



Mi Universidad

Proyecto Final

Carlos Javier Velasco Sarquiz

Investigación sobre un síndrome

Tercer Parcial

Genética Humana

QFB. Hugo Nájera Mijangos

Medicina Humana

Tercer semestre

Comitán de Domínguez Chiapas a 11 de Noviembre del 2024

Introducción

La neurofibromatosis (NF) es un grupo de trastornos genéticos caracterizados por el desarrollo de tumores en los nervios y otras anomalías en diversos tejidos del cuerpo. Es una condición hereditaria que se transmite de manera autosómica dominante, lo que significa que una sola copia del gen mutado es suficiente para causar la enfermedad. Existen tres tipos principales de neurofibromatosis: NF tipo 1 (NF1), NF tipo 2 (NF2) y schwannomatosis, cada una con características clínicas y genéticas específicas. La NF1 es la más común, afectando aproximadamente a 1 de cada 3,000 personas en todo el mundo, mientras que la NF2 y la schwannomatosis son menos frecuentes. La NF1 suele manifestarse en la infancia y se asocia con la aparición de manchas café con leche en la piel, pecas en áreas inusuales como las axilas o la ingle, y tumores llamados neurofibromas, que se desarrollan en los nervios periféricos. También puede implicar problemas de aprendizaje, trastornos óseos y mayor riesgo de tumores malignos. Por otro lado, la NF2, que suele aparecer en la adolescencia o en la adultez temprana, se caracteriza por el desarrollo de schwannomas bilaterales en el nervio vestibular, lo que puede provocar pérdida auditiva, problemas de equilibrio y, en casos graves, parálisis facial. La schwannomatosis, aunque menos común, causa dolor crónico debido a la formación de tumores en los nervios periféricos y espinales. El diagnóstico de la neurofibromatosis se basa en criterios clínicos y, en algunos casos, en pruebas genéticas. A pesar de los avances en la comprensión de la enfermedad, actualmente no existe una cura, y el tratamiento se enfoca en manejar los síntomas y complicaciones. La investigación en curso busca desarrollar terapias más efectivas y personalizadas para mejorar la calidad de vida de las personas afectadas. La neurofibromatosis es una condición que, además de sus manifestaciones físicas, impacta significativamente en el bienestar emocional y social de los pacientes, subrayando la importancia de un enfoque multidisciplinario en su manejo. La neurofibromatosis representa un desafío significativo tanto para los pacientes como para la comunidad médica debido a la diversidad de sus manifestaciones clínicas y la ausencia de una cura definitiva. Comprender sus tres principales subtipos —NF1, NF2 y schwannomatosis— es esencial para ofrecer un manejo adecuado y mejorar la calidad de vida de quienes viven con esta condición. La

neurofibromatosis tipo 1 (NF1), también conocida como enfermedad de von Recklinghausen, es la más común de las tres, afectando a aproximadamente 1 de cada 3,000 personas. Los pacientes suelen mostrar signos característicos como manchas café con leche en la piel, pecas en áreas inusuales (como axilas o la región inguinal) y neurofibromas, tumores benignos que pueden ser cutáneos, subcutáneos o profundos. Además de estas manifestaciones visibles, la NF1 puede afectar otros sistemas, causando displasias óseas como pseudoartrosis, escoliosis y displasia esfenoidal. En el ámbito neurológico, los pacientes presentan un mayor riesgo de gliomas del nervio óptico y problemas de aprendizaje, que afectan al 30-50% de los casos. La NF1 se diagnostica clínicamente mediante criterios establecidos, y las pruebas genéticas pueden confirmar la presencia de mutaciones en el gen NF1, localizado en el cromosoma 17. La neurofibromatosis tipo 2 (NF2) es menos frecuente, con una incidencia de 1 en 25,000 personas. Este tipo se caracteriza principalmente por el desarrollo de schwannomas bilaterales en el nervio vestibular, lo que provoca pérdida auditiva progresiva, tinnitus y problemas de equilibrio. Otros tumores asociados incluyen meningiomas, ependimomas y schwannomas en otros nervios periféricos. Los síntomas suelen manifestarse en la adolescencia o adultez temprana, y el diagnóstico se basa en criterios clínicos y en la identificación de mutaciones en el gen NF2, ubicado en el cromosoma 22. En comparación con la NF1, la NF2 tiene un curso clínico más severo y requiere un manejo especializado, que incluye cirugía para los tumores y rehabilitación auditiva. Por último, la schwannomatosis, el tipo más raro, afecta a 1 en 40,000 personas y se caracteriza por la formación de schwannomas múltiples a lo largo de los nervios periféricos, espinales y craneales, pero sin afectar el nervio vestibular como en la NF2. Los pacientes experimentan dolor crónico que puede ser incapacitante, además de síntomas neurológicos locales dependiendo de la ubicación de los tumores. Este subtipo puede estar asociado con mutaciones en los genes SMARCB1 o LZTR1, pero su diagnóstico sigue siendo un desafío debido a la variabilidad de los síntomas. A pesar de las diferencias clínicas entre los subtipos, todas las formas de neurofibromatosis comparten retos comunes en el manejo. Actualmente, no existe una cura definitiva, y el tratamiento se centra en abordar los síntomas y complicaciones específicas. Esto puede incluir la extirpación quirúrgica de tumores que afectan funciones vitales, terapias farmacológicas

para controlar el dolor o reducir el tamaño tumoral, y apoyo psicológico y educativo para los pacientes y sus familias. En los últimos años, la investigación ha avanzado significativamente, especialmente en el desarrollo de terapias dirigidas. Por ejemplo, inhibidores de la vía de señalización RAS/MAPK, como el selumetinib, han mostrado eficacia en la reducción del tamaño de los neurofibromas plexiformes en la NF1. Sin embargo, estas terapias aún están en fases de estudio y no son curativas. Además, el manejo multidisciplinario, que incluye especialistas en neurología, genética, oncología, psicología y rehabilitación, es crucial para abordar las diversas necesidades de los pacientes. La neurofibromatosis no solo afecta la salud física, sino también el bienestar emocional y social de los afectados. Los pacientes enfrentan estigmatización debido a las alteraciones visibles en su cuerpo y deben lidiar con incertidumbres relacionadas con la progresión de la enfermedad. Por ello, es fundamental promover la sensibilización sobre esta condición, garantizar el acceso a un diagnóstico temprano y tratamientos adecuados, y apoyar la investigación para encontrar soluciones terapéuticas más efectivas.

