



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

LAURA SOFIA BATISTA MACHADO REGO

***RASopatias e características clínicas associadas ao gene BRAF***

ARTIGO DE REVISÃO NARRATIVA

ÁREA CIENTÍFICA DE GENÉTICA

Trabalho realizado sob a orientação de:

DRA. LINA MARIA DE JESUS FERREIRA CARDOSO RAMOS

ABRIL/2021



# CONTEÚDO

---

Abreviaturas .....	3
Resumo .....	5
Abstract .....	6
Introdução .....	7
Metodologia .....	8
Resultados .....	9
A via RAS/MAPK.....	9
As RASopatias .....	11
Síndrome de Noonan .....	12
Síndrome LEOPARD.....	14
Síndrome de Costello.....	15
Síndrome da Malformação Capilar - Malformação Arteriovenosa (MC-MAV) .....	16
Neurofibromatose tipo 1 (NF1).....	17
Síndrome tipo Neurofibromatose tipo 1 (Síndrome de Legius) .....	18
Síndrome Cardio-Facio-Cutânea.....	19
Mutações do gene <i>BRAF</i> e as RASopatias .....	26
Gene <i>BRAF</i> .....	26
Caraterísticas fenóticas das mutações do <i>BRAF</i> nas RASopatias.....	29
Dismorfismos craniofaciais.....	29
Anomalias Cardíacas.....	30
Perturbação neurocognitiva e do desenvolvimento psicomotor.....	30
Manifestações cutâneas .....	31
Défice no crescimento estatura-ponderal .....	33
Exemplos de casos clínicos com RASopatia associada a mutações no gene <i>BRAF</i> .....	34
Caso clínico 1.....	34

Caso clínico 2.....	35
Comentários aos casos clínicos.....	36
Conclusão.....	38
Agradecimentos.....	40
Bibliografia.....	41
Anexo.....	46
Protocolo de gestão de doentes com SCFC.....	46

## ABREVIATURAS

---

**CNV** – *Copy number variation*

**DNA** – *Deoxyribonucleic acid*

**ECG** – Eletrocardiograma

**EEG** – Eletroencefalograma

**EVP** – Estenose da válvula pulmonar

**GAPs** – Proteínas ativadoras de GTPase

**GDP** – Guanosina difosfato

**GEFs** – *Guanine nucleotide exchange factors*

**GTP** – Guanosina trifosfato

**GTPases** – Guanosina trifosfato fosfohidrolases

**IBP's** – Inibidores da bomba de prótons

**IGF-1** – *Insulin-like growth factor 1*

**IMC** – Índice de massa corporal

**MAPK** – *Mitogen activated protein kinase*

**MCH** – Miocardiopatia hipertrófica

**MC-MAV** – Malformações capilares-malformações arteriovenosas

**NF1** – Neurofibromatose tipo 1

**NFLS** – *Neurofibromatosis like syndrome*

**PHDA** – Perturbação de hiperatividade e déficit de atenção

**QI** – Coeficiente de inteligência

**RGE** – Refluxo gastro esofágico

**RMN CE** – Ressonância magnética cranioencefálica

**RTKs** – Tirosina quinases recetoras

**SC** – Síndrome de Costello

**SCFC** – Síndrome cardio-fácio-cutâneo

**SL** – Síndrome de Legius

**SN** – Síndrome de Noonan

**SNML** – Síndrome de Noonan com múltiplos lentigos

## RESUMO

---

As RASopatias são um grupo de síndromes genéticas com características clínicas comuns. Estas incluem síndrome de Noonan (SN), síndrome LEOPARD, síndrome de Costello (SC), síndrome Cardio-Fácio-Cutânea (SCFC), síndrome da Malformação Capilar-Malformação Arteriovenosa (MC-MAV), Neurofibromatose tipo 1 (NF1) e síndrome tipo Neurofibromatose tipo 1 (NFLS).

As RASopatias são causadas por mutações, na linha germinativa, em genes que codificam componentes ou reguladores da via RAS/ *mitogen-activated protein kinase* (MAPK). A via RAS/MAPK tem um papel fundamental na regulação do ciclo celular, controlando o crescimento, diferenciação e senescência celular. A desregulação desta via pode ter efeitos patológicos no desenvolvimento psicomotor e neurocognitivo, com manifestações clínicas multiorgânicas.

Neste trabalho resumimos as características clínicas associadas às diferentes síndromes e enumeramos os genes mais frequentemente envolvidos. Mutações no gene BRAF podem dar origem a SCFC, SN e síndrome LEOPARD. A SCFC está associada a um fenótipo neurológico grave, manifestações ectodérmicas características e menos risco para doenças malignas, comparativamente a outras RASopatias. Realçamos a importância de um diagnóstico etiológico específico e de um acompanhamento multidisciplinar dirigido às principais complicações destes indivíduos. Propomos a existência de um protocolo aplicável a nível nacional na gestão de doentes com SCFC.

Palavras chave: Via RAS/MAPK; RASopatias; Mutação *BRAF*; Fenótipo

## ABSTRACT

---

The RASopathies are a group of genetic syndromes with common clinical features. The RASopathies include Noonan syndrome (NS), LEOPARD syndrome, Costello syndrome (CS), Cardio-Facio-Cutaneous syndrome (CFCS), Capillary Malformation-Arteriovenous Malformation (CM-AVM) syndrome, neurofibromatosis type 1 (NF1) and NF1-like syndrome (NFLS).

The RASopathies are caused by germline mutations in genes that encode components or regulators of the Ras/mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway. The RAS/MAPK pathway plays a critical role in cell differentiation, proliferation, and survival. Dysregulation of this pathway may have pathological effects on psychomotor and neurocognitive development, with multiorgan clinical manifestations.

We summarize the specific clinical manifestations in RASopathies and list the genes most frequently involved. Mutations in the BRAF gene are associated with SCFC, SN and LEOPARD syndrome. SCFC is associated with a several neurological phenotype, cardinal dermatologic features and lower risk of cancer, compared to other RASopathies. We highlight the importance of a specific etiological diagnosis and a multi-disciplinary follow-up of the main complications of these individuals. We propose a document with recommendations for the management of SCFC.

Keywords: RAS/MAPK pathway; RASopathies; *BRAF* mutation; Phenotype



## INTRODUÇÃO

---

As RASopatias são um dos grupos mais prevalentes de síndromes genéticas, que afetam mais do que 1 em 1000 indivíduos. Estas síndromes resultam de variantes patogénicas da linha germinativa, que afetam os genes que codificam componentes ou reguladores da via RAS/*mitogen-activated protein kinase* (MAPK). Têm sido foco de estudo no sentido de compreender a influência desta via no desenvolvimento da doença. As manifestações fenotípicas envolvem diferentes órgãos e sistemas e podem originar complicações graves. Estas podem ser congénitas ou ocorrer ao longo da vida dos doentes.<sup>1,2</sup>

A via RAS/MAPK é uma cascata de sinalização essencial que controla o comportamento celular, incluindo a proliferação, diferenciação e sobrevivência.<sup>1,3</sup> Apesar de cada síndrome ser causada por mutações em diferentes locais desta via, estas desempenham mecanismos comuns e, por isso, partilham características fenotípicas, incluindo dismorfismos craniofaciais, patologias cardiovasculares, anomalias musculoesqueléticas, lesões cutâneas, perturbações neurocognitivas e aumento do risco de formação de tumores.<sup>1,4</sup>

Estas síndromes incluem síndrome de Noonan (SN), síndrome LEOPARD, síndrome de Costello (SC), síndrome cardio-fácio-cutânea (SCFC), síndrome da malformação capilar-malformação arteriovenosa (MC-MAV), neurofibromatose tipo 1 (NF1), síndrome tipo neurofibromatose tipo 1 (síndrome NFLS ou síndrome de Legius).<sup>1,4</sup>

Em particular, variantes patogénicas do gene *BRAF* podem dar origem a síndrome de Noonan, síndrome LEOPARD e síndrome cardio-fácio-cutânea.

O objetivo deste estudo é identificar alterações fenotípicas e genéticas relevantes que permitiram um diagnóstico etiológico específico das RASopatias em geral, particularmente em indivíduos com síndromes relacionadas com o gene *BRAF* e elaborar um protocolo de promoção de saúde da SCFC, que está associada, na maioria dos casos, a mutações neste gene.

Serão materiais de estudo achados clínicos e laboratoriais encontrados em dois doentes com RASopatias observados no Hospital Pediátrico de Coimbra.

A caracterização atualizada e criteriosa de qualquer doença, sobretudo quando esta implica envolvimento multidisciplinar, é uma mais valia para o seu rápido diagnóstico, tratamento e prevenção de complicações.

## METODOLOGIA

---

Para a elaboração deste trabalho, foi realizada uma pesquisa bibliográfica na base de dados da PubMed sobre as RASopatias e em particular sobre as características clínicas, fenótipo e diagnóstico das RASopatias com mutação no gene *BRAF*. Foi utilizada a seguinte equação de pesquisa: “RASopathies AND *BRAF* mutation (clinical features OR phenotype OR diagnosis)”.

Esta pesquisa, realizada em setembro de 2020, foi restringida através do filtro “ano de publicação” (últimos dez anos). Foram encontrados 52 resultados, dos quais se selecionaram, com base no título e resumo, 36 artigos para leitura integral. Outros artigos selecionados ou publicados posteriormente também foram analisados.

# RESULTADOS

---

## A VIA RAS/MAPK

As RASopatias foram associadas a mutações em cerca de 20 genes que codificam proteínas que pertencem ou regulam a via de sinalização RAS/MAPK.<sup>5</sup>

A via RAS/MAPK é uma das vias de transdução de sinal mais estudadas.<sup>4</sup> Tem um papel fundamental na regulação do ciclo celular, controlando o crescimento, diferenciação e senescência celular.<sup>4</sup> Assim sendo, é essencial para um normal desenvolvimento, incluindo o da função cerebral.<sup>4,6</sup> Por este motivo, a desregulação desta via tem efeitos patológicos no desenvolvimento psicomotor e neurocognitivo, quer embrionário, quer de fases mais tardias como a infância e a adolescência.<sup>4</sup>

A via RAS/MAPK é composta por um conjunto de proteínas no citoplasma das células que funcionam em cascata e influenciam o comportamento do núcleo celular. É ativada através de fatores de crescimento que são extracelulares e se ligam às células.<sup>4</sup> Estes permitem fazer a comunicação de um sinal extracelular com o DNA do núcleo da célula. Através das MAPK, pela fosforilação, as proteínas desta via são ativadas ou desativadas. Neste contexto, as mutações podem permitir que as proteínas fiquem inadequadamente “ligadas” ou “desligadas” e isto explica a desregulação do ciclo celular, que se pode também manifestar por patologias cancerígenas e estão, ainda, associadas às RASopatias, consoante a proteína mutada em causa.<sup>3,5</sup>

A proteína RAS interliga-se com uma infinidade de vias efetoras a jusante, das quais a MAPK, mediada por RAF, é apenas uma.<sup>3</sup>

Os genes *RAS* constituem uma família multigénica.<sup>4</sup> Os três genes que codificam as proteínas RAS mais bem estudados são *HRAS*, *KRAS* e *NRAS*.<sup>7</sup>

As proteínas RAS (*KRAS*, *HRAS* e *NRAS*) são pequenas GTPases com um importante papel intracelular, que alternam entre conformações ativas, ligadas a guanosina trifosfato (GTP), e inativas, ligadas a guanosina difosfato (GDP).<sup>4,8</sup> As proteínas RAS são fortemente reguladas pelas proteínas ativadoras de GTPase (GAPs) e fatores de troca de nucleotídeos de guanina (GEFs).<sup>8</sup> Quando o estímulo extracelular, em forma de fator de crescimento, ativa as tirosina quinases recetoras (RTKs), na membrana celular, causa a autofosforilação destas e são criados locais de ancoragem para moléculas adaptadoras e proteínas retransmissoras de sinal, como GRB2 e SHP2.<sup>4,8</sup> Através de GRB2 são recrutados GEFs (por exemplo, SOS1) que permitem a troca de RAS ligado a GDP por

GTP, aumentando assim o nível de RAS ligado ao GTP.<sup>4,8</sup> O RAS ligado ao GTP é, por sua vez, ativo e capaz de ativar vias efetoras, incluindo a família de proteínas RAF.<sup>8</sup>

As proteínas RAF (ARAF, BRAF e/ou CRAF), são as primeiras MAPK quinase quinase da via que iniciam a cascata de fosforilação RAF-MEK-ERK.<sup>5</sup> A RAF fosforila e ativa as MAPK quinases MEK1 e/ou MEK2. Estas, por sua vez, fosforilam e ativam ERK1 e/ou ERK2, que são os efetores finais, exercendo função num grande número de moléculas a jusante, tanto nucleares como citosólicas. É através de componentes nucleares, fatores de transcrição, proteínas de membrana e proteínas quinases que se controlam as funções celulares vitais, incluindo a progressão do ciclo celular, diferenciação e crescimento celular.<sup>4</sup>

Como referido, a desregulação desta via pode ter uma ampla quantidade de efeitos na sobrevivência/apoptose, diferenciação e proliferação celular, podendo a afetação da linha germinativa resultar em síndromes bem caracterizadas, mas clinicamente sobrepostas. Para além disso, as mutações ativadoras de RAS são encontradas em até 30% dos cancros humanos. As mutações somáticas ou em mosaico podem levar a fenótipos diferentes.<sup>7</sup>

Cada síndrome das RASopatias resulta de mutações em genes específicos associados a esta via e diferentes mutações dentro de cada um desses genes afetam mecanismos moleculares distintos na sinalização de RAS.<sup>3</sup> Entender como acontece a desregulação do sinal pela proteína mutada na via RAS/MAPK é essencial para compreender a etiologia patogénica de cada RASopatia.<sup>3</sup>

O passo inicial de suspeita diagnóstica de uma destas síndromes é muito importante para uma adequada gestão da situação.<sup>7</sup>

Na figura 1, os contornos coloridos englobam os principais genes para cada RASopatia: A azul, as SN e síndrome LEOPARD (SNML), são causadas principalmente por mutações ativadores de RAS. Alguns genes associados a SN não são cobertos pela cor azul, mas estão escritos a azul. A laranja/rosa, NF1 e NFLS/SL estão associadas a mutações em inibidores de RAS. A amarelo e verde, as mutações responsáveis por SC e SCFC afetam o suporte principal e final da via RAS/MAPK.<sup>5</sup>

