

FUNDAÇÃO FACULDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS MÉDICAS DE PORTO ALEGRE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS MORFOLÓGICAS
DISCIPLINA DE GENÉTICA BÁSICA

Neurofibromatose tipo 1: do genótipo ao fenótipo

Ana Luiza Berwanger da Silva*
Cássia Gomes da Silveira*
Melissa Pacheco do Nascimento*
Tamara Azambuja da Silva*
Carolina Dutra**

* Acadêmicas da 4.^a série da FFFCMPA

** Acadêmica da 5.^a série da FFFCMPA

Porto Alegre, novembro de 2001

RESUMO

A Neurofibromatose tipo 1 (NF1), também chamada de neurofibromatose periférica ou Doença de von Recklinghausen, caracteriza-se como uma doença autossômica dominante com alto grau de variabilidade da expressão clínica. Apesar de possuir penetrância de 100% em adultos, há uma penetrância relacionada à idade para um conjunto de sinais clínicos. A NF1 ocorre entre 1:3.000 e 1:5.000 nascidos vivos). Metade dos casos representam mutações novas, e a taxa de mutação para o gene *NF1*, 1/10.000, está situada entre as mais altas já descritas para qualquer gene conhecido em seres humanos. As três principais manifestações – neurofibromas, manchas café-com-leite e nódulos de Lisch – ocorrem em mais de 90% de todos os pacientes durante a puberdade. O diagnóstico da neurofibromatose é clínico, sendo que a aplicação dos critérios diagnósticos permite o estabelecimento do mesmo na grande maioria dos casos. Um teste denominado *protein truncation test* (PTT) tem sido aplicado no rastreamento para mutação do gene *NF1*. Além do PTT, o FISH é utilizado no diagnóstico molecular, assim como o PCR. O diagnóstico pré-natal da NF1 poderá ser realizado através de análise direta de DNA, quando uma mutação específica for identificada na família. O gene *NF1* foi mapeado, através de estudo

de ligação, na região pericentromérica do braço longo do cromossomo 17. O gene *NF1* foi caracterizado como codificador de uma proteína Ras-GAP (proteína de ativação GTPase). Esse produto codificado, a neurofibromina estimula a hidrólise intrínseca da GTP (guanosina trifosfato) ligada à proteína Ras. Além de mutação herdada, podem ocorrer indivíduos com mosaicismos. Ainda não há correlação estabelecida entre a região mutada do gene *NF1* e o fenótipo dos pacientes portadores dessa síndrome. Ademais, a expressividade variável é uma das características mais marcantes da NF1. Atualmente, não existe cura para a NF1, porém existem medidas paliativas que melhoram as perspectivas de vida útil dos indivíduos afetados pelo distúrbio. Os indivíduos portadores de NF1 em geral apresentam expectativa de vida normal, atividades acadêmicas e profissionais produtivas, além de vida afetiva regular. O aconselhamento genético é importante no intuito de orientar os pais de uma criança afetada, assim como esclarecê-los a respeito do risco de recorrência em outras gestações.

Palavras-chave: Neurofibromatose tipo 1, neurofibromina, gene *NF1*, proteína Ras, mutação

ABSTRACT

Neurofibromatosis 1 (NF1), also known as peripheral neurofibromatosis or von Recklinghausen disease, is an autosomal dominant condition with a high degree of variability of clinical expression. Although it is fully penetrant in adults, there is an age-related penetrance for a number of individual clinical signs. NF1 affects between 1:3.000 and 1:5.000 newborns. Half of the cases represent new mutations, and the mutation rate for *NF1* gene, 1:10.000, is one of the highest already described for any known human gene. The three main manifestations – neurofibromas, café-au-lait spots and Lisch nodules – occur in more than 90% of all patients during puberty. The diagnosis of Neurofibromatosis is clinical, and the application of diagnostic criteria allows its confirmation in the vast majority of the cases. A test known as protein truncation test (PTT) is being used for *NF1* gene mutation screening. In addition to PTT, FISH is used in molecular diagnosis, as is true for PCR. NF1 prenatal diagnosis can be made by DNA direct analysis, when an specific family mutation is identified. *NF1* gene was mapped, by linkage analysis, in the chromosome seventeen's long arm peracentromeric region. *NF1* gene was characterized as a Ras-GAP protein codifier (GTPase activating protein). This codified product,

neurofibromin, stimulates GTP intrinsic hydrolysis (triphosphate guanosine) linked to Ras-protein. Besides inherited mutation, mosaicism can occur. There is no established correlation between *NF1* gene mutated region and patients' phenotype. Furthermore, variable expressivity is one of the hallmark features of the syndrome. At present, there is no cure for NF1. However, palliative ways to improve the life of affected patients. NF1 patients have normal life expectancy, productive academic and professional activities, and a nice sentimental life. Genetic counseling is important to guide parents of an affected child, as to clarify them about recurrence risk in further pregnancies.

Keywords: Neurofibromatosis type 1, neurofibromin, *NF1* gene, Ras-protein, mutation

INTRODUÇÃO

O termo Facomatose deriva do phakos, palavra grega que designa mancha de nascença. Foi originalmente usado por van der Hoeve, em 1923, para descrever neurofibromatoses e esclerose tuberosa. A doença de von Hippel-Lindau (VHL) foi incluída nessa classificação em 1932 e a Síndrome de Sturge-Weber, em 1936.¹ Assim que outros distúrbios neurocutâneos, cujas manifestações típicas são manchas ou sinais, foram descobertos, geralmente, eles incorporaram-se no espectro das facomatoses (François, 1972).

Alguns autores dividem tais doenças com base em seu tecido de origem. Logo, a Neurofibromatose do tipo 1 e a esclerose tuberosa são classificadas, principalmente, como doenças neuroectodermas, e as Síndromes de von Hippel-Lindau e de Sturge-Weber como doenças mesodermas.¹ De acordo com essa visão, o termo facomatose reserva-se aos distúrbios que predisõem ao desenvolvimento de hamartomas e outros tumores e que envolvem a pele e/ou os olhos, o sistema nervoso e um ou mais sistemas do corpo. Dessa forma, das quatro facomatoses clássicas, as neurofibromatoses, a esclerose tuberosa e a Síndrome de von Hippel-Lindau permaneceriam incluídas nessa classificação, excluindo-se

a Síndrome de Sturge-Weber, que seria considerada apenas como uma síndrome neurocutânea.

A Síndrome de von Hippel-Lindau difere-se levemente da esclerose tuberosa e das neurofibromatoses, já que vários estudos não identificaram envolvimento cutâneo como parte do espectro da doença, nem as lesões eram tumores verdadeiros, mas sim hamartomas.¹

As facomatoses, de um modo geral, apresentam fenótipos distintos, porém possuem muitas características em comum, como por exemplo, a história natural e o manejo da doença. A severidade de cada uma das facomatoses é, também, extremamente variável, inclusive dentro da mesma família.¹

A patogênese das facomatoses, até o desenvolvimento da aplicação das técnicas genéticas moleculares, era desconhecida. Atualmente, os genes para as quatro facomatoses mais comuns já foram clonados, sendo elas, Neurofibromatose tipo 1 (NF1), Neurofibromatose tipo 2 (NF2), Doença de VHL e esclerose tuberosa. Todos eles atuam, principalmente, como genes supressores de tumor, mas não há nenhuma similaridade quanto aos seus níveis moleculares e funcionais.¹ A extrema variabilidade dessas doenças sugere que outros fatores, tais como genes modificados, possam ser importantes (Easton *et al.*, 1993).

Neurofibromatose tipo 1, Neurofibromatose tipo 2 e esclerose tuberosa formam um conjunto de doenças autossômicas dominantes distintas que possuem em comum a tendência à formação de tumores do sistema nervoso e de outros tecidos. Elas constituem o grupo das chamadas síndromes neurocutâneas devido à predileção ao comprometimento da pele e do cérebro, porém o denominador comum entre elas é a propensão ao

desenvolvimento de tumores benignos ou malignos, ou de ambos, do sistema nervoso e, secundariamente, de outros tecidos.²

As neurofibromatoses primeiramente afetam tecidos derivados da crista neural.³ Até a década de 70, muitas publicações não diferenciavam as formas de neurofibromatose e usavam o termo Doença de von Recklinghausen para todas elas.^{1, 4} A extrema heterogeneidade clínica dessas doenças suscitou tentativas para classificar os distúrbios em algumas entidades distintas. No mínimo duas formas diferentes, Neurofibromatose tipo 1 (NF1) e tipo 2 (NF2), foram reconhecidas e mais tarde confirmadas pela clonagem de dois genes separados, o gene da NF1 no cromossomo 17 e o gene da NF2 no cromossomo 22. Outras síndromes relacionadas à neurofibromatose foram também relatadas, tais como Síndrome de Watson, Síndrome de Noonan⁵, Neurofibromatose Espinhal, Manchas café-com-leite familiares e Schwannomatoses.³ A distinção dessas doenças não é simplesmente acadêmica, já que a história natural e o manejo das formas de neurofibromatoses são extremamente diferentes.¹

Possivelmente, o mais antigo portador de Neurofibromatose descrito foi um abade escriba chamado Heinricus, que viveu no século XIII, na Áustria. Apresentava alteração em membro superior, além de nódulos na pele sugestivos de Neurofibromatose tipo I.⁶

Em 1793, um artigo publicado por Tilesius fez a primeira descrição de tumores fibrosos múltiplos da pele. Referiu-se a um paciente chamado de “Homem Verruga” (*Wart man*), em seu artigo intitulado “Caso histórico da pele estranhamente desagradável”. Este indivíduo apresentava numerosos nódulos cutâneos, prurido generalizado, escassas manchas de coloração irregular nas pernas e uma circunferência craniana superior ao normal.⁶

Aproximadamente um século depois, em 1882, Frederich Daniel von Recklinghausen relatou, em sua monografia, dois novos casos, mas, na época, já existiam 168 citações em publicações anteriores. Apresentou dois casos de neurofibromatose múltipla, um dos quais foi à necropsia, postulando então que os tumores ao longo dos grandes nervos periféricos, assim como os grandes falsos neuromas de pele, provinham do tecido conjuntivo, bainha dos nervos e dos plexos nervosos, particularmente do perinervo e do endonervo. Também descreveu áreas pigmentadas na pele, mas aparentemente não incluiu manchas café-com-leite integrando a patologia. Frisou que, raramente, tumores do sistema nervoso central se faziam acompanhar de manifestações cutâneas e que nenhum dos pacientes relatados apresentava manifestações neurológicas, exceto um QI aparentemente baixo. A maior contribuição de von Recklinghausen foi a identificação da neurofibromatose como uma entidade nosológica individualizada.⁶

No século XIX, Joseph Carey Merrick, conhecido como o “Homem Elefante”, foi o grande responsável pela divulgação errônea da neurofibromatose, pois, desde a sua infância, era apresentado ao público em circos. Desse modo, despertou a atenção de muitos médicos que, a partir daí, iniciaram estudos mais aprofundados sobre a doença. Apresentava grande deformidade estética na face, além de uma grave deformidade de quadril. Hoje se sabe que Merrick, na realidade, não era portador de Neurofibromatose tipo 1, e sim, da Síndrome de Proteus.⁶

Chauffard, Marre e Bernard, em 1896, foram provavelmente os primeiros a descrever a mudança pigmentar como representante do aspecto básico da doença. Em 1900, Thomson relatou o caráter hereditário da patologia. Em 1918, Prieser e Davenport estabeleceram que a patologia apresentava um caráter de transmissão genética dominante.⁶

Em 1940, Davis incluiu o glioma óptico como parte da patologia, e Crowe, Schull e Neel, em 1956, investigaram os significados genéticos e clínicos da pigmentação macular. De seus estudos, concluíram que as manchas café-com-leite são sinais patognomônicos da neurofibromatose generalizada. Esses autores sugeriram que um indivíduo que apresentasse mais de 6 manchas café-com-leite e que excedessem 1,5cm em seu maior diâmetro, deveria ser diagnosticado como portador de neurofibromatose, mesmo na ausência de história familiar. Relataram ainda a ocorrência de degeneração maligna. Segundo os autores, assim como ocorre em alterações endócrinas, podem-se encontrar desenvolvimento somático insuficiente e retardamento da maturação sexual (hipogonadismo), bem como hipopituitarismo e tumores adrenais (feocromocitoma).⁶

Em 1987, Barker *et al.* e Seizinger *et al.* mapearam os genes responsáveis por Neurofibromatose tipo 1 e tipo 2, respectivamente, nos cromossomos 17 e 22.^{6,4}

A Neurofibromatose tipo 1, também chamada de neurofibromatose periférica ou Doença de von Recklinghausen, caracteriza-se como uma doença autossômica dominante com alto grau de variabilidade da expressão clínica.^{7, 8} Apesar de possuir penetrância de 100% em adultos, há uma penetrância relacionada à idade para um conjunto de sinais clínicos.⁷

EPIDEMIOLOGIA

A neurofibromatose é uma patologia genética com uma prevalência importante na população. Constitui um verdadeiro desafio para diversas especialidades médicas, pois, tendo um caráter pleiotrópico, costuma acometer vários sistemas orgânicos.⁶

A NF1 é o distúrbio genético dominante mais freqüente, ocorrendo entre 1:3.000 e 1:5.000.^{9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 4, 16, 17} Metade dos casos representam mutações novas, e a taxa de mutação para o gene *NF1*, 1/10.000, está situada entre as mais altas já descritas para qualquer gene conhecido em seres humanos. A causa dessa inusitada alta taxa de mutação é desconhecida.⁶

Mais de 80% das novas mutações no gene NF1 são de origem paterna. As deleções amplas que incluem todo ou quase todo o gene NF1, as quais representam cerca de 5% das mutações ocorridas nesse gene, são uma exceção a essa regra, ou seja, apresentam origem materna.^{11, 9, 8} Ainda não se conhece a explicação para essa característica.

