



**RENORBIO**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**Caracterização molecular do gene *VHL* associado à Síndrome von Hippel  
Lindau em uma família afrodescendente com hemangioblastoma de  
sistema nervoso central no Estado do Maranhão**

**PATRÍCIA RIBEIRO AZEVEDO**

**São Luís - MA**

**2013**

**PATRÍCIA RIBEIRO AZEVEDO**

**Caracterização molecular do gene *VHL* associado à Síndrome von Hippel  
Lindau em uma família afrodescendente com hemangioblastoma de  
sistema nervoso central no Estado do Maranhão**

Tese apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Biotecnologia como parte  
dos requisitos para obtenção do título de  
Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Emygdia Rosa  
do Rêgo Barros Pires Leal Mesquita

São Luís - MA

2013

Patrícia Ribeiro Azevedo

**Caracterização molecular do gene *VHL* associado à Síndrome von Hippel  
Lindau em uma família afrodescendente com hemangioblastoma de  
sistema nervoso central no Estado do Maranhão**

A Comissão julgadora da defesa do Trabalho Final de Doutorado em  
Biotecnologia, em sessão pública realizada no dia 24/06/2013, considerou a aluna Patrícia  
Ribeiro Azevedo

APROVADA

REPROVADA

1) Examinador \_\_\_\_\_

2) Examinador \_\_\_\_\_

3) Examinador \_\_\_\_\_

4) Examinador \_\_\_\_\_

5) Examinador \_\_\_\_\_

À minha família que na labuta do dia-a-dia mostra ser mais audaz que os obstáculos, servindo de referencial às minhas atuais e futuras conquistas.

Aos estudantes e profissionais de Enfermagem, nós precisamos ousar!

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, irmãos, sobrinhos e Mário Pinheiro de Araújo Filho que sempre apostaram nos meus sonhos e vibraram comigo pela concretização de cada um deles.

A Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO pela oportunidade da realização do Curso de Doutorado, em especial ao Ponto Focal – Maranhão pela disponibilidade e apoio durante todo período de acompanhamento.

A Professora Dra. Emygdia Rosa do Rêgo Barros Pires Leal Mesquita por me guiar em uma nova trajetória acadêmica e por acreditar no meu projeto conduzindo-me carinhosamente na minha orientação desde o mestrado.

Ao Departamento de Enfermagem da Universidade Federal do Maranhão – UFMA pelo apoio, compreensão e afastamentos especialmente aos professores da disciplina Saúde do Adulto, Andrea Cristina Oliveira Silva, Elza Lima da Silva, Poliana Pereira Costa Rabêlo, Rosilda Silva Dias e Santana de Maria Alves de Sousa.

A “família LEGH” Laboratório de Estudos Genômicos e de Histocompatibilidade, pelo carinho com que todos me receberam no desenvolvimento do meu estudo. Em especial a Amanda Ferreira Vidal pelo companheirismo e pela paciência nesses anos de trabalho.

Aos profissionais da área de saúde Jorge Meireles, Manuel dos Santos Faria, Gilvan Cortês Nascimento, Viviane Chaves e Alan Hass, pela execução de avaliações clínicas, realização de exames de imagem e laboratoriais e pelo acompanhamento dos voluntários de pesquisa.

Aos professores Elmary da Costa Fraga e Maria Claudene Barros, pela disponibilidade no Laboratório de Genética e Biologia Molecular/GENBIMOL, no Centro de Estudos Superiores de Caxias/MA da Universidade Estadual do Maranhão.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Maranhão – FAPEMA e a Financiadora de Estudos e Pesquisa – FINEP pelo apoio financeiro.

A família F. B. que confiou a aceitou participar dessa pesquisa e que na ausência dessa confiança, esse trabalho jamais poderia ter sido realizado.

“Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a vida e viver com paixão, perder com classe e vencer com ousadia; pois, o triunfo pertence a quem mais se atreve e a vida é muito para ser insignificante”.