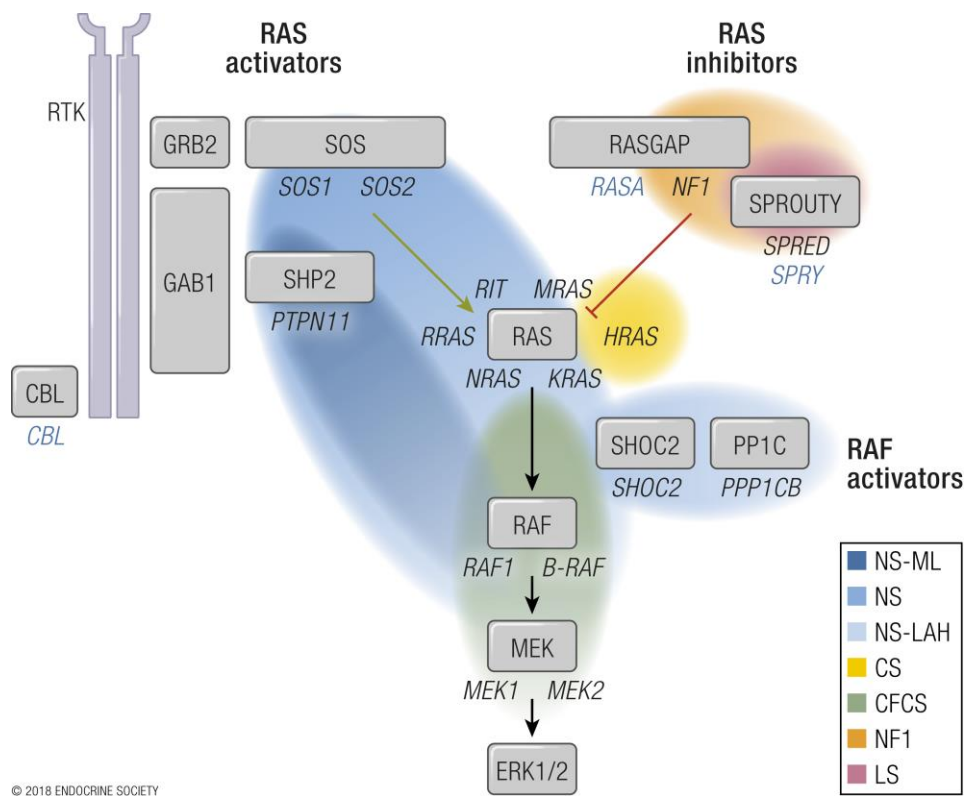


Figura 1. Via de sinalização intracelular RAS/MAPK e respectivas mutações associadas às RASopatias. A ligação de um fator de crescimento a um recetor tirosina quinase (RTK) ativa efetores intracelulares como GRB2, que por sua vez recruta SOS1 que permite a conversão da proteína RAS GDP/GTP. RAS-GTP ativa isoformas de RAF (RAF1, BRAF), MEK (MEK1, MEK2) e, finalmente, ERK 1/2. (Tajan et. al, 2018 <sup>5</sup>)

## As RASOPATIAS

As RASopatias, também chamadas de síndromes RAS/MAPK ou síndromes neuro-cardio-facio-cutâneas, são definidas como um grupo de síndromes genéticas que compartilham uma origem comum. São causadas por mutações na linha germinativa, em genes que codificam componentes ou reguladores (positivos ou negativos) da via RAS/MAPK.<sup>3,9-11</sup>; (figura 1)

Juntas, são um dos maiores grupos conhecidos de síndromes de malformação, afetando, aproximadamente, 1 em 1000 indivíduos.<sup>4,8</sup>

Estas síndromes incluem síndrome de Noonan (SN), síndrome LEOPARD, síndrome de Costello (SC), síndrome cardio-fácio-cutânea (SCFC), síndrome da malformação capilar - malformação arteriovenosa (MC-MAV), neurofibromatose tipo 1 (NF1), síndrome tipo neurofibromatose tipo 1 (síndrome NFLS ou síndrome de Legius).<sup>1,4</sup>

As RASopatias em mosaico podem-se manifestar como lesões cutâneas localizadas, como nevos epidérmicos e nevos sebáceos, ou em condições mais extensas, como lipomatose encefalocraniocutânea.<sup>7</sup>

Como as RASopatias têm uma desregulação adjacente comum na via RAS/MAPK, exibem numerosas características fenotípicas sobrepostas, que podem afetar vários órgãos e sistemas, e causar complicações ao longo da vida. Fenotipicamente, podem apresentar baixa estatura, dismorfias faciais, patologias cardiovascular e neurocognitiva, alterações cutâneas, musculoesqueléticas e oftalmológicas.<sup>2,4</sup> A classificação de uma determinada síndrome torna-se mais difícil pela sua heterogeneidade genética e alelismo.<sup>5</sup>

Estas patologias são causadas, principalmente, por mutações com ganho de função em diferentes genes, implicando diferentes apresentações fenotípicas. O seu diagnóstico representa um desafio durante os primeiros meses de vida, uma vez que a maioria das características clínicas usadas para diferenciar estas condições podem não se manifestar em fases precoces, mas mais tarde na infância.<sup>12,13</sup> Adicionalmente, há características clínicas sobrepostas, especialmente durante a infância, e, por estes motivos, o teste molecular é muito importante para a confirmação diagnóstica, ajudando na orientação do prognóstico, na gestão adequada de complicações específicas, por exemplo, cardíacas, hematológicas ou oncológicas e no aconselhamento genético, nomeadamente avaliar o risco de recorrência para a descendência e o estudo de outros membros da família em risco.<sup>12</sup>

A via RAS/MAPK é um dos focos de estudo no contexto da oncogénese e, devido a isto, considera-se que as RASopatias são síndromes que se relacionam com as doenças cancerígenas, já que as mutações a elas associadas resultam na ativação aumentada ou sinalização desregulada desta via. Uma grande percentagem das novas mutações germinativas identificadas na via não são tão fortemente ativadas como as associadas à oncogénese, provavelmente pela maior letalidade dessas mutações na linha germinativa.<sup>4</sup>

De seguida serão apresentadas as principais características das síndromes incluídas nas RASopatias.

### **Síndrome de Noonan**

A síndrome de Noonan (SN) está entre as doenças genéticas de prevalência mais comum, é de hereditariedade autossómica dominante e afeta, aproximadamente, 1 em 1000-2500 indivíduos.<sup>4,5,7</sup>

As características fenotípicas da SN sobrepõem-se com outras RASopatias, tais como síndrome LEOPARD, SC e SCFC. A sua expressividade é variável, sendo o teste molecular fundamental para ajudar a estabelecer um diagnóstico preciso.<sup>12</sup>

A SN é causada por mutações ativadoras nos genes. O gene que está mais vezes mutado, em aproximadamente 50% dos casos, é o *PTPN11* no cromossoma 12, o qual codifica SHP2, seguido pelo *SOS1* em 10-15% e pelo *RAF1* em 5-15% dos casos.<sup>12</sup> Mutações em *KRAS*, *NRAS* e *SHOC2* estão em menos de 5% dos casos e as mutações nos genes *CBL*, *MEK1*, *BRAF* e *RIT1* ocorrem ocasionalmente.<sup>4,12,14</sup> As mutações *de novo* prevalecem em 60% dos casos de SN.<sup>12</sup>

Relativamente à desregulação causada pelos genes mais frequentemente mutados na SN, as mutações de *PTPN11*, assim como as de *SOS1*, resultam em atividade elevada da fosfatase e, portanto, uma sinalização da via RAS aumentada, isto é, são mutações com ganho de função. Enquanto mutações no gene *PTPN11* associadas à síndrome LEOPARD apresentam redução da atividade. Realçando que, neste caso, mutações no mesmo gene conduzem a diferentes síndromes por mecanismos diferentes, umas com ganho e outras com perda de função.<sup>8</sup>

Embora apresente um fenótipo variável, a SN é caracterizada por distintas manifestações craniofaciais, que são mais marcadas desde o período de recém-nascido até à meia-infância e tornam-se menos reconhecíveis na idade adulta.<sup>5</sup> Incluem macrocefalia com região frontal proeminente, estreitamento temporal, hipertelorismo ocular, ptose palpebral, fendas palpebrais oblíquas para baixo, pavilhões auriculares de implantação baixa e rodados posteriormente e pescoço curto e “alado”.<sup>5</sup> Relativamente a manifestações cutâneas podem ter implantação capilar baixa na região frontal, pouco crescimento da barba e de pelos púbicos e axilares, xerose e queratose pilar, bem como presença de nevos melanocíticos.<sup>7</sup> Para além disso, associa-se a doença cardíaca congénita, diminuição na velocidade de crescimento, alterações na coagulação, com tendência hemorrágica, disfunção linfática com linfedema das extremidades, malformações ósseas como *pectus carinatum/excavatum* e um variável grau de perturbação neurocognitiva.<sup>4,6,7</sup> Podem ocorrer perda de audição, criptorquidia, predisposição a doenças mieloproliferativas<sup>15</sup> e desequilíbrio endócrino/metabólico.<sup>5</sup> Têm, também, risco aumentado de desenvolver cancro.<sup>4,12</sup>

Uma característica importante da SN, que pode levar ao diagnóstico, é a baixa estatura pós-natal, relatada em 80% dos indivíduos.<sup>5</sup> A avaliação pré-natal é classicamente normal, com peso ao nascer e comprimento corporal adequado.<sup>5</sup> A suspeita por atraso no crescimento, geralmente, ocorre durante a primeira infância e este pode ser

consequência de dificuldades na alimentação, podendo ser necessário complementar a nutrição entérica em um quinto das crianças.<sup>5</sup>

Lazzaro et al. revelaram que uma alta percentagem, cerca de 80%, das crianças da sua amostra apresentavam défices na linguagem, nomeadamente no discurso.<sup>6</sup> Estudos acerca do perfil cognitivo e comportamental de crianças com SN e outras RASopatias têm documentado funcionamento cognitivo alterado, defeitos ao nível da aprendizagem, memória e atenção. Além disso, tem sido reportada a anomalias na perceção sensorial e motora, bem como perfis psicopatológicos.<sup>6</sup>

Em mais de metade dos pacientes com SN, é identificado défice do desenvolvimento cognitivo leve a moderado e dificuldades da aprendizagem, particularmente sociais e de comunicação, défice de atenção e distúrbio na linguagem. No entanto, é incomum encontrar-se défice do QI (coeficiente de inteligência) em pacientes que têm SN, estando a maioria dentro da faixa normal para a idade da observação.<sup>5</sup> O grau do défice cognitivo varia de pessoa para pessoa, mas indivíduos com a mutação em fases relativamente superiores da via RAS, como em *SOS1* e *PTPN11*, mostram moderado ou nenhum prejuízo cognitivo.<sup>8</sup>

A doença cardíaca mais frequente na SN é estenose da válvula pulmonar (EVP). Outros defeitos cardíacos podem ser miocardiopatia hipertrófica (MCH), defeitos septais ou valvulares, coartação da aorta e persistência do canal arterial.<sup>5,11,16</sup>

Alterações esqueléticas, como *pectus carinatum/excavatum* e escoliose são achados frequentes em pacientes com SN, bem como diminuição da densidade mineral óssea.<sup>5,7</sup>

Chinton et al., ao compararem a apresentação fenotípica de pacientes com SN associado a mutações nos genes *PTPN11* e *SOS1*, não encontraram diferenças significativas em relação às manifestações ectodérmicas, baixa estatura e défice do neurodesenvolvimento ou défice intelectual. Os pacientes com SN com mutações em *RAF1* tiveram uma maior incidência de miocardiopatia hipertrófica (MCH) em comparação com aqueles com mutações em *PTPN11*.<sup>12</sup>

### **Síndrome LEOPARD**

A síndrome LEOPARD, previamente chamada síndrome de Noonan com múltiplos lentigos (SNML), é a segunda RASopatia mais frequente a seguir à SN.<sup>7</sup> Esta pode ser causada por mutações em *PTPN11*, *RAF1* e *BRAF*. Mais frequentemente, em 90% dos casos, é o gene *PTPN11* que está mutado.<sup>12</sup>

A síndrome LEOPARD é semelhante à SN, mas ocorre com menor frequência. Ambas se associam a mutações em *PTPN11*, no entanto na síndrome LEOPARD as mutações em



*PTPN11* associam-se ao domínio catalítico do gene que parecem inativar a função da proteína (SHP2), enquanto na SN a proteína permanece ativada. Isto é, são baseadas em mutações no mesmo gene, mas com mecanismos diferentes.<sup>4,9</sup>

As características clínicas da síndrome LEOPARD incluem a presença de múltiplos lentigos, alterações no eletrocardiograma (ECG), hipertelorismo ocular, estenose da válvula pulmonar (EVP), anomalias genitais, atraso no crescimento e hipoacusia.<sup>12</sup>

A criptorquidia e baixa estatura ocorrem em, aproximadamente, 50% dos casos.<sup>7</sup> As alterações no ECG podem ser por hipertrofia ventricular direita ou esquerda ou prolongamento do QT.<sup>7</sup> Os indivíduos com esta síndrome têm características faciais semelhantes aos indivíduos com SN, embora possam ser mais suaves.<sup>1</sup> Os distúrbios craniofaciais também podem incluir prognatismo, macroglossia e pescoço curto, mas geralmente este não é “alado”, mas pode ter pele redundante na nuca.<sup>1</sup> Estes indivíduos podem ter um risco aumentado para desenvolver meduloblastoma e neuroblastoma.<sup>7</sup>

Os lentigos característicos são máculas castanhas/pretas e estão presentes principalmente na face, pescoço e parte superior do tronco. Normalmente, aparecem aos 4/5 anos e aumentam durante a infância, chegando aos milhares na puberdade. Também se podem observar as manchas “café com leite” ou lesões hiperpigmentadas, que variam em tamanho e cor, de castanho claro a castanho escuro. Estas podem aparecer sozinhas ou em associação com os lentigos, em até 70-80% dos indivíduos com síndrome LEOPARD, e geralmente aparecem precocemente em relação a estes últimos.<sup>1</sup>

Chinton et al. que compararam as principais características fenotípicas de pacientes com confirmação molecular de SN e síndrome LEOPARD, mostraram que esta última apresenta forte associação com miocardiopatia hipertrófica (MCH), menor presença de baixa estatura, assim como menor défice intelectual.<sup>12</sup>