Ainda não está estabelecido na literatura se existe relação entre a idade paterna e a ocorrência de mutações esporádicas, já que alguns estudos sugerem que a idade do pai

possa influir nesse mecanismo, visto que a maioria dessas mutações são de origem paterna.^{10,11}

Um importante fator a ser considerado durante a análise dos estudos epidemiológicos da NF1 é a idade dos pacientes. A prevalência de NF1 é mais elevada em indivíduos jovens que em adultos. Essa diferença provavelmente ocorre devido à morte precoce dos pacientes adultos com NF1. Contudo, não está claro se as manifestações clínicas exibidas pelos portadores adultos dessa síndrome são suficientemente severas para explicar a magnitude dessa diferença. Ademais, a subinvestigação dos pacientes com idade mais avançada também pode contribuir para a alta prevalência observada de NF1 em indivíduos jovens.¹¹

A prevalência de NF1 têm sido mensurada apenas em populações caucasianas e japonesas, embora não existam evidências de que as diferentes etnias afetem de forma significativa a frequência dessa síndrome. A NF1 tem sido observada em diferentes partes do mundo, incidindo em todas as raças e possuindo uma correlação idêntica entre homens e mulheres. As exceções podem ser o glioma óptico, que é mais evidenciado em pacientes da raça branca, e o tumor carcinóide, o qual pode se desenvolver com mais frequência em indivíduos da raça negra.¹¹

Embora a NF1 apresente uma penetrância virtualmente completa em adultos, a frequência da maioria das manifestações clínicas aumenta com a idade das crianças afetadas.¹¹ A doença comumente ocorre em uma ou duas gerações. Em algumas famílias, pode ocorrer entre quatro e seis gerações.⁶

A capacidade reprodutiva é influenciada pela interação de todos os fatores que afetam a habilidade dos indivíduos de terem filhos. A taxa de fertilidade dos pacientes com NF1 é cerca de metade do valor normal. Além disso, essa habilidade reprodutiva dos portadores da síndrome é menor em indivíduos do sexo masculino.¹¹

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A expressão clínica da NF1, de um modo geral, envolve múltiplos sistemas do corpo, que podem variar intensamente de um paciente para outro, entre famílias e até mesmo entre membros de uma mesma família, os quais se presume serem portadores da mesma mutação. Embora as três principais manifestações – neurofibromas cutâneos, manchas café-com-leite e nódulos de Lisch (hamartomas na íris) – ocorram em mais de 90% de todos os pacientes durante a puberdade, o número de lesões é extremamente variável. Outras características são presenciadas apenas em uma minoria dos casos de NF1, tais como dificuldades de aprendizagem, convulsões, macrocefalia, baixa estatura, escoliose, pseudo-artrose e neoplasias. Alguns autores consideram essas manifestações menos frequentes como complicações da NF1 enquanto outros, parte da expressão clínica inicial.^{3, 18}

As múltiplas malformações são resultantes de fatores displásicos de origem genética e de caráter pleiotrópico, capazes de afetar vários tecidos ou órgãos. A sua ação ocorre antes do 30.º dia de vida intra-uterina, período durante o qual se elabora a diferenciação dos esboços viscerais.⁶

A sede e a intensidade das malformações estão relacionadas ao estado de desenvolvimento embrionário, durante o qual há ação do gene, com afinidade eletiva desse para certos esboços embrionários. Essas malformações nos fenômenos de indução, determinando alterações dos centros organizadores, podem acarretar malformações mesodérmicas (viscerais, ósseas) por mecanismo indireto, de caráter regional ou difuso.⁶

1. Crescimento

De maneira geral, não há complicações pré-natais consistentes associadas à NF1. Os neonatos com NF1 geralmente nascem a termo e possuem crescimento intrauterino normal. Um retardo de desenvolvimento pós-natal é observado em aproximadamente um terço das crianças portadoras da doença e macrocefalia relativa é um achado comum. As etiologias da macrocefalia relativa e da baixa estatura ainda não estão esclarecidas. Puberdade precoce e alta estatura são geralmente associadas com tumores da via óptica que envolvem quiasma. O crescimento desproporcional das extremidades é comumente associado a neurofibromas plexiformes. A alimentação não consiste em uma solução para essa condição, sendo que a relação entre peso e altura usualmente é normal.⁷

2. Desenvolvimento e Comportamento

Retardo mental não é um achado comum em portadores da NF1, estimando-se uma incidência de 4 a 8% nos pacientes, a qual é maior do que na população em geral. Os indivíduos que possuem uma grande deleção no gene *NF1* (cerca de 5% da população rastreada para NF1) parecem apresentar desenvolvimento mais atrasado que o esperado. Supõe-se que essa deleção inclua genes contíguos que, quando ausentes, contribuam para manifestações clínicas, dentre elas, distúrbios cognitivos. Em oposição ao retardo mental,

déficit de aprendizagem é bastante comum e afeta aproximadamente 40-60% dos pacientes.^{7, 9} As crianças acometidas exibem um padrão misto de déficit de aprendizagem, incluindo alterações tanto verbais, quanto não-verbais.^{7, 2, 19} Além disso, a maioria dos estudos afirma que essas crianças apresentam dificuldades no que se refere à orientação visoespacial e à memória de curto prazo.^{1, 20}

3. Manchas café-com-leite

As manchas café-com-leite são as primeiras manifestações a aparecer, costumam aparecer durante os primeiros dois anos de vida. Algumas podem estar presentes ao nascimento, continuando a desenvolver-se e aumentar de tamanho até a puberdade. Se uma criança com risco de manifestar NF1 não apresentar qualquer mancha café-com-leite até o primeiro ou segundo ano de vida, é extremamente improvável que tal doença esteja presente.

Tais manchas variam de 0,5 a 50 cm de diâmetro, mas nunca são menores do que 10 cm. A intensidade da coloração pode variar conforme a raça do paciente. Além disso, essas lesões tornam-se escuras quando expostas ao sol.^{1, 18, 21}

Outra pigmentação característica, que parece ser encontrada apenas em pacientes com NF1, são as efélides localizadas em áreas corporais específicas e não relacionadas à exposição solar, a exemplo da axila, da virilha e da região submamária nas mulheres. Essas efélides se desenvolvem após o aparecimento das manchas café-com-leite.¹

4. Nódulos de Lisch

Nódulos de Lisch são patognômicos da NF1 e são extremamente úteis para o diagnóstico, particularmente em adultos. Os nódulos de Lisch são inofensivos e

assintomáticos hamartomas da íris. Podem ser ocasionalmente vistos a olho nu, mas a observação lâmpada de fenda é preferível para distingui-los do comum nevo da íris. Durante o exame lâmpada de fenda, esses nódulos apresentam um aspecto liso e em forma de cúpula. Geralmente exibem a coloração marrom claro, embora possam ser pálidos.¹

Os nódulos de Lisch geralmente desenvolvem durante a infância depois do aparecimento das manchas café-com-leite e antes do surgimento dos neurofibromas periféricos. Ademais, esses nódulos são úteis na confirmação diagnóstica de NF1 em crianças sem história familiar positiva para a síndrome que apresentam apenas manchas café-com-leite como manifestação clínica da doença. A incidência desses nódulos aumenta marcadamente com a idade; aos 5 anos, apenas 22% dos pacientes apresentam tais nódulos, sendo que, na idade adulta, estão presentes em mais de 90% dos indivíduos com NF1.¹

5. Tumores

Indivíduos afetados pela NF1 apresentam uma propensão a desenvolver tanto tumores benignos, quanto malignos, incluindo neurofibromas, gliomas da via óptica e, mais raramente, leucemias e feocromocitomas.^{16, 22}

5.1 Neurofibromas. A maior característica fenotípica da NF1 é o desenvolvimento disseminado de múltiplos neurofibromas. Esses são tumores benignos derivados de tecido conectivo de bainhas nervosas, principalmente o endoneuro. Esses tumores geralmente se desenvolvem na idade adulta, sendo progressivos em número e tamanho. Existem duas categorias maiores de neurofibromas, os dérmicos e os plexiformes. Os neurofibromas dérmicos podem ser tanto cutâneos, quanto subcutâneos, e os tumores cutâneos podem ser sésseis ou pediculados. Eles tendem a se apresentar como tumores relativamente pequenos,

nódulos discretos que são facilmente definidos por uma cápsula fibrosa e pele superficialmente. Os neurofibromas dérmicos representam discretas lesões focais da bainha nervosa, compostos predominantemente de células de Schwann e fibroblastos, além de conter também axônios, células perineurais, mastócitos e matriz extracelular. Já os neurofibromas plexiformes tendem a ser tumores grandes e amorfos, podendo originar-se de qualquer local no sistema nervoso periférico. A etiologia e patogênese dos neurofibromas ainda não são compreendidas; entretanto, uma grande porcentagem de tumores foram demonstradamente relacionados a mutações somáticas do gene *NF1*. Essa observação induz à constatação de que níveis diminuídos de neurofibromina são uma etapa necessária, porém insuficiente no desenvolvimento dos neurofibromas.^{7, 23, 24}

Os neurofibromas dérmicos são encontrados virtualmente em todos os adultos com NF1. Apesar de serem usualmente assintomáticos, alguns podem provocar prurido e dor se localizados em áreas de irritação ou pressão, como nas linhas do cinto ou do sutiã. Os neurofibromas dérmicos são sempre benignos. Eles nunca se transformam em fenótipos malignos. Em alguma extensão, esses tumores incitam preocupação cosmética; contanto, raramente causam problemas médicos, a não ser que aumentem muito de tamanho ou se tornem infectados e/ou inflamados.^{7, 25}

Os neurofibromas plexiformes são encontrados em aproximadamente 25% de todos os indivíduos com NF1 e tendem a aparecer no início da vida, até mesmo ao nascimento. Não está clara a causa que promove a proliferação celular. Esses tumores podem ser uma causa de morbidade devido a sua localização e seu tamanho. Os neurofibromas plexiformes possuem a capacidade de transformação maligna. Essa é observada principalmente em tumores plexiformes de longa data e aparência benigna que crescem rapidamente e estão associados à dor.

