

Genética da neurofibromatose tipo 1

Karin Soares Gonçalves Cunha¹

Mauro Geller²

Rodrigo Soares de Moura Neto³

Vânia Silami Lopes⁴

Resumo

A Neurofibromatose tipo 1 (NF1), também conhecida como Doença de *von Recklinghausen*, é a forma mais freqüente da Neurofibromatose, correspondendo a 90% de todos os casos. A presença de múltiplos neurofibromas constitui uma das principais manifestações clínicas da NF1. Outras características clínicas freqüentemente observadas na NF1 são: manchas café-com-leite, efélides inguinais e axilares e nódulos de Lisch. A NF1 é uma doença autossômica dominante, completamente penetrante e com marcante variabilidade, mesmo nos casos intrafamiliares. A complexidade e a diversidade das mutações do gene NF1 fazem as correlações genótipo-fenótipo muito difíceis. Embora várias mutações diferentes já tenham sido relatadas, ainda são limitadas as informações sobre a correlação genótipo-fenótipo nos pacientes com NF1. Até o momento, a única correlação genótipo-fenótipo que está bem estabelecida e já foi relatada em vários estudos é a associação de grandes deleções (~1,5 mb), envolvendo o gene NF1 e o DNA circunvizinho, que levam a um fenótipo mais grave. O objetivo deste trabalho é fazer uma revisão da literatura sobre o conhecimento atual das alterações genéticas na NF1.

Palavras-chave: Doença de von Recklinghausen; Neurofibromatose tipo 1 - Genética; Gene NF1.

INTRODUÇÃO

Neurofibromatose (NF) é um termo utilizado para um grupo de doenças genéticas que afetam primariamente o desenvolvimento celular dos tecidos neurais (NEUROFIBROMATOSIS, 1988). Muitas classificações foram propostas para a NF, mas duas formas clínicas distintas são aceitas e bem definidas: a Neurofibromatose tipo 1 (NF1) e a Neurofibromatose tipo 2 (NF2). Essas duas formas de NF apresentam poucas característi-

cas clínicas em comum e, inclusive, são causadas por mutações em genes distintos. (FRIEDMAN et al., 1999)

A NF1, também conhecida mundialmente como Doença de von Recklinghausen, é a forma clássica e mais comum da NF, correspondendo a 90% de todos os casos (FRIEDMAN et al., 1999). Essa forma de NF é considerada uma das doenças genéticas mais comuns na espécie humana, apresentando uma

¹ Doutoranda em Patologia; Universidade Federal Fluminense

² Pós-doutorado; Harvard University.

³ Pós-doutorado; Fox Chase Cancer Center.

⁴ Doutora em Anatomia Patológica e Patologia Clínica; Universidade Federal Fluminense

Correspondência para / Correspondence to:

Rua Buarque de Macedo, 51/202

Flamengo - Rio de Janeiro - RJ

22220-030. 22220-030.

Tel: (21) 9941-2294; 2557-5115.

E-mail: karingoncalves@terra.com.br

prevalência de um caso a cada 3.000 nascimentos (HUSON; COMPSTON; HARPER, 1989). A NF1 é uma doença autossômica dominante, causada por mutações no gene localizado no cromossomo 17q11.2, conhecido como gene NF1 (CAWTHON et al., 1990; VISKOCHIL et al., 1990; WALLACE et al., 1990).

A NF1 é uma síndrome complexa, caracterizada por uma miríade de alterações que afetam praticamente todos os sistemas orgânicos. Múltiplos neurofibromas, nódulos de *Lisch*, manchas café-com-leite e efélides inguinais e axilares se desenvolvem na maioria dos indivíduos (PARK; PIVNICK, 1998; FRIEDMAN et al., 1999). Outras importantes manifestações clínicas incluem dificuldades de aprendizado, gliomas do nervo óptico, lesões ósseas específicas, além de risco aumentado para o desenvolvimento de neoplasias malignas, principalmente os tumores malignos da bainha do nervo periférico (TMBNP) (FRIEDMAN et al., 1999).

A NF1 é completamente penetrante e apresenta expressividade extremamente variável, mesmo nos casos intrafamiliares (FRIEDMAN et al., 1999; RASMUSSEN; FRIEDMAN, 2000; ARS et al., 2000; HEIM et al., 1995). Em qualquer pessoa com NF1, a doença é progressiva com o passar do tempo, tornando-se mais evidente e mais severa com relação aos tipos, tamanho e número das lesões (FRIEDMAN et al., 1999).

O objetivo deste trabalho é fazer uma revisão da literatura sobre o conhecimento atual das alterações genéticas na neurofibromatose tipo 1.

REVISÃO DA LITERATURA

Identificação e estrutura do gene NF1

O gene NF1 foi primeiramente isolado por clonagem posicional. O mapa de exclusão inicial sugeriu que o gene se localizava possivelmente no cromossomo 5 ou 17 (SARFARAZI; HUSON; EDWARDS, 1987).

Em 1987, Barker e colaboradores estabeleceram uma ligação significativa do gene

NF1 com os marcadores derivados do cromossomo 17, especialmente os marcadores centroméricos p3.6 (D17Z1) e pA10.41 (D17S71). Alterações citogenéticas de duas famílias independentes promoveram a primeira evidência de que o gene NF1 estaria localizado no braço longo do cromossomo 17 (SCHMIDT; MICHELS; DEWALD, 1987; LEDBETER et al., 1989). Em 1993, a seqüência inteira do gene foi identificada (VISKOCHIL; WHITE; CAWTHON, 1993).