Clínica

Neurofibromatosis tipo 1 (NF1)



La NF1 se caracteriza por alteraciones cutáneas, neurológicas y óseas. Sus principales signos y síntomas incluyen:

1. **Manchas café con leche:** Son hiperpigmentaciones planas, presentes desde el nacimiento o que aparecen en los primeros años de vida. Son un criterio diagnóstico cuando hay más de seis manchas mayores de 5 mm en niños o 15 mm en adultos.

2. **Pecas en áreas inusuales:** Suelen localizarse en axilas o la región inguinal, conocidas como pecas axilares o signo de Crowe.
3. **Neurofibromas:** Tumores benignos de los nervios periféricos que pueden ser cutáneos, subcutáneos o plexiformes (extensos y profundos). Los plexiformes pueden causar deformidades o compresión de estructuras adyacentes.
4. **Glioma del nervio óptico:** Puede provocar pérdida visual progresiva y suele diagnosticarse en la infancia.
5. **Displasias óseas:** Incluyen escoliosis, pseudoartrosis (fracturas de curación deficiente) y displasia del hueso esfenoide.
6. **Problemas neurológicos y cognitivos:** Se observa en un 30-50% de los casos e incluye dificultades de aprendizaje, déficit de atención y problemas emocionales.
7. **Riesgo aumentado de tumores malignos:** Como el tumor maligno de la vaina del nervio periférico (MPNST) o glioblastomas.



Diagnóstico de Laboratorio en la Neurofibromatosis

El diagnóstico de la neurofibromatosis se basa principalmente en criterios clínicos bien definidos, pero las pruebas de laboratorio y estudios genéticos son herramientas clave para confirmar el diagnóstico, identificar mutaciones responsables y establecer el subtipo específico. Estas pruebas son especialmente útiles en casos atípicos, cuando los

síntomas no cumplen con los criterios diagnósticos estándar o en personas sin antecedentes familiares conocidos.

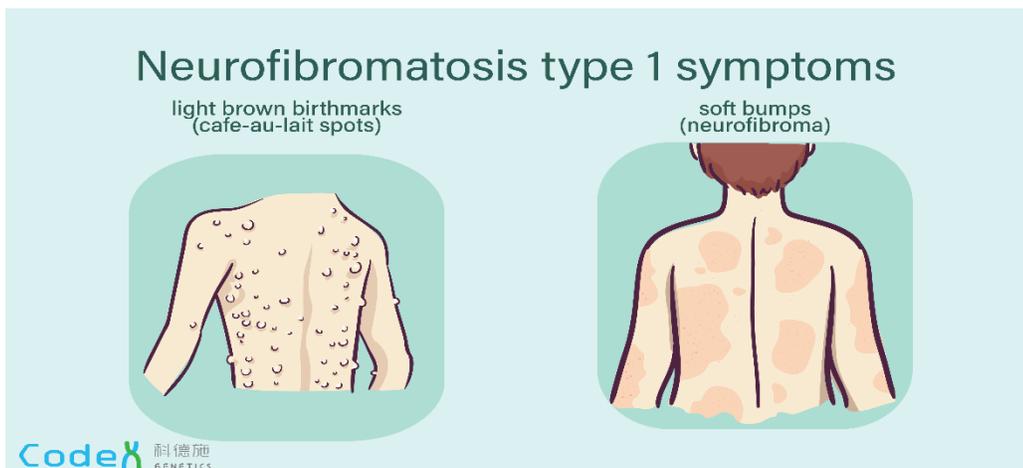
Pruebas Genéticas

Las pruebas genéticas son el estándar de oro para confirmar la neurofibromatosis, ya que identifican mutaciones en los genes asociados con cada subtipo:

1. Neurofibromatosis tipo 1 (NF1)

- El gen **NF1**, localizado en el cromosoma 17 (17q11.2), es responsable de esta condición.
- Las mutaciones en este gen conducen a una pérdida de función de la neurofibromina, una proteína que regula el crecimiento celular.
- Las pruebas de secuenciación del gen NF1 permiten identificar más del 95% de las mutaciones causantes.
- En casos de mosaicismo (mutaciones en un subconjunto de células), se pueden requerir muestras específicas de piel o tumores para análisis.

El tratamiento de la neurofibromatosis (NF) es multidisciplinario y se enfoca en manejar los síntomas, prevenir complicaciones y mejorar la calidad de vida, ya que no existe una cura definitiva para la enfermedad. La estrategia terapéutica varía según el subtipo de NF (NF1, NF2 o schwannomatosis) y las manifestaciones específicas de cada paciente.

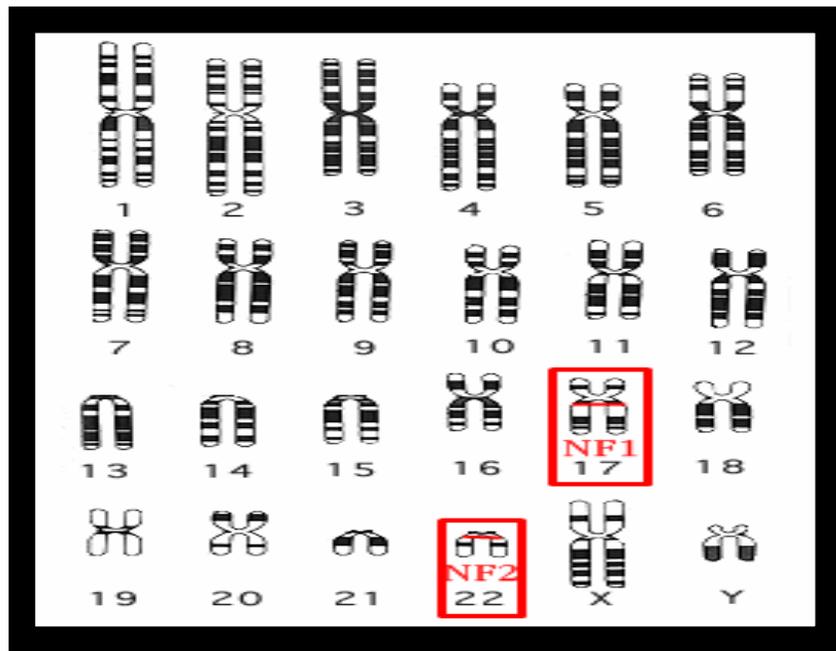


1. Tratamiento en la Neurofibromatosis Tipo 1 (NF1)

El manejo de la NF1 se basa en abordar las complicaciones específicas:

- **Neurofibromas:**
 - Los neurofibromas cutáneos se pueden extirpar quirúrgicamente por razones estéticas o funcionales, aunque pueden recidivar.
 - Los neurofibromas plexiformes, que son tumores más grandes y profundos, se tratan quirúrgicamente solo si causan dolor, compresión de órganos vitales o deformidades significativas. En algunos casos, se emplean inhibidores de MEK, como **selumetinib**, que han mostrado eficacia en reducir su tamaño.
- **Gliomas del nervio óptico:**
 - Generalmente, no requieren tratamiento si son asintomáticos o de crecimiento lento.
 - En casos de pérdida visual progresiva, se utilizan quimioterapia (p. ej., carboplatino y vincristina) para controlar el crecimiento tumoral.
- **Deformidades óseas:**
 - La pseudoartrosis y la displasia ósea pueden requerir cirugía ortopédica para estabilización y corrección.
 - Se utiliza fisioterapia para mejorar la movilidad y prevenir complicaciones secundarias.
- **Problemas cognitivos y de aprendizaje:**
 - Los pacientes con dificultades académicas pueden beneficiarse de terapias educativas personalizadas, intervenciones psicopedagógicas y apoyo psicológico.
- **Tumores malignos:**
 - Los pacientes con transformación maligna, como el tumor maligno de la vaina del nervio periférico (MPNST), requieren tratamiento oncológico con cirugía, radioterapia y quimioterapia según el estadio del tumor.

Cariotipo



Artículo

[Revista médica de Chile](#)
versión impresa ISSN 0034-9887

Rev. méd. Chile vol.143 no.10 Santiago oct. 2015

<http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872015001000011>

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Neurofibromatosis tipo 1 (NF1) y su diagnóstico molecular como estrategia del diagnóstico diferencial y a edades tempranas

Molecular diagnosis as a strategy for differential diagnosis and at early ages of neurofibromatosis type 1 (NF1)

Martha Gómez^{1,a}, Oriana Batista^{1,2,b}

¹ Centro Especializado de Genética (CEGEN), Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI), ciudad de David, provincia de Chiriquí, República de Panamá.

² Centro Gendiagnostik, S.A., ciudad de David, provincia de Chiriquí, República de Panamá.

^a Licenciada en Biología.

^b Geneticista clínica molecular, M.Sc., Dr.rer.nat.

Correspondencia a:

Neurofibromatosis type 1 (NF1), is a haploinsufficient and multisystemic disease, caused by inherited or sporadic mutations in the NF1 gene. Its incidence is one in 2,500 to 3,000 individuals, it has an autosomal dominant pattern of inheritance, high clinical variability, complete penetrance and age-dependent complications. Neurofibromin is the product of the NF1 gene and is believed to act as a tumor suppressor since the loss of its function has been associated with benign and malignant tumors in neural crest-derived tissues. Only two correlations between clinical phenotype and mutant alleles in the NF1 gene have been observed. The established criteria for disease diagnosis are very efficient in adults and children older than 3 years of age, but not for children under this age. Mutational analysis is therefore recommended to confirm the disease in young children with a negative family history. A pathogenic mutation in the NF1 should be added to the list of diagnostic criteria. Mutational analysis is also recommended for differential diagnosis and for prenatal or pre-implantation genetic diagnosis, taking into consideration the family history and the type of method to be applied. Molecular studies of this disease using different complimentary molecular techniques and bioinformatics tools have characterized NF1 gene mutations at both the DNA and mRNA levels, increasing the mutational spectrum. Consequently, about 1,289 defects have been reported to date, mainly nonsense/missense mutations, deletions and splice site defects.

Key words: Child; Computational Biology; DNA Mutational Analysis; Neurofibromatosis 1; Neurofibromin 1.

La Neurofibromatosis tipo 1 (NF1; MIM #162200), es un desorden con patrón de herencia autosómico dominante e incidencia de 1 en 2.500 a 3.000 individuos¹. Es una enfermedad multisistémica ocasionada por mutaciones heterogéneas en el gen *NF1*, las cuales son esporádicas en, aproximadamente, 50% de los casos². *NF1* fue identificado y su proteína caracterizada, por Cawthon y cols. y Wallace y cols., respectivamente, en 1990. La secuencia del ADNc fue descrita por Gutmann y Collins y Viskochil y cols., en 1993³.

A pesar de que, aproximadamente, 1289 mutaciones han sido reportadas (HGMD-*Human Gene Mutation Database*), pocas son las relaciones genotipo-fenotipo, descritas.

NF1 se caracteriza por extrema variabilidad clínica entre individuos afectados no relacionados, entre miembros afectados de una familia, y en una persona en diferentes etapas de su vida. Adicionalmente, la frecuencia de complicaciones se incrementa con la edad³.

El diagnóstico clínico de los pacientes con NF1, se basa en los criterios establecidos en la conferencia para el desarrollo de consensos del Instituto Nacional de Salud (siglas en inglés NIH), en 1988⁴, los cuales toman en consideración la condición de afectación de piel, huesos y sistema nervioso, principalmente. Aunque estos criterios resultan ser altamente específicos y sensitivos en adultos⁵, no se presentan en algunos niños menores de 8 años⁶. Para este último grupo, el diagnóstico molecular sería útil, pues aproximadamente, la mitad de aquellos que están afectados y no presentan antecedentes familiares, reúnen los criterios para el diagnóstico al año de edad, y la mayoría de ellos, cumplirán con éstos a los 8 años.

Aunque en algunos laboratorios el diagnóstico genético de NF1 es rutinario, algunos factores tales como su gran tamaño, la carencia de sitios específicos de mutación y la presencia de pseudogenes, hacen laboriosa la identificación de mutaciones en *NF1*. A continuación, se presenta una revisión de algunos aspectos moleculares de la NF1, sus características genéticas, manifestaciones, criterios para el diagnóstico clínico, y algunos estudios mutacionales del gen. Adicionalmente, se muestra la utilidad del análisis mutacional como aporte al diagnóstico en niños menores, al diagnóstico diferencial de la enfermedad y al pre-natal y/o preimplantacional.