5.2 *Tumores malignos periféricos de bainha nervosa.* Formalmente chamados de neurofibrossarcomas, esses tumores ocorrem em aproximadamente 2-4% dos pacientes portadores de NF1, sendo, no caso, provindos dos neurofibromas plexiformes.²⁶ Esses tumores são um dos principais encontrados em pacientes com NF1 e a maioria apresenta-se de forma agressiva com índice alto de metástase à distância. Tumores de baixo grau representam apenas 10-15% dos casos. Quando esses tumores benignos transformam-se em malignos, geralmente apresentam prognóstico pobre, com sobrevida em 5 anos de menos de 50%.^{7,27}

5.3 *Tumores da Via Óptica.* Os gliomas da via óptica representam o segundo tumor mais comum observado em pacientes com NF1.¹⁴ Aproximadamente 15% dos indivíduos com NF1 possuem um glioma envolvendo o tumor da via óptica, sendo que metade desses tumores são sintomáticos. Eles tendem a surgir nos primeiros anos da infância. Os sintomas incluem perda da acuidade visual, diminuição do campo de visão, agitação e alterações de comportamento. Sinais de glioma da via óptica incluem proptose, estrabismo, palidez do nervo óptico e aumento do disco óptico. Esses tumores são sempre de baixo grau e não são invasivos quando comparados aos gliomas não associados à NF1. Os tumores da via óptica da NF1 não são malignos; entretanto, podem levar à perda de visão e/ou puberdade precoce.^{7, 28, 29, 30, 31}

A real incidência de câncer em indivíduos com Neurofibromatose tipo 1 não está bem estabelecida devido a vieses de verificação.⁷

Os tipos de tumores mais freqüentemente associados à NF1 incluem gliomas, tumores malignos de nervos periféricos, rabdomiossarcomas, leucemia mielodisplástica e mieloproliferativa, e feocromocitoma.¹⁶ Os portadores de NF1 não possuem uma probabilidade mais alta de desenvolver os cânceres mais comuns, tais como, câncer de

próstata, de pulmão, de cólon e melanoma, afirmando, assim, a propensão desses pacientes a manifestar tumores mais raros.⁷

A ligação do produto do gene *NF1* com a proteína Ras oncogênica sugeriria que os pacientes com NF1 estão predispostos ao desenvolvimento de outros cânceres, tivessem mutações *Ras*; contudo, o único tipo de tumor, cuja oncogênese está dividida entre as mutações de inativação do gene NF1 e de ativação do gene RAS é a Leucemia Mielóide Crônica Juvenil. Muito embora, poucas crianças com Neurofibromatose tipo1 desenvolvam a Leucemia Mielóide Juvenil Crônica, há uma associação muito clara entre tais entidades. Cerca de 10% das crianças que possuem essa leucemia têm também Neurofibromatose tipo1, e os meninos que herdaram NF1 de suas mães parecem ter maior risco do que as outras crianças. Os indivíduos que possuem Leucemia Mielóide Juvenil Crônica, porém não NF1, geralmente têm uma mutação do protooncogene *Ras*, ao passo que portadores com NF1 têm a inativação de ambos os alelos de *NF1* e a desregulação da sinalização de *Ras* nas *stem cells* mielocíticas. Essa observação não é verdadeira para outros tumores que exibem mutações do protooncogene *Ras*, pois os tumores com maior incidência de mutações no gene *Ras* não são tipicamente vistos na Neurofibromatose tipo 1. Isso significa que a função supressora de tumor da neurofibromina é mais complexa do que simplesmente a regulação negativa da proteína Ras.⁷ É possível que mutações envolvendo tanto o gene *NF1*, quanto o *EVI2A* ou *EVI2B* podem causar leucemia associada a NF1.³

Os neurofibromas dérmicos são visíveis na superfície da pele e podem monitorados pelo tamanho, vascularização e inflamação; com isso, eles não requerem exames de imagem.⁷

Os neurofibromas plexiformes devem ser suspeitados se houver leve assimetria tecidual e/ou pigmentação da pele ou padrões de crescimento de cabelo não usual. A ressonância magnética é um ótimo exame de imagem para determinar a extensão e a posição dos neurofibromas plexiformes. A vascularização é um fator importante para avaliar essa manifestação, logo a angiografia pode ser benéfica na determinação do suplemento vascular.^{7, 32}

A avaliação oftalmológica deve ser feita anualmente, na infância, para os casos com diagnóstico confirmado de Neurofibromatose tipo 1 e naqueles casos em que o diagnóstico ainda é provisório.⁷

Qualquer suspeita de haver glioma do nervo óptico, deve-se pensar em realizar ressonância magnética cerebral. Se o tumor de nervo óptico for assintomático, a observação e a ressonância magnética realizada, periodicamente, ao longo da puberdade, são suficientes. Se o tumor óptico for sintomático e estático, a melhor conduta inclui a ressonância magnética a cada três meses, em associação com a avaliação oftalmológica. Quando pacientes com NF1 apresentarem puberdade precoce, exames de imagem para investigação de um glioma do nervo óptico que compromete o quiasma óptico estão indicados, visto que a associação entre essas duas manifestações é muito freqüente.⁷

6. Hipertensão

Há três causas principais de neurofibromatose associada à hipertensão; doença renovascular, tumores que secretam substâncias vasoativas e coartação da aorta. Entretanto, hipertensão sem causa definida apresenta-se ainda como a causa mais comum de pressão alta em pacientes com NF1.⁷

A fisiologia da hipertensão renovascular na neurofibromatose manifesta-se como uma regulação anormal do sistema renina-angiotensina. Os tumores relatados que causam hipertensão associados a NF1 incluem feocromocitoma e ganglioneuromas. Além disso, embora raro, alguns pacientes com coarctação da aorta e neurofibromatose podem apresentar hipertensão.^{7,33}

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da neurofibromatose é clínico, sendo que a aplicação dos critérios diagnósticos permite o estabelecimento do mesmo na grande maioria dos casos.⁷ A utilização de exames complementares, porém, pode ser necessária em alguns casos, para obter informações adicionais.⁶

A variabilidade na expressão fenotípica e a penetrância relacionada à idade de um conjunto de manifestações clínicas algumas vezes torna a neurofibromatose tipo 1 uma doença de difícil diagnóstico. É importante ressaltar que os critérios diagnósticos estabelecidos em 1988 (NIH - National Institutes of Health Consensus Development Conference, 1988) e revisados em 1997 (Gutmann et al., 1997) constituem apenas diretrizes, através da incorporação de sete características da doença em uma lista de critérios diagnósticos (tabela 1). A presença de duas dessas características é suficiente para estabelecer o diagnóstico. Os critérios diagnósticos não fornecem uma visão da severidade da doença, nem de seu prognóstico.^{7, 12, 16}

Tabela 1 – Critérios Diagnósticos NIH para a Neurofibromatose tipo I

1. Seis ou mais manchas café-com-leite com diâmetro > 5mm em indivíduos pré-púberes, ou > 15mm em pós-púberes.
2. Dois ou mais neurofibromas de qualquer tipo ou um neurofibroma plexiforme, baseado em parâmetros clínicos e histológicos.
3. Efélides (sardas) em região axilar ou inguinal.
4. Glioma óptico.
5. Dois ou mais nódulos de Lisch (hamartomas pigmentados da íris).
6. Uma lesão óssea distinta como pseudo-artrose de um osso longo ou displasia da asa do esfenoide.
7. Um parente em primeiro grau com NF1 que preencha os critérios precedentes.

* Dois ou mais dos critérios assinalados são necessários para a confirmação diagnóstica

As características de maior prevalência em quase todos os adultos com neurofibromatose tipo 1 são as manifestações cutâneas, como manchas café-com-leite e efélides, e neurofibromas dérmicos. Outros sinais, incluindo nódulos de Lisch da íris, displasia esquelética, tumor da via óptica e neurofibroma plexiforme, foram consideradas manifestações mais específicas da doença.⁷ Uma tabela com as principais manifestações clínicas da doença é apresentada em anexo (tabela 2).

Faz-se necessário considerar a idade no momento de aplicar os critérios diagnósticos. Cada característica clínica possui uma idade distinta de apresentação. As manchas café-com-leite surgem no primeiro ano de vida, sendo que aproximadamente 80% dos portadores de NF1 demonstrarão mais do que cinco dessas manchas quando completarem um ano. Esse é o primeiro sinal típico da doença. O aparecimento de efélides axilares e inguinais constitui o segundo sinal diagnóstico observado em cerca de $\frac{3}{4}$ dos indivíduos com NF1. Os neurofibromas dérmicos e os nódulos de Lisch são geralmente detectados na puberdade, ao passo que os gliomas ópticos, a displasia esquelética e os neurofibromas plexiformes tendem a se apresentar no início da infância.⁷

Deve-se ter cuidado ao considerar o fato de o paciente possuir um parente de primeiro grau afetado como critério diagnóstico, já que há uma tendência de diagnosticar a doença em um familiar de primeiro grau que apresente apenas um dos seis sinais clínicos de neurofibromatose na tentativa de estabelecer uma história familiar positiva.⁷

Um artigo de revisão a respeito do diagnóstico da neurofibromatose salienta a importância de algumas limitações ao considerar os critérios clínicos da doença. Em primeiro lugar, crianças sem história familiar de NF1 que apresentam múltiplas manchas café-com-leite não podem ser consideradas como portadoras da síndrome na ausência de outros sinais, apesar dessa hipótese diagnóstica ser extremamente provável, já que essas manchas são muito específicas. Em relação aos estudos imagéticos, observa-se que 60% dos indivíduos com NF1 demonstram sinais T2-hiperintensos na ressonância magnética do cérebro. Apesar de essas lesões serem associadas com NF1, dados a respeito de sua especificidade são escassos, de forma que não deveriam ser consideradas critérios diagnósticos da doença. Até o presente, a relevância clínica desses sinais ainda é debatida e suas bases patológicas permanecem obscuras.³⁴

Os exames complementares que poderão ser úteis são:

1. Biópsia dos neurofibromas;
2. Avaliação oftalmológica, onde se devem pesquisar acuidade visual, exame oftalmológico e biomicroscópico com dilatação pupilar, teste de campo visual e lâmpada de fenda e, caso necessário, respostas evocadas visuais, tomografia computadorizada e ressonância magnética de órbita e quiasma óptico;
3. Avaliação auditiva, onde se devem pesquisar os reflexos acústicos, audiometria e timpanometria e, caso necessário, resposta evocada auditiva, tomografia computadorizada e ressonância magnética;

4. Pesquisa de tumores cerebrais, incluindo investigação por tomografia computadorizada e ressonância magnética de crânio, potenciais evocados e eletroencefalograma;
5. Avaliação radiológica total do esqueleto, com especial atenção ao crânio e membros inferiores;
6. Avaliação do QI (coeficiente de inteligência) e teste psicológico;
7. Avaliação dos níveis de adrenalina e noradrenalina em excreção urinária de 24 horas.⁶

Algumas equipes multidisciplinares costumam utilizar métodos diagnósticos de imagem para o rastreamento de neurofibromatose em indivíduos assintomáticos. Contudo, a correlação dos sinais imagéticos observados com o quadro clínico dos pacientes não se mostra consistente, de modo que a realização desses exames não acrescentará informações que alterem a conduta inicial.

Existem outras características comuns da NF1 que podem ser consideradas na avaliação diagnóstica, muito embora não sejam específicas; as mais comumente vistas são baixa estatura, macrocefalia, dificuldades de aprendizado e da fala e sinais T2-hiperintensos na ressonância magnética.^{7, 36, 35}

A reavaliação anual dos critérios diagnósticos e a avaliação oftalmológica são indicadas naqueles casos em que o diagnóstico de neurofibromatose tipo 1 é considerado provisório.⁷

Em casos em que se deseja um diagnóstico preditivo pré-sintomático (quando há história familiar positiva), tanto o estudo de ligação, como a análise direta da mutação

gênica têm se mostrado relativamente eficientes. Os marcadores intragênicos se mostram altamente informativos e geralmente permitem a observação do cromossomo afetado.⁷

A análise de DNA representa um importante instrumento no diagnóstico pré-natal e no rastreamento de portadores ou pacientes pré-sintomáticos. Atualmente, o diagnóstico específico de mutações detectadas no gene *NF1* é viável apenas para poucas famílias. O diagnóstico molecular de NF1 tem sido fundamentalmente baseado em estudos de ligação com marcadores de DNA disponíveis. Apesar de alguns marcadores estarem relacionados a mutações conhecidas, eles não abrangem todas as alterações moleculares do gene *NF1* e, conseqüentemente, não se aplicam a todas as famílias.³

Muitos polimorfismos foram identificados através de PCR. Esse teste, juntamente com os marcadores previamente identificados por Southern blotting, e o número crescente de mutações descritas deverão viabilizar o diagnóstico molecular em mais famílias com NF1.³