O gene NF1 é complexo, contém 60 exons e se estende por aproximadamente 350 kb no DNA genômico (KLOSE et al., 1998; CICHOWSKI et al., 1999; FAHSOLD et al., 2000; OGUZKAN et al., 2003; JOHNSON et al., 2000). Esse gene apresenta um quadro aberto de leitura de 8.454 nucleotídeos e é transcrito no sentido centrômero-telômero. Dois terços dos exons estão *in-frame* e existem três exons que sofrem *splicing* alternativo: 9a, 23a e 48a (FRIEDMAN et al., 1999). O códon de parada do gene NF1 localiza-se no exon 49, o qual também inclui uma região 3' não traduzida (3'UTR) de aproximadamente 3,5 kb. (LI et al., 1995). (Figura 1)

Dentro do intron 27b do gene NF1, encontram-se três genes, denominados OMGP, EVI2A e EVI2B. Esses genes são transcritos em sentido oposto ao do gene NF1, e cada um contém dois exons (O'CONNELL et al., 1990; CAWTHON et al., 1990, 1991).

O gene OMGP produz uma proteína que recebe seu nome (*OMGP - oligodendrocyte myelin glycoprotein*). A OMGP é uma glicoproteína de membrana que aparece no sistema nervoso central (SNC) humano durante a mielinização. Já foi observado que a OMGP é um potente inibidor do supercrescimento do neurito, que age se ligando ao receptor Nogo, uma proteína associada à mielina (WANG et al., 2002). O significado biológico dos outros dois genes, EVI2A e EVI2B, ainda permanece desconhecido.

Inúmeros loci homólogos ao gene NF1 estão espalhados no genoma humano, e já foram mapeados nos cromossomos 2, 12, 14, 15, 18, 21 e 22 (LUIJTEN et al., 2000).

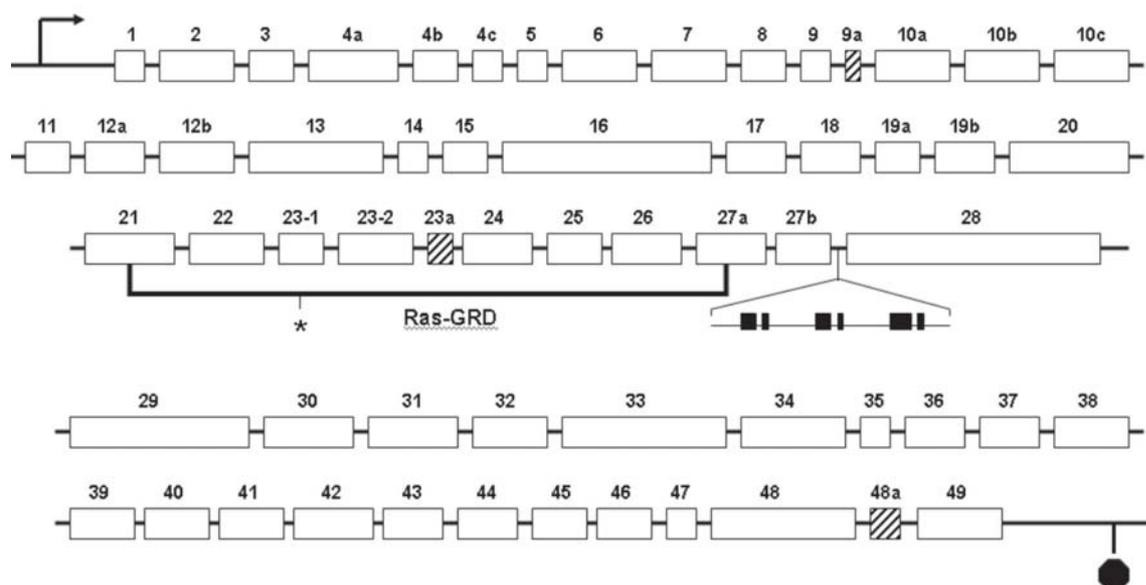


Figura 1- Desenho esquemático dos exons do gene NF1 e genes embebidos.

Notas: Adaptado de FRIEDMAN et al., 1999. Os introns não estão mostrados na escala; o sítio do início da transcrição está indicado pela seta próxima ao exon 1; o sítio de término da transcrição está indicado por um octógono. O domínio relacionado à GAP (Ras-GRD) está indicado nos exons 21 a 27a. As formas com *splicing* alternativo são inserções *in-frame* dos exons 9a, 23a e 48a e estão hachurados; os genes embebidos estão em negrito no intron 27b e são transcritos em direção oposta (telômero-centrômero); o asterisco no exon 23-1 representa o sítio de processamento do RNAm.

Neurofibromina: o produto do gene NF1

O gene NF1 codifica vários RNAm de tamanhos entre 11 e 13 kb, que são expressos em neurônios, oligodendrócitos e células de Schwann não mielinizadas (MATTOCKS et al., 2004). O transcrito mais comum apresenta 13kb e codifica uma proteína de 2.818 aminoácidos, chamada neurofibromina (SHEN; HARPER; UPADHYAYA, 1996; GUTMANN et al., 1997; MATTOCKS et al., 2004).

A única região da neurofibromina que apresenta uma função bem definida e conhecida é codificada na porção central do gene NF1, nos exons 21-27, e apresenta 360 aminoácidos (SHEN; HARPER; UPADHYAYA, 1996). Essa região é homóloga ao domínio catalítico da proteína ativadora da GTPase (GAP) e é conhecida como domínio relacionado à GAP (GRD – **GAP Related Domain**) (SHEN; HARPER; UPADHYAYA, 1996; ARS et al., 2000).