### **Síndrome de Costello**

A síndrome de Costello (SC) é uma das RASopatias menos comum.<sup>12</sup> É causada por mutações em heterozigotia no protooncogene *HRAS* em mais de 80% dos casos.<sup>12</sup> As mutações em *HRAS* que ocorrem na síndrome de Costello são mutações oncogénicas de ganho de função e ativam a via RAS-MAPK.<sup>8</sup>

Trata-se de uma síndrome com múltiplas anomalias congénitas que tem muitas características sobrepostas com as outras síndromes deste grupo, incluindo a SN e SCFC, como aspeto craniofacial dismórfico, falha no crescimento, especialmente no período neonatal, anomalias cardíacas, musculoesqueléticas, ectodérmicas e oculares, hipotonia, e défice neurocognitivo variável.<sup>4</sup> As características fenotípicas podem tornar-se aparentes

no período perinatal e este pode também complicar-se por polihidramnios. Muitas crianças nascem prematuramente com peso elevado<sup>4</sup> e com dificuldade na sucção no período neonatal.<sup>12</sup> As características craniofaciais, geralmente, incluem macrocefalia com uma região frontal proeminente, epicanto, fendas palpebrais oblíquas para baixo, nariz curto com uma ponte nasal baixa e base larga e pavilhões auriculares de implantação baixa, rodados posteriormente e com hélices e lobos espessados.<sup>4</sup> As bochechas podem ser volumosas e a boca grande, com lábios espessos.<sup>4</sup> Pode haver também um aumento do crescimento das pestanas e/ou sobrancelhas com tricomelia e/ou monocelia.<sup>17</sup> Os achados intraorais incluem palato alto arqueado e mal-oclusão, mordida cruzada posterior e mordida aberta.<sup>1</sup> Também foram relatados na SC, úvula bífida, hipertrofia gengival e espessamento da crista alveolar.<sup>1</sup> Além disso, estes indivíduos apresentam distúrbios da erupção dentária e um defeito no esmalte caracterizado por um esmalte fino e hipomineralizado.<sup>1</sup> As manifestações dermatológicas auxiliam o diagnóstico clínico da SC e incluem pele geralmente macia, com rugas excessivas, e pele redundante no dorso das mãos e pés associada a hiperpigmentação, juntamente com sulcos plantares e palmares profundos e hiperqueratose palmoplantar.<sup>4,7</sup>

A maioria dos indivíduos com SC apresenta anomalias cardíacas, que podem incluir miocardiopatia hipertrófica (MCH), anomalias valvulares, defeitos septais e arritmia.<sup>4</sup> O déficit de crescimento e as disfunções gastrointestinais, como refluxo e obstipação, são típicos na primeira infância.<sup>4</sup> Outras manifestações podem ser papilomas centofaciais e perianais e hiperextensibilidade articular.<sup>12</sup>

A probabilidade de indivíduos com SC desenvolverem tumores é de, aproximadamente, 13%.<sup>12</sup> Os papilomas cutâneos são os tumores benignos mais vistos na SC, que são observados em 72% dos destes indivíduos, com idade de início variando desde a infância até aos 22 anos.<sup>4</sup> A localização mais frequentemente reportada dos papilomas é o nariz e zona perianal, embora estes possam ocorrer em qualquer parte do corpo.<sup>18</sup> É importante realçar que estes tumores não ocorrem nas outras RASopatias.<sup>4</sup>

Uma grande preocupação é que, aproximadamente, 15-20% dos indivíduos com SC desenvolvem doenças malignas, sendo as mais comuns rabdiossarcoma, carcinoma urotelial e neuroblastoma.<sup>4,7</sup> O rabdiossarcoma e o neuroblastoma são doenças malignas comuns na infância, mas o carcinoma urotelial não. Destas, a doença maligna mais relatada na SC é o rabdiossarcoma embrionário.<sup>4</sup>

### **Síndrome da Malformação Capilar - Malformação Arteriovenosa (MC-MAV)**

A síndrome MC-MAV é uma doença de hereditariedade autossômica dominante, causada por mutações inativadoras no gene *RASA1*, que participa no processo de regulação

negativa da via RAS/MAPK.<sup>7</sup> A maioria dos indivíduos com síndrome MC-MAV tem um dos pais afetado, no entanto, cerca de 30% dos casos são causados por uma mutação *de novo*.<sup>4</sup>

Como o nome indica, é caracterizada por malformações capilares, que podem estar associadas a lesões de alto fluxo, malformações arteriovenosas e fístulas arteriovenosas.<sup>1,4</sup>

A principal característica desta síndrome é a multifocalidade das malformações. As malformações arteriovenosas podem ocorrer em muitos tecidos, incluindo pele, músculos, ossos e vários órgãos internos, como o coração e o cérebro.<sup>4</sup> Estas podem levar a defeitos hemorrágicos, enxaqueca e convulsões. As malformações capilares manifestam-se por manchas tipo “vinho do porto” na pele, que primariamente se apresentam como múltiplas lesões rosadas, arredondadas de 1 a 2 cm e localizam-se, principalmente, na face e membros.<sup>7</sup> Os indivíduos podem apresentar malformações cardiovasculares, como insuficiência cardíaca, tetralogia de Fallot, defeitos septais e anomalias valvulares.<sup>4</sup>

As malformações podem estar presentes na fronte, nos lábios, no nariz e/ou pescoço. Na região craniofacial podem causar hipertrofia dos tecidos moles, e pode haver distorção na oclusão, mobilidade dentária e sangramento gengival por malformações arteriovenosas intraósseas na maxila ou mandíbula.<sup>1</sup>

### **Neurofibromatose tipo 1 (NF1)**

A Neurofibromatose tipo 1 (NF1) é uma doença de hereditariedade autossômica dominante causada por mutações com perda de função<sup>8</sup> no gene supressor tumoral *NF1*. A prevalência é de 1 em 3000 nados vivos,<sup>1</sup> em que cerca de metade herdaram a mutação de um dos pais e a outra metade são mutações *de novo*.<sup>4</sup> *NF1*, funciona como uma GAP, que regula negativamente a via RAS.<sup>8</sup> É um inibidor de RAS que, neste caso, perde a sua função, potenciando a ativação desregulada da via.

Foi a primeira síndrome de anomalia congénita múltipla associada a uma mutação da linha germinativa na via RAS/MAPK.<sup>4</sup>

Apenas um gene, *NF1*, foi associado a esta síndrome, e em mais de 90% destes pacientes está presente um fenótipo clássico de *NF1*.<sup>19</sup> Outra RASopatia, a síndrome de Legius, mostra características clínicas semelhantes às de *NF1*, mas é causada por mutações em *SPRED1*.<sup>19</sup>

Os achados dermatológicos característicos que se apresentam na *NF1* incluem manchas “café com leite”. Estas tendem a aumentar de número com o crescimento e estabilizam

após adolescência. Lentigos axilares e inguinais podem estar presentes ao nascimento ou nos primeiros anos de vida. Também podem manifestar alterações oculares, como nódulos de *Lisch*, anomalias esqueléticas, como displasia óssea, quistos e escoliose, e patologias neurais, incluindo gliomas da via ótica.<sup>17</sup> O desenvolvimento de neurofibromas plexiformes, que são tumores benignos das bainhas dos nervos periféricos são uma manifestação relevante na NF1.<sup>1</sup> Esses tumores têm potencial para se transformarem em tumores malignos da bainha do nervo que afetam 10% dos indivíduos com NF1.<sup>1,7</sup>

Os neurofibromas característicos de NF1 podem ocorrer na região da cabeça e pescoço, tipicamente hemifaciais, mas também podem ser bilaterais. Embora benignos, esses tumores são expansivos e podem causar deformidades devido ao envolvimento de tecidos moles e ossos das regiões orbitária, craniana e mandibular. As manchas “café com leite” podem-se desenvolver no couro cabeludo e na pele das regiões periorbital e intra-orbital, maxilar e mandibular. Os achados intraorais incluem irregularidades dentárias, como molares decíduos retidos e ausência congênita dos segundos molares inferiores. Há relatos de hipoplasia do corpo e ramo mandibular, assim como do processo coronoide e formato do arco zigomático anômalo. Quistos mandibulares também foram reportados.<sup>1</sup>

Embora as anomalias dermatológicas, oculares, ósseas, neuronais sejam as mais comumente associados à NF1, estes indivíduos podem ter outras manifestações da doença, incluindo malformações cardíacas, doença cardiovascular, hipertensão, deficiência de vitamina D, malformações cerebrais e convulsões. Também podem ter características craniofaciais dismórficas que fazem lembrar a SN, comprometimento neurocognitivo leve e uma predisposição para desenvolver doenças malignas.<sup>4</sup> As doenças malignas pediátricas incluem glioma da via ótica, rabdomiossarcoma, neuroblastoma e leucemia mielomonocítica juvenil, enquanto que as adultas incluem tumores malignos da bainha do nervo periférico, tumores estromais gastrointestinais, somatostatatomas, feocromocitomas e cancro da mama.<sup>4</sup>

### **Síndrome tipo Neurofibromatose tipo 1 (Síndrome de Legius)**

A síndrome tipo Neurofibromatose tipo 1 (NFLS- *Neurofibromatosis like syndrome*) ou síndrome de Legius é uma doença com hereditariedade autossômica dominante que se sobrepõe fenotipicamente à NF1, no entanto, a NFLS é menos grave.<sup>1</sup>

É causada por mutações inativadoras em *SPRED1*.<sup>1</sup> Estas mutações levam à diminuição da regulação negativa da via de RAS, promovendo a proliferação, diferenciação e apoptose.<sup>7</sup>

Estes indivíduos têm apresentação clínica semelhante à da NF1. Geralmente, têm várias manchas “café com leite”, às vezes associadas a lentigos na pele, lipomas e dificuldades de aprendizagem.<sup>1</sup> Estes tendem a não ter déficit neurocognitivo, mas podem ter perturbação de hiperatividade e déficit de atenção (PHDA).<sup>7</sup> Os indivíduos com NFLS não apresentam neurofibromas, gliomas óticos, nódulos de *Lisch* ou tumores malignos da bainha do nervo periférico, que podem estar presentes nos indivíduos com NF1.<sup>14</sup> O método de diagnóstico conclusivo é o teste molecular.<sup>7</sup>

### **Síndrome Cardio-Facio-Cutânea**

A síndrome cardio-fácio-cutânea (SCFC) é causada, maioritariamente, por mutações *de novo*, que causam alterações na regulação da ativação da via MAPK.<sup>4</sup> Estas ocorrem nos genes *BRAF*, em 75% dos casos, e *MEK1* ou *MEK2* em 25%.<sup>12</sup> Mutações em *KRAS* foram reportadas numa baixa percentagem de casos (<1%).<sup>12</sup> Ivan et al. relataram uma variante no gene *YWHAZ*, que é membro da família das proteínas 14-3-3, com implicação na regulação celular, associada a fenótipo compatível com SCFC.<sup>20</sup>

A SCFC, embora considerada uma síndrome de hereditariedade autossómica dominante, tem poucos casos familiares relatados. O insucesso reprodutivo pode ser por desregulação da transdução de sinal e, conseqüentemente, os seus defeitos causados a nível celular na gametogénese, ou por características fenotípicas da SCFC, como déficit neurocognitivo.<sup>21</sup> Pensa-se que os indivíduos com SCFC têm menos risco de doenças malignas do que os indivíduos com NF1, SN e SC.<sup>4,22</sup>

A SCFC é rara e tem muitas características fenotípicas sobreponíveis a duas outras RASopatias, nomeadamente, SN e SC. Por esse motivo, o diagnóstico clínico é um desafio, principalmente durante o período neonatal. Está geralmente associada a casos mais graves de dificuldades na aprendizagem e manifestações ectodérmicas.<sup>1,4,14</sup>

A SCFC é caracterizada por dismorfismos craniofaciais, déficit no desenvolvimento neurológico e motor, déficit de crescimento, doença cardíaca congénita e manifestações musculoesqueléticas e ectodérmicas, estando estes achados sobrepostos com outras RASopatias, que, como descrito, é típico nestas.<sup>12,18</sup>

Os indivíduos com SCFC têm fácies tipo SN, incluindo macrocefalia, hipertelorismo, região frontal proeminente, estreitamento bitemporal, hipoplasia das cristas supraorbitais, fendas palpebrais inclinadas para baixo, ptose palpebral, nariz curto com ponte nasal deprimida e narinas antevertidas e pavilhões auriculares de implantação baixa, rodados posteriormente e com hélices proeminentes.<sup>4</sup> Os defeitos orais podem incluir palato alto arqueado, mal oclusão com mordida aberta anterior e mordida cruzada posterior.<sup>1,23</sup> Os

indivíduos com SCFC tendem a ter características faciais mais significativas do que as de SN, mas menos proeminentes do que as de SC.<sup>7</sup>

Os achados ectodérmicos geralmente consistem em cabelo com fraco crescimento, encaracolado com hipoplasia das sobrancelhas e cílios, hiperqueratose palmar/plantar, queratose pilar, *ulerythema ophryogenes*, hemangiomas, ictiose e nevos melanocíticos adquiridos.<sup>4,24</sup> O desenvolvimento de nevos melanocíticos ao longo da infância é esperado na população em geral, mas é notável nas amostras de indivíduos com SCFC, o mesmo acontecendo para os hemangiomas.<sup>18</sup> As manchas “café com leite” múltiplas e papilomas não são tipicamente observadas nesta síndrome, podendo ajudar a distinguir de outras RASopatias, nomeadamente NF1 e SC.<sup>18</sup>

Observou-se forte relação entre pacientes com SCFC e manifestações ectodérmicas e hipoacusia em comparação com aqueles que apresentavam SN.<sup>12</sup>

As patologias cardíacas são semelhantes, em frequência, às de SN e SC, sendo as mais prevalentes EVP, defeitos septais e MCH.<sup>4</sup> Outros defeitos cardíacos mais raros são defeitos das válvulas mitral ou aórtica e coartação da aorta. Arritmias, ao contrário do que acontece na SC, são raras na SCFC.<sup>24</sup>

Os achados musculoesqueléticos, nomeadamente escoliose/cifose, *pectus excavatum/carinatum*, hiperextensibilidade articular, pés planos e dificuldades na marcha são comuns, assim como anomalias oculares, incluindo estrabismo, nistagmo, miopia, hipermetropia, astigmatismo, ptose e hipoplasia do nervo óptico.<sup>4,24</sup>

É comum verificar-se atraso no crescimento na infância, assim como disfunções gastrointestinais, com problemas graves na alimentação, como disfunção para sucção/deglutição, refluxo gastroesofágico, vômitos e obstipação. Em alguns casos há a necessidade de alimentação através de sonda nasogástrica ou gastrostomia.<sup>4,24-26</sup>

Os defeitos neurológicos estão presentes em vários graus e incluem hipotonia no recém-nascido, manifestada por dificuldade na aquisição de competências motoras, fraqueza muscular e diminuição do volume muscular. As manifestações de problemas do neurodesenvolvimento também incluem convulsões, dificuldade na aprendizagem e/ou na linguagem. Podem-se verificar ventriculomegalia/hidrocefalia, anomalias na mielinização ou corpo caloso anómalo.<sup>4,24</sup>

Outras manifestações podem ser cataratas, hipoacusia, hipertensão arterial sistémica e hiponatremia.<sup>26</sup>

A prematuridade pode tornar algumas características da SCFC e das outras RASopatias menos óbvias. A história de polihidrâmnios, com ou sem higroma cístico, no período pré-natal, e a presença de edema generalizado ou pele redundante na nuca no recém-nascido devem fazer suspeitar de um defeito na via RAS/MAPK, mas estes achados são insuficientes para diferenciar entre cada uma das síndromes, nomeadamente SCFC, SN e SC. Para além disso, a apresentação no período pré-natal pode não ser aparente ou pode ser diferente da pós-natal.<sup>26,27</sup>

Em comparação com as outras RASopatias, a SCFC manifesta-se com um fenótipo neurológico mais grave. Cerca de 50% destes doentes desenvolvem epilepsia, tipicamente durante a primeira infância, mas também mais tarde, frequentemente com evolução crónica e refratária a anticonvulsivantes. Os tipos de crises incluem crises parciais complexas, tónico-clónicas generalizadas, crises de ausência e/ou espasmos infantis.