Charles Chaplin

## RESUMO

A síndrome de von Hippel Lindau (VHL) é uma doença autossômica dominante, com incidência de 1:36.000 a 1:53.000 indivíduos, caracterizada por múltiplos tumores, acometendo os indivíduos entre vinte e quarenta anos, sendo a expectativa de vida de 60 anos. O objetivo deste estudo foi caracterizar a base molecular do gene VHL associado à Síndrome von Hippel Lindau em uma família com hemangioblastoma de sistema nervoso central no Estado do Maranhão. Para investigação da história familiar, foram entrevistados todos os familiares, sendo realizada análise molecular de sete indivíduos com diagnóstico clínico de VHL e 89 familiares em risco. Para extração de DNA foi utilizado sangue periférico. A técnica utilizada foi a amplificação de múltiplas sondas dependente de ligação (MLPA). Após a PCR-MLPA foi realizado sequenciamento e utilizado o programa GeneMaker para a triagem de mutações. A pesquisa obedeceu aos preceitos éticos. Foi investigada a história familiar dos oito indivíduos afrodescendentes portadores de hemangioblastomas de sistema nervoso central. Além dessa lesão, um indivíduo apresentou hemangioblastoma de retina, um apresentou cisto no pâncreas e outro apresentou massa tumoral bilateral no rim. A média de idade da primeira apresentação da lesão foi de 29 anos, não tendo ocorrido predominância em relação ao sexo. No protocolo de rastreamento não foi evidenciado feocromocitoma. Não foram pesquisadas lesões no sistema reprodutor devido ausência de sintomatologia. No teste molecular foi detectada a deleção c.1-?\_340+? em sete indivíduos sintomáticos e em 14 familiares. A técnica MLPA demonstrou ser rápida e segura para diagnóstico de grandes deleções. A história familiar positiva, ausência de feocromocitoma e a detecção da deleção genômica do exon 1, permitiu o diagnóstico clínico e molecular da síndrome VHL e a classificação como tipo 1. Neste estudo foi possível avaliar, além do probando, os outros familiares. Essa conduta poderá diminuir a morbimortalidade da doença e proporciona uma melhor qualidade de vida aos familiares.

Palavras-chave: Síndrome de von Hippel-Lindau. Aconselhamento genético. Mutações Germinativas. Diagnóstico Molecular.

## ABSTRACT

The von Hippel Lindau syndrome (VHL) is an autosomal dominant disorder with an incidence of 1:36.000 to 1:53.000 individuals, characterized by multiple tumors, affecting individuals of twenty and forty years, with life expectancy of 60 years. The objective of this study was to characterize the molecular changes in the VHL gene associated with von Hippel Lindau syndrome in a family of African descent with hemangioblastoma of the central nervous system in the state of Maranhão. For investigation of the family history, all family members were interviewed, and performed molecular analysis of seven patients with clinical diagnosis of VHL and 89 family members at risk. For DNA extraction was used peripheral blood. The technique used was the amplification of multiplex ligation probes dependent binding (MLPA). After PCR- MLPA, was performed sequencing and the software GeneMaker was used for screening of mutations. The research followed the ethical precepts. We investigated the family history of the eight individuals of African descent carriers hemangioblastomas of the central nervous system. In addition to this injury, these individuals had retinal hemangioblastoma, pancreatic cyst and bilateral kidney tumor. The average age of first presentation of the lesion was 29 years, not having occurred predominantly in relation to gender. In the screening protocol was not evidenced pheochromocytoma. No injuries were surveyed in the reproductive system because of the absence of symptoms. The molecular test detected the deletion c.1-? \_340 +? in all symptomatic individuals and 14 family members. The MLPA, technique has proven to be fast and reliable for diagnosis of large deletions. A positive family history, the absence of pheochromocytoma and detection of genomic deletion of exon 1, allowed the clinical diagnosis and molecular VHL syndrome and classification as type 1. In this study it was possible to evaluate, in addition to the proband, other family members. This approach decreases the morbidity of the disease and provides a better quality of life for families.

Keywords: Syndrome von Hippel-Lindau. Genetic counseling. Germilne Mutations. Molecular Diagnostics.