Existem raras situações em que o julgamento clínico não é suficiente para determinar o estado afetado de um indivíduo. Nesses casos, um teste denominado *protein truncation test* (PTT) tem sido aplicado no rastreamento para mutação do gene *NF1*. Esse teste utiliza RNA dos leucócitos do paciente para ampliar segmentos do gene expresso para a transcrição e tradução *in vitro* de peptídeos que refletem o código genético da expressão dos alelos *NF1*. A seguir, é realizada eletroforese para a pesquisa de mutações.⁷ O PTT é capaz de detectar erros que alteram completamente o produto codificado pelo gene. Entretanto, esse teste não detecta um erro no código genético que resulta em uma proteína apenas com uma pequena modificação da sua molécula, pois a dimensão dessa proteína não diferirá da esperada.⁶ Atualmente, esse teste é utilizado no rastreamento, sendo que identifica bandas de peptídeos variáveis em aproximadamente 70% dos indivíduos com

neurofibromatose já diagnosticada através dos critérios diagnósticos.⁷ Sua sensibilidade e sua especificidade, contudo, ainda não foram claramente estabelecidas.⁶ O teste por si só não determina a real mutação no DNA, mas apenas a observação de bandas de peptídeos com migração anormal na eletroforese. Outros protocolos devem ser aplicados para a confirmação de mutação no gene *NF1* em nível do DNA genômico.⁷

Além do PTT, o FISH (Hibridização Fluorescente *in situ*) tem sido aplicado para rastrear microdeleções no cromossomo 17q11.2 em indivíduos com NF1.⁷

Dessa forma, pode-se observar que a utilidade de testes diagnósticos através de análise molecular se mostra, de certa forma, limitado,⁷ já que nenhum teste, até o momento, pode prever a gravidade da evolução do distúrbio ou os tipos de manifestações da NF1.⁶

DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL

O diagnóstico pré-natal da NF1 costuma estar disponível para gestações nas quais um dos progenitores é afetado por esse distúrbio. Poderá ser utilizado através de análise direta DNA, quando uma mutação específica for identificada na família (Shen *et al.*, 1996), ou também por estudo de ligação de DNA quando houver um número razoável de familiares afetados e disponíveis para serem testados, e a família apresentar marcadores de ligação (Lazaro *et al.*, 1995).⁶

Poucas famílias requisitam o teste pré-natal para NF1, provavelmente porque a maioria considera essa doença como não sendo suficientemente grave para justificar o risco, e já que o diagnóstico pré-natal pode somente identificar se um feto vai desenvolver NF1, sem especificar se existirão ou não complicações graves.^{6, 10} Muitos casais provavelmente valorizariam o diagnóstico pré-natal se esse pudesse prever a severidade da doença, o que não é possível atualmente.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Existem algumas entidades clínicas que devem ser consideradas como parte da avaliação diagnóstica da NF1.⁷ Essas podem ser agrupadas de acordo com as manifestações observadas em pacientes portadores da doença.

A sobreposição da neurofibromatose tipo 1 com outras condições relaciona-se primeiramente a características cutâneas, principalmente máculas café-com-leite. Essas lesões são comumente observadas nas síndromes de Russel-Silver, Bloom, Noonan, Watson, LEOPARD, Sotos e Proteus, e menos freqüentemente nas síndromes de Dubowitz, Klippel-Trenaunay-Weber, ataxia-telangectasia e Carney. As alterações pigmentares da Síndrome de McCune-Albright podem ser difíceis de distinguir das manchas café-com-leite da NF1. Algumas características como maior pigmentação, irregularidade e localização central das primeiras, e uniformidade da forma e localização mais específica das últimas auxiliam na diferenciação, além de estudos endócrinos e radiogramas ósseos para a Síndrome de McCune-Albright.⁷

O fenótipo dos tumores da NF1 mostra-se semelhante a um número de síndromes expressas por hamartomas, incluindo as síndromes de Bannayan-Riley-Ruvalcaba, Carney, Proteus, Maffucci, von Hippel-Lindau e Gardner (polipose adenomatosa familiar), além de

doenças como neoplasia endócrina múltipla 2B, lipomatose múltipla e schwannomatose. Como parte da avaliação dessas condições clínicas, a análise histológica através de biópsia pode não possuir validade como auxiliar no diagnóstico. Um distúrbio raro que demonstra interposição clínica com a NF1 e é alélica ao gene *NF1* é a Neurofibromatose espinhal familiar. Os indivíduos afetados por essa doença possuem neurofibromas para-espinhais, porém não apresentam outros sinais comuns da NF1.⁷

Várias possibilidades têm sido propostas para explicar a coexistência da síndrome de Noonan e da NF1 em alguns pacientes. Alguns autores sugerem a existência da Síndrome Neurofibromatose-Noonan (NFNS) como uma síndrome verdadeiramente única. Contudo, essa hipótese é ainda muito discutida, visto que muitos estudos caracterizam a NFNS simplesmente como uma expressividade variável da NF1. Opitz e Weaver (1985) demonstraram, através de relatos de casos, algumas possíveis explicações para a similaridade das duas doenças: a coincidência de que os dois distúrbios caracterizam-se como doença autossômica dominante; as manifestações da NF1, principalmente as manchas café-com-leite, ocorrem também como uma característica da Síndrome de Noonan clássica; as manifestações da Síndrome de Noonan são consideradas, muitas vezes, como características clínicas variáveis da NF1 clássica.^{5, 10}

Poucas condições possuem semelhança à NF1 em termos de manifestações esqueléticas. Existem relatos de pacientes com Síndrome de McCune-Albright que exibem dificuldade de consolidação de fraturas de ossos longos que se relacionam a um padrão semelhante ao da pseudo-artrose na NF1. Já a escoliose displástica e a displasia da asa do esfenoide consistem manifestações específicas e únicas da NF1.⁷

Existem algumas famílias portadoras de máculas café-com-leite que exibem herança autossômica dominante sem outras manifestações da NF1. Algumas dessas famílias

possuem ligação ao locus *NF1* e presumivelmente são carreadoras de mutação desse gene, enquanto, em outras poucas famílias, essa ligação ao gene *NF1* foi excluída.⁷

A Síndrome de Watson é caracterizada por estenose pulmonar, múltiplas manchas café-com-leite e inteligência abaixo do normal. Mutações do gene *NF1* foram identificadas em indivíduos com essa síndrome, assim como com Síndromes de LEOPARD e de Noonan. A sobreposição de certas manifestações clínicas combinadas à variabilidade de expressão da *NF1* sugere que as vias biológicas envolvidas podem compartilhar componentes codificados pelo gene *NF1*.⁷

Finalmente, o diagnóstico diferencial da neurofibromatose tipo 1 também inclui a neurofibromatose tipo 2 (NF2), assim como a neurofibromatose segmentar. As semelhanças entre a NF1 e a NF2 são mínimas, e não deve haver confusão no momento de estabelecer o diagnóstico. A distinção entre os tipos 1 e 2 da neurofibromatose foi primeiramente reconhecida por Gardner & Frazier (1930), tendo sido completamente separadas em neurofibromatoses periférica (tipo 1) e central (tipo 2) em 1981 (Eldridge, 1981). Com relação às manifestações clínicas, os nódulos de Lisch e as efélides axilares nunca se observam na NF2. As manchas café-com-leite às vezes encontradas na NF2 são geralmente encontradas em número menor que seis e tendem a assemelhar-se a placas. Tumores dérmicos de pequeno tamanho são ocasionalmente vistos em pacientes com NF2, muitas vezes interpretados como neurofibromas. As características distintas da NF2 incluem perda auditiva associada a schwannomas vestibulares, schwannomas intraespinhais múltiplos, catarata e meningiomas múltiplos. Um aspecto importante constitui o fato de que a NF1 nunca progride para NF2, já que são duas condições clínicas distintas, cujos genes ocupam loci diferentes (cromossomos 17q e 22q respectivamente), codificando proteínas envolvidas em duas vias biológicas intracelulares também distintas.⁷ (quadro 1 em anexo)

ASPECTOS MOLECULARES

1. A estrutura do gene *NFI*

Como costuma acontecer nas doenças hereditárias de um modo geral, o mapeamento e a clonagem do gene possibilitaram uma melhor compreensão a respeito da patogenia desse distúrbio.⁶ O gene da neurofibromatose tipo 1 foi mapeado, através de análise de ligação, na região pericentromérica do braço longo do cromossomo 17 (Barker et al., 1987).^{7, 36, 37} O gene *NFI* foi isolado pela primeira vez, através de clonagem posicional, em 1990.^{3, 8} Mais recentemente, a seqüência inteira do gene *NFI* foi divulgada,⁶ localizando com precisão esse gene na região proximal do braço longo do cromossomo 17.

3

O gene *NFI* compreende mais de 350 kb do DNA genômico na região cromossômica 17q11.2 e codifica um RNAm de 11-13 kb, contendo, no mínimo, 59 éxons.³

2. Genes dentro de genes

O DNA humano fisiologicamente é transcrito em RNA mensageiro (RNAm) por meio da leitura de uma das suas hélices, no sentido da extremidade 5' para a 3'. A partir da análise do gene *NFI* à procura de anormalidades, um achado inesperado foi a descoberta de

três genes contidos em um dos íntrons do gene *NF1*.³⁸ Os três genes, *EVI2A*, *EVI2B* e *OMGP*, e um pseudogene, *AK3*, ainda não bem investigado, estão situados dentro do íntron 27.³ A descoberta que mais surpreendeu os pesquisadores, entretanto, foi a observação de que a transcrição de tais genes ocorre no sentido oposto à do gene *NF1*, ou seja, da extremidade 3' para a 5'. Diante dessa peculiaridade, inicialmente propôs-se a hipótese de que esse mecanismo estaria relacionado com a gênese da doença; contudo, constatou-se que essa forma de transcrição consiste em um evento fisiológico do metabolismo celular normal. Assim, a transcrição de todo o gene *NF1* (5' → 3') e a transcrição dos genes *EVI2A*, *EVI2B* e *OMGP* (3' → 5') são eventos independentes, ocorrendo em momentos diferentes. A provável explicação para o sentido oposto da transcrição reside no fato de que esses genes somente são reconhecidos quando lidos de 3' para 5', já que a seqüência dos nucleotídeos que determinam a região promotora de transcrição apenas é identificada nesse sentido. Quando o gene *NF1* é lido no sentido 5' → 3', não há reconhecimento desses genes, visto que estão localizados em um íntron.

Ademais, a possibilidade de contribuição desses genes na origem da doença ainda é incerta. As funções das proteínas codificadas por esses genes, as quais diferem da neurofibromina, permanecem desconhecidas até o presente momento. De fato, o fenótipo da doença em pacientes com deleções desses genes freqüentemente é o mesmo de pacientes com mutações puntiformes do gene *NF1*, indicando que esses genes podem não contribuir para as manifestações usuais da doença.³⁸

À observação das diferentes manifestações clínicas desta síndrome em um mesmo indivíduo, torna-se evidente a origem distinta dos tecidos afetados, ou seja, aparentemente um neurofibroma não apresenta relação óbvia com uma mancha café-com-leite. Algumas

hipóteses foram postuladas para explicar essa dissociação. O fato de não se conhecer as funções dos produtos dos três genes contidos no gene *NF1* propicia a idéia de uma relação com a patogênese da doença. Essa observação é sustentada pela possibilidade de a falta dos produtos codificados por esses genes poder estar envolvida nos mecanismos geradores da doença, no caso de grandes deleções que incluam o íntron 27. Além disso, apenas 10% da molécula da neurofibromina possuem função conhecida, sugerindo que o restante da proteína esteja envolvido na origem das outras manifestações clínicas.

Não está claro se os três genes contidos no íntron 27 do gene *NF1* exibem um papel na variabilidade de expressão da síndrome.³ O gene *EVI2A* é altamente expresso no cérebro, medula óssea e células sanguíneas, enquanto o *EVI2B* é expresso nos mesmos tecidos, exceto cérebro.³ O gene *OMGP* codifica a glicoproteína mielina dos oligodendrócitos (*OMGP*), que é expressa somente nos oligodendrócitos do Sistema Nervoso Central (SNC). Essa proteína pode exercer a função de molécula de adesão celular na mielina do SNC. Não foram descritas mutações envolvendo somente o gene *OMGP*.³

3. Splicing alternativo

A maioria dos genes eucarióticos apresentam íntrons em meio a suas regiões codificadoras, que devem ser removidos em um processo chamado *splicing*, gerando um RNAm maduro que pode ser traduzido em uma proteína funcional.³⁹ Na célula, existem, fisiologicamente, formas alternativas de *splicing*, ou seja, podem ocorrer tanto a remoção de éxons fundamentais para a geração do RNAm maduro, quanto a permanência de íntrons. Esse mecanismo alternativo origina isoformas do produto do gene *NF1*, que consistem em proteínas muito similares entre si, chamadas, em conjunto, de neurofibromina.