Ambas, a proteína GAP e a neurofibromina, estão relacionadas com a regulação da atividade da proteína Ras e são essenciais para o controle do crescimento celu-

lar (SHEN; HARPER; UPADHYAYA, 1996; SUZUKI et al., 1998; ARS et al., 2000). A Ras é uma proteína que liga guanosina trifosfato (GTP) e está envolvida na via de transdução de sinal. A função da neurofibromina, assim como é a função da proteína GAP, é interagir com Ras ligada ao GTP, participando, assim, na hidrólise de GTP em guanosina difosfato (GDP), com a subsequente inativação da proteína Ras (FRIEDMAN et al., 1999).

Quando as mutações ocorrem no gene NF1, a neurofibromina defeituosa não pode mais inativar a proteína Ras, resultando em níveis aumentados de Ras ligada ao GTP e uma alteração nos sinais que controlam o crescimento e a multiplicação celular. As mutações no gene NF1 levam, então, a um crescimento celular desordenado e formação tumoral (KLOSE et al., 1998).

Ainda se especula se a neurofibromina tem outras funções. Acredita-se que a perda de diferentes funções da neurofibromina poderia explicar as muitas e variadas manifestações clínicas da NF1 (KLOSE et al., 1998).

Mutações do gene NF1

A NF1 é causada por uma grande variedade de mutações que afetam o gene NF1. A taxa de mutação espontânea é uma das mais altas conhecidas para genes humanos, alcançando cerca de 1/10.000 por geração. Sendo assim, somente 50% dos indivíduos com NF1 apresentam história familiar da doença. Os outros 50% dos casos representam novas mutações (FRIEDMAN, et al., 1999). Deve ser considerado, no entanto, que pacientes com NF1, que aparentemente representam nova mutação, podem ter herdado um alelo mutante de pai ou mãe aparentemente saudável, mas que seria mosaico para as mutações do gene NF1 (UPADHYAYA et al., 1998).

A ocorrência de mutações no gene NF1 é maior do que a observada na maioria dos outros genes, em função do seu grande tamanho, presença de seqüências intragênicas repetidas e a possível ocorrência de conversão gênica

interlocus de vários pseudogenes NF1 (OGUZKAN et al., 2003).

As mutações do gene NF1 estão dispersas ao longo das 350kb de DNA genômico e existem poucas mutações recorrentes (PARK; PIVNICK, 1998; MATTOCKS et al., 2004). Até o momento, já foram identificadas 71.845 mutações no gene NF1 (THE HUMAN..., [2007]). (Tabela 1)

Diferentes mecanismos de mutações já foram observados, incluindo substituição de nucleotídeos, deleções (que podem comprometer somente poucos pares de bases, múltiplos exons ou um gene inteiro), inserções ou, até mesmo, alterações cromossômicas grosseiras (Tabela 1).

Como o GRD é a única região da neurofibromina com uma função bem definida, muita atenção tem se concentrado nessa área. Já foi relatado que o GRD representa um *hot spot* para as mutações do gene NF1, consistente com sua importante função (UPADHYAYA et al., 1997). No entanto, em um estudo recente, o GRD não se mostrou um *hot spot* significativo, com somente 22% das mutações ocorrendo nesse local. (MATTOCKS et al., 2004).

Um provável segundo *hot spot* mutacional, em um possível domínio funcional, foi descrito entre os exons 11 e 17 (FAHSOLD et al., 2000).

Mais de 70% das mutações do gene NF1 em células germinativas são intragênicas, e uma consequência comum dessas mutações é a introdução de um códon de terminação prematuro, levando à tradução de uma proteína com um tamanho menor do que o esperado, ou seja, uma proteína neurofibromina truncada (SHEN; HARPER; UPADHYAYA, 1996; PARK; PIVNICK, 1998; VENTURIN et al., 2004).

Em um estudo realizado por Ars e colaboradores (2000), foi observada uma alta frequência de erros de *splicing*. Neste estudo, 50% dos pacientes com NF1 (n=80) em que as mutações foram identificadas apresentaram erros de *splicing*

Tabela 1- Tipos de mutações no gene NF1

Tipos de mutações encontradas	Número encontrado
Substituições de nucleotídeos (de sentido trocado e sem sentido)	40.872
Erros de splicing	6.984
Regulatória	1.045
Pequenas deleções	11.695
Pequenas inserções	4.723
Pequenas indels	1.056
Grandes deleções	4.090
Grandes inserções e duplicações	743
Rearranjos complexos (incluindo inversões)	549
Variações repetidas	178
TOTAL	71.845

Fonte: THE HUMAN Gene Mutation Database, [2007]

Grandes deleções, incluindo todo o gene NF1 e genes contíguos, estão presentes em 5-10% dos pacientes com NF1 (LOPEZ CORREA et al., 2000). Conhecida como síndrome da microdeleção, essa condição é geralmente caracterizada por um fenótipo mais severo (LEPPIG et al., 1997; RIVA et al., 1996; UPADHYAYA et al., 1998; LOPEZ CORREA et al., 1999; RIVA et al., 2000). Cerca de 80% das microdeleções são de aproximadamente 1,5Mb de tamanho, e os pontos de quebra ocorrem em seqüências parálogas repetitivas que flanqueiam o gene NF1. Essas seqüências são chamadas NF1-REP-P (proximal) e NF1-REF-M (medial) e apresentam um tamanho de cerca de 85 kb. Foi proposto que o alto grau de homologia entre o NF1-REP-P e o NF1-REF-M facilita a recombinação homóloga durante a meiose ou mitose, resultando em deleções das seqüências entre o NF1-REP-P e o NF1-REF-M (DORSCHNER et al., 2000).