Existem casos relatados de complicação com encefalopatia aguda, de prognóstico neurológico grave.<sup>24,25</sup> Estudos prospetivos são necessários para averiguar se a evolução das alterações neurológicas em indivíduos com SCFC, tipicamente progressivas, é devido à sua doença de base, ao envelhecimento mais acelerado ou a algum processo neurodegenerativo.<sup>28</sup>

Assim, em síntese, revendo algumas das mutações mais frequentes conclui-se que as mutações em *PTPN11* estão associadas a SN e síndrome LEOPARD, as mutações em *SOS1* a SN, as mutações em *KRAS* a SN e SCFC, as mutações em *BRAF* a SCFC, SN e síndrome LEOPARD, as mutações em *RAF1* a SN e síndrome LEOPARD e as mutações em *MEK1* a SCFC e SN. Este alelismo engloba pontos comuns de sinalização importantes e este facto pode explicar a sobreposição de algumas características fenotípicas e um fenótipo contínuo que existe entre as diferentes síndromes.<sup>5</sup>

Novas variantes de genes potencialmente patogénicas, incluindo em *RIT1*, *RRAS*, *RASA2*, *SOS2* e *SYNGAP1*, mostraram possível associação com RASopatias, expandindo ainda mais a causalidade destas doenças. Além disso, variantes nos genes *A2ML1*, *LZTR1*, *MYST4*, *SPRY1* e *MAP3K8* podem ser outras causas raras, mas possíveis. No entanto, são precisos mais estudos e casos para a associação destes genes às RASopatias.<sup>29,30</sup>

De entre as manifestações clínicas mais partilhadas entre as diferentes síndromes das RASopatias (Tabela 1) encontram-se as características craniofaciais (Figura 2 e 3), o

défice no crescimento e neurodesenvolvimento, as perturbações neurocognitivas, as manifestações dermatológicas, as patologias cardiovasculares e as anomalias musculoesqueléticas.

Em cada RASopatia encontram-se singularidades próprias e podem existir propriedades específicas para as várias mutações. Assim, do ponto de vista funcional, existem algumas especificidades para as diferentes síndromes. As SN e síndrome LEOPARD estão principalmente associadas a mutações em reguladores positivos da via RAS/MAPK (ou seja, ativadores de RAS ou de RAF), enquanto as síndromes NF1 e NFLS estão relacionadas com inibidores de RAS. Por outro lado, as mutações causadoras de SC e SCFC atingem a parte central e mais a jusante da via, sendo a mutação relacionada com SC mais comum em RAS e com SCFC em quinases a jusante de RAS. De forma geral, tende-se a pensar que as mutações que atingem a parte central e baixa da via dão origem a condições mais graves. Isto pode acontecer porque os defeitos nos efetores a jusante da via são mais inevitáveis, isto é, têm maior efeito na sua desregulação, do que as moléculas proximais, que recebem vários níveis de regulação e podem ser contornados.<sup>5</sup>

As RASopatias são, geralmente, consideradas de hereditariedade autossómica dominante e está melhor estabelecido que a transmissão vertical pode ocorrer na síndrome NF1, SN, síndrome LEOPARD e na síndrome de Legius, o que ajuda na orientação de cuidados médicos e dos riscos de recorrência. SCFC e SC, que são as RASopatias mais raras e consideradas mais graves, são geralmente esporádicas, embora mais à frente seja relatado um exemplo com transmissão vertical de mutação em *BRAF*.<sup>21</sup>



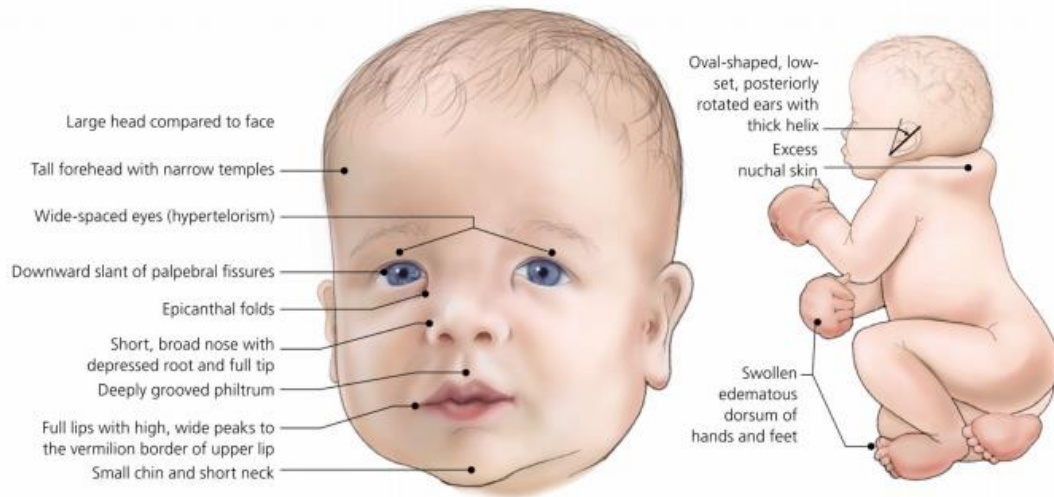


Figura 2. Caraterísticas craniofaciais de SN e outras RASopatias – recém-nascido. (Bhambhani, 2014)

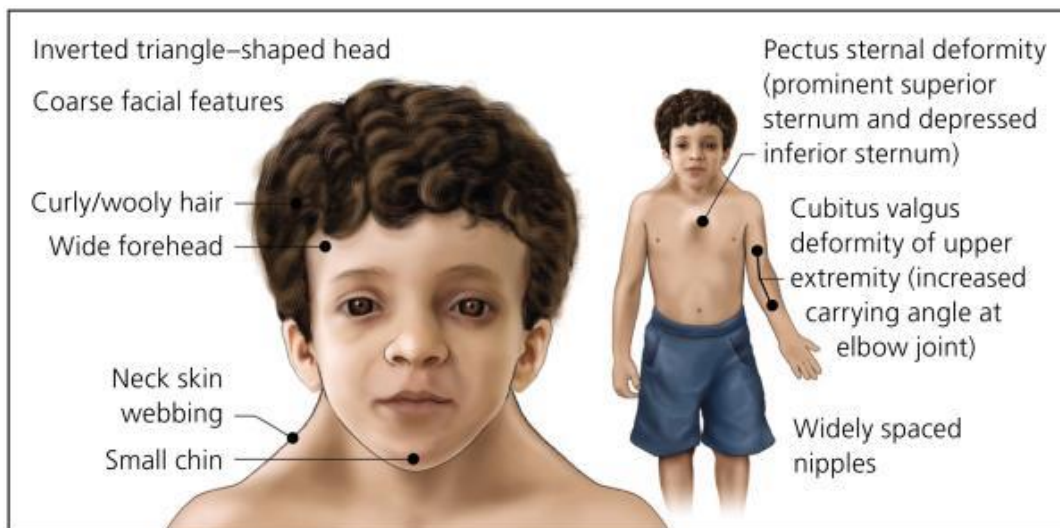


Figura 3. Caraterísticas craniofaciais de SN e outras RASopatias – adolescente. (Bhambhani, 2014)

Tabela 1: Características genéticas e clínicas das RASopatias

<b>Síndrome</b>	<b>Genes</b>	<b>Caraterísticas clínicas gerais</b>
<b>Síndrome de Noonan</b>	<i>PTPN11</i> <i>SOS1</i> <i>RAF1</i> <i>KRAS</i> <i>NRAS</i> <i>SHOC2</i> <i>CBL</i> <i>MEK1</i> <i>BRAF</i> <i>RIT 1</i>	Baixa estatura Dismorfismos craniofaciais, pescoço “alado” Défice de pilosidade na face (barba), axilas e região púbica, nevos melanocíticos <i>Pectus Carinatum/excavatum</i> Criptorquidia Dificuldades de aprendizagem/défice intelectual ligeiro Cardiopatia: EVP, MCH, defeitos septais/valvulares, coartação da aorta, persistência do canal arterial Alterações da coagulação Risco aumentado de doença maligna Doenças mieloproliferativas
<b>Síndrome LEOPARD</b>	<i>PTPN11</i> <i>RAF1</i> <i>BRAF</i>	Baixa estatura Dismorfismos craniofaciais suaves Múltiplos lentigos/ manchas “café com leite” Alterações no ECG Hipertelorismo ocular Cardiopatia: EVP/MCH Anomalia nos genitais/ criptorquidia Hipoacusia Dificuldades de aprendizagem/défice intelectual ligeiro
<b>Síndrome de Costello</b>	<i>HRAS</i>	Baixa estatura Dismorfismos craniofaciais Cabelo encaracolado Tricomegalia/ monocelha Pele redundante nas mãos e pés Sulcos palmares e plantares profundos Queratose palmoplantar Papilomas centropaciais e perianais Cardiopatia: MCH, EVP, arritmia Risco aumentado de doença maligna Défice intelectual moderado a grave

<p><b>Síndrome Cardio-Facio-Cutânea</b></p>	<p><i>BRAF</i> <i>MEK1</i> <i>MEK2</i> <i>KRAS</i></p>	<p>Baixa estatura Dismorfismos craniofaciais Défice intelectual grave Convulsões Alterações RMN CE Cardiopatias: EVP, MCH Cabelo ralo, encaracolado Hiperqueratose palmoplantar Queratose pilar, <i>ulerythema ophryogenes</i> Hemangiomas Nevos melanocíticos Lentigos</p>
<p><b>Síndrome da Malformação Capilar - Malformação Arteriovenosa</b></p>	<p><i>RASA1</i></p>	<p>Cardiopatias Malformações capilares e malformações arteriovenosas Manchas tipo “vinho do porto”</p>
<p><b>Neurofibromatose tipo 1</b></p>	<p><i>NF1</i></p>	<p>Manchas “café com leite” Lentigos nas pregas Nódulos de <i>Lisch</i> na íris Neurofibromas Cardiopatias Dificuldades de aprendizagem Risco de doença maligna Características craniofaciais tipo SN</p>
<p><b>NFLS/ Síndrome de Legius</b></p>	<p><i>SPRED1</i></p>	<p>Manchas “café com leite” Lentigos nas pregas Sem neurofibromas Lipomas Dificuldades de aprendizagem Características craniofaciais tipo SN</p>

Legenda: EVP- estenose da válvula pulmonar; MCH- miocardiopatia hipertrófica; ECG- eletrocardiograma; RMN CE- ressonância magnética crânio-encefálica; SN- síndrome de Noonan

## MUTAÇÕES DO GENE *BRAF* E AS RASOPATIAS

### Gene *BRAF*

*BRAF* é um gene (proto-oncogene) humano, localizado no cromossoma 7 (7q34), que produz a proteína BRAF, uma proteína serina/treonina quinase, um dos efetores a jusante de RAS na via RAS/MAPK.<sup>4</sup> As proteínas a jusante da BRAF são MEK1 e MEK2.<sup>3,9</sup>

O gene *BRAF* contém três regiões conservadas, CR1, CR2 e CR3, como os outros genes membros da família RAF, *ARAF* e *CRAF*. A CR1 tem o domínio de ligação RAS e o domínio rico em cisteína, a CR2 consiste na região articuladora e a CR3 contém o domínio da proteína quinase, bem como dois componentes funcionais da proteína, o segmento rico em glicina (exão 11) e o segmento de ativação (exão 15) do domínio catalítico.<sup>21</sup>; (figura 4)

A alteração na proteína BRAF pode perturbar a via de sinalização RAS/MAPK, que por sua vez pode resultar em patologias, como SN, síndrome LEOPARD e SCFC e em diferentes tipos de câncros.<sup>9</sup> Apesar das mutações no gene *BRAF* serem encontradas em diferentes RASopatias, estas são, predominantemente, descritas na SCFC.<sup>31</sup> Apesar da forte associação de mutações do *BRAF* e SCFC, alguns indivíduos a quem é identificada esta mutação exibem fenótipo típico de SN.<sup>31</sup>

As mutações do gene *BRAF* nas células germinativas estão associadas a distúrbios no desenvolvimento físico e cognitivo e são responsáveis por cerca de 75% dos casos de SCFC e 1,7% de SN.<sup>3,4,32</sup> Além disso, algumas mutações no *BRAF* podem associar-se a manifestações fenotípicas de ambas sobrepostas, ou até podem nem estar associadas a um fenótipo de SN ou SCFC.<sup>32</sup> Dismorfismos craniofaciais, défice no crescimento, défice neurocognitivo variável, cardiopatias, anomalias esqueléticas e ectodérmicas são algumas das características sobrepostas destas síndromes.<sup>9</sup> Há descrição de uma mutação, c.1593G>T (p.Trp531Cys), no *BRAF* encontrada em indivíduos com défice intelectual e epilepsia, mas que não apresentam fenótipo típico de SN ou SCFC.<sup>32</sup>