Até o presente momento, quatro formas alternativas de *splicing* foram identificadas. A primeira é chamada GRD II no éxon 23a do *NF1-GRD* (*Gap-Related Domain* do gene

NF1), e a segunda 3'ALT no éxon 48a da terminação 3'. A terceira isoforma do transcrito *NF1*, chamada 5'ALT1, situa-se no éxon 9. Recentemente, identificou-se a quarta isoforma, chamada 5'ALT2.³ Adicionalmente, Gutmann *et al.* descreveram uma isoforma específica dos neurônios, contendo o éxon 9a. Essa isoforma encontra-se restrita aos neurônios do cérebro, hipocampo, tálamo e corpo estriado, não se expressando no tronco espinhal, na medula espinhal e cerebelo.⁹

4. Expressão do gene *NF1*

Observa-se que a *NF1* se expressa em muitos tecidos do corpo. As isoformas da neurofibromina provenientes de *splicing* alternativos do gene *NF1* têm sido investigadas para determinar suas expressões nos diferentes tecidos.

A neurofibromina foi detectada no cérebro, no rim, assim como em algumas patologias, incluindo melanoma e neuroblastoma. A expressão desse gene também foi encontrada, através de análise por PCR, em muitas outras células e tecidos humanos, dentre eles fibroblastos da pele, leucócitos, baço, pulmão, músculo, e ainda em biópsias de tímoma, neurofibroma, neurofibrosarcoma de *NF1*, carcinoma de cólon e pulmão.³

Possivelmente, a especificidade tecidual dessa doença reflete uma associação entre a neurofibromina e outras moléculas transdutoras de sinais.³⁸ As células que mais expressam as mutações do gene *NF1* são aparentemente derivadas da crista neural. Os melanócitos, nervos sensoriais periféricos e ossos da face incluem-se nesse paradigma. É provável que a neurofibromina exerça funções biológicas adicionais, ainda não definidas, em diferentes tipos de células.⁷

5. O produto do gene *NFI*: neurofibromina

Células indiferenciadas contêm uma capacidade genética para um rápido crescimento durante o desenvolvimento embrionário, assim como para diferenciação em tecidos específicos. Além dos genes que promovem crescimento e diferenciação, as células também possuem genes que codificam proteínas inibitórias desses processos.³⁸

O gene *NFI* foi caracterizado como codificador de uma proteína análoga à Ras-GAP (proteína de ativação GTPase). Esse produto codificado, a neurofibromina, é um peptídeo intracitoplasmático de 240 kDa^{7, 40, 13, 41} contendo 2818 aminoácidos,³⁸ que estimula a hidrólise intrínseca da GTP (guanosina trifosfato) ligada à proteína Ras. Ras é uma pequena proteína intracelular ligada à membrana interna da célula que, quando ligada à GTP, promove a transdução tanto de sinais de crescimento ao núcleo da célula, quanto de diferenciação. A conversão Ras-GTP normal em Ras-GDP (guanosina difosfato) põe fim à sinalização intracelular da proliferação. Dessa forma, a neurofibromina atua como um regulador negativo da via de transdução de sinal mediada pela Ras. Mutações que levam à inativação do gene *NFI* orienta um aumento de sinalização da Ras para o crescimento celular.^{7, 10, 42}

A neurofibromina, por outro lado, torna-se inativa de uma maneira análoga à família de proteínas GAP, através da fosforilação em resíduos de serina e treonina em resposta ao estímulo de fatores de crescimento. Essa inativação faz parte da via de transdução de sinal que resulta em crescimento celular.³⁸

Um estudo inglês sugere pelo menos três outros possíveis mecanismos de controle do crescimento e diferenciação celulares pela neurofibromina: regulação negativa da região *upstream* do gene *Ras* (seqüências que regulam positivamente o início da transcrição, localizadas a 100 pares de bases à montante do sítio de iniciação), atividade efetora da

região *downstream* do gene *Ras* (seqüências que regulam negativamente a transcrição, situadas próximas à terminação 3') e uma "ponte" entre a tubulina e o gene *Ras*. Esses mecanismos não atuam apenas isoladamente, mas sim, em conjunto em vários tecidos.³

Aparentemente, a neurofibromina apresenta-se localizada próxima aos microtúbulos na maior parte das células, sugerindo que essa proteína está intimamente associada a elementos do citoesqueleto,^{38,9} os quais atuam em muitos aspectos da organização celular.³ Essa possível associação sugere uma outra função dessa proteína.³⁸ A estruturação dos microtúbulos na célula é um mecanismo dependente de GTP. O controle da ligação da tubulina (proteína formadora dos microtúbulos) ao GTP parece análogo ao controle da fosforilação da Ras, já que ambos requerem proteínas com atividade GTPase.³⁸

Poderia-se postular, a partir dessas informações, que a neurofibromina atua como uma proteína GAP nas alterações da citoarquitetura em resposta aos fatores de crescimento.³⁸ Considerando-se que o mecanismo de inativação da proliferação e diferenciação celular exercido pela neurofibromina envolva tanto a proteína Ras, quanto elementos do microtúbulo, uma diminuição dos níveis de neurofibromina poderia resultar em crescimento ou transformação celulares ilimitados.

Além disso, Bollag *et al.* sugerem que a tubulina teria um papel inibidor da ação da enzima GTPase agindo tanto em NF1-GRD, quanto na neurofibromina como um todo. Essa interação entre tubulina e neurofibromina, em alguma função celular, supõe que o produto do gene *NF1* é uma "ponte" entre a tubulina e a proteína Ras.³

Uma função atribuída a apenas 10% de toda a molécula da neurofibromina foi delineada,³⁸ porém ainda são necessários estudos que esclareçam o papel do restante dessa proteína. Esses 10% correspondem a uma região de 360 aminoácidos do produto do gene *NF1* que demonstra homologia ao domínio catalítico da família de proteínas GAP.³ Essas

proteínas, através de sua atividade hidrolítica, convertem a molécula de GTP em GDP. Tal região é referida como domínio relacionado a GAP (NF1-GRD) e está localizada na porção central do gene *NF1*, estendendo-se do éxon 21 ao 27.³ O fato de essa atividade regular negativamente o crescimento celular designa, ao gene *NF1*, a função supressora de tumor.

O modelo de gene supressor de tumor foi, primeiramente, postulado, em meados de 1970, por Alfred Knudson como uma explicação para o Retinoblastoma hereditário. O gene supressor de tumor é definido como um gene normal que regula negativamente o crescimento celular. Quando deletado de forma homozigota, pode contribuir para o desenvolvimento de neoplasias. Os genes supressores de tumor geralmente atuam de maneira recessiva, requerendo a perda de ambos os alelos para a tumorigênese; ao contrário dos protooncogenes, que exercem seus efeitos de forma dominante.^{39, 1}

Apesar do mecanismo mutacional que leva à diminuição dos níveis de neurofibromina parecer estar relacionado unicamente à gênese de tumores em NF1, devido à sua função supressora de tumor, a insuficiência dessa proteína pode estar envolvida na geração das outras manifestações clínicas observadas na síndrome. Essa afirmação baseia-se no fato de que se conhece a função de apenas uma região (NF1-GRD) dessa extensa proteína.

Mutações no gene *NF1* geralmente predizem inativação do seu produto, a neurofibromina, que resulta em células haplo-insuficientes, ou seja, possuem metade da quantidade normal dessa proteína intracelular.⁷

A patogênese da NF1 não é completamente conhecida. O fenótipo do tumor provavelmente surge como uma consequência da regulação anormal da sinalização da Ras; contudo, as outras características da NF1 não são facilmente explicadas pela interação neurofibromina-Ras.⁷

6. Padrão de herança

A neurofibromatose tipo 1 é uma condição autossômica dominante.⁴³ Esse tipo de herança se caracteriza por fatores como: o fenótipo aparece em todas as gerações, e toda pessoa afetada tem um genitor afetado; qualquer filho de genitor afetado tem um risco de 50% de herdar o caráter; familiares fenotipicamente normais não transmitem o fenótipo para seus filhos; homens e mulheres têm a mesma probabilidade de transmitir o fenótipo aos filhos de ambos os sexos, podendo ocorrer transmissão entre indivíduo do sexo masculino, e os homens podem ter filhas não afetadas.⁴⁴

Aproximadamente metade dos indivíduos diagnosticados não possuem história familiar positiva, dado que apóia a observação da alta taxa de mutação do gene *NF1*, conforme descrito anteriormente.

7. Tumorigênese

A partir da observação de modelos de distúrbios autossômicos dominantes que apresentam tumores no seu fenótipo, Knudson propôs que dois eventos mutagênicos distintos estariam envolvidos no desenvolvimento de tais neoplasias. Sua hipótese, conhecida como “a hipótese dos dois eventos”, fundamenta-se na idéia de que aqueles pacientes com forma herdada da doença exibem, inicialmente, em todas as suas células, uma mutação de um gene supressor de tumor, sendo herdada através de células da linha germinativa de um dos pais afetados.¹ Aquelas células que desenvolveram tumores teriam adquirido uma mutação adicional (segundo evento), a qual orientaria à expansão clonal, ou seja, a tumorigênese.^{39, 10}

Knudson sugeriu que o evento mutacional germinativo nas doenças com padrão familiar consiste na inativação de apenas um alelo de um gene supressor de tumor autossômico. Devido ao fato de o outro alelo permanecer ativo, apenas uma redução de 50% na quantidade do produto proteico supressor de tumor seria observada. Logo, a expressividade não se apresentaria tão severa.³⁹

Contudo, naquelas células em que o segundo evento mutacional ocorresse, a produção desse produto seria completamente abolida, e o resultado residiria na ausência da regulação negativa do crescimento celular. Esse modelo postula a hipótese de que, embora a tendência herdada à tumorigênese seja dominante, o mecanismo real do desenvolvimento do tumor é recessivo, pois ambas as cópias do gene supressor de tumor são inativadas. Os casos esporádicos desses distúrbios seriam explicados pela inativação somática de ambos os alelos, sem a presença de uma mutação germinativa de um dos pais do indivíduo afetado.³⁹

Estudos recentes têm demonstrado que o tipo celular defectivo mais freqüentemente encontrado nos neurofibromas são as células de Schwann.¹⁴

As diferenças entre os mecanismos de tumorigênese do neurofibroma cutâneo e do neurofibroma plexiforme ainda são incertas. Entretanto, Cappione *et al.* sugerem que a quantidade de RNAm processado do gene *NF1* poderia determinar o tipo de tumor desenvolvido. Em geral, o neurofibroma cutâneo parece apresentar uma quantidade menor de RNAm, quando comparado ao neurofibroma plexiforme, que exibe uma quantidade intermediária, e ao tumor maligno periférico de bainha nervosa, com uma quantidade maior. Essas diferenças relacionadas ao RNAm poderiam estar associadas à variabilidade de expressão dos tumores em pacientes com NF1.¹⁴

A análise de algumas linhagens celulares de neurofibrossarcoma demonstrou níveis elevados de Ras-GTP e expressão reduzida de neurofibromina possivelmente como resultado de mutações no gene *NF1* dessas células. (Downward J, 1991). Possivelmente, os tumores malignos periféricos de bainha nervosa necessitam de mais de uma alteração genética para o seu desenvolvimento. Alguns estudos postulam que, além da inativação do gene *NF1* no cromossomo 17, cerca de metade dos tumores também apresentam mutações em outro gene supressor de tumor, como o p53. Essa interação genética sugere que múltiplos eventos são necessários para a progressão de neurofibromas benignos em tumores malignos periféricos de bainha nervosa, fato que condiz com a baixa incidência desse tumor maligno na prática clínica.¹⁴

A principal hipótese postulada a respeito da gênese da NF1 afirma que um segundo evento mutacional em um gene supressor de tumor pode ocorrer, como, por exemplo, a perda da heterozigose ou outros tipos de alterações genéticas que inativam o gene. As primeiras mutações somáticas foram detectadas na região NF1-GRD pelo seqüenciamento de DNA.³ Contudo, os mecanismos reais da tumorigênese em que a NF1 está envolvida permanecem desconhecidos. Não há evidências da perda da heterozigose em alguns neurofibromas.