A maioria das microdeleções que ocorrem *de novo* acontece no alelo de origem materna (LAZARO et al., 1996; UPADHYAYA et al., 1998; LOPEZ CORREA, 2000). Foi sugerido que a alta taxa de recombinação que ocorre durante a meiose possa ser responsável pela alta incidência de grandes deleções que envolvem o gene NF1 nos alelos derivados da mãe (UPADHYAYA et al., 1998).

Por outro lado, estudos de análise de ligação têm mostrado que mais de 80% das mutações responsáveis por casos familiares de NF1 são de origem paterna e, tipicamente, encontram-se associadas a quadros menos graves, decorrendo geralmente de mutações que comprometem segmentos diminutos de DNA (JADAYEL et al., 1990; LAZARO et al., 1996; STEPHENS et al., 1992). A diferença sexual quanto à origem dessas mutações é explicada pelo fato de existir um grande número de divisões celulares envolvidas na espermatogênese (cerca de 400 em um homem de 30 anos), mas não na ovogênese (cerca de 30 em toda a vida da mulher); e é justamente por ocasião da duplicação do DNA que uma mutação qualquer tem maior chance de ocorrer (UPADHYAYA et al., 1998).

Análise mutacional do gene NF1

Devido ao grande tamanho do gene, à presença de pseudogenes homólogos espalhados no genoma e à falta de *hot spots* mutacionais, a identificação das mutações do gene NF1 é difícil, trabalhosa e complexa (OSBORN; UPADHYAYA, 1999; ARS et al., 2000; FAHSOLD et al., 2000; MESSIAEN et al., 2000; MATTOCKS et al., 2004).

Depois do isolamento do gene NF1, em 1990, vários estudos já foram publicados, que utilizam as mais diversas técnicas moleculares (teste da proteína truncada – PTT; gel de eletroforese com gradiente de temperatura – TGGE; análise conformacional de polimorfismo de fita simples – SSCP – do cDNA; seqüenciamento genômico direto; análise de microssatélites; FISH; Southern Blot etc.), tentando identificar as mutações nos pacientes com NF1 (UPADHYAYA et al., 1992; AINSWORTH; RODENHISER; COSTA, 1993; HATTA; HORIUCHI; FUJITA, 1994; UPADHYAYA et al., 1997; HORN et al., 1996; MAYNARD; KRAWCZAK; UPADHYAYA, 1997; PARK; PIVNICK, 1998; OSBORN; UPADHYAYA, 1999; ARS et al., 2000; FAHSOLD et al., 2000; MESSIAEN et al., 2000; TOLIAT et al., 2000; ARS et al., 2003; LIU et al., 2003; ORIGONE et al., 2003; DE LUCA et al., 2004; MATTOCKS et al., 2004). No entanto, até o momento, nenhum dos protocolos utilizados para detecção das mutações do gene NF1 foi capaz de identificar mutações em todos os indivíduos estudados.

Devido ao seu grande tamanho, os estudos iniciais das mutações do gene NF1 tenderam a se deter no estudo de uma única porção do gene por vez, ao invés de estudar toda a região codificadora (UPADHYAYA et al., 1992; AINSWORTH; RODENHISER; COSTA, 1993; SHEN; HARPER; UPADHYAYA, 1996; HATTA; HORIUCHI; FUJITA, 1994). Como as mutações que causam a NF1 se encontram espalhadas por todo o gene, esses estudos detectaram mutações em uma proporção relativamente pequena dos indivíduos estudados.

Com a utilização de técnicas moleculares mais sensíveis, estudos mais recentes têm identificado um maior número de mutações no gene NF1 nos indivíduos estudados. O grande número de exons, juntamente com a ocorrência de alta porcentagem de mutações truncadas do gene NF1, permite a análise mutacional com a utilização da técnica da RT-PCR, combinada com o teste da proteína truncada (PTT – *Protein Truncation Test*) (OSBORN; UPADHYAYA, 1999). Essa combinação permite a detecção da maioria das mutações, o que ajudou a definir o espectro mutacional do gene NF1 (OSBORN; UPADHYAYA, 1999).

O PTT é um dos mais efetivos métodos para a análise mutacional do gene NF1 já descritos até o momento. Esse teste permite que toda a região codificadora do gene NF1 seja estudada de uma única vez (HEIM et al., 1995). O PTT é uma técnica utilizada para detectar mutações no nível protéico, em vez da detecção no nível de DNA, que é o mais utilizado nos demais métodos de análise mutacional. O PTT é usado para identificar proteínas truncadas produzidas *in vitro* e originadas a partir de alelos mutantes que possuem certas mutações causadoras da doença (HEIM et al., 1995).

No estudo realizado por Messiaen e colaboradores (2000), foi possível detectar cerca de 80% das mutações patogênicas, utilizando-se o PTT isoladamente. No entanto, uma porcentagem menor de mutações foi detectada em outros estudos (OSBORN; UPADHYAYA, 1999; WIMMER et al., 2000).