A BRAF, como oncoproteína conhecida, tem mutações somáticas relatadas em vários tipos diferentes de doenças malignas, nomeadamente cancro da tiroide, do pulmão, do ovário, da próstata, da pele (melanoma) e colorretal.<sup>4,9</sup> As mutações missense do *BRAF* são identificadas em, aproximadamente, 7% dos câncros.<sup>32</sup> A mutação p.V600E neste gene é a mais frequente em várias linhagens de células presentes no cancro,<sup>32</sup> havendo também relatos da presença desta mutação em nevos melanocíticos congénitos.<sup>33</sup> Há referência à ocorrência de câncros, como leucemia linfoblástica aguda e linfoma não-Hodgkin, em pacientes com mutações do gene *BRAF* na linha germinativa.<sup>34</sup> Esta

identificação sugere que *BRAF* como oncogene pode ter importância para além dos tumores sólidos.<sup>15,32</sup> Embora as mutações no *BRAF* na linha germinativa tenham menos potência na desregulação da sua função, é necessária uma observação cuidadosa dos indivíduos afetados, especialmente daqueles que têm mutações que se sobrepõem às encontradas no cancro.<sup>32</sup> Lee et al. estudaram clinicamente e molecularmente indivíduos com RASopatia associada a mutações no gene *BRAF*. Oito dessas mutações foram relatadas como mutações somáticas em cancros humanos (p.Thr241Met, p.Gly464Arg, p.Gly464Glu, p.Gly466Arg, p.Gly469Glu, p.Glu501Lys, p.Asn581Asp, e p.Phe595Leu).<sup>32</sup>

Ao contrário das mutações do *BRAF* associadas ao cancro, que se localizam no domínio catalítico, a maioria das presentes na SCFC são *de novo* e as mais comuns ocorrem no domínio rico em cisteína e no domínio da proteína quinase, sendo a mutação mais comum a p.Q257R, no exão 6, no domínio rico em cisteína, a maioria com atividade quinase aumentada, mas algumas com atividade da quinase prejudicada.<sup>5,8</sup> Outras mutações do *BRAF* que estão associadas à SCFC são encontradas nos exões 11, 12, 13, 14, 15 e 16. Nos exões 12 e 11, as mutações E501G (12%) e G469E (6%), respetivamente, foram as encontradas com mais frequência.<sup>9</sup>; (figura 2)

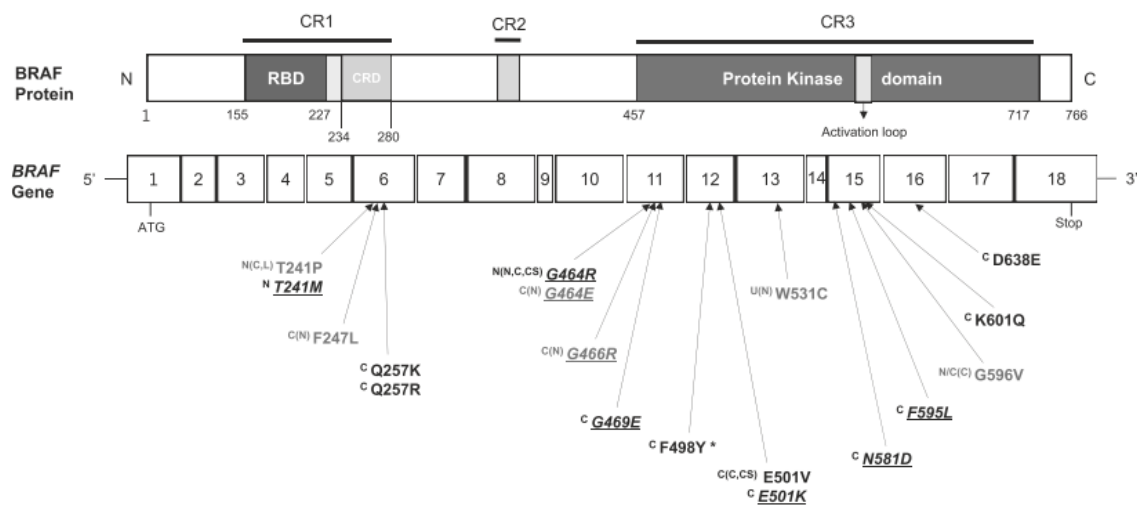


Figura 4. Estrutura dos domínios da proteína BRAF e localização de algumas das mutações encontradas no gene originárias de RASopatias. CR: região conservada; RBD: domínio de ligação RAS; CRD: domínio rico em cisteína. (Lee et al., 2020<sup>32</sup>)

Para uma única variante do gene *BRAF* pode existir heterogeneidade fenotípica. Dando alguns exemplos, a mutação p.Thr241Pro foi descrita em SN, mas também na SCFC e na síndrome LEOPARD. O mesmo para a mutação p.Phe247Leu que foi associada a SCFC, mas também a SN. As mutações p.Gly464Glu, p.Gly466Arg e p.Trp531Cys

descritas na SN, foram também identificadas em pacientes com SCFC e em pacientes com deficiência intelectual de síndrome indeterminada. Da mesma forma, a mutação p.Gly596Val foi encontrada em SN e SCFC.<sup>32</sup> Estes achados permitem concluir que as mutações do *BRAF* da linha germinativa estão associadas a vários fenótipos e manifestam uma ampla gama de espectros de doença variando de SCFC típico, SN ou fenótipos semelhantes ou déficit intelectual de síndrome indeterminada.<sup>32</sup>

Variantes patogénicas para a SCFC são geralmente consideradas *de novo*, mas a transmissão vertical está relatada com mutações em *MEK2*, *KRAS* e *BRAF*.<sup>21,35,36</sup>

Uma variante em heterozigotia, previamente relatada, do *BRAF* (c.1390G>C) que codifica uma substituição patogénica p.G464R foi revelada num caso clínico onde ocorreu transmissão de progenitores para a descendência.<sup>21</sup> Existe, também, um caso relatado de possível mosaicismo nas células germinativas de progenitores com 2 filhos com características clínicas de SCFC e a mesma mutação em *BRAF* (c.770A>G, p.Gln257Arg). Nenhum dos pais, ambos fenotipicamente normais, tinha esta mutação no seu DNA. Para além desta mutação ser a mais comum na SCFC, foi a primeira a ser associada a SCFC em irmãos e, provavelmente, a primeira descrição de mosaicismo de células germinativas na SCFC. Por isso, é importante promover o aconselhamento genético orientado às famílias em relação ao risco de recorrência nas gestações seguintes. Para além de mosaicismo das células germinativas, também foi considerado que neste caso podia-se estar perante outras condições, apesar de menos prováveis, como duas mutações que surgiram independentemente uma da outra ou mosaicismo somático num dos pais, mas indetetável nos linfócitos do seu sangue periférico.<sup>37</sup>

A prática atual para investigar a etiologia genética de um caso com clínica suspeita de SCFC deve começar com um teste multigénico com um painel para RASopatias. A sequenciação do exoma global ou do genoma pode ser usada posteriormente. As amostras dos progenitores negativas para a mesma mutação do indivíduo afetado, se estes pais não mostrarem características fenotípicas de SCFC, poderia levar a concluir-se que, provavelmente, representava uma mutação *de novo* no caso *index* e, como resultado, o risco para os irmãos era considerado muito baixo. No entanto, como se referiu na descrição clínica anterior com a mesma mutação do gene *BRAF*, c.770A>G, em irmãos, isto representa um caso de provável mosaicismo de células germinativas. Assim, destaca-se a importância de aconselhar os pais não afetados de uma criança com SCFC de que o risco para próximas gestações pode realmente ser maior do que se poderia suspeitar à partida. Como resultado, Geoghegan et al. defendem que o diagnóstico pré-natal de gestações subsequentes deve ser disponibilizado.<sup>37</sup>

### **Caraterísticas fenotípicas das mutações do *BRAF* nas RASopatias**

Lee et al. investigaram o fenótipo e genótipo de 26 pacientes com RASopatias associadas a mutações no gene *BRAF* e concluíram que os fenótipos mais prevalentes eram déficit do desenvolvimento motor, déficit intelectual, manifestações cutâneas, defeitos cardíacos congênitos, baixa estatura e dismorfia craniofacial. De realçar que foram observados déficit intelectual moderado a grave e epilepsia. As anomalias oculares também foram identificadas, incluindo ptose palpebral, estrabismo, nistagmo, proptose e atrofia do nervo ótico. Também se verificaram surdez e criptorquidia. Outras manifestações raras foram hidrocefalia, hemorragia intracraniana, hidronefrose, rim duplicado e hipocalcemia transitória. Destes indivíduos, os que tinham SCFC apresentavam pescoço curto, macrocefalia relativa, pavilhões auriculares de implantação baixa e manifestações cutâneas, incluindo cabelo ralo, hipoplasia das sobrancelhas, cabelo encaracolado, lentigos múltiplos e ictiose. Os indivíduos com SN apresentaram caraterísticas dismórficas comuns, sem manifestações cutâneas, incluindo pavilhões auriculares de implantação baixa, hipertelorismo, fendas palpebrais oblíquas para baixo e pescoço curto.<sup>32</sup>

Em relação a alteração no desenvolvimento dos canais linfáticos, suspeita-se que possa ser outra das manifestações fenotípicas. Estas foram relatadas no período embrionário de ratos com RASopatia pela primeira vez, com a mutação p.Q257R do *BRAF*.<sup>38</sup>

### **Dismorfismos craniofaciais**

As caraterísticas craniofaciais encontradas nos indivíduos com RASopatia por mutações do gene *BRAF* incluem macrocefalia relativa, pescoço curto, pavilhões auriculares de implantação baixa e rodados posteriormente, hipertelorismo ocular, epicanto, fendas palpebrais oblíquas para baixo e ponte nasal baixa. Para além disso, também se podem observar alterações ósseas como *pectus excavatum/carinatum*.<sup>32</sup>

Bukowska-Olech et al. relataram alterações estruturais no cromossoma 7, com variações no número de cópias (CNV) abrangendo 109 genes na região 7q32.3-q35, que inclui o gene *BRAF*.<sup>39</sup> Por haploinsuficiência do *BRAF* houve desregulação da cascata RAS/MAPK e, conseqüentemente, permitiu o fenótipo observado no paciente estudado, que apresentava craniossinostose e caraterísticas dismórficas faciais coincidentes com SN. Assim, propôs-se uma possível associação entre haploinsuficiência de *BRAF* por CNV, desregulação da via de sinalização RAS/MAPK e dismorfismo facial tipo SN com craniossinostose. Portanto, existe a possibilidade desta via afetada estar envolvida no desenvolvimento de craniossinostose, concomitantemente com o desenvolvimento de

RASopatia, como foi relatado em casos de SN com mutações em *PTPN11* e *SHOC2* e casos de SCFC, com mutações nos genes *BRAF* ou *KRAS*.<sup>39,40</sup>

### **Anomalias Cardíacas**

Há evidência de que os genes que codificam proteínas da via RAS/MAPK possam desempenhar um papel importante no desenvolvimento de miocardiopatia, e *BRAF* não é exceção.<sup>41</sup> Os defeitos cardíacos congênitos encontrados nos pacientes com mutação no gene *BRAF* são frequentes, incluindo miocardiopatia hipertrófica (MCH), estenose da válvula pulmonar (EVP) e defeito no septo atrial.<sup>32</sup> A MCH é a cardiopatia mais frequente nos pacientes com mutação no *BRAF*.<sup>32</sup> Quando comparadas com as mutações em *PTPN11*, as de *BRAF* estão associadas a um fenótipo mais grave e uma maior prevalência de MCH.<sup>5</sup> Também há relatos de MCH associada a variantes do gene *BRAF*, mas sem as aparentes características sindrômicas das RASopatias.<sup>41</sup>

Num estudo experimental, foram gerados ratos com a mutação do *BRAF* mais frequente na SCFC, p.Q257R. De entre as manifestações realça-se a letalidade embrionária ou neonatal, necrose hepática, edema e anomalias craniofaciais. Por análises histológicas foram revelados defeitos cardíacos, como cardiomegalia, aumento de válvulas cardíacas, não compactação ventricular e defeitos do septo ventricular.<sup>38</sup> Outro estudo experimental em ratos com mutação Q241R em *BRAF* reforça a contribuição destas mutações no desenvolvimento de doença cardíaca congênita, com defeitos na estrutura cardíaca ou nas válvulas. É possível que as diferenças nestes defeitos cardíacos dependam de múltiplos fatores como o “terreno” genético individual, condições ambientais e o tipo de mutação no *BRAF*.<sup>42</sup>

### **Perturbação neurocognitiva e do desenvolvimento psicomotor**

As mutações do gene *BRAF* estão, também, associadas a uma maior prevalência de alterações neurocognitivas e do desenvolvimento psicomotor, com hipotonia com défice motor, assim como de convulsões, em comparação com outras mutações das RASopatias.<sup>5,32</sup>

Em pacientes com mutação no *BRAF*, a perturbação neurocognitiva é mais grave, sendo que mais de metade apresentam défice intelectual moderado a grave.<sup>32</sup> A maior incidência de epilepsia em pacientes com mutação neste gene foi verificada pelo aumento da epileptogenicidade de células neuronais com mutação.<sup>32</sup> Isto porque o *BRAF* participa no processo de neurodesenvolvimento, colaborando na sobrevivência, migração, diferenciação e maturação das células neuronais.<sup>8,32</sup>

Relativamente ao papel do *BRAF* no desenvolvimento neuronal, este é essencial para a manutenção dos progenitores neurais e para a proliferação de células-tronco neurais.