El gen *NF1* codifica la proteína neurofibromina, asociada con la supresión tumoral

El gen *NF1* se localiza en el cromosoma 17q11.2⁷⁻⁹, tiene un tamaño genómico de 282,751 pb, 60 exones, y codifica al menos tres transcritos solapados¹⁰. Cuatro exones alternativamente empalmados¹¹ y pseudogenes en los cromosomas 2, 14, 15, 18, 21 y 22³ han sido descritos. Adicionalmente, en el intrón 27 se localizan los genes *EVI2A*, *EVI2B* (*ecotropic viral integration site 2A y 2B*) y *OMGP* (*oligodendrocyte-myelin glycoprotein*) que se transcriben en dirección opuesta al *NF1*¹²⁻¹⁴.

La transcripción de *NF1* ocurre en dirección centrómero-telómero, y genera un ARNm de 11 a 13 kb, con un marco de lectura abierto de, aproximadamente, 9 kb. Su producto proteico, neurofibromina, tiene 280 kDa y expresión ubicua¹¹ en fibroblastos de piel, cerebro, bazo, pulmón, músculo, neuroblastoma, neurofibroma, células de neurofibrosarcoma NF1, carcinoma de colon y cáncer de mama, entre otros^{8,15,16}.

La función de los 3 dominios que forman la proteína¹⁷⁻¹⁹ se comprende parcialmente. El dominio GRD (*GAP-related domain*) de, aproximadamente, 360 aminoácidos, ubicado en la región central de la neurofibromina y determinado por los exones 20 a 27a, muestra

homología estructural y funcional con la familia de proteínas activadoras de GTPasa (GAP). Este dominio interactúa con la proteína ras-GTP y promueve la conversión de ras-GTP a su forma inactiva ras-GDP regulando negativamente la vía de señalización p21ras^{17,20,21}. Consecuentemente, a la neurofibromina se le considera un supresor tumoral²², pues la reducción de su producción (en células haploinsuficientes) o la completa pérdida de ésta, conlleva la activación de la proteína ras, que a su vez regula una cascada de vías de señalización posteriores, entre ellas, las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK), fosfoinositol 3-quinasas (P13K), proteína quinasa B (PKB) y proteína quinasa diana de rapamicina en células de mamífero (mTOR)³. La activación de estas vías, ocasiona una variedad de efectos celulares que, generalmente, estimulan la supervivencia y proliferación celular²³ ([Figura 1](#)).

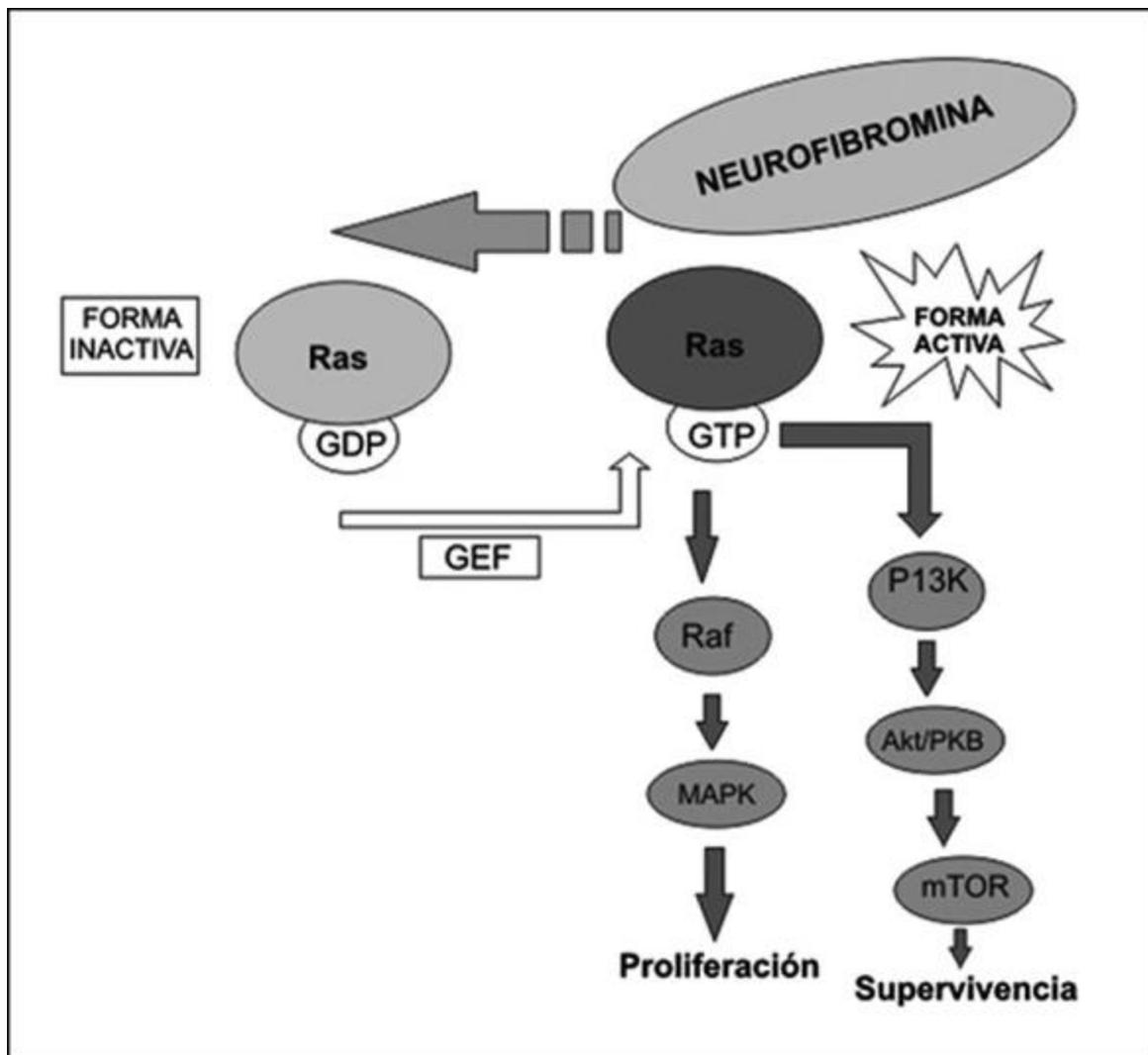


Figura 1. La neurofibromina actúa como regulador negativo de la vía de señalización Ras, promoviendo su forma inactiva Ras-GDP. La neurofibromina es un tipo de proteína activadora de la actividad GTPasa (GAP) que se une a la forma activa de la proteína ras (ras-GTP) y la inactiva (ras-GDP) y, consecuentemente, no hay proliferación ni supervivencia celular alterada. Los factores de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF) realizan el paso contrario, reactivando a Ras al promover el intercambio de GDP a GTP. La pérdida de la función de la neurofibromina, en individuos NF1 heterocigotos y homocigotos evita la conversión de Ras-GTP a Ras-GDP, y esto a su vez, desencadena cascadas de señalización posteriores con efectos de supervivencia y proliferación celular, entre otros (ver texto para información detallada). Abreviaturas: Ras-GDP, forma inactiva de la proteína Ras unida a guanosín difosfato. Ras-GTP: forma activa de la proteína Ras unida a guanosín trifosfato. Raf: serina-treonina proteína cinasa. MAPK: proteínas cinasas activadas por mitógenos. P13K: fosfoinositol 3-cinasas. Akt/PKB: proteína cinasa B. mTOR: proteína cinasa diana de rapamicina en células de mamífero.