Até o momento, o estudo que identificou o maior número de mutações em pacientes com NF1 foi realizado por Messiaen e colaboradores (2000). Esse estudo consistiu em uma análise mutacional exaustiva, que utilizou um protocolo com diversas técnicas moleculares, conseguindo identificar 95% das mutações em 67 pacientes com NF1. Esse protocolo começa com a utilização do PTT. Se for identificada a proteína truncada, a mutação é identificada a partir do DNA genômico, através do seqüenciamento das regiões relevantes do gene NF1. Se nenhuma mutação for identificada com o PTT, o protocolo continua com os seguintes

métodos: análise de heteroduplex, análise citogenética, FISH e Southern Blot.

Mattocks e colaboradores (2004), em um estudo com 91 pacientes, que utilizaram o seqüenciamento automático direto de toda a região codificadora do gene NF1, incluindo todos os exons e seqüências intrônicas adjacentes, puderam identificar mutações em 89% dos pacientes com NF1 (n=91). Esse estudo conseguiu identificar o maior número de mutações utilizando uma única técnica molecular. No entanto, essa técnica não consegue identificar grandes deleções que podem acometer todo o gene NF1. Nos casos em que o seqüenciamento não for informativo, a adição da genotipagem com múltiplos marcadores microssatélites e FISH presumivelmente poderia identificar uma frequência de mutações similar àquela obtida no protocolo utilizado no trabalho de Messiaen e colaboradores (2000).

Grandes deleções do gene NF1 ocorrem em cerca de 5 a 10% dos pacientes. A maioria dos estudos que identificaram esse tipo de mutação utilizou a análise de FISH para detectar a perda de heterozigiosidade (LEPPIG et al., 1996; JENNE et al., 2001; VENTURIN et al., 2004).

Em um estudo com 500 pacientes não aparentados com NF1, a deleção do gene NF1 pôde ser identificada em 4,4% dos casos. Nesse estudo, foram utilizados seis marcadores microssatélites intragênicos e um distal. Subseqüentemente, as deleções foram confirmadas com FISH (KLUWE et al., 2004).

Correlação entre genótipo e fenótipo

A complexidade e a diversidade das mutações do gene NF1 fazem as correlações entre genótipo e fenótipo muito difíceis (FRIEDMAN et al., 1999). Embora várias mutações diferentes já tenham sido relatadas, ainda são limitadas as informações sobre a correlação entre genótipo e fenótipo nos pacientes com NF1 (CASTLE et al., 2003).

Até o momento, a única correlação entre genótipo e fenótipo que está bem estabelecida e já foi relatada em vários estudos é a associação de grandes deleções (~1,5 mb), que envolvem o gene NF1 e o DNA circunvizinho e levam a

um fenótipo mais grave, incluindo comprometimento cognitivo severo, dismorfismo facial e neurofibromas que se desenvolvem antes dos cinco anos de idade (ARS et al., 2000; LAZARO et al., 1996; LEPPIG et al., 1996; RIVA et al., 1996, 2000; UPADHYAYA et al., 1998). É possível que grandes deleções do gene NF1 estejam associadas a um fenótipo mais grave, devido à deleção desse gene juntamente com os genes EVI2A, EVI2B e OMGP, que se localizam no intron 27b, ou ainda ocorra pela deleção dos genes adjacentes ao locus NF1 (UPADHYAYA et al., 1998).

Aplicabilidade da análise mutacional do gene NF1

O diagnóstico da NF1 é atualmente baseado em critérios clínicos recomendados pelo NIH (U.S. *National Institutes of Health*), em uma conferência realizada em 1987 (Quadro 1). Como o diagnóstico da NF1, seguindo os critérios do NIH, é facilmente estabelecido em indivíduos afetados acima de seis anos de idade, a necessidade da análise mutacional do gene NF1 é limitada a certas circunstâncias.

Os indivíduos que preenchem os critérios clínicos da NF1 são diagnosticados com confiança. Porém, quando somente um dos critérios está presente, o diagnóstico da doença não pode ser estabelecido nem descartado (HEIM et al., 1995). De particular interesse será o uso da análise mutacional do gene NF1 em indiví-

duos com características isoladas da síndrome, que não preenchem todos os requisitos necessários para o diagnóstico clínico conforme os critérios do NIH, já que alguns dos quais podem apresentar mutações no gene NF1 (HEIM et al., 1995).

Outra situação em que o teste laboratorial pode ser considerado é em crianças com risco de apresentar a síndrome antes de se poder estabelecer o diagnóstico clínico. A criança pode estar sob risco por causa da história familiar, ou por apresentar algumas características (tipicamente manchas café-com-leite), mas não apresenta ainda manifestações suficientes para se estabelecer o diagnóstico (RASMUSSEN; FRIEDMAN, 2000). Os testes laboratoriais positivos ou negativos poderiam estabelecer ou pôr à parte o diagnóstico da NF1 nesses pacientes, efetivamente estabelecendo ou eliminando a necessidade do acompanhamento apropriado (HEIM et al., 1995)

Uma outra aplicação da análise mutacional do gene NF1 é no diagnóstico pré-natal, quando um dos pais é afetado pela NF1. A análise mutacional pode ser realizada a partir de amostras do líquido amniótico, ou a partir das vilosidades coriônicas (RASMUSSEN; FRIEDMAN, 2000). No entanto, a severidade da condição não pode ser prevista somente pela presença ou ausência das mutações no gene NF1, pois ainda pouco se conhece sobre a correlação genótipo-fenótipo.