Outros autores sugerem que uma segunda mutação em outro gene pode ser necessária para a gênese de neurofibromas. Apesar da necessidade desse segundo evento mutacional para a geração de tumores, conforme descrito na Hipótese de Knudson, vários estudos não identificaram a inativação bialélica do gene *NF1* nas neoplasias características da NF1.^{17, 8} Um estudo inicial de Coleman *et al.* (1995) detectou a perda da heterozigosidade (LOH) em mais de 36% dos neurofibromas dérmicos analisados em pacientes triados, enquanto Serra *et al.* (1997) demonstraram LOH em apenas 25% de 60 neurofibromas investigados. Em

contraposição, outro estudo de Daschner *et al.* (1997) identificou pouca evidência de LOH presente em toda a extensão do gene *NF1*, com deleção em apenas 2,6% de 38 neurofibromas.¹⁷

A terceira hipótese postula que uma segunda mutação no gene *NF1* pode existir nos neurofibromas, que não é identificada pela perda da heterozigosidade, já que são muito pequenas para serem identificadas pelos métodos disponíveis, podendo representar uma mutação de ponto ou uma pequena deleção ou inserção.³ Considerando-se que a metodologia atual para o rastreamento mutacional seja sensível o suficiente, os resultados citados acima indicariam que a formação dos neurofibromas estaria possivelmente relacionada com outros mecanismos mutacionais do gene *NF1*. Além disso, sugere-se também que outros genes supressores de tumor exibam um papel importante na tumorigênese da NF1.¹⁷

Ademais, alguns estudos demonstraram alterações mutacionais no gene *Ras*. Esse gene foi o primeiro protooncogene identificado no início da década de 80.⁷ Os protooncogenes são definidos como genes celulares normais, responsáveis pela promoção do crescimento celular. Foi observado que esses genes apresentam um potencial para o desenvolvimento de malignidades quando sofrem alterações resultantes de mutações, ou de superexpressão, ou ainda, de sua amplificação. Essa versão alterada recebe o nome de oncogene.³⁹

8. Mutações

O gene *NF1* possui uma das mais altas taxas de mutação espontânea conhecidas no ser humano.⁶

As causas para essa alta taxa mutacional ainda não são conhecidas, embora muitas explicações tenham sido propostas. O amplo tamanho do gene *NF1* pode contribuir para essa alta taxa de mutações. Ademais, seqüências de bases repetidas têm sido associadas com a ocorrência preferencial de inserções e deleções em alguns genes, incluindo o gene *NF1*. Outra hipótese envolve os dinucleotídeos CpG, os quais são freqüentemente encontrados nesse gene. Esses dinucleotídeos metilados comumente apresentam um elevado índice de mutações, devido à tendência de a 5-metilcitosina sofrer desaminação espontânea, transformando-se em timina (mutação puntiforme). A transição que envolve um único dinucleotídeo CpG no éxon 31 é a mutação mais bem relatada no gene *NF1*. Entretanto, apenas uma pequena fração das mutações do gene *NF1* ocorrem nesses dinucleotídeos CpG.^{11, 10} A existência de loci relacionados ao gene *NF1* nos cromossomos 2, 12, 14, 15, 20, 21 e 22 também pode explicar a alta taxa de mutações desse gene, já que essas seqüências, as quais, na maioria dos casos, representam pseudogenes, possuem uma homologia superior a 90% com alguns éxons e íntrons do gene *NF1*, fato que pode estar relacionado à mutagênese desse gene por pareamento desigual na divisão celular.³

Quase todas as mutações do gene *NF1* relatadas resultam em neurofibromatose por direcionar à inativação do gene.¹⁷

Aproximadamente 50% dos casos de *NF1* são resultantes de mutações novas e, destas, 80% são de origem paterna.⁶

Pelo menos 250 diferentes mutações do locus *NF1* foram identificadas até o momento. A maioria das mutações descritas são exclusivas de uma determinada família, sendo que somente algumas mutações foram observadas repetidamente e nenhuma foi encontrada em mais de um pequeno percentual das famílias estudadas. Diferentes mecanismos de mutações foram também observados, dentre eles substituição de

aminoácidos, deleções (que podem comprometer somente poucos pares de bases, múltiplos éxons ou um gene inteiro), inserções, mudanças em íntrons, alterações na região 3' não traduzida do gene, ou até mesmo alterações cromossômicas grosseiras. Cerca de 70% das mutações descritas em pacientes com NF1 parecem causar uma grave truncagem do produto gênico.^{6, 45}

Pacientes com grandes deleções (>700 kb), englobando o gene *NF1* inteiro, apresentam um fenótipo com grave comprometimento cognitivo, alterações faciais e neurofibromas cutâneos, que se desenvolvem antes dos cinco anos de idade (Kayes *et al.*, 1994). Isso sugere que a deleção do gene *NF1* inteiro, incluindo genes contíguos, provoca um fenótipo NF1 mais acentuado.^{6, 46}

Aproximadamente 82% das mutações específicas do gene *NF1* totalmente caracterizadas correspondem a mutações *nonsense* ou *frameshift*. Mutações *nonsense* consistem na substituição única de um par de bases, resultando em um códon de terminação, visto que a alteração na seqüência dos nucleotídeos origina um novo aminoácido. Já as mutações *frameshift* são definidas como aquelas que envolvem uma deleção ou inserção de pares de bases não múltiplos de três, gerando, assim, mudanças na leitura do gene.^{39, 8} Essas mutações presumivelmente resultam na truncagem da proteína codificada. Espera-se que as grandes deleções causem truncagem significativa da neurofibromina ou remoção completa do gene *NF1*. Relatou-se também que mutações introdutórias de um códon de parada inapropriado resultam em níveis indetectáveis de neurofibromina.^{3, 45}

Pontos quentes mutacionais ainda não foram descritos em NF1. A alteração recorrente que ocorre com mais frequência representa uma mutação *nonsense* no éxon 31 (R1947X), responsabilizando-se por 1 a 2% das mutações identificadas no gene *NF1*.¹⁰

Algumas das razões para a baixa taxa de detecção de mutações poderiam ser explicadas devido às alterações moleculares serem muito pequenas, dificultando o seu reconhecimento. Outra hipótese na tentativa de elucidar essa questão consiste no fato de as alterações encontrarem-se possivelmente em regiões ainda não rastreadas. Sugere-se ainda que a sensibilidade das técnicas disponíveis não é suficientemente alta para a análise dessas mutações.¹⁷

9. Mosaicismo

O mosaicismo descreve uma situação em que um indivíduo possui mais de uma linhagem celular distinta, tendo se desenvolvido de um zigoto geneticamente homogêneo. Essa condição é causada em mulheres através do processo de inativação do X (Hipótese de Lyon) e em ambos os sexos por meio de erros mutacionais durante a divisão celular pós-zigótica.¹⁵

Os efeitos clínicos do mosaicismo somático dependem principalmente do momento e do tipo celular em que o erro ocorre. Se a mutação ocorrer no início do desenvolvimento do embrião, o fenótipo será generalizado. Mutações ocorrendo tardiamente poderão originar características clínicas confinadas a uma única região ou órgão.¹⁵

Em termos de diagnóstico, indivíduos mosaicos com doença generalizada não podem ser distinguidos clinicamente de forma confiável daqueles portadores de mutação herdada. Por outro lado, observou-se que indivíduos sem evidências clínicas da doença podem ter filhos com fenótipo completo, indicando envolvimento gonadal (mosaicismo gonadal). Em pacientes com mosaicismo gonadal puro, esse evento encontra-se somente na linhagem germinativa. Esses indivíduos podem ser reconhecidos como portadores de NF1 apenas a

partir da observação de características da síndrome em dois ou mais de seus filhos afetados.¹⁵

Acredita-se que uma proporção significativa de pacientes com NF1 aparentemente causada por mutação nova em todas as células do organismo apresentariam mosaicismos somáticos.¹⁵ A análise do gene *NF1* desses pacientes revelou principalmente a presença de grandes deleções quando se refere à doença generalizada. Entretanto, também se considera a possibilidade de deleções menores causando mosaicismos, que ainda não são facilmente detectadas pelos métodos moleculares usuais.

O mosaicismos localizado (segmentar) muitas vezes é subdiagnosticado. Isso se deve ao fato de que a ausência de sintomas e complicações faz com que esses pacientes não percebam a presença de doença. Em termos clínicos, a região envolvida é variável, sendo, na maior parte das vezes, unilateral. Alguns pacientes podem ter mais de um segmento envolvido em ambos os lados da linha média, tanto simétrica, quanto assimetricamente. As características da doença segmentar, em geral, surgem ao mesmo tempo que no quadro de mosaicismos generalizado.¹⁵

A neurofibromatose segmentar representa um padrão mosaico da NF1, em que apenas expressão localizada das manifestações é observada. Parentes de crianças com NF1 generalizada deveriam ser detalhadamente avaliados para sinais de neurofibromatose segmentar, os quais, quando presentes, poderiam indicar envolvimento potencial da linhagem germinativa e um risco aumentado de recorrência em filhos subsequentes.⁷

10. Relação genótipo-fenótipo

Ainda não há correlação estabelecida entre a região mutada do gene *NF1* e o fenótipo dos pacientes portadores dessa síndrome;^{40, 38} de fato, não se espera uma grande correlação

genótipo-fenótipo, devido à significativa variabilidade clínica observada entre os membros de uma mesma família com NF1.³⁸

Até o presente, não se encontrou uma relação clara entre o tamanho da mutação e as características clínicas apresentadas pelos pacientes portadores dessa síndrome. Grandes mutações deletérias observadas em pacientes com NF1 podem envolver todo gene *NF1*, inclusive os três genes contidos nesse gene (*EVI2A*, *EVI2B* e *OMGP*), assim como regiões adjacentes. Isso sugere que a variabilidade de fenótipos em NF1 pode estar relacionada a outros genes dentro do gene *NF1* ou próximo a ele.³

A observação de pacientes de diferentes famílias pode levar à constatação de que a inativação do gene *NF1* possivelmente não é suficiente por si só para explicar a variabilidade clínica. Tal análise suscita dúvidas quanto à validade da correlação genótipo-fenótipo na NF1.

11. Expressividade

A expressividade variável é uma das características mais marcantes da NF1. Observam-se variabilidade tanto inter, quanto intrafamiliar. Famílias em que indivíduos teoricamente com a mesma mutação no gene *NF1* exibem o espectro completo da síndrome - desde aqueles com um quadro clínico leve até outros com fenótipo severo - ilustram a variabilidade intrafamiliar.

Alguns pesquisadores interpretam essa variabilidade como evidência de que a maioria das complicações em NF1 resultam dos efeitos de eventos randômicos adicionais particulares de cada paciente. (Riccardi, 1993) Evidências que dão consistência a essa hipótese residem na ocorrência do segundo evento mutacional adquirido, gerando a perda da heterozigidade do locus NF1 em neurofibromas benignos e tumores malignos em

pacientes com essa síndrome. (Legius *et al.*, 1993; Colman *et al.*, 1995; Sawada *et al.*, 1996; Shen *et al.*, 1996) Ademais, a análise estatística das características clínicas em séries de famílias com NF1 sugere que fatores epistáticos, isto é, outros genes, além do próprio gene *NF1*, podem influenciar o fenótipo desses indivíduos. (Easton *et al.*, 1993)

O mosaicismismo somático também pode ser um fator responsável para essa variabilidade, já que esse mecanismo gera desde fenótipos leves, até quadros clínicos mais severos. Ademais, sugere-se que fatores ambientais, tais como traumas mecânicos, uso de contraceptivos hormonais orais e gravidez, podem desencadear algumas manifestações, porém as evidências são escassas.^{13, 10}

Parece provável, dessa forma, que a variabilidade clínica observada na NF1 resulta de uma combinação de fatores genéticos, não-genéticos e estocásticos (ao acaso). Tal complexidade continuará a tornar a correlação genótipo-fenótipo difícil nesta doença.⁴⁷

Indivíduos com manifestações da NF1 limitados a uma ou mais áreas do corpo são frequentemente designados como portadores de neurofibromatose segmentar.¹³ Esses pacientes podem representar casos de mosaicismismo, ou ainda exibir um quadro clínico condizente com doença localizada derivada de uma alteração genética presente em todas as suas células.

Alguns pacientes com NF1 segmentar apresentam apenas manchas café-com-leite localizadas. Além disso, a maioria possui uma distribuição segmentar dos neurofibromas dérmicos. Entretanto, as manifestações internas da NF1 são incomuns em tais pacientes. A maior parte desses casos são esporádicos, porém foram relatados cinco pacientes com distribuição segmentar de NF1 que tiveram filhos com NF1 clássica (generalizada).¹³ Esses casos poderiam ser explicados pelo fato de o pai ser portador de mosaicismismo somático e germinativo, gerando filhos com mutação herdada.