Quando a variante do gene *BRAF* é deletéria, a maturação dos oligodendrócitos é prejudicada, podendo explicar algumas anomalias estruturais cerebrais, como malformação do corpo caloso e redução do volume da substância branca. A mutação p.Q257R no *BRAF* induz diferenciação neural prematura, resultando numa rápida diminuição do número de progenitores neuronais. A ativação da via RAS/MAPK intensifica a proliferação de células tronco neurais com hiperproliferação e expansão das células da linhagem glial. O esgotamento dos progenitores neurais pode levar ao desequilíbrio de neurónios e células da glia durante o desenvolvimento do cérebro, o que pode explicar as manifestações neurológicas vistas nas RASopatias.<sup>8</sup> O gene *BRAF* é essencial para a migração e maturação neuronal e projeção do axónio. Uma mutação do *BRAF* com ganho de função pode estar associada à epilepsia, por alta excitabilidade intrínseca dos neurónios.<sup>8</sup>

Assim, o *BRAF* participa em várias etapas dos processos de neurodesenvolvimento, como manutenção do número de progenitores neurais, especificação do destino, glicogénese e diferenciação de oligodendrócitos.<sup>8</sup> Os defeitos de desenvolvimento no cérebro podem ser por défice neurocognitivo, bem como por defeitos estruturais. Defeitos na mielinização, redução do volume da substância branca e mal formação do corpo caloso, defeitos na migração e morfologia neuronal podem explicar os defeitos cerebrais estruturais e interrupção da formação do circuito que afeta as funções neurocognitivas.<sup>8</sup>

Há relato de indivíduos com SCFC, cujas mutações em causa estavam localizadas no *BRAF*, que desenvolveram complicação com encefalopatia aguda, corroborando a hipótese de que mutações patogénicas neste gene podem predispor especificamente a complicação por esta entidade, devido a uma suscetibilidade intrínseca para esse evento agudo.<sup>25</sup> Os defeitos causados por essas mutações durante o neurodesenvolvimento podem desencadear um estado de mal epilético e ser um fator de risco para o desenvolvimento de encefalopatia aguda e regressão neurocognitiva. Além disso, é considerada a possibilidade de que a displasia cortical em pacientes com SCFC possa desencadear por si própria o estado de mal epilético/ desenvolvimento de encefalopatia aguda e de regressão neurocognitiva, mas mais casos e estudos são necessários para refutar ou corroborar a generalização desta associação.<sup>25</sup>

### **Manifestações cutâneas**

Os sinais cutâneos frequentemente observados em associação com mutações patogénicas no gene *BRAF* são cabelo ralo e/ou encaracolado, hipoplasia das sobrancelhas e hiperqueratose. No entanto, estas não são características distintas ou exclusivas das mutações do *BRAF*. Várias outras RASopatias também exibem

manifestações cutâneas. Na SC causada por mutações em *HRAS* pode existir presença de cabelo encaracolado e/ou ralo, pregas palmares profundas e papilomas cutâneos. Também na SN associada a mutações *SOS1* são observadas alterações ectodérmicas, como hiperqueratose, sobrancelhas hipoplásicas, cabelos escasso e/ou encaracolado. Na SN devido a mutações em *SHOC2* também se verifica a presença de anomalias no cabelo, incluindo cabelo fino e de crescimento lento. Além disso, foi relatado que 50% dos indivíduos com SN com mutações *PTPN11* têm anomalias capilares, incluindo cabelo ondulado a encaracolado e alopecia temporal.<sup>32</sup>

Bessis et al. elegeram pacientes com diagnóstico confirmado de SCFC e com mutação *BRAF*, *MEK1* ou *MEK2* e reuniram os achados dermatológicos destes para tentar estabelecer uma relação genótipo-fenótipo.<sup>43</sup> Foram encontradas alterações capilares, como cabelo ralo, encaracolado ou ondulado, alopecia temporal, sobrancelhas hipoplásicas ou ausentes e poucos cílios.<sup>43</sup> Foi também observada queratose pilar na face, nos membros ou generalizada. *Ulerythema ophryogenes* nas sobrancelhas e na região lateral da face também foi encontrado, assim como hiperqueratose palmar e plantar nas áreas de pressão.<sup>43</sup> Múltiplos nevos melanocíticos (>50) foram descritos em alguns pacientes e não tinham predileção por áreas expostas, estando também presentes nas palmas das mãos e plantas dos pés.<sup>18,43</sup> Bessis et al. concluíram que os pacientes com mutação do *BRAF* tinham, relativamente aos que tinham mutações em *MEK1* ou *MEK2*, mais anomalias capilares, como cabelos ralos e/ou ondulados/encaracolados, sem que tenham familiar com essas características.<sup>43</sup>

Cabelo ondulado ou encaracolado também é encontrado na SC e SN e, por isso, não é um bom indicador para diferenciar entre SCFC, SC e SN. Da mesma forma, a escassez ou ausência de sobrancelhas é relatada, com frequência, na SN com mutações *SOS1* e *SOS2*, portanto, não parece ser um achado discriminatório entre SCFC e SN. No entanto, a escassez ou ausência de sobrancelhas pode ser útil para distinguir SCFC de SC porque nesta última as manifestações variam desde densidade das sobrancelhas normal até aumento do crescimento capilar nas sobrancelhas e pestanas, incluindo monocelha e tricomelia. Para além disso na SC pode haver pele redundante, com pregas palmar e plantar profundas.<sup>17,43,44</sup> Hiperqueratose palmar e plantar e *ulerythema ophryogenes* são manifestações clássicas de SCFC e por isso são úteis para fazer o diagnóstico diferencial com outras RASopatias, como SC e SN. Porém, estas características têm menor manifestação clínica nas crianças, podendo não estarem presente nesta fase, tornando o diagnóstico definitivo um desafio clínico. A queratose pilar não é geralmente relatada em grande parte dos pacientes com SC e SN e por isso pode servir como sinal de orientação clínica para SCFC. A percentagem de pacientes com SCFC com múltiplos

nevos melanocíticos também parece significativamente maior do que em pacientes com SC. Já relativamente à comparação com múltiplos nevos melanocíticos presentes na SN, nenhuma conclusão foi retirada.<sup>43</sup>

Em indivíduos com mutação deletéria no gene *BRAF* foram também relatados papilomas, mas não como os papilomas nasais e perianais tipicamente observados na SC.<sup>18</sup>

### **Défi ce no crescimento estatura-ponderal**

As variantes patogénicas do gene de *BRAF* também podem dar baixa estatura. Como a via de sinalização RAS/MAPK desempenha um papel importante, também, na mediação da sinalização intracelular de IGF-1, a desregulação desta via contribui para o desenvolvimento de défi ce no crescimento e, conseqüentemente, baixa estatura nas RASopatias.<sup>32</sup>

Um estudo que registou os parâmetros antropométricos em casos com o diagnóstico de RASopatia, e portadores de mutações em diferentes genes que regulam esta via, notou que o subgrupo analisado com mutações no *BRAF* registava os maiores valores de índice de massa corporal (IMC).<sup>45</sup>

Para concluir, um genótipo pode expressar vários fenótipos quando se fala de RASopatias. Assim, também, uma síndrome específica que integra as RASopatias relacionada com o gene *BRAF* não depende exclusivamente da variante encontrada na mesma.<sup>32</sup> São reconhecidos fatores extrínsecos ao genótipo que influenciam a expressividade fenotípica, particularmente quando o gene *BRAF* está em causa. A intervenção precoce a que são submetidos estes indivíduos, muitas vezes desde o nascimento, nomeadamente no combate às dificuldades alimentares, à hipotonia, aos problemas de crescimento estatura-ponderal e ao atraso da aquisição de competências neurocognitivas leva a “manipulação” dos fenótipos. Pode-se mesmo dizer que a epigenética é um fator modificador do perfil genético destes indivíduos, como já experienciado noutras patologias.

As mutações no gene *BRAF*, como já foi referido anteriormente, podem ser associadas a diferentes tipos de RASopatias, incluindo SN, síndrome LEOPARD, SCFC ou défi ce intelectual de síndrome indeterminada.<sup>32</sup> A distinção entre a SN e a SCFC é baseada em características clínicas distintas, mas o diagnóstico diferencial entre elas é difícil, não havendo características patognomónicas para um diagnóstico clínico. No entanto, pode-se aferir que os indivíduos com SCFC têm maior probabilidade a ter défi ce neurocognitivo grave e uma maior prevalência de epilepsia refratária. Para além disso, manifestam sinais

cutâneos característicos, como cabelo ondulado ou encaracolado, com fraco crescimento e múltiplos nevos melanocíticos.<sup>32</sup> A SCFC, em comparação com outras RASopatias apresenta mais frequentemente hipoplasia das sobrancelhas com eritema e queratose pilar e poucos cílios, assim como pele hiperqueratósica. Outra síndrome que partilha características fenotípicas com SN e SCFC é a SC, cuja maioria das mutações ocorre em *HRAS*. Cabelo encaracolado ou ondulado é uma característica tanto da SC como da SCFC, no entanto na SC as manifestações capilares das sobrancelhas e cílios são diferentes por apresentarem densidade normal ou aumentada. Em comum, a SCFC e a SC têm dismorfismos faciais e problemas do neurodesenvolvimento com défice cognitivo grave. Em oposição, a SN geralmente está associada a défices cognitivos mais ligeiros ou até mesmo ausentes.<sup>17,44</sup> Não é observada uma correlação genótipo/ fenótipo, mesmo quando se fala unicamente no gene *BRAF*, podendo indicar que “modificadores” genéticos, epigenéticos e/ou ambientais\ modulam a penetrância e a expressividade fenotípica. É de esperar que com a utilização de estudos do genoma em pacientes com défice intelectual e/ou motor mais casos sejam identificados, expandido o espectro clínico que pode estar relacionado com variantes do *BRAF*, bem como com outras RASopatias.<sup>32</sup>

## **EXEMPLOS DE CASOS CLÍNICOS COM RASOPATIA ASSOCIADA A MUTAÇÕES NO GENE *BRAF***

Apresentam-se dois doentes com variantes patogénicas no gene *BRAF*, observados na consulta de genética médica do Hospital Pediátrico, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Estes dois casos clínicos permitem exemplificar a variabilidade fenotípica desta entidade, sem deixar de salvaguardar a informação sobre as características comuns causadas por alterações no referido gene, mas, também a outras RASopatias.

A descrição é feita de forma anonimizada e a informação foi fornecida pelo médico assistente do referido serviço, após consentimento da família.

### **CASO CLÍNICO 1**

O A.S. é um adolescente de 14 anos, com défice intelectual (WISC-III-muito inferior), perturbação de hiperatividade e défice de atenção (PHDA), mas com progressos na aprendizagem.

Apresenta crescimento com estatura e peso inferiores ao percentil (P) 5 (sendo, respetivamente, P50 para 9,5 anos e P50 para 10 anos), tendo o índice de massa corporal no P10/25 e perímetro cefálico no P90. Assim, concluímos por uma baixa estatura com macrocrânia relativa. A RMN CE confirmou um corpo caloso hipoplásico. Tem défice visual moderado, por alteração da papila ótica, e nistagmos horizontal, usando óculos.

Apresenta ainda, alguns dismorfismos, nomeadamente cabelo encaracolado e seco com implantação alta na região frontal e raro, sobretudo na região temporal, fendas palpebrais oblíquas para baixo, pavilhões auriculares rodados posteriormente, manchas “café com leite” (com aparecimento após os 3 meses de idade) e lentigos que têm aumentado em número. As sobrancelhas e pestanas são um pouco escassas e ainda não tem pilosidade correspondente a barba ou nas regiões púbica e axilar. Não tinha alterações hematológicas e cardiopatia, uma vez que a ecocardiografia foi normal, na última consulta.

Dos antecedentes pessoais é de referir que, durante a gestação realizou cariótipo fetal por translucência da nuca superior ao P99 e ventriculomegalia cerebral, que foi normal (46,XY).

Ao nascimento apresentava pescoço curto e pele da nuca redundante, assim como os pavilhões auriculares rodados posteriormente. A ecografia transfontanelar foi normal, com exceção para uma suspeita de corpo caloso “fino”. Necessitou de uso de sonda nasogátrica durante as primeiras 3 semanas de vida, por incompetência da sucção/deglutição, e manteve durante muitos meses dificuldades alimentares e hipotonia que motivaram o recurso a terapias de apoio. Foi colocada a hipótese diagnóstica de síndrome de Noonan e veio, posteriormente, a realizar estudo molecular do gene *PTPN11* que foi normal. Por se constatar a presença de atraso de desenvolvimento psicomotor fez *array CGH* que também não identificou alterações - arr(1-22)x2,(XY)x1. Manteve um seguimento multidisciplinar, apesar de não ter havido uma confirmação de diagnóstico etiológico.

Aos 10 anos de idade, foi novamente observado na consulta de genética médica, pois os pais desejavam uma nova gestação. Por apresentar um atraso de desenvolvimento psicomotor grave, baixa estatura e haver uma história de episódios de hipoglicemia não cetótica (que, entretanto, tinha iniciado), a opção foi realizar um exoma global, embora se mantivesse, como mais provável, o diagnóstico no espectro das RASopatia. Este identificou a variante c.2135C>A (p.Ala712Asp) em heterozigotia no gene *BRAF*. Esta variante não se encontra descrita na literatura e era inicialmente tida como de significado clínico desconhecido. No entanto, o estudo dos progenitores permitiu concluir que se tratava de uma alteração *de novo*, mudando a classificação para provavelmente patogénica, nas bases de dados bioinformáticas consultadas (ClinVar e Varsome).

## **CASO CLÍNICO 2**

O F.N. é um jovem adulto de 20 anos com défice intelectual moderado, mas funcional, cardiopatia congénita (comunicação inter-auricular e estenose pulmonar) corrigida cirurgicamente e baixa estatura (inferior ao P5). Não apresenta macrocrânia (perímetro

cefálico no P50/75). Tem o cabelo encaracolado e seco, pescoço curto e largo e fendas palpebrais oblíquas para baixo.

Durante a gestação do F.N. foi realizado o diagnóstico pré-natal citogenético por idade materna (46,XY - constituição cromossômica normal masculina) e, posteriormente, o diagnóstico pré-natal ecográfico de hidrâmnios, higroma quístico e de cardiopatia congénita.

Após o nascimento, por suspeita clínica de síndrome de Noonan, haviam sido pesquisadas, mutações pontuais no gene *PTPN11*, conhecido na altura como responsável por alguns casos desta entidade, não tendo sido identificadas. Após um longo período sem observação na consulta de genética médica, aos 15 anos foi realizado um estudo genético orientado a vários genes relacionados com o espectro da Síndrome de Noonan, que identificou a variante c.721A>C, no exão 6 do gene *BRAF* em heterozigotia. Esta variante já tinha sido descrita em indivíduos com síndrome de Noonan e síndrome Noonan/Cardio-Facio-Cutâneo pelo que permitiu confirmar o referido diagnóstico (espetro).

Os progenitores, ambos saudáveis, não acharam necessário verificar se esta alteração era de novo ou herdada, pelo que não realizaram a pesquisa da referida variante.