<p>O paciente deve apresentar dois ou mais dos seguintes critérios:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Seis ou mais manchas café-com-leite: <ul style="list-style-type: none"> • 0,5 cm em indivíduos pré-púberes • > 1,5 cm em indivíduos pós-púberes ▪ Dois ou mais neurofibromas de qualquer tipo ou um ou mais neurofibroma plexiforme ▪ Efélides em região axilar ou região inguinal (Sinal de Crowe) ▪ Glioma ótico ▪ Dois ou mais nódulos de Lisch (hamartomas de íris) ▪ Displasia de osso esfenóide ou adelgaçamento da corical de ossos longos (com ou sem pseudo-artrose) ▪ Um parente de primeiro grau com NF1.
--

Quadro 1 - Critérios Diagnósticos da NF1 estabelecidos pelo *National Institutes of Health* (NIH)

Fonte: GUTMANN et al., 1997.

CONCLUSÃO

Novos estudos na área da genética e a disponibilidade de testes moleculares mais eficazes na identificação das mutações do gene NF1 certamente trarão resultados importantes e um futuro promissor para os pacientes com NF1 e seus familiares. O entendimento da correlação entre genótipo e fenótipo na NF1 com certeza trará benefícios para o aconselhamento genético dos pacientes, irá colaborar com o diagnóstico clínico da doença, principalmente dos casos com características incomuns ou com poucas manifestações, e permitirá um diagnóstico pré-natal seguro.

Genetics of neurofibromatosis type 1

Abstract

Neurofibromatosis type 1 (NF1), also known as von Recklinghausen's disease, is the most common form of Neurofibromatosis and account for 90% of all cases. The presence of multiple neurofibromas is one of the main clinical manifestations of NF1. Other clinical characteristics include: café au lait spots, inguinal and axillary ephelides and Lisch nodules. NF1 is an autosomal dominant disorder with a complete penetrance and extreme clinical variability, even in intrafamilial cases. The gene complexity and the diversity of mutations in NF1 gene make the genotype-phenotype correlations very difficult. Although many different mutations have been described, information about genotype-phenotype correlations are still limited. Until now, the only well established genotype-phenotype correlation, reported in many studies, is the association of large deletions (~1.5 mb), involving NF1 gene and contiguous DNA, leading to a more severe phenotype. The aim of this study is to review the literature about the current knowledge of genetic alterations in NF1.

Keywords: Von Recklinghausen's disease; Neurofibromatosis type 1- Genetics; NF1 gene

REFERÊNCIAS

- AINSWORTH, P.J.; RODENHISER, D.I.; COSTA, M.T. Identification and characterization of sporadic and inherited mutations in exon 31 of the neurofibromatosis (NF1) gene. *Hum. Genet.*, Berlin, v.91, n.2, p.151-156, Mar. 1993.
- ARS, E. et al. Mutations affecting mRNA splicing are the most common molecular defects in patients with neurofibromatosis type 1. *Hum. Mol. Genet.*, Oxford, v.9, n.2, p.237-247, Jan. 2000.
- ARS, E. et al. Recurrent mutations in the NF1 gene are common among neurofibromatosis type 1 patients. *J. Med. Genet.*, London, v.40, n.6, p.e82, June 2003.
- BARKER, D. et al. Gene for von Recklinghausen neurofibromatosis is in the pericentromeric region of chromosome 17. *Science*, Washington, DC, v.236, n.4805, p.1100-1102, May 1987.
- BERTOLLO, E.M.G.; BERTELLI, E.C.P. Base genética da neurofibromatose. In: GELLER, M.; BONALUMI FILHO, A. *Neurofibromatose*. clínica, genética e terapêutica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.77-89.
- CASTLE, B. et al. Evaluation of genotype-phenotype correlations in neurofibromatosis type 1. *J. Med. Genet.*, London, v.40, n.10, p.e109, Oct. 2003.
- CAWTHON, R.M. et al. cDNA sequence and genomic structure of EV12B, a gene lying within an intron of the neurofibromatosis type 1 gene. *Genomics*, San Diego, v.9, n.3, p.446-460, Mar. 1991.
- CAWTHON, R.M. et al. Identification and characterization of transcripts from the neurofibromatosis 1 region: the sequence and genomic structure of EVI2 and mapping of other transcripts. *Genomics*, San Diego, v.7, n.4, p.555-565, Aug. 1990.
- CICHOWSKI, K. et al. Mouse models of tumor development in neurofibromatosis type 1. *Science*, Washington, DC, v.286, n.5447, p.2172-2175, Dec. 1999.
- DE LUCA, A. et al. Novel and recurrent mutations in the NF1 gene in Italian patients with neurofibromatosis type 1. *Hum. Mutat.*, New York, v.23, n.6, p.629, June 2004.
- DORSCHNER, M.O. et al. NF1 microdeletion breakpoints are clustered at