La pérdida de la función de esta proteína, se asocia con tumores benignos y malignos encontrados en tejidos derivados de la cresta neural²⁴. Así, generalmente, en ausencia o reducción drástica de la neurofibromina, se pueden encontrar niveles elevados de ras-GTP en tumores de los nervios periféricos de pacientes con NF1²⁵. El aumento del riesgo de tumores malignos en NF1, es compatible con la pérdida de función de la neurofibromina, como regulador negativo del oncogén ras²¹.

Los otros dominios potenciales funcionales en la neurofibromina son: un dominio rico en residuos de cisteína y serina (CSRD) entre el exón 11 y 17 que codifica varios sitios de reconocimiento para proteína quinasa dependiente de AMP cíclico¹⁸, y el dominio NF1-Sec-PH relacionado con la unión a fosfolípidos¹⁹. Interacciones directas o indirectas entre la neurofibromina y otras proteínas, también han sido documentadas, aunque no se conoce su significado biológico²⁶.

La NF1 se hereda de forma autosómica dominante, su fenotipo es variable y completamente penetrante

La pérdida de función de un gen es causada por mutaciones que interrumpen su capacidad codificante²⁷. NF1 exhibe un patrón de herencia autosómico dominante, los individuos afectados tienen un genotipo heterocigoto y la descendencia de éstos tiene

50% de riesgo de heredar el gen alterado²⁸. La mutación en los individuos heterocigotos causa haploinsuficiencia, y por ello, la única copia funcional no produce suficiente neurofibromina para asegurar un desarrollo y crecimiento celular normal²⁶. No existen individuos homocigotos²⁶ y los ratones homocigotos (*Nf1*^{-/-}) mueren en el útero, lo cual indica la importancia vital de la neurofibromina^{29,30}. La penetrancia de *NF1* es 100%²⁶ y se completa, esencialmente, entre los cinco y ocho años de edad^{6,40}.

NF1 tiene una de las tasas de mutación más altas y las mutaciones esporádicas ocurren casi en la mitad de los pacientes afectados^{31,32}. Las mutaciones esporádicas en *NF1* de la línea germinal, están sesgadas hacia el sexo. De éstas más de 80% tienen un origen paterno³³. Otras mutaciones, llamadas microdeleciones del locus, tienen, en su mayoría, un origen materno³⁴, abarcan, aproximadamente, 1,5 Mb e incluyen *NF1* y regiones flanqueadoras³⁵.

Gran variabilidad fenotípica entre pacientes con *NF1*, se aprecia intra e inter-familiarmente, aún cuando se presentan mutaciones idénticas en el gen³⁶. Entre familias de Corea con la misma mutación, se observó que unos miembros manifestaron patologías malignas y otros menos severas. Intra-familiarmente, aunque madre e hija presentaron una deleción, del exón 2 al 47 (c.61-8315del), la primera, de 29 años, desarrolló sólo manifestaciones cutáneas, y la segunda, de 6,2 años, glioma cerebral, pseudoartrosis severa de tibia y escoliosis³⁷.

Esta expresividad variable, podría deberse al efecto de genes modificadores o mutaciones somáticas secundarias dentro de los tejidos tumorales^{38,39}. Adicionalmente, variantes de un gen podrían afectar la estructura y función de la proteína, y ocasionarían, así, fenotipos variables⁴⁰.

Sólo dos correlaciones genotipo-fenotipo, las cuales, también, son ejemplos de la variabilidad fenotípica de *NF1* han sido observadas: 1) la deleción completa del gen, microdeleciones *NF1*, caracterizada por la aparición temprana y numerosa de neurofibromas cutáneos, con mayor frecuencia y la severidad de anomalías cognitivas, malformaciones, tumoración y riesgo aumentado de malignización^{41,42}; y 2) la deleción específica de tres pb en el exón 17, c.2970-2972 delAAT (p.990delM), asociada con pigmentación, nódulos de Lisch y ausencia de neurofibromas cutáneos o neurofibromas plexiformes⁴⁰.

Las manifestaciones clínicas como criterios para el diagnóstico

El diagnóstico de pacientes con *NF1* se basa, primordialmente, en los criterios NIH⁴ ([Tabla 1](#)), pero también en otras manifestaciones, con frecuencia media y ocasional, abajo mencionadas⁵. Éste requiere de un examen clínico cuidadoso del paciente, sus padres, hermanos y una historia familiar detallada, que incluya información clínica y en ocasiones exámenes complementarios⁴³.

Tabla 1. Criterios para el diagnóstico clínico de la Neurofibromatosis tipo 1

• Seis o más manchas café con leche mayores de 5 mm en pacientes prepuberales y mayores de 15 mm en pacientes postpuberales
• Dos o más neurofibromas de cualquier tipo o un neurofibroma plexiforme
• Signo de Crowe (efélides axilares o inguinales)
• Glioma de nervio óptico
• Dos o más nódulos de Lisch (hamartomas de iris)
• Lesiones óseas típicas (displasia del esfenoides, displasia o adelgazamiento cortical de huesos largos con o sin pseudoartrosis)
• Antecedentes de neurofibromatosis tipo I en padres o hermanos

Si 2 o más de estos criterios son encontrados en un individuo se realiza el diagnóstico de NF1.