## COMENTÁRIOS AOS CASOS CLÍNICOS

Os dois casos clínicos apresentados são exemplificativos da variabilidade fenotípica e variabilidade na gravidade dos doentes com RASopatia, que têm por base variantes patogénicas no gene *BRAF*.

Desde logo se verifica que o caso clínico 1 tem alteração estrutural no sistema nervoso central, enquanto o caso clínico 2 tem uma cardiopatia complexa. Os dois têm atraso de desenvolvimento psicomotor, mas no primeiro este é muito mais grave. Também o primeiro apresenta alterações capilares/pilositárias, sugerindo compromisso ectodérmico, ao contrário do segundo. Também no período pré e perinatal estão presentes achados distintos nos dois, como a ventriculomegalia e hipotonia no primeiro e hidrâmnios no segundo (que poderá ser um sinal indireto de hipotonia e pobreza de movimentos de deglutição, mas este facto não é mencionado no processo clínico como tendo sido observado no período neonatal).

O descrito no parágrafo anterior contém as alterações mais frequentes identificadas nas RASopatias com variantes patogénicas no gene *BRAF*. No entanto, em ambos os casos clínicos existem, em comum, características fenotípicas da síndrome de Noonan como translucência da nuca/higroma quístico em pré-natal, baixa estatura e fácies típico, como a posição dos pavilhões auriculares, as fendas palpebrais oblíquas e o cabelo encaracolado.

Parece que, mais facilmente, se pode considerar um SCFC no caso 1, apesar de não ter cardiopatia, e uma maior sobreposição de SN/SCFC no caso 2.

A sequenciação exómic total efetuada no primeiro caso versus a realização de um estudo em painel poderá ser discutível, uma vez que a suspeita era de uma RASopatia, mas a gravidade do défice cognitivo e as alterações comportamentais, assim como a grande dificuldade na progressão estatura-ponderal poderá ter levado a esse procedimento. No entanto, poderia ter havido achados incidentais ou aparecimento de outras variantes de significado clínico incerto que iriam complicar o aconselhamento genético. É de realçar que só o estudo dos progenitores e a confirmação da paternidade, no primeiro caso, permitiu alterar a classificação da variante de significado clínico incerto para provavelmente patogénica. No segundo caso não houve esta necessidade para o diagnóstico, mas o aconselhamento genético foi menos dirigido pela falta de estudo dos progenitores.

## CONCLUSÃO

---

A via RAS/MAPK é uma cascata de sinalização intracelular que intermedeia a transmissão de sinal do exterior para o interior das células, participando na regulação do ciclo celular.<sup>3</sup> A sua desregulação, por mutações nos genes integrantes ou reguladores desta via, interfere no normal desenvolvimento celular, podendo dar origem a determinadas síndromes, com manifestações fenotípicas que envolvem diferentes sistemas, as RASopatias, e a diferentes tipos de cancro.<sup>7</sup>

As RASopatias incluem a SN, síndrome LEOPARD, SC, SCFC, NF1. Genotipicamente, a SN está mais associada a mutações nos genes *PTPN11*, *SOS1* e *RAF1*, a síndrome LEOPARD no gene *PTPN11*, a SC no gene *HRAS*, a SCFC nos genes *BRAF*, *MEK1*, *MEK2* e a NF1 no gene *NF1*.

Estas associam-se a manifestações fenotípicas como baixa estatura, dismorfias faciais, patologias cardiovascular e neurocognitiva, alterações cutâneas, musculoesqueléticas e oftalmológicas.<sup>2,4</sup> Podem partilhar as mesmas características clínicas, especialmente durante a infância. Devido a isso, o teste molecular é muito importante não só para a confirmação diagnóstica como para a orientação do prognóstico e uma gestão adequada de complicações que podem ser mais específicas, consoante a variante genética em causa. Exemplo disso, são patologias como as cardíacas, as hematológicas ou as oncológicas.<sup>12</sup>

Particularmente, as variantes patogénicas do gene *BRAF* na linha germinativa estão associadas a um espectro de doença variando de SCFC, SN, síndrome LEOPARD ou défice intelectual de síndrome indeterminada.<sup>32</sup>

As mutações no gene *BRAF* podem condicionar apresentações fenotípicas típicas, com fenótipo neurológico mais grave, com défice intelectual e hipotonia com défice motor e dificuldades alimentares, assim como maior prevalência de convulsões e epilepsia refratária, bem como defeitos cerebrais estruturais (defeitos na mielinização, redução do volume da substância branca e mal formação do corpo caloso).<sup>5,8,32</sup> Os pacientes com mutação no gene *BRAF* têm, relativamente aos que têm mutações nos genes *MEK1* ou *MEK2*, mais anomalias capilares, como cabelos ralos e/ou ondulados/encaracolados.<sup>43</sup> Quando comparadas com as mutações em *PTPN11*, as de *BRAF* estão associadas a um fenótipo mais grave e uma maior prevalência de MCH.<sup>5</sup>



Especificamente nas manifestações fenotípicas da SCFC há casos graves de déficit neurocognitivo e manifestações ectodérmicas características.<sup>1,4,14</sup> A queratose pilar, assim como a hipoplasia das sobrancelhas com eritema e poucos cílios podem servir como sinal de orientação clínica para SCFC.<sup>17,43,44</sup> Para além disto, está, geralmente, associada a características faciais mais notórias do que as de SN.<sup>7</sup> Associadamente, tende a haver menos risco de doenças malignas para os indivíduos com SCFC do que com NF1, SN e SC.<sup>4,22</sup>

Nos casos clínicos apresentados, exemplifica-se a variabilidade das características clínicas apresentadas, bem como da sua gravidade em doentes com RASopatia, que têm por base variantes patogénicas no gene *BRAF*.

Independentemente da atribuição fenotípica, estabelecer a etiologia molecular de todos os indivíduos com suspeita de RASopatia é essencial para fornecer cuidados médicos adequados de acompanhamento e vigilância. Além disso, a análise molecular é importante para o aconselhamento genético e do risco de recorrência. O diagnóstico clínico deve ser confirmado através do estudo com o painel multigénico pré-definido para RASopatias em vez de estudo de gene único, dada a sobreposição fenotípica, por vezes indistinguível, entre as várias síndromes deste espectro. No entanto, na inexistência de alterações nos genes do painel revela-se importante o estudo de outros genes potencialmente envolvidos ou de cromossomopatias.

Reconhecendo a importância do diagnóstico etiológico específico e da caracterização criteriosa de qualquer doença, mas em particular quando esta implica envolvimento multidisciplinar, destaca-se o interesse da elaboração de um protocolo aplicável a nível nacional para o diagnóstico e acompanhamento dos indivíduos, neste caso em particular, com suspeita/ diagnóstico de SCFC. No capítulo “Anexo” é apresentada uma sugestão de um protocolo de diagnóstico e vigilância na SCFC baseado na bibliografia utilizada para a realização deste trabalho. Adicionalmente, propõe-se o estudo da evolução estatura-ponderal de coortes de indivíduos com SCFC com vista à realização de curvas adequadas a esta síndrome, como já existem para outras, nomeadamente para a SN (<https://noonansyndrome.org.uk/wp-content/uploads/2015/12/NS-Guidelines.pdf>).

## **AGRADECIMENTOS**

---

Agradeço com carinho à minha orientadora, Dra. Lina Ramos por, desde o início, ter demonstrado interesse em colaborar com este projeto, pela disponibilidade e ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

À minha família e namorado pela presença e incentivo constantes ao longo de todo o percurso académico.

Às amigas que em Coimbra encontrei pela partilha, amizade e palavras de coragem sempre que foram necessárias.

## BIBLIOGRAFIA

---

1. Cao H, Alrejaye N, Klein OD, Goodwin AF, Oberoi S. A review of craniofacial and dental findings of the RASopathies. *Orthod Craniofac Res.* 2017;20(Suppl 1):32–8.
2. Gripp KW, Schill L, Schoyer L, Stronach B, Bennett AM, Blaser S, et al. The sixth international RASopathies symposium: Precision medicine—From promise to practice. *Am J Med Genet Part A.* 2020;182(3):597–606.
3. Tidyman WE, Rauen KA. Pathogenetics of the RASopathies. *Hum Mol Genet.* 2016 Oct 1;25(R2):R123–32.
4. Rauen KA. The RASopathies Katherine. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2013;355–69.
5. Tajan M, Paccoud R, Branka S, Edouard T, Yart A. The RASopathy Family: Consequences of Germline Activation of the RAS/MAPK Pathway. 2018;
6. Lazzaro G, Caciolo C, Menghini D, Cumbo F, Digilio MC, Capolino R, et al. Defining language disorders in children and adolescents with Noonan Syndrome. *Mol Genet Genomic Med.* 2020;8(4):1–9.
7. Jafry M, Sidbury R. RASopathies. *Clin Dermatol.* 2020;38(4):455–61.
8. Kim YE, Baek ST. Neurodevelopmental Aspects of RASopathies. *Mol Cells.* 2019;42(6):441–7.
9. Hussain MRM, Baig M, Mohamoud HSA, Ulhaq Z, Hoessli DC, Khogeer GS, et al. BRAF gene: From human cancers to developmental syndromes. *Saudi J Biol Sci.* 2015;22(4):359–73.
10. Lepri FR, Scavelli R, Digilio MC, Gnazzo M, Grotta S, Dentici ML, et al. Diagnosis of Noonan syndrome and related disorders using target next generation sequencing. *BMC Med Genet.* 2014;15(1):1–11.
11. Şimşek-Kiper P, Alanay Y, Gülhan B, Lissewski C, Türkyilmaz D, Alehan D, et al. Clinical and molecular analysis of RASopathies in a group of Turkish patients. *Clin Genet.* 2013;83(2):181–6.
12. Chinton J, Huckstadt V, Moresco A, Gravina LP, Obregon MG. Clinical and molecular characterization of children with Noonan syndrome and other RASopathies in Argentina. *Arch Argent Pediatr.* 2019;117(5):330–6.

13. Digilio MC, Lepri F, Baban A, Dentici ML, Versacci P, Capolino R, et al. RASopathies: Clinical diagnosis in the first year of life. *Mol Syndromol*. 2011;1(6):282–9.
14. Louati R, Abdelmoula NB, Trabelsi I, Abid D, Lissewski C, Kharrat N, et al. Clinical and molecular findings of tunisian patients with rasopathies. *Mol Syndromol*. 2014;5(5):212–7.
15. Aoki Y, Matsubara Y. Ras/MAPK syndromes and childhood hemato-oncological diseases. *Int J Hematol*. 2013;97(1):30–6.
16. Chen H, Li X, Liu X, Wang J, Zhang Z, Wu J, et al. Clinical and mutation profile of pediatric patients with RASopathy-associated hypertrophic cardiomyopathy: Results from a Chinese cohort. *Orphanet J Rare Dis*. 2019;14(1):1–8.
17. Urban J, Qi L, Zhao H, Rybak I, Rauen KA, Kiuru M. Comparison of hair manifestations in cardio-facio-cutaneous and Costello syndromes highlights the influence of the RAS pathway on hair growth. *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 2020;34(3):601–7.
18. Siegel DH, McKenzie J, Frieden IJ, Rauen KA. Dermatological findings in 61 mutation-positive individuals with cardiofaciocutaneous syndrome. *Br J Dermatol*. 2011 Jan;23(1):no-no.
19. Ekvall S, Sjörs K, Jonzon A, Vihinen M, Annerén G, Bondeson ML. Novel association of neurofibromatosis type 1-causing mutations in families with neurofibromatosis-noonan syndrome. *Am J Med Genet Part A*. 2014;164(3):579–87.
20. Popov IK, Hiatt SM, Whalen S, Keren B, Ruivenkamp C, Van Haeringen A, et al. A YWHAZ variant associated with cardiofaciocutaneous syndrome activates the RAF-ERK pathway. *Front Physiol*. 2019;10(APR):1–13.
21. Rauen KA, Maeda Y, Egense A, Tidyman WE. Familial cardio-facio-cutaneous syndrome: Vertical transmission of the BRAF p.G464R pathogenic variant and review of the literature. *Am J Med Genet Part A*. 2020;(November):1–7.
22. Carcavilla A, García-Miñaur S, Pérez-Aytés A, Vendrell T, Pinto I, Guillén-Navarro E, et al. Cardiofaciocutaneous syndrome, a Noonan syndrome related disorder: Clinical and molecular findings in 11 patients. *Med Clínica (English Ed)*. 2015;144(2):67–72.
23. Goodwin A, Oberoi S, Landan M, Charles C, Groth J, Martinez A, et al.