- flanking repetitive sequences. *Hum. Mol. Genet.*, Oxford, v.9, n.1, p.35-46, Jan. 2000.
- FAHSOLD, R. et al. Minor lesion mutational spectrum of the entire NF1 gene does not explain its high mutability but points to a functional domain upstream of the GAP-related domain. *Am. J. Hum. Genet.*, Chicago, v.66, n.3, p.790-818, Mar. 2000. FRIEDMAN, J. Met al. (Ed.) *Neurofibromatosis*: phenotype, natural history and pathogenesis. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1999.
- GUTMANN, D.H. et al. The diagnostic evaluation and multidisciplinary management of neurofibromatosis 1 and neurofibromatosis 2. *JAMA*, Chicago, v.278, n.1, p.51-77, July 1997.
- HATTA, N.; HORIUCHI, T.; FUJITA, S. Analysis of NF1 gene mutations in neurofibromatosis type 1 patients in Japan. *Biochem Biophys Res Commun*, San Diego, v.199, n.1, p.207-212, Feb. 1994.
- HEIM, R.A. et al. Distribution of 13 truncating mutations in the neurofibromatosis 1 gene. *Hum. Mol. Genet.*, Oxford, v.4, n.6, p.975-981, June 1995.
- HORN, D. et al. Three novel mutations of the NF1 gene detected by temperature gradient gel electrophoresis of exons 5 and 8. *Electrophoresis*, Weinheim, v.17, n.10, p.1559-1563, Oct. 1996.
- THE HUMAN Gene Mutation Database. [2007]. Disponível em: <<http://uwcmml1s.uwcm.ac.uk/uwcm/mg/search/120231.html>> Acesso em: set. 2007.
- HUSON, S.M.; COMPSTON, D.A.; HARPER, P.S. A genetic study of von Recklinghausen neurofibromatosis in South East Wales. II. Guidelines for genetic counselling. *J. Med. Genet.*, London, v.26, n.11, p.712-721, Nov. 1989.
- JADAYEL, D. et al. Paternal origin of new mutations in von Recklinghausen neurofibromatosis. *Nature*, London, v.343, n.6258, p.558-559, Feb. 1990.
- JENNE, D.E. et al. Molecular characterization and gene content of breakpoint boundaries in patients with neurofibromatosis type 1 with 17q11.2 microdeletions. *Am. J. Hum. Genet.*, Chicago, v.69, n.3, p.516-527, Sept. 2001.
- JOHNSON, M.R. et al. Detailed analysis of the oligodendrocyte myelin glycoprotein gene in four patients with neurofibromatosis 1 and primary progressive multiple sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.*, London, v.68, n.5, p.643-656, May 2000.
- KAYES, L.M. et al. Deletions spanning the neurofibromatosis 1 gene: identification and phenotype of five patients. *Am. J. Hum. Genet.*, Chicago, v.54, n.3, p.4242-4436, Mar. 1994.
- KLOSE, A. et al. Selective disactivation of neurofibromin GAP activity in neurofibromatosis type 1 (NF1). *Hum. Mol. Genet.*, Oxford, v.7, n.8, p.1261-1268, Aug. 1998.
- KLUWE, L. et al. Screening 500 unselected neurofibromatosis 1 patients for deletions of the NF1 gene. *Hum. Mut.*, New York, v.23, n.2, p.111-116, Feb. 2004.
- LAZARO, C. et al. Sex differences in mutational rate and mutational mechanism in the NF1 gene in neurofibromatosis type 1 patients. *Hum. Genet.*, Berlin, v.98, n.6, p.696-699, Dec. 1996.
- LEDBETTER, D.H. et al. Precise localization of NF1 to 17q11.2 by balanced translocation. *Am. J. Hum. Genet.*, Chicago, v.44, n.1, p.20-24, Jan. 1989.
- LEPPIG, K.A. et al. The detection of contiguous gene deletions at the neurofibromatosis locus with fluorescence in situ hybridization. *Cytogenet. Cell Genet.*, Basel, v.72, n.1, p.95-98, 1996.
- EPPIG, K.A. et al. Familial neurofibromatosis 1 microdeletions: cosegregation with distinct facial phenotype and early onset of cutaneous neurofibromata. *Am. J. Med. Genet.*, New York, v.73, n.2, p.197-204, Dec. 1997.
- LI, Y. et al. Genomic organization of the neurofibromatosis 1 gene (NF1). *Genomics*, San Diego, v.25, n.1, p.9-18, Jan. 1995.