Las manifestaciones clínicas más frecuentes en pacientes con NF1 son las alteraciones en las manifestaciones de la piel (más de 99%), neurofibromas cutáneos (más de 99%) [5 en superíndice], nódulos de Lisch (de 90-95%) y efélides (85%)^{5,40}. Otras complicaciones en diversos sistemas podrían presentarse. Las discapacidades de aprendizaje, desarrollo de anomalías esqueléticas, enfermedades vasculares, tumores del sistema nervioso central o malignos de la vaina de los nervios periféricos se presentan con frecuencia³. Algunas complicaciones raras, que afectan a menos de 5% de los pacientes incluyen epilepsia, hidrocefalia, problemas cardiovasculares y escoliosis distrófica⁴⁴.

Los tumores del sistema nervioso central y los neurofibromas podrían resultar en importante morbilidad y mortalidad⁴⁵ y reducir la esperanza media de vida de las personas con NF1 en, aproximadamente, 15 años. Las causas más importantes de muerte temprana son las manifestaciones malignas y enfermedades vasculares^{3,36,46}. Individuos entre 20-35 años tienen 8-13% de riesgo de desarrollar tumores malignos de la vaina de los nervios periféricos, predominantemente⁴⁷, los cuales son difíciles de detectar, fácilmente metastásicos y a menudo de mal pronóstico⁴⁸.

Fenotipos leves de NF1 son causados por mosaicismo originado por mutaciones después de la fertilización²⁶ y se clasifican como segmentario, generalizado, o gonadal⁴⁹. El generalizado es clínicamente similar a la NF1 clásica, pero se presenta poca o ninguna evidencia de la enfermedad al examinar los leucocitos sanguíneos para detectar mutaciones. El segmentario ocasiona regiones con alteraciones pigmentarias, crecimientos tumorales, o ambos, limitados a una o más regiones del cuerpo⁵⁰. El

gonadal, causa mutaciones en las gónadas, y puede deducirse cuando dos o más hijos de padres no afectados desarrollan la enfermedad⁵¹.

Utilidad del análisis mutacional para el diagnóstico de la NF1 en niños menores, en el diagnóstico diferencial y en el diagnóstico prenatal o preimplantacional

El análisis mutacional es, especialmente, útil en niños pequeños con historia familiar negativa y que llenan parcialmente los criterios de diagnóstico NIH, en niños con presentaciones atípicas³, en el diagnóstico diferencial o en el diagnóstico genético prenatal o preimplantacional^{5,50}.

Aunque los criterios de diagnóstico NIH son útiles para la detección de NF1, algunos de éstos se manifiestan a una edad superior a los 3 años y están presentes al nacimiento sólo en algunos pacientes⁵. Por ello, el diagnóstico definitivo, usando dichos criterios puede ser realizado, para la mayoría entre los cuatro y cinco años^{28,40}. Aproximadamente 46% de los casos esporádicos de NF1, no cumplen con dichos criterios a la edad de un año⁶.

Seis o más manchas café con leche se presentan desde el nacimiento, en más de 99% de los casos con NF1 y este criterio es el más frecuente^{5,6} y altamente sugestivo de la enfermedad⁵². Sin embargo, aproximadamente, 1% de los niños que manifestarán la enfermedad a edades superiores, podrían presentar un número inferior a seis manchas, lo cual no ayudaría en el diagnóstico clínico, pues menos de 1% de los niños menores de 5 años sin NF1, presentan más de dos manchas⁵². Otros infantes, cuyos padres no muestran signos de NF1, muestran manchas café con leche, sin otras manifestaciones³.

La prevalencia de la NF1 en Irlanda del Norte, en menores de 16 años⁵³, fue 17,6 por cada 100.000 (1 en 5.681) niños y éstos desarrollaron numerosas complicaciones. Las más frecuentes, desde el nacimiento, incluyen dificultades de aprendizaje (30-60%), neurofibromas plexiformes (30-50%), escoliosis (10%)⁵ y glioma del nervio óptico (15-20%)^{5, 36}. Estos últimos, se presentan antes de los seis años, pero podrían volverse sintomáticos en la infancia tardía o la adultez y causar ceguera²⁸.

Un análisis mutacional exhaustivo permitiría identificar mutaciones en un poco más de 92% de pacientes que cumplen con los criterios NIH^{54,55}. Este análisis, además, de permitir la confirmación del diagnóstico de NF1, facilitaría la identificación de las mutaciones en el afectado, útiles para diagnósticos pre-natales y pre-implantacionales de su futura descendencia debido a que sólo 50% de ésta tiene la probabilidad de tener la enfermedad. Mientras que el resultado del diagnóstico pre-natal podría sugerir a la pareja la interrupción terapéutica del embarazo, el diagnóstico pre-implantacional podría evitarlo⁵⁶.

Los estudios mutacionales apoyarían, también, el diagnóstico diferencial de la NF1 respecto a síndromes como Noonan, LEOPARD, síndrome cardiofaciocutáneo, Costello, Legius, entre otros^{5,26}. Estas condiciones comparten un grado variable de dificultad de

aprendizaje, defectos cardiacos, dimorfismo facial, baja estatura, macrocefalia y anomalías de la piel⁵⁷. Por ejemplo, pacientes con fenotipo leve, quienes cumplen con los criterios para NF1, podrían padecer el síndrome Legius, caracterizado por mutación en *SPRED1*⁵⁸. Aproximadamente, 1 a 2% de pacientes que cumplen con los criterios de diagnóstico NF1, presentan mutaciones en *SPRED1*⁵⁹.

En resumen, todos los pacientes con mutación en *NF1* manifestarán la enfermedad debido a que la penetrancia de NF1 es 100%²⁶, pero no todos cumplirán con los criterios NIH antes de los cuatro o cinco años. Algunos pacientes que llenan estos criterios y exhiben fenotipos leves podrían presentar otros síndromes. Por estas razones, los estudios mutacionales pueden proveer información oportuna y una confirmación del diagnóstico clínico para un manejo personalizado del paciente. Adicionalmente, la información generada, mediante estos análisis, sería útil para los diagnósticos prenatales, pre-implantacionales y las asesorías genéticas. Así, la idea de modificar⁶ e incluir la presencia de una mutación patogénica a los criterios NIH^{50,57} para facilitar el diagnóstico a edades muy tempranas es razonable. El aumento en la cantidad de estudios de diagnóstico molecular y en el número de mutaciones, también, demuestra la utilidad de los mismos para confirmar el diagnóstico clínico.