MANEJO

Atualmente, não existe cura para a NF1, porém existem medidas paliativas que melhoram as perspectivas de vida útil dos indivíduos afetados pelo distúrbio.⁶

Não há tratamento disponível para prevenir ou reverter as manifestações características da NF1. Contudo, o manejo proposto é focalizado no aconselhamento genético e na detecção precoce das complicações tratáveis. Drogas terapêuticas direcionadas para a regulação positiva da atividade GAP da neurofibromina ou para a regulação negativa da atividade do gene *Ras* poderiam ser úteis no controle do crescimento de neurofibromas.

O aconselhamento antecipado na neurofibromatose tipo 1 se faz importante por um número de razões. Indivíduos com NF1 deveriam ser colocados em programas multidisciplinares para o seguimento e a avaliação de manifestações relacionadas que não se mostram evidentes dentro do quadro clínico inicial do paciente. Da mesma forma, os benefícios desse aconselhamento precoce também se relacionam a manifestações que não estão incluídas nos critérios diagnósticos.^{7,34}

1. Crescimento

Atualmente, não há tratamento comprovado para baixa estatura na NF1. Trabalhos testando a terapêutica com hormônio do crescimento ainda não foram realizados. Com relação à puberdade precoce e à alta estatura, o tratamento com análogos do fator de liberação do hormônio luteinizante pode ser efetivo.⁷

2. Desenvolvimento e Comportamento

Quanto ao tratamento desses distúrbios, é essencial que se estabeleça primeiramente um ambiente educacional de desenvolvimento estruturado para um bom acompanhamento e estímulo à realização de tarefas apropriadas para crianças com NF1. Medicação para o controle de impulsividade, distração e alterações do humor não é contra-indicada nas crianças portadoras da doença. Atualmente, considera-se que as estratégias de tratamento sejam as mesmas utilizadas em indivíduos da população em geral com problemas similares.⁷

O estudo de Huson *et al.*, em Gales (1989), mostrou que 24% das crianças e adolescentes com NF1 necessitaram de serviços especiais de educação. Outros estudos citam dados que variam de 20 a 40%. Para melhorar a integração do paciente no meio sócio-familiar, dando uma melhor perspectiva de vida, é importante considerar a psicoterapia como parte do tratamento da neurofibromatose. A psicoterapia costuma restaurar e construir o equilíbrio emocional desses pacientes.⁶

3. Manchas café-com-leite

Na remoção dessas manchas, tem sido utilizado o laser, mas, nessa circunstância, é um procedimento doloroso, podendo ter como seqüela uma cicatriz. Existem, todavia, cosméticos muito úteis para a camuflagem dessas lesões.⁶

4. Tumores

A principal terapia usada em neurofibromas é a cirúrgica. Existe distinção entre indicação absoluta e relativa para o tratamento cirúrgico dos neurofibromas cutâneos. São indicações absolutas os tumores malignos, as grandes lesões ulceradas e os neurofibromas localizados, por exemplo, na mucosa da laringe, trazendo dificuldades respiratórias. A indicação relativa recairia sobre os neurofibromas limitados a pequenas regiões, tais como face, ou que tragam maior desconforto para o paciente. Em casos com ampla distribuição de lesões, a remoção torna-se difícil.⁶

Os neurofibromas dérmicos devem ser ressecados, com uma excisão profunda, apenas se forem sintomáticos; já nos neurofibromas plexiformes, a excisão cirúrgica está indicada quando forem sintomáticos e quando houver um consenso sobre a transformação maligna do tumor.⁷ Alguns estudos retrospectivos têm indicado que pode haver a recorrência de neurofibromas plexiformes após a cirurgia em cerca de 50% dos casos.⁶ A embolização por injeção arterial é, algumas vezes, eficaz em diminuir a vascularização. Existem estudos experimentais para o tratamento de neurofibroma plexiforme com quimioterapia. Interferon, ácido retinóico e carboplatina têm sido usados com mínima eficácia. Contudo, outros agentes estão em desenvolvimento; eles constituem componentes com função de antiangiogênese para diminuir a neovascularização em tumores grandes, porém benignos.⁷

A angiogênese é um processo necessário para o crescimento do tumor sólido. Sua inibição tem sido estudada através do produto TNP470, um derivado do *Aspergillus fungus*. Um outro novo inibidor da angiogênese, SU-5416, levou a uma regressão tumoral de sarcomas neurogênicos e provenientes de pacientes com NF1 em fase pré-clínica.⁶

O laser CO₂ está sendo utilizado para a remoção de neurofibromas presentes em grande número, porém não se tem referência sobre sua eficácia a longo prazo. A cirurgia a laser para remoção de neurofibromas pode ser menos dolorosa que a cirurgia convencional.⁶

Duas novas substâncias merecem especial destaque: os inibidores da tirosina quinase, cuja principal ação consiste no bloqueio de estímulos de crescimento enviados aos receptores do fator de crescimento tumoral, e os inibidores da farnesiltransferase, que apresentam a vantagem de bloquear os sinais através dos receptores da via da Ras, cessando o envio de estímulos de crescimento para a célula.⁶

A proteína Ras é normalmente encontrada no citoplasma, mas associa-se à membrana celular após a adição de um grupo lipídico farnesil (farnesilação). Uma vez associada à membrana, a Ras participa de eventos que culminam em transformação maligna. Terapias mais efetivas poderiam envolver drogas que inibem a farnesil-transferase (adição do grupo farnesil à proteína Ras) ao invés da lovastatina e da compactina, que bloqueiam a síntese de farnesil. Demonstrou-se que drogas inibidoras da farnesilação também inibem os efeitos mitogênicos de fatores de crescimento e propriedades tumorigênicas de células do neuroblastoma.³⁸

Nos casos de tumores malignos da bainha de nervos periféricos, a avaliação patológica do tecido excisado orienta o tratamento. A presença de câncer conduz os

médicos ao planejamento da ressecção cirúrgica e a presença de benignidade presume que a excisão pode ser feita com margens tumorais estreitas.⁷

As alternativas extra-cirúrgicas para o tratamento de tumores são limitadas até o momento. Não existem estudos que sugiram a eficácia da radiação ou quimioterapia no tratamento de neurofibromas plexiformes.⁶

Alguns autores acreditam que crianças com NF1, tratadas com radiação ou quimioterapia podem ter um risco mais alto de desenvolver tumores secundários. Portanto, a decisão de tratar tumores de nervo periférico de baixo grau ou neurofibromas com outras modalidades não-cirúrgicas deve ser aderida.⁷

Novos tratamentos estão em fase de avaliação e poderão representar opções futuras. Essas terapêuticas estão direcionadas aos mecanismos fisiológicos e à patogênese do desenvolvimento dos neurofibromas. Essas alternativas atualmente consistem em:

- Imunológicas: anticorpos monoclonais dirigidos contra receptores dos fatores de crescimento tumoral;
- Vacinas: empregando células tumorais geneticamente modificadas ou células imuno-estimulantes;
- Anticorpos carreadores com radioisótopos ou toxinas no sítio neoplásico em combinação com quimioterapia.⁶

Existem projetos de pesquisa em curso com medicamentos para o tratamento do neurofibroma plexiforme e de gliomas ópticos, cujas lesões são progressivas, em crianças e adultos com NF1, tais como: ácido 13-*cis*-retinóico (isotretinoína), interferon alfa-2, cetotifeno, inibidores e bloqueadores da proteína Ras e etoposide.⁶

Com relação aos pacientes com mosaïcismo localizado, não existe manejo específico padronizado. O risco exato não pode ser definido, porém parece proporcional à porcentagem de área corporal envolvida.¹⁵

A cura definitiva de uma doença herdada pode ser a terapia gênica. Essa terapia para a NF1 não é facilmente realizável devido a várias razões. Primeiramente, doenças autossômicas dominantes requerem correção do alelo *NF1* mutante para o sucesso da terapia gênica. Ademais, a NF1 frequentemente compromete múltiplos tecidos com alta variação. Por fim, tem-se encontrado dificuldades na obtenção de um modelo animal satisfatório de NF1, embora vários modelos em diferentes espécies têm sido relatados.³

Possivelmente, uma cópia normal do *NF1* poderia ser introduzida em tecidos tumorais-alvo na tentativa de alcançar um tratamento eficaz. Essas neoplasias incluem tumores malignos associados à NF1 e malignidades esporádicas não relacionadas a essa síndrome. A partir dessa possibilidade, sugere-se que a NF1-GRD poderia indicar uma cura potencial para cânceres humanos causados por mutações no gene *Ras*.

A NF1 representa um dos distúrbios genéticos mais importantes no contexto de supervisão de saúde e orientação antecipatória de distúrbios principalmente da faixa etária pediátrica. A conduta a ser seguida deve sempre incluir:

1. História do paciente e dos familiares, com atenção especial para a presença de características da NF1;
2. Exame clínico com destaque para a pele, esqueleto e sistema neurológico;
3. Avaliação oftalmológica com exame de lâmpada de fenda;
4. Avaliação do desenvolvimento neuromotor em crianças;

5. Outros estudos devem ter prosseguimento quando indicados e com base na clínica (sinais e sintomas).^{6, 48}

A rotina de acompanhamento dos pacientes deve incluir:

1. Consulta anual do paciente acompanhado de um familiar;
2. Exame oftalmológico (anualmente, na infância, e menos freqüentemente nos adultos);
3. Avaliação do desenvolvimento na infância;
4. Monitorização regular da pressão arterial;
5. Outros estudos devem prosseguir somente quando indicados com base na clínica (sinais e sintomas).^{6, 48}

PROGNÓSTICO

Os indivíduos portadores de NF1 em geral apresentam expectativa de vida normal, atividades acadêmicas e profissionais produtivas, além de vida afetiva regular, não apresentando problemas relacionados à NF1. Essa expectativa de vida pode diminuir, caso estejam presentes alguns agravantes, como malignidade decorrente de neurofibromas ou hipertensão arterial. Tudo indica que, quanto mais precoces e graves forem as manifestações, menores serão as chances de sobrevida do paciente, além de o prognóstico depender da localização dos tumores. Quando são intracranianos ou intra-raquídeos, por exemplo, o prognóstico é mais grave.⁶

Algumas complicações consideradas como sendo de gravidade em NF1 podem surgir muito cedo, como seria o caso de deformidade da órbita associada a neurofibroma plexiforme e arqueamento da tíbia. Contudo, muitos problemas não são reconhecidos imediatamente após o nascimento, podendo se agravar com o desenvolvimento. Se esses sinais não estiverem presentes nos primeiros anos de vida, é muito improvável que venham a ocorrer.⁶

As causas comumente associadas ao óbito desses pacientes - câncer, infarto do miocárdio, acidente cerebrovascular e pneumonia - são similares às da população em geral, porém ocorrem precocemente nos indivíduos portadores da síndrome.¹¹

1. Câncer

Em relação aos gliomas de baixo grau do Sistema Nervoso Central, o prognóstico é bom. Em geral, esses gliomas em indivíduos com NF1 tendem a crescer mais lentamente do que tumores similares de indivíduos sem a síndrome. As equipes neurocirúrgicas, preferivelmente, tendem a acompanhar os indivíduos assintomáticos com NF1 ao invés de recomendar a intervenção cirúrgica.⁷

Os tumores malignos de baixo grau da bainha de nervos periféricos têm um prognóstico relativamente bom, que se torna ainda melhor se as margens cirúrgicas são claras de malignidade. Por outro lado, os tumores malignos de alto grau da bainha de nervos periféricos exibem um pobre prognóstico. Indivíduos com Leucemia Mielóide Juvenil Crônica também têm um pobre prognóstico.

O risco para malignidades secundárias naqueles pacientes tratados com radiação e/ou quimioterapia (especialmente, agentes alquilantes) pode ser mais alto na população com NF1; portanto, a vigilância a longo prazo está indicada.⁷

ACONSELHAMENTO GENÉTICO

O aconselhamento genético consiste no processo de oferecer, a indivíduos e famílias, informações a respeito da natureza, herança e complicações de doenças genéticas, no intuito de auxiliá-los com decisões pessoais e médicas.⁴⁷

A NF1, quando herdada, segue o padrão de uma doença autossômica dominante.⁴⁷ Dessa forma, o risco de acometimento de cada filho é de 50%, independentemente do sexo da criança, assim como do número de irmãos afetados. É importante considerar esse padrão no momento da investigação de uma criança com NF1, no intuito de aconselhar os pais. Se realmente se tratar de uma mutação herdada, uma próxima gestação teria grande risco de recorrência da síndrome. Entretanto, em casos de mutação nova, o risco não é o maior do que a população geral.