- Craniofacial and dental development in cardio-facio-cutaneous syndrome: the importance of Ras signaling homeostasis. *Clin Genet*. 2013 Jun;83(6):539–44.
24. Pierpont MEM, Magoulas PL, Adi S, Kavamura MI, Neri G, Noonan J, et al. Cardio-facio-cutaneous syndrome: Clinical features, diagnosis, and management guidelines. *Pediatrics*. 2014;134(4):e1149–62.
  25. Pezzani L, Marchetti D, Cereda A, Caffi LG, Manara O, Mamoli D, et al. Atypical presentation of pediatric BRAF RASopathy with acute encephalopathy. *Am J Med Genet Part A*. 2018;176(12):2867–71.
  26. Wong Ramsey KN, Loichinger MH, Slavin TP, Kuo S, Seaver LH. The perinatal presentation of cardiofaciocutaneous syndrome. *Am J Med Genet Part A*. 2014;164(8):2036–42.
  27. Terry J, Rauen KA, Nowaczyk MJM. Fetal autopsy findings of cardiofaciocutaneous syndrome with a unique BRAF mutation. *Pediatr Dev Pathol*. 2014;17(1):59–63.
  28. Cabrera S, Morel C, Tartaglia MC. Clinical Report: Cognitive decline in a patient with Cardiofaciocutaneous syndrome. *Am J Med Genet Part A*. 2016;170(5):1251–6.
  29. Aoki Y, Niihori T, Inoue SI, Matsubara Y. Recent advances in RASopathies. *J Hum Genet*. 2016;61(1):33–9.
  30. Tidyman WE, Rauen KA. Expansion of the RASopathies. *Curr Genet Med Rep*. 2016;4(3):57–64.
  31. Croonen EA, Nillesen W, Schrandt C, Jongmans M, Scheffer H, Noordam C, et al. Noonan syndrome: Comparing mutation-positive with mutation-negative dutch patients. *Mol Syndromol*. 2013;4(5):227–34.
  32. Lee Y, Choi Y, Seo GH, Kim GH, Choi IH, Keum C, et al. Clinical and molecular spectra of BRAF-associated RASopathy. *J Hum Genet*. 2020;
  33. Chen L, Zhai L, Al-Kzayer LFY, Sarsam SN, Liu T, Alzakar RH, et al. Neurocutaneous melanosis in association with large congenital melanocytic nevi in children: A report of 2 cases with clinical, radiological, and pathogenetic evaluation. *Front Neurol*. 2019;10(FEB):1–6.
  34. Ohtake A, Aoki Y, Saito Y, Niihori T, Shibuya A, Kure S, et al. Non-Hodgkin lymphoma in a patient with cardiofaciocutaneous syndrome. *J Pediatr Hematol*

- Oncol. 2011;33(8):342–6.
35. Karaer K, Lissewski C, Zenker M. Familial cardiofaciocutaneous syndrome in a father and a son with a novel MEK2 mutation. *Am J Med Genet Part A*. 2015;167(2):385–8.
  36. Rauen KA, Tidyman WE, Estep AL, Sampath S, Peltier HM, Bale SJ, et al. Molecular and functional analysis of a novel MEK2 mutation in cardio-facio-cutaneous syndrome: Transmission through four generations. *Am J Med Genet Part A*. 2010 Apr;152A(4):807–14.
  37. Geoghegan S, King G, Henchcliffe J, Ramsden SC, Barry RJ, Green AJ, et al. A sibling pair with cardiofaciocutaneous syndrome (CFC) secondary to BRAF mutation with unaffected parents—the first cases of gonadal mosaicism in CFC? *Am J Med Genet Part A*. 2018;176(7):1637–40.
  38. Inoue SI, Moriya M, Watanabe Y, Miyagawa-Tomita S, Niihori T, Oba D, et al. New BRAF knockin mice provide a pathogenetic mechanism of developmental defects and a therapeutic approach in cardio-facio-cutaneous syndrome. *Hum Mol Genet*. 2014;23(24):6553–66.
  39. Bukowska-Olech E, Dmitrzak-Węglarz M, Larysz D, Wojciechowicz B, Simon D, Walczak-Sztulpa J, et al. Compound craniosynostosis, intellectual disability, and Noonan-like facial dysmorphism associated with 7q32.3-q35 deletion. *Birth Defects Res*. 2020;112(10):740–8.
  40. Ueda K, Yaoita M, Niihori T, Aoki Y, Okamoto N. Craniosynostosis in patients with RASopathies: Accumulating clinical evidence for expanding the phenotype. *Am J Med Genet Part A*. 2017;173(9):2346–52.
  41. Aljeaid D, Sanchez AI, Wakefield E, Chadwell SE, Moore N, Prada CE, et al. Prevalence of pathogenic and likely pathogenic variants in the RASopathy genes in patients who have had panel testing for cardiomyopathy. *Am J Med Genet Part A*. 2019;179(4):608–14.
  42. Moriya M, Inoue SI, Miyagawa-Tomita S, Nakashima Y, Oba D, Niihori T, et al. Adult mice expressing a Braf Q241R mutation on an ICR/CD-1 background exhibit a cardio-facio-cutaneous syndrome phenotype. *Hum Mol Genet*. 2015;24(25):7349–60.
  43. Bessis D, Morice-Picard F, Bourrat E, Abadie C, Aouinti S, Baumann C, et al. Dermatological manifestations in cardiofaciocutaneous syndrome: a prospective

- multicentric study of 45 mutation-positive patients. *Br J Dermatol.* 2019;180(1):172–80.
44. Sanri A, Gurkan H, Demir S. Cardiofaciocutaneous Syndrome Phenotype in a Case with de novo KRAS Pathogenic Variant. *Mol Syndromol.* 2020;10(6):344–7.
  45. da Silva FM, Jorge AA, Malaquias A, da Costa Pereira A, Yamamoto GL, Kim CA, et al. Nutritional aspects of Noonan syndrome and Noonan-related disorders. *Am J Med Genet Part A.* 2016;170(6):1525–31.

# ANEXO

---

## PROTOCOLO DE GESTÃO DE DOENTES COM SCFC

### Introdução

A síndrome cardio-fácio-cutânea (SCFC) é uma patologia do espectro das RASopatias, pelo que tem muitas características clínicas em comum com outras síndromes deste grupo. As características que se destacam são dismorfismos craniofaciais, doença cardíaca congénita, anomalias dermatológicas e musculoesqueléticas, défices neurocognitivo e de crescimento estatura-ponderal.

A importância de um diagnóstico etiológico preciso é de realçar, pela necessidade de cuidados especializados de uma equipa multidisciplinar indispensáveis para os doentes, famílias e profissionais de saúde que cuidam destes indivíduos. A vigilância precoce leva não só a uma orientação terapêutica adequada como à tomada de medidas antecipatórias que podem alterar o curso da doença. Com o objetivo de colaborar no diagnóstico, no tratamento e no estabelecimento de medidas para a promoção da saúde nos indivíduos com SCFC sugere-se um protocolo de cuidados médicos/vigilância a implementar quer a curto quer a longo prazo.



## Manifestações clínicas

Tabela 1: Manifestações clínicas da SCFC

<b>Craniofaciais</b>	<b>Cardíacas</b>	<b>Dermatológicas</b>
Macrocefalia Hipertelorismo Fronte proeminente Fendas palpebrais inclinadas ↓ Pavilhões auriculares rodados	MCH EVP Defeitos no septo atrial	<i>Ulerythema ophryogenes</i> Queratose pilar/hiperqueratose Nevos melanocíticos Hemangiomas Cabelo ralo/encaracolado Hipoplasia das sobrancelhas Xerose/ eczema
<b>Neurológicas</b>	<b>Gastro-intestinais</b>	<b>Musculo-esqueléticas</b>
Hipotonia e défices motores Ventriculocefalia/ hidrocefalia Défice neurocognitivo Convulsões/ Epilepsia Anomalias estruturais (RMN CE) Hipoplasia do n. ótico	Disfunção na sucção/ deglutição Dificuldades na alimentação RGE Obstipação Polihidramnios fetal	Pés planos Escoliose Osteopenia Hipotonia Dificuldades na marcha Baixa estatura

Legenda: MCH- miocardiopatia hipertrófica; EVP- estenose da válvula pulmonar; RGE- regurgitação gastro-esofágica; RMN CE- ressonância magnética crânio-encefálica

## Diagnóstico

Na presença de características como as enumeradas na tabela anterior, nomeadamente baixa estatura, macrocrânia (relativa ou não), alterações capilares (e outras alterações ectodérmicas), cardiopatia, alterações no sistema nervoso central, défice cognitivo-motor deve pensar-se em RASopatia, particularmente em SCFC. Os achados pré-natais, como translucência da nuca aumentada ou higroma quístico, alterações cardíacas e/ou neurológicas e hidramnios são muito a favor deste diagnóstico, após a exclusão de alterações cromossómicas.

## **Exames complementares de diagnóstico**

Na suspeita de uma RASopatia, independentemente do síndrome relacionado, a escolha recai inicialmente por um painel de genes para as RASopatias, uma vez que os aspectos clínicos são, frequentemente, sobreponíveis nas várias formas.

Se não for identificada nenhuma variante patogénica dever-se-á prosseguir com array-CGH, pois pode haver alguma cromossomopatia, nomeadamente microdeleções ou microduplicações, que mimetizem uma RASopatia.

Se após esta abordagem não houver ainda um diagnóstico etiológico poderá ser efetuado uma sequenciação exómica total.

A opção inicial por um painel, quando houver uma forte suspeita de RASopatia, em vez de uma sequenciação exómica total, permite diminuir a incidência de achados incidentais que podem levantar questões ético-legais ou dificuldade na interpretação.

## **Aconselhamento genético**

O estudo dos progenitores está sempre indicado após a confirmação molecular de SCFC ou outra RASopatia, porque algum progenitor pode ter um fenótipo próximo da normalidade e só o estudo da variante, identificada no caso *index*, poderá permitir verificar se esta é *de novo* no próprio. Se assim for, o risco de recorrência na descendência do caso *index* é de 50% enquanto o risco para eventuais novas gestações dos progenitores é de 1 % (tendo em conta o critério de mosaicismo gonadal). Indivíduos heterozigotos para uma variante patogénica no gene *BRAF* (ou outro gene causador de RASopatia) têm um risco de recorrência para a descendência de 50%, porque é uma patologia de hereditariedade autossómica dominante.

Está disponível o diagnóstico molecular pré-implantação por técnicas de procriação medicamente assistida ou o diagnóstico pré-natal molecular orientado em biópsia de vilosidades coriónicas ou em amniocentese.

## **Vigilância**

O protocolo de vigilância deverá conter, pelo menos, a avaliação no momento do diagnóstico e uma avaliação multidisciplinar anual, após estabilização clínica.

### Cardiovascular:

No diagnóstico: Ecocardiograma, eletrocardiograma e consulta com cardiologista.

Seguimento: Acompanhamento pela cardiologia se for encontrada doença cardíaca na altura do diagnóstico de SCFC ou nos seguintes intervalos de idade:

- Até ao 1 ano: Se arritmia, avaliação com Holter de 24 horas.
- Infância e adolescência (até 20 anos): repetir ecocardiograma a cada 2-3 anos.
- Idade adulta: Repetir Ecocardiograma a cada 3–5 anos se nenhuma doença cardíaca anterior for encontrada.

#### Dermatológica:

No diagnóstico: Consulta com dermatologista para avaliar e orientar as possíveis alterações dermatológicas.

Seguimento: em consulta dermatologia para reavaliação e orientação do tratamento das manifestações dermatológicas, assim como para avaliação anual dos nevos.

#### Neurológica:

No diagnóstico: avaliação inicial por neuropediatra/ neurologista. Orientar precocemente as famílias para o risco de eventuais convulsões e outros problemas neurológicos. Realizar RMN CE em casos de aumento rápido do perímetro cefálico, espasmos infantis ou outras manifestações epileptiformes, regressão das competências adquiridas e alterações ao exame neurológico. Realizar EEG se houver suspeita ou existirem convulsões.

Seguimento: Se existirem convulsões, acompanhamento em consulta de neurologia para controlo.

#### Cognitiva e comportamental:

No diagnóstico: Apoio por equipa de intervenção precoce como terapia da fala, fisioterapia, terapia comportamental, terapia ocupacional, conforme as dificuldades registadas especificamente na infância.

Seguimento: Apoio e avaliação contínuos pelos programas de intervenção precoce na primeira infância. Após entrada na escola, desenvolver um plano de educação individualizado, com os profissionais e família. Se existirem preocupações comportamentais, pode ser indicada uma avaliação do comportamento funcional para auxiliar no desenvolvimento de um plano de intervenção comportamental.

#### Gastrointestinal:

No diagnóstico: avaliação por um gastroenterologista na primeira infância, se dificuldades na alimentação, refluxo gastro esofágico (RGE) e baixa estatura. Avaliar o RGE e a disfunção da deglutição por exames auxiliares de diagnóstico. Considerar o tratamento

do RGE com inibidores da bomba de prótons (IBP's). Avaliar a necessidade de alimentação entérica por sonda nasogástrica ou gastrostomia. Considerar apoio de um nutricionista.

Seguimento: Acompanhamento nutricional e de crescimento estatura-ponderal. Reavaliação das necessidades nutricionais e de tratamento.

#### Endocrinológica:

No diagnóstico: consulta com um endocrinologista entre os 2-3 anos ou antes, se houver problemas com o crescimento, para avaliação das curvas de crescimento registadas. Avaliar IGF-1 e hormonas da tiróide.

Seguimento: monitorizar a altura, peso e perímetro cefálico em cada consulta. Acompanhamento regular em caso de défice no crescimento, défice de GH ou função tiroideia anormal.

#### Musculo-esquelética:

No diagnóstico: avaliação por um ortopedista pediátrico.

Seguimento: radiografia da coluna cervical, torocolombar e da bacia dependendo da existência de patologia em cada criança. Monitorizar escoliose. Acompanhamento individualizado conforme os achados clínicos.

#### Oftalmológica:

No diagnóstico: referenciar a um oftalmologista pediátrico para avaliar a necessidade de intervenção precoce.

Seguimento: Avaliação oftalmológica conforme as patologias existentes. Se existir anomalias do nervo ótico, deve fazer-se RMN CE para avaliar possíveis causas estruturais.

#### Otorrinolaringológica:

No diagnóstico: avaliação por um otorrinolaringologista para avaliação da audição e gestão no caso de infeções respiratórias altas recorrentes ou hipoacusia.

Seguimento: avaliação da audição a cada 2-3 anos, ou mais frequentemente, se necessário. Tratamento da hipoacusia conforme indicado. Consultar otorrinolaringologista se cerúmen impactado, testes auditivos anormais, hipoacusia ou otites para minimizar precocemente a perda auditiva.

#### Renal/Geniturinária:

No diagnóstico: ecografia renal para avaliar possíveis patologias renais estruturais. Referenciar para urologista e endocrinologista se criptorquidia presente.

Seguimento: conforme indicado pelo urologista, se necessário.

#### Dentária:

No diagnóstico: avaliação dentária.

Seguimento: Higiene adequada. Tratamento conforme necessário.

#### Hematológica:

No diagnóstico: pesquisar sinais e sintomas de patologia hemorrágica. Se existentes, realizar estudo analítico com hemograma completo e provas da coagulação. Se anormal, referenciar a um hematologista.

Seguimento: se existir patologia, tratamento e seguimento conforme indicado pelo hematologista. Na inexistência de patologia na altura do diagnóstico de SCFC, monitorizar os sinais e sintomas e realizar hemograma e provas da coagulação se necessário. Se for realizada alguma cirurgia fazer as análises acima mencionadas, se ainda não tiverem sido feitas. Para aqueles que usam valproato de sódio para o tratamento das convulsões, obter a contagem de plaquetas a cada 6 meses.

#### **Observações finais**

Sugere-se a adaptação das tabelas de crescimento para a SCFC, à semelhança das que existem para a síndrome de Noonan, uma vez que o crescimento estatura-ponderal na primeira está muito mais deficitário.

A instituição precoce de medidas para a promoção da saúde, por vezes ao nascimento e mesmo sem a confirmação molecular do diagnóstico, é importante porque poderá alterar substancialmente a qualidade de vida destes indivíduos e dos seus cuidadores.