- LIU, M.T. et al. Novel mutations involving the NF1 gene coding sequence in neurofibromatosis type 1 patients from Taiwan. *J. Hum. Genet.*, Tokyo, v.48, n.10, p.545-549, Sept. 2003.
- LOPEZ CORREA, C. et al. Molecular studies in 20 submicroscopic neurofibromatosis type 1 gene deletions. *Hum. Mutat.*, New York, v.14, n.5, p.387-393, 1999.
- LOPEZ CORREA, C. et al. Unequal meiotic crossover: a frequent cause of NF1 microdeletions. *Am. J. Hum. Genet.*, Chicago, v.66, n.6, p.1969-1974, June 2000.
- LUIJTEN, M. et al. Microsatellite instability and promoter methylation as possible causes of NF1 gene inactivation in neurofibromas. *Eur. J. Hum. Genet.*, London, v.8, n.12, p.939-945, Dec. 2000.
- MATTOCKS, C. et al. Automated comparative sequence analysis identifies mutations in 89% of NF1 patients and confirms a mutation cluster in exons 11-17 distinct from the GAP related domain. *J. Med. Genet.*, London, v.41, n.4, p.e48, Apr. 2004.
- MAYNARD, J.; KRAWCZAK, M.; UPADHYAYA, M. Characterization and significance of nine novel mutations in exon 16 of the neurofibromatosis type 1 (NF1) gene. *Hum. Genet.*, Berlin, v.99, n.5, p.674-676, May 1997.
- MESSIAEN, L.M. et al. Exhaustive mutation analysis of the NF1 gene allows identification of 95% of mutations and reveals a high frequency of unusual splicing defects. *Hum. Mutat.*, New York, v.15, n.6, p.541-555, 2000.
- NEUROFIBROMATOSIS: Conference statement: National Institutes of Health Consensus Development Conference. *Arch. Neurol.*, Chicago, v.45, n.5, p.575-578, May 1988.
- O'CONNELL, P. et al. The human homolog of murine Evi-2 lies between two von Recklinghausen neurofibromatosis translocations. *Genomics*, San Diego, v.7, n.4, p.547-554, Aug. 1990.
- OGUZKAN, S. et al. Molecular analysis of neurofibromatosis type 1 in Turkish families using polymorphic markers. *Turk. J. Pediatr.*, Ankara, v.5, n.3, p.192-197, Sept. 2003.
- ORIGONE, P. et al. Neurofibromatosis type 1 (NF1): identification of eight unreported mutations in NF1 gene in Italian patients. *Hum. Mutat.*, New York, v.22, n.2, p.179-180, Aug. 2003.
- OSBORN, M.J.; UPADHYAYA, M. Evaluation of the protein truncation test and mutation detection in the NF1 gene: mutational analysis of 15 known and 40 unknown mutations. *Hum. Genet.*, Berlin, v.105, n.4, p.327-332, Oct. 1999.
- PARK, V.M.; PIVNICK, E.K. Neurofibromatosis type 1 (NF1): a protein truncation assay yielding identification of mutations in 73% of patients. *J. Med. Genet.*, London, v.35, n.10, p.813-820, Oct. 1998.
- RASMUSSEN, S.A.; FRIEDMAN, J.M. NF1 gene and neurofibromatosis type 1. *Am. J. Epidemiol.*, Cary, v.151, n.1, p.33-40, Jan. 2000.
- RIVA, P. et al. Characterization of a cytogenetic 17q11.2 deletion in an NF1 patient with a contiguous gene syndrome. *Hum. Genet.*, Berlin, v.98, n.6, p.646-650, 1996.
- RIVA, P. NF1 microdeletion syndrome: refined FISH characterization of sporadic and familial deletions with locus-specific probes. *Am. J. Hum. Genet.*, Chicago, v.66, n.1, p.100-109, Jan. 2000.
- SARFARAZI, M.; HUSON, S.M.; EDWARDS, J.H. An exclusion map for von Recklinghausen neurofibromatosis. *J. Med. Genet.*, London, v.24, n.9, p.515-520, 1987.
- SCHMIDT, M.; MICHELS, V.; DEWALD, G. Cases of neurofibromatosis with rearrangements of chromosome 17 involving band 17q11.1. *Am. J. Med. Genet.*, Hoboken, v.28, p.771-777, 1987.
- SHEN, H.S.; HARPER, P.S.; UPADHYAYA, M. Molecular genetics of neurofibromatosis

- type 1 (NF1). *J. Med. Genet.*, London, v.33, n.1, p.2-17, Jan. 1996.
- STEPHENS, K. et al. Preferential mutation of the neurofibromatosis type 1 gene in paternally derived chromosomes. *Hum. Genet.*, Berlin, v.88, n.3, p.279-282, Jan. 1992.
- SUZUKI, H. Role of neurofibromin in modulation of expression of tyrosinase-related protein 2 gene. *J. Biochem.*, Tokyo, v.124, n.5, p.992-998, Nov. 1998.
- TOLIAT, M.R. et al. Analysis of the NF1 gene by temperature gradient gel electrophoresis reveals a high incidence of mutations in exon 4b. *Electrophoresis*, Weinheim, v.21, n.3, p.541-544, Feb. 2000.
- UPADHYAYA, M. et al. Analysis of mutations at the neurofibromatosis 1 (NF1) locus. *Hum. Mol. Genet.*, Oxford, v.1, n.9, p.735-740, Dec. 1992.
- UPADHYAYA, M. et al. Gross deletions of the neurofibromatosis type 1 (NF1) gene are predominantly of maternal origin and commonly associated with a learning disability, dysmorphic features and developmental delay. *Hum. Genet.*, Berlin, v.102, n.5, p.591-597, May 1998.
- UPADHYAYA, M. et al. Mutational and functional analysis of the neurofibromatosis type 1 (NF1) gene. *Hum. Genet.*, Berlin, v.99, n.1, p.88-92, Jan. 1997.
- VENTURIN, M. et al. Evidence for non-homologous end joining and non-allelic homologous recombination in atypical NF1 microdeletions. *Hum. Genet.*, Berlin, v.115, n.1, p.69-80, Jun 2004.
- VISKOCHIL, D. et al. Deletions and a translocation interrupt a cloned gene at the neurofibromatosis type 1 locus. *Cell*, Cambridge, UK, v.62, n.1, p.187-192, July 1990.
- VISKOCHIL, D. et al. The gene encoding the oligodendrocyte-myelin glycoprotein is embedded within the neurofibromatosis type 1 gene. *Mol. Cell Biol.*, Washington, DC, v.11, n.2, p.906-912, Feb. 1991.
- VISKOCHIL, D.; WHITE, R.; CAWTHON, R. The neurofibromatosis type 1 gene. *Annu. Rev. Neurosci.*, Palo Alto, v.16, p.183-205, 1993.
- WALLACE, M.R. et al. Type 1 neurofibromatosis gene: identification of a large transcript disrupted in three NF1 patients. *Science*, Washington, DC, v.249, n.4965, p.181-186, July 1990.
- WANG, K.C. et al. Oligodendrocyte-myelin glycoprotein is a Nogo receptor ligand that inhibits neurite outgrowth. *Nature*, London, v.417, n.6892, p.941-944, June 2002.
- WIMMER, K. et al. Three different premature stop codons lead to skipping of exon 7 in neurofibromatosis type I patients. *Hum. Mutat.*, New York, v.16, n.1, p.90-91 July 2000.

Recebido em / **Received:** 03/10/2007
 Aceito em / **Accepted:** 27/11/2007