Em 50% dos casos sem história familiar, o exame físico da pele e dos olhos dos pais é importante, assim como as crianças portadoras de NF1 com pais que exibem neurofibromatose segmentar ou nódulos de Lisch apenas. Esses pais presumivelmente representam mosaicos gonadais.

Cerca de 50% dos indivíduos portadores de NF1 decorrem de mutação nova esporádica. Se nenhum dos pais de um indivíduo com NF1 possui critérios que determinem o diagnóstico dessa síndrome, o risco dos irmãos desse indivíduo afetado de possuir NF1 é baixo, exceto em casos de mosaïcismo germinativo, quando uma pessoa aparentemente normal possui filhos com o quadro clássico da doença. (Lazaro *et al.*, 1995)

CONCLUSÃO

A Neurofibromatose tipo 1 representa uma entidade clínica complexa que exige envolvimento multidisciplinar ao longo de sua história natural.

O isolamento do gene *NF1* tem avançado o entendimento dos aspectos moleculares da doença e da função do gene. Aplicações recentes de algumas técnicas com alta sensibilidade, tais como o PTT, mostraram-se altamente eficientes na detecção de mutações do gene *NF1*. A utilização dessas técnicas é essencial para a pesquisa futura de mutações no gene, especialmente em regiões ainda não examinadas, incluindo elementos essenciais na expressão gênica.³

As funções dos três genes contidos no gene *NF1* (*EVI2A*, *EVI2B* e *OMGP*) e suas relações com esse gene permanecem desconhecidas; dessa forma, a análise mutacional desses genes também incita interesse médico.³

Estudos detalhados a respeito da interação da neurofibromina, gene *Ras*, tubulina, fatores de crescimento ou outras proteínas são essenciais para elucidação da função gênica. A aquisição futura sobre a função do gene pode também encaminhar o desenvolvimento de uma nova terapêutica para a NF1.

Os resultados potenciais de novos tratamentos medicamentosos para a NF1 são promissores. As variações de comportamento dos tumores dificultam as avaliações objetivas e uma interpretação mais apropriada. Os estudos da evolução natural da NF1, também em curso no Brasil, deverão suprir consideravelmente as futuras interpretações dos estudos clínicos terapêuticos, assim como o desenvolvimento molecular permitirá novas aplicações de tratamento na neurofibromatose.⁶

ANEXOS

Tabela 2 – Manifestações da NF1 e Frequências Disponíveis (Modificada de Riccardi, 1992, Huson e Hugues, 1994; Friedman e Birch, 1997)

	<i>Cutâneas</i>
Múltiplas manchas café-com-leite	
Efélides	
Neurofibromas dérmicos	
Xantogranumolas	
Hemangiomas	
	<i>Oftalmológicas</i>
Tumor da via óptica	
Nódulos de Lisch	
Glaucoma (raro)	
	<i>Músculo-Esqueléticas</i>
Displasia da asa do esfenóide (5-10%)	
Encurvamento de ossos longos (2-5%)	
Esvolto (20-30%)	
Baixa estatura (25-35%)	
Macrocefalia relativa	
	<i>Cardiovasculares</i>
Hipertensão arterial sistêmica (2-5%)	
Defeitos cardíacos congênitos (2%)	
	<i>Neurológicas</i>
Hidrocefalia (5%)	
Convulsões (6-7%)	
Dificuldades de aprendizado (40-60%)	
Perda da acuidade auditiva sensorial (5%)	
Puberdade precoce (2-5%)	
	<i>Tumores</i>
Neurofibromas plexiformes (25%)	
Tumores malignos da bainha de nervos periféricos (2-5%)	
Gliomas do SNC (2%)	
Focromocitoma, Rabdomioma, Neuroblastoma (todos raros)	
Leucemia mielóide (rara)	

Quadro 1 - Comparação entre as principais características da NF1 E NF2

	NF1	NF2
<i>Frequência</i>	1/3.000	1/40.000
<i>Herança</i>	Autossômica dominante	Autossômica dominante
<i>Localização no cromossomo</i>	17	22
<i>Pele</i>	Manchas café-com-leite, efélides e neurofibromas	Rara mancha café-com-leite e neurofibromas
<i>Tumores</i>	Neurofibromas, glioma óptico e gliomas	Neuromas acústicos, schwannomas, meningiomas
<i>Olhos</i>	Nódulos de Lisch	Opacidade subcapsular posterior do cristalino
<i>Alterações cognitivas</i>	Distúrbio de aprendizado	Nenhuma

Tabela 3 – Resumo dos tipos de mutação do gene *NF1**

Tipo de mutação	Nº de casos
Anormalidades cromossômicas	4
Deleção completa do gene	18
Deleção de vários éxons	38
Pequenas deleções	55
Grandes inserções	3
Pequenas inserções	27
Mutações geradoras de códon de parada	43
Substituições de aminoácidos	29
Mutações em íntrons	25
Mutação na região 3' não transcrita	4
Total	246

* Relatado ao *NF1 Genetic Analysis Consortium* (<http://www.nf.org/nf1gene/>) em Fevereiro de 1999

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Huson SM, Rosser EM. Phakomatoses. In: Rimoin DL, Cannon JM, Pyeritz RE. Principle and practice of medical genetics, vol III, 3th ed., Churchill Livingstone, 1997.
2. Korf BR. Neurocutaneous syndromes: neurofibromatosis 1, neurofibromatosis 2, and tuberous sclerosis. *Curr Opin Neurol* **10**:131-136, 1997.
3. Shen MH, Harper PS. Molecular genetics of neurofibromatosis type 1. *J Med Genet* **33**:2-17, 1996.
4. Viskochil, D. Neurofibromatosis 1. *Am J Med Genet* **89**: iv, 1999
5. Carey JC. Neurofibromatosis-Noonan syndrome. *Am J Med Genet* **75**:263-264, 1998.
6. Geller M, Bonalumi Filho A. Neurofibromatose. In: Carakushansky G. Doenças genéticas em pediatria. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2001.
7. Viskochil D. Neurofibromatosis type 1. In: Cassidy SB, Allanson JE. Management of genetic syndromes. New York, Wiley-Liss, 2001.
8. Eisenbarth I, Beyer K, Krone W *et al.* Toward a survey of somatic mutation of NF1 gene in benign neurofibromas of patient with NF1. *Am J Hum Genet* **66**:393-401, 2000.
9. Gutmann DH. Recent insights into neurofibromatosis 1. *Arch Neurol* **55**:131-134, 1998
10. Rasmussen AS, Friedman JM. *NF1* gene and Neurofibromatosis 1. *Am J Epidemiol* **151**: 33-40, 2000.

11. Friedman JM. Epidemiology of Neurofibromatosis type 1. *Am J Med Genet* **89**: 1-6, 1999
12. Karnes, PS. Neurofibromatosis: A common neurocutaneous disorder. *Mayo Clin Proc* **73**:1071-1076, 1998.
13. Carey JC, Viskochil DH. Neurofibromatosis type 1: A model condition for the study of the molecular basis of variable expressivity in human disorders. *Am J Med Genet* **89**:7-13, 1999.
14. Reed N, Gutmann DH. Tumorigenesis in neurofibromatosis: new insights and potential therapies. *Trends in Molecular Medicine* **7**: 157-162, 2001
15. Ruggieri M, Huson SM. The clinical and diagnostic implications of mosaicism in the neurofibromatosis. *Neurology* **56**:1433-1443, 2001.
16. Walther MM, Herring J, Enquist E. von Recklinghausen's disease and pheochromocytomas. *J Urol* **162**:1582-1586, 1999.
17. Jonh AM, Ruggieri M, Ferner R *et al.* A search for evidence of somatic mutations in the *NF1* gene. *J Med Genet* **37**:44-49, 2000.
18. North KN. Clinical aspects of neurofibromatosis 1. *Eur J Pediatr Neurol* **2**:223-231, 1998.
19. North KN, Riccard V, Sprouse CS *et al.* Cognitive function and academic performance in NF1: consensus statement from the NF1 cognitive disorders task force. *Neurology* **48**:1121-1127, 1997.
20. Ozonoff S. Cognitive impairment in neurofibromatosis 1. *Am J Med Genet* **89**:45-52, 1999.
21. Hasle H, Nir M, Tommerup N. Prolonged extreme thrombocytosis associated with neurofibromatosis type 1. *J Pediatr* **130**:317-9, 1997.
22. Kingston H *et al.* A clinical study of type 1 neurofibromatosis in northwest England. *J Med Genet* **36**:197-203, 1999
23. Chung AK, Michels V, Poland GA *et al.* Neurofibromatosis with involvement of the prostate gland. *Urology* **47**:448-451, 1996.
24. <http://www.nfinc.org/text/martuza.html>.
25. Kataria B, Bhatnagar V, Gupta SD *et al.* Mesenteric neurofibroma in von Recklinghausen's disease. *J Pediatr* **32**:128-129, 1997.

26. Woodruff JM. Pathology of tumors of the peripheral nerve sheath in type 1 neurofibromatosis. *Am J Med Genet* **89**:23-30, 1999.
27. Korf BR. Plexiform neurofibromas. *Am J Med Genet* **89**:31-37,1999
28. Singh AD, Wang MX, Donoso LA et al. Genetic aspects of uveal melanoma: a brief review. *Sem Oncol* **23**:768-72, 1996.
29. Pollack IF, Shultz BS, Mulvihill JJ. The management of brainstem gliomas in patients with neurofibromatosis 1. *Neurology* **46**:1652-59, 1996.
30. Korf BR. Ophthalmological tissues in the neurofibromatosis. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* **33**:255-259, 1996.
31. Listernick R, Charrow J, Gutmann D H. Intracranial gliomas in neurofibromatosis type 1. *Am J Med Genet* **89**:38-44, 1999.
32. <http://www.nfinc.org/text/adamson.html>.
33. Tóth T, Trinn C, Simon L et al. A case of membranous glomerulonephritis associated with Recklinghausen´s neurofibromatosis. *Clin Nephrol* **45**:271-2, 1996.
34. Gutmann DH, Aylsworth A, Carey J. The diagnostic evaluation and multidisciplinary management of neurofibromatosis 1 and neurofibromatosis 2. *Jama* **278**:A1, 1997
35. <http://www.nfinc.org/text/learn.html>.
36. Yagle MK, Parruti G, Xu W *et al* .Genetic and phisical map of the von Recklinghausen neurofibromatosis (NF1) region on chromosome 17. *Proc Natl Acad Sci* **18**:7255-7259, 1990.
37. Mott PA. Genética Humana: Aplicada à psicologia, nutrição, enfermagem e fonoaudiologia. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1998.
38. Gutmann DH, Collins FS. Recent progress toward understanding the molecular biologic of von Recklinghausen neurofibromatosis. *Ann Neurol* **31**:A5, 1992.
39. Gelehrter TD, Collins FS, Ginsburg D. Principles of Medical Genetics, 1^a ed., Baltimore, Williams and Wilkins, 1998.
40. Maccollin M, Kwiatkowski D. Molecular genetic aspects of phakomatosis tuberous sclerosis and NF1. *Curr Opin Neurol* **14**:163-169, 2001.
41. Guttmann DH, Wood DL, Collins FS. Identification of neurofibromatosis type 1 gene product. *Proc Natl Acad Sci* **21**:9658-9662, 1991.

42. Nakafuku M, Nagamine M, Ohtoshi A et al. Suppression of oncogenic *Ras* by mutant neurofibromatosis type 1 gene with single amino acid substitutions. *Proc Natl Acad Sci* **14**: 6706-6710, 1993.
43. Osborn M, Cooper DN, Upadhyaya M. Molecular analysis of the 5'-flanking region of the neurofibromatosis type 1 (*NF1*) gene: identification of five sequence variants. *Munksgaard International Publishers Ltd.* **57**: 221-224, 2000.
44. Thompson WM., Mcinnes RR., Willard HF. *Genética Clínica*. 5ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1993.
45. Hoffmeyer S *et al.* Nearby stop codons in exons of the neurofibromatosis type 1 gene are disparate splice effectors. *Am J Hum Genet* **62**: 269-277, 1998.
46. Menon AG, Anderson KM, Riccardi VM et al. Chromosome 17p deletions and p53 gene mutations associated with the formation of malignant neurofibrosarcoma in von Recklinghausen neurofibromatosis. *Proc Natl Acad Sci* **14**: 5435-5439, 1990
47. <http://www.geneclinics.org>
48. Fortman BF, Kuszyk BS, Urban BA *et al.* Neurofibromatosis type 1: a diagnostic mimicker at CT. *Radiographics* **21**:601-612 2001.