Panorama del análisis mutacional en *NF1*

La determinación de mutaciones en *NF1* más que compleja es laboriosa, debido a numerosos exones codificantes, heterogeneidad mutacional, tamaño del gen y la ausencia de "puntos calientes"⁵⁹⁻⁶¹. El reporte de mutaciones, ha aumentado desde 1992, cuando se creó el *International NF1 Genetic Analysis Consortium* con la finalidad de detectar las mutaciones y organizar la información creciente en bases de datos¹⁸. Así, en el consorcio se reportaron más de 100 mutaciones en la línea germinal en 1996⁶² y 240 en 1997⁶³. HGMD (*Human Gene Mutation Database*), reportó más de 400 mutaciones en 2004⁶⁴ y más de 1.289, que incluyen mutaciones sin sentido, con sentido equivocado, errores de empalme; deleciones, inserciones e indels pequeñas; deleciones e inserciones gruesas; complejos y repeticiones en mayo de 2015.

Diversas técnicas moleculares utilizadas en estudios provenientes de países como Alemania¹⁸, Italia^{60,65,66}, España^{22,61}, Brasil⁶⁴, Cuba⁶⁷, Corea³⁷ y Estados Unidos de Norteamérica⁶⁹, ofrecen un amplio rango de sensibilidad para la detección de mutaciones en *NF1*. Las mismas, se pueden identificar en aproximadamente, 85-95% de los casos, utilizando una combinación de técnicas moleculares⁵. El porcentaje de sensibilidad mayor, 95%, se obtuvo al utilizar las técnicas combinadas MLPA, RT-PCR, DHPL y secuenciación²² ([Tabla 2](#)).

Tabla 2. Resumen de algunos estudios moleculares para determinar las mutaciones en el gen *NF1*

# Indiv.	Casos (F/E)	Técnica(s)	% de efectividad	Nivel estudiado	Variantes encontradas/ tipo más frecuente*	Mutaciones nuevas	**Mutación(es) más frecuente (s)/loc./ # de pacientes	Ref.
521	-	PTT, TGGE, SEC	40/85 (47,1%) 65/121 (53,7%) 184/335 (54,9%)	ADN ARNm Proteína	301; 278 patogénicas: 84 mutaciones sin sentido(30,2%)*, 78 del., 32 ins., 30 por pérdida de exones out of frame, 25 por pérdida de exones in frame, 28 con sentido equivocado y 1 mutación en el codón 1	216	C4537T(R1513X) /exón 27a /7 499delGTT /exón 4b /6 6789delTTAC /exón 37/5	18
474	63/127	cDNA-SSCP/ HD	189/474 (39,9%)	ADN ARNm	142; 70 del. e ins.(49,3%)*, 44 de empalme, 12 sin sentido, 14 con sentido equivocado, 2 deleciones de aminoácidos	104	910C>T (R304X) /exón7/7 6792C>A (Y2264X) /exón 37/6	61
40	15/25	PCR-DHPLC, SEC	29/40 (72,5%)	ADN	29; 9 mutaciones sin sentido(31%)*, 8 del., 6 con sentido equivocado, 4 de empalme, 1 ins. y 1 rearrreglo complejo	18	499delGTT /exón 4b/2 6709C>T (R2237X) /exón 36 /2	65
110	-	PTT, DHPLC, SEC	90/110 (81,8%)	ADN ARNm Proteína	90; 75 patogénicas: 25 mutaciones sin sentido(33%)*, 20 del., 5 ins., 6 por pérdida de exones out of frame, 4 rearrreglos complejos, 1 dup. en tándem, 3 por pérdida de exones in frame, 10 con sentido equivocado y 1 del. pequeña dentro del marco de lectura	22	c.495_498delGTT /exón 4b/ 3 c.3916C>T (R1306X)/exón 23-1/3 c.6709C>T (R2237X)/exón 36/3	60
55	33/22	PCR-SSCP, SEC	9/55 (16,4%)	ADN	9; 4 patogénicas: 1 mutación sin sentido, 1 con sentido equivocado, 1 del. y 1 en sitio aceptor de empalme	3	3565C>T (Q1189X) /exón 21/1 3525-3526deAA /exón 21/1 4067A>G (E1356G) /exón 23.2/1 c.4111-1G>A /intrón 23.2/1	64
63	6/17	MLPA, qPCR, FISH	23/63 (36,5%)	ADN Cromosomas	23: 9 del. de todo el gen(39%)*, 8 del. multi-exón, 6 del. de único exón	22	Del. todo el gen tipo 1/6 Del. exones 3 y 4a/3	66
42	1/1	Cariotipo de alta resolución	2/42 (4,7%)	Cromosoma	2: 1 inserción, 1 del. de todo el gen	-	ins (2; 17) (q33; q11.2)q12/1 del (17 q11.2)/1	67 22
56	10/46	MLPA, RT-PCR, DHPLC, SEC	53/56 (95%)	ADN ARNm	53; 16 mutaciones sin sentido(30,2%)*, 15 del., inserciones o duplicaciones pequeñas de 1 o varios nucleótidos, 11 de empalme, 6 del. de todo el gen, 3 con sentido equivocado, 1 del. de único exón, 1 del. multi-exón	23	Del. todo el gen/6 c. 2033_2034insC /exón 13/2 c.3826C>T (Arg1276X) /exón 22/2 c.4537C>T (Arg1513X) /exón 27a/2	66
78	47/31	SEC, RT-PCR, MLPA, FISH	52/78 (66,7%)	ADN ARNm Cromosoma	52; 18 mutaciones sin sentido(34,6%)*, 12 con sentido equivocado, 11 de empalme, 7 del. e ins. pequeñas, 4 deleciones gruesas de más de 1 exón	16	c.1A >G(M1V) /exón 1/3 c.2033_2034insC /intron 13b/2 c.2540T>C(L847P) /exón 16/2 c.4537C>T(R1513X) /exón 27a/2 c.5546G>A(R1849Q) /exón 29/2 c.6792C>A(Y2264X) /exón 37/2 c.6792C>G(Y2264X) /exón 37/2	37
378	-	RT-PCR, SEC, qPCR	169/378 (44,7%)	ADN ARNm	127; 33 mutaciones sin sentido(26%)*, 32 de empalme, 27 con sentido equivocado, 23 del., 8 ins/dup, 4 indels	54	-	69

