ, Price DA, Wilton P, Group tU. Short stature in Noonan syndrome: response to growth hormone therapy. *Arch Dis Child*. 2001;84:440-3.
30. MacFarlane CE, Brown DC, Johnston LB, Patton MA, Dunger DB, Savage MO, McKenna WJ, Kelnar CJ. Growth hormone therapy and growth in children with Noonan's syndrome: results of 3 years' follow-up. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:1953-6.
31. Noordam C, Van der Burgt I, Sengers RC, Delemarre-van de Waal HA, Otten BJ. Growth hormone treatment in children with Noonan's syndrome: four year results of a partly controlled trial. *Acta Paediatr*. 2001;90:889-94.
32. Noordam C, van der Burgt I, Sweep CG, Delemarre-van de Waal HA, Sengers RC, Otten BJ. Growth hormone (GH) secretion in children with Noonan syndrome: frequently abnormal without consequences for growth or response to GH treatment. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001;54:53-9.

33. Ogawa M, Moriya N, Ikeda H, Tanae A, Tanaka T, Ohyama K, Mori O, Yazawa T, Fujita K, Seino Y, Kubo T, Tanaka H, Nishi Y, Yoshimoto M. Clinical evaluation of recombinant human growth hormone in Noonan syndrome. *Endocr J*. 2004;51:61-8.
34. Ferreira LV, Souza SA, Arnhold IJ, Mendonca BB, Jorge AA. PTPN11 (protein tyrosine phosphatase, nonreceptor type 11) mutations and response to growth hormone therapy in children with Noonan syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:5156-60.
35. Osio D, Dahlgren J, Wikland KA, Westphal O. Improved final height with long-term growth hormone treatment in Noonan syndrome. *Acta Paediatr*. 2005;94:1232-7.
36. Binder G, Neuer K, Ranke MB, Wittekindt NE. PTPN11 mutations are associated with mild growth hormone resistance in individuals with Noonan syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:5377-81.
37. Limal JM, Parfait B, Cabrol S, Bonnet D, Leheup B, Lyonnet S, Vidaud M, Le Bouc Y. Noonan syndrome: relationships between genotype, growth, and growth factors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:300-6.
38. Noordam C, Peer PG, Francois I, De Schepper J, van den Burgt I, Otten BJ. Long-term GH treatment improves adult height in children with Noonan syndrome with and without mutations in protein tyrosine phosphatase, non-receptor-type 11. *Eur J Endocrinol*. 2008;159:203-8.
39. Raaijmakers R, Noordam C, Karagiannis G, Gregory JW, Hertel NT, Sipilä I, Otten BJ. Response to growth hormone treatment and final height in Noonan syndrome in a large cohort of patients in the KIGS database. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2008;21:267-73.
40. Padidela R, Camacho-Hübner C, Attie KM, Savage MO. Abnormal growth in Noonan syndrome: genetic and endocrine features and optimal treatment. *Horm Res*. 2008;70(3):129-36.
41. Binder G, Wittekindt N, Ranke MB. Noonan Syndrome: Genetics and Responsiveness to Growth Hormone Therapy. *Hormone Research* 2007;67 (suppl 1):45-9.
42. Ko JM, Kim JM, Kim GH, Yoo HW. PTPN11, SOS1, KRAS, and RAF1 gene analysis, and genotype-phenotype correlation in Korean patients with Noonan syndrome. *J Hum Genet*. 2008;53:999-1006.
43. Rauen KA, Hefner E, Carrillo K, Taylor J, Messier L, Aoki Y, Gripp KW, Matsubara Y, Proud VK, Hammond P, Allanson JE, Delrue MA, Axelrad ME, Lin AE, Doyle DA, Kerr B, Carey JC, McCormick F, Silva AJ, Kieran MW, Hinek A, Nguyen TT, Schoyer L. Molecular aspects, clinical aspects and possible treatment modalities for Costello syndrome: Proceedings from the 1st International Costello Syndrome Research Symposium 2007. *Am J Med Genet A*. 2008;146A:1205-17.
44. Schulz AL, Albrecht B, Arici C, van der Burgt I, Buske A, Gillissen-Kaesbach G, Heller R, Horn D, Hübner CA, Korenke GC, König R, Kress W, Krüger G, Meinecke P, Mücke J, Plecko B, Rossier E, Schinzel A, Schulze A, Seemanova E, Seidel H, Spranger S, Tuysuz B, Uhrig S, Wieczorek D, Kutsche K, Zenker M. Mutation and phenotypic spectrum in patients with cardio-facio-cutaneous and Costello syndrome. *Clin Genet*. 2008;73:62-70.
45. Kerr B, Delrue MA, Sigaudy S, Perveen R, Marche M, Burgelin I, Stef M, Tang B, Eden OB, O'Sullivan J, De Sandre-Giovannoli A, Reardon W, Brewer C, Bennett C, Quarell O, M'Cann E, Donnai D, Stewart F, Hennekam R, Cavé H, Verloes A, Philip N, Lacombe D, Levy N, Arveiler B, Black G. Genotype-phenotype correlation in Costello syndrome: HRAS mutation analysis in 43 cases. *J Med Genet*. 2006;43:401-5.
46. Kerr B, Allanson J, Delrue MA, Gripp KW, Lacombe D, Lin AE, Rauen KA. The diagnosis of Costello syndrome: nomenclature in Ras/MAPK pathway disorders. *Am J Med Genet A*. 2008;146A:1218-20.

47. Roberts A, Allanson J, Jadico SK, Kavamura MI, Noonan J, Opitz JM, Young T, Neri G. The cardiofaciocutaneous syndrome. *J Med Genet.* 2006;43:833-42.
48. Dentici ML, Sarkozy A, Pantaleoni F, Carta C, Lepri F, Ferese R, Cordeddu V, Martinelli S, Briuglia S, Digilio MC, Zampino G, Tartaglia M, Dallapiccola B. Spectrum of MEK1 and MEK2 gene mutations in cardio-facio-cutaneous syndrome and genotype -phenotype correlations. *Eur J Hum Genet.* 2009 Jan 21.
49. Bauer AJ, Stratakis CA. The lentiginoses: cutaneous markers of systemic disease and a window to new aspects of tumorigenesis. *J Med Genet.* 2005;42:801-10.
50. Sarkozy A, Digilio MC, Dallapiccola B. Leopard syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* 2008 May 27;3:13.
51. Yohay K. Neurofibromatosis type 1 and associated malignancies. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2009;9:247-53.
52. Trovó-Marqui AB, Tajara EH. Neurofibromin: a general outlook. *Clin Genet.* 2006;70:1-13
53. Williams VC, Lucas J, Babcock MA, Gutmann DH, Korf B, Maria BL. Neurofibromatosis type 1 revisited. *Pediatrics.* 2009;123:124-33.
54. Nava C, Hanna N, Michot C, Pereira S, Pouvreau N, Niihori T, Aoki Y, Matsubara Y, Arveiler B, Lacombe D, Pasmant E, Parfait B, Baumann C, Héron D, Sigaudy S, Toutain A, Rio M, Goldenberg A, Leheup B, Verloes A, Cavé H. Cardio-facio-cutaneous and Noonan syndromes due to mutations in the RAS/MAPK signalling pathway: genotype-phenotype relationships and overlap with Costello syndrome. *J Med Genet.* 2007;44:763-71.
55. Neri G, Allanson J, Kavamura MI. No reason yet to change diagnostic criteria for Noonan, Costello and cardio-facio-cutaneous syndromes. *J Med Genet.* 2008;45:832.