Abreviaturas: DHPLC: Denaturing High Performance Liquid Chromatography; PTT: Protein Truncation Test; PCR: Polymerase Chain Reaction; SSCP: Single Strand Conformation Polymorphism; TGGE: Temperature Gradient Gel Electrophoresis; SEC: secuenciación; MLPA: Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification; qPCR: Quantitative PCR; FISH: Fluorescent in Situ Hybridization; RT-PCR: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction; HD: heteroduplex; in frame: dentro del marco de lectura traduccional; of frame: fuera del marco de lectura traduccional; ADN: Ácido Desoxirribonucleico; ARNm: ARN mensajero; cDNA: ADN copia; del.: deleción; ins.: inserción; dup.: duplicación; q: brazo largo del cromosoma; A: Adenina; C: Citocina; G: Guanina; T: Timina; Y: Tirosina; R: Arginina; Q: Glutamina; L: Leucina; P: Prolina; M: Metionina; V: Valina; E: Ácido Glutámico; G: Glicina; Arg: Arginina; X: Stop. Indiv.: Individuos; F: Familiar; E: Esporádico; loc.: localización; **Se mantuvo la notación para la escritura de las mutaciones, utilizada en el artículo original; *Tipo de mutación más frecuente; -: información no disponible.

Entre los métodos utilizados en los estudios anteriores figuran los de barrido tales como: SSCP, TGGE, DHPLC y PTT y otros a saber: secuenciación, qPCR, RT-PCR, MLPA y FISH ([Tabla 2](#)). Algunos laboratorios utilizan los métodos "de barrido", para minimizar los costos, pues aunque éstos no identifican el tipo de mutación, permiten descartar los exones normales, de los exones mutados en aquellos genes con heterogeneidad alélica fuerte, es decir, con posibilidad de mutaciones a lo largo de todo el gen. La detección exacta de la mutación debe realizarse, posteriormente, mediante secuenciación⁶⁸, técnica que utiliza, frecuentemente, ADN genómico o ADN copia obtenido por RT-PCR, para detectar mutaciones puntuales que oscilan entre una base y algunas decenas de bases. Otros laboratorios con mayor facilidad económica o que conocen la mutación puntual existente en la familia utilizan la secuenciación como primera alternativa y esta práctica ha aumentado debido a la disminución de los costos asociados a la secuenciación en los últimos años. El MLPA, FISH, cariotipos, y métodos de análisis de múltiples polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) se utilizan para identificar mutaciones gruesas, es decir aquellas que involucran segmentos grandes incluso varios genes, y por lo tanto, permiten la detección de la delección completa del gen, delección de exones, duplicaciones y rearrreglos cromosómicos.

El porcentaje de detección de mutaciones varía de acuerdo con los protocolos de análisis utilizados. Mientras que el protocolo de varios pasos, basado tanto en la secuencia del ADNc, ADN genómico, así como la delección completa de *NF1* identifica más de 95% de los casos, el de la secuencia genómica, únicamente, identifica, aproximadamente, 61%. El análisis de delecciones y duplicaciones, determina aproximadamente, 5% y el citogenético menos de 1%²⁸.

Abundantes mutaciones ([Tabla 2](#)) fueron localizadas uniformemente en *NF1*, desde el exón 1 al 47^{18,37} y decayeron en densidad en los últimos exones²². El tipo de mutación más frecuente fue la sin sentido, producida por la introducción de un codón de parada prematuro, que a menudo altera el empalme del ARNm²⁸ y origina formas truncadas de neurofibromina, observadas en 80%¹⁸, 77%⁶¹, 81%⁶⁰, 76,9%³⁷ y 72%²² de los casos.

Aunque las mutaciones sin sentido causan la terminación prematura de la proteína, las delecciones e inserciones pequeñas generan transcritos con corrimiento de lectura que, también, podrían producir proteínas truncadas. Igualmente, las mutaciones en sitios de empalme y delecciones gruesas en el gen, pueden generar proteínas acortadas³⁷.

Mutaciones con sentido equivocado, las cuales producen sustitución de aminoácidos, en sitios conservados dentro de la proteína^{18,37,69}, también, se reportaron y por la ubicación de su ocurrencia podrían resultar en un cambio funcional⁶⁹. Delecciones completas del gen, se han encontrado, generalmente, entre 4-5% de los individuos con *NF1*⁷⁰. Otros estudios mostraron porcentajes similares 4,5%⁶⁶, o aproximados 11%²², 1,59%⁶⁹.

Herramientas y bases de datos bioinformáticas han sido utilizadas para caracterizar mutaciones en *NF1*: para el modelado molecular^{60,64}, diseño de oligonucleótidos^{64,65} y determinación de mutaciones^{22,40,69}. En la actualidad se utilizan herramientas

computacionales para determinar los mecanismos de errores de empalme, la patogenicidad de las mutaciones y el alineamiento de proteínas⁶⁹.

En resumen, la existencia de varios métodos moleculares así como el cúmulo de herramientas bioinformáticas aunadas a una estrategia metodológica bien planificada para la identificación de mutaciones en *NF1*, permitirá su identificación sin mayor dificultad. En este contexto, se sugiere considerar los siguientes aspectos: análisis de la región codificante y las regiones limítrofes exón - intrón, aplicación de métodos para detectar variables puntuales y gruesas, usar la secuencia de referencia genómica correcta, evaluar los antecedentes e historia familiar del paciente y el tipo de mutación a determinar y evitar la aplicación paralela de técnicas para ahorrar costos. Es preferible aplicarlas de manera paulatina hasta encontrar la mutación.

Referencias

- 1.- **Neurofibromatosis tipo 1 | Sobre la enfermedad | GARD. (s. f.).**
<https://rarediseases.info.nih.gov/espanol/12507/neurofibromatosis-tipo-1>

- 2.- **R, S. F., Trasobares, L., Medina, S., & M, G. R. (2001, 15 junio).**
Neurofibromatosis. Medicina Integral. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-neurofibromatosis-13015324>

- 3.- **MundoPsicologos.com. (s. f.). Neurosis: Qué es, síntomas y tratamiento - MundoPsicologos.com. Mundopsicologos.**
<https://www.mundopsicologos.com/diccionario-psicologico/neurosis>

- 4.- **FN1 fibronectin 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. (s. f.).**
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Cmd=DetailsSearch&Term=2335>

- 5.- **Account - GeneCards Suite. (s. f.). <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=FN1#:~:text=FN1%20%28Fibronectin%201%29%20is%20a%20Protein%20Coding%20gene.,Signaling%20downstream%20of%20RAS%20mutants%20and%20Integrin%20Pathway.>**