## LISTA DE SIGLAS

AKT	- Protein Kinase B (Proteína Cinase B)
CCR	- Carcinoma de células renais
CXCR4A	- Chemokine (C-X-C motif) receptor 4a (Receptor Quimoquina tipo 4A)
DNA	- Deoxyribonucleic acid (Ácido desoxirribonucleico)
ELST	- Endolymphatic Sac Tumor (Tumor do Saco Endolinfático)
FDA	- Food and Drug Administration
FANCD2	- Fanconi anemia, complementation group D2 (grupo D2 de complementação anemia de Fanconi)
FISH	- Fluorescence in situ hybridization
Glut 1	- Proteína Transportadora de Glicose
HB	- Hemangioblastoma
HIF-1 $\alpha$	- Hypoxia-inducible factor 1 - alpha (Fator de transcrição induzido por hipóxia, subunidade alpha)
HIF-1 $\beta$	- Hypoxia-inducible factor 1 - beta (Fator de transcrição induzido por hipóxia, subunidade beta)
HsCul2	- Gene Cullin 2
IFN $\alpha$	- Interferon Alpha
IL2	- Interleucina dois
IRAK2	- Interleukin-1 kinase-like 2 receptor-associated (interleucina-1 associada ao receptor quinase 2)
LOH	- Loss of heterozygosity (Perda da Heterozigosidade)
MLPA	- Amplification of multiplex ligation probes dependent binding (Amplificação de Múltiplas Sondas Dependente de Ligação)
NEM 2	- Neoplasia Endócrina Múltipla tipo dois
NEM 2A	- Neoplasia Endócrina Múltipla tipo dois A
NEM 2B	- Neoplasia Endócrina Múltipla tipo dois B
mTOR	- Mammalian target of rapamycin (Alvo da Rapamicina em mamíferos)
NF1	- Neurofibromatose tipo 1

ORF	- Open Reading Frame
PCR	- Polymerase Chain Reaction (Reação em Cadeia de Polimerase)
PDGF	- Platelet-derived growth factor (Fator de crescimento derivado de plaquetas)
PDGFR	- Platelet-derived growth factor Receptor (Receptor do Fator de crescimento derivado de plaquetas)
PEPCK	- Phosphoenolpyruvate carboxykinase (Fosfoenolpiruvato Carboxi Cinase)
Ph	- Pheochromocytoma (Feocromocitoma)
PI2K	- Phosphoinositide 2-kinase inhibitor (Inibidor Fosfoinositídeo-2 cinase)
PNETs	- Pancreatic neuroendocrine tumours (Tumores Neuroendócrinos do Pâncreas)
PTEN	- Phosphatase and tensin homolog (Fosfatase Homóloga a Tensina)
pVHL	- Proteína VHL
RNM	- Ressonância Nuclear Magnética
SNC	- Sistema Nervoso Central
TGF- $\alpha$	- Transforming growth factor alpha (Fator de crescimento transformante)
VCB	- VHL Complex Elongin C and B (Complexo VHL- Elongina C- Elongina B)
VEGF	- Vascular endothelial growth factor (Fator de crescimento endotelial vascular)
VHL	- von Hippel Lindau

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Tumores característicos da Síndrome von Hippel Lindau .....	20
Figura 2: Angiofluoresceinografia mostrando hemangioblastomas de retina ...	22
Figura 3: Gene VHL com as duas isoformas.....	31
Figura 4: Teoria do duplo evento ( <i>two hits</i> ) proposta por Knudson .....	32
Figura 5: Estrutura esquemática da proteína VHL com seus domínios formando um complexo multiprotéico.....	35
Figura 6: Regulação do fator induzido por hipóxia (HIF- $\alpha$ ) pela proteína VHL em condições normais (normóxia) e de pouco oxigênio (hipóxia).....	37
Figura 7: Fluxograma de Acompanhamento dos pacientes e familiares em risco para a síndrome de von Hippel Lindau.....	51
Figura 8: Heredograma demonstrando as características clínicas e moleculares dos indivíduos em estudo.....	55
Figura 9: Eletroferograma dos indivíduos que apresentaram lesões associadas a síndrome von Hippel Lindau, demonstrando a deleção c.1-?_340+?, pela técnica de MLPA .....	60
Figura 10: Eletroferogramas de indivíduos assintomáticos apresentando a deleção c.1-?340+?, pela técnica de MLPA.....	66

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características dos diferentes tipos da síndrome von Hippel Lindau	34
Tabela 2: Modelos animais disponíveis para síndrome von Hippel Lindau .....	43
Tabela 3: Indivíduos com lesões associadas a síndrome VHL segundo idade ao diagnóstico da primeira lesão, sexo, localização e descrição clínica da lesão, tratamento e óbito. São Luís - MA, 2013.....	56
Tabela 4: Familiares em risco que apresentaram a deleção c.1-?_340+?, pela técnica de MLPA segundo idade e sexo, São Luís - MA, 2013.....	61

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 SÍNDROME DE VON HIPPEL LINDAU</b> .....	18
<b>2.1 Características clínicas</b> .....	20
2.1.1 Hemangioblastoma de Sistema Nervoso Central.....	20
2.1.2 Hemangioblastoma de Retina .....	21
2.1.3 Carcinoma de Células Renais .....	23
2.1.4 Feocromocitoma.....	25
2.1.5 Lesões pancreáticas .....	26
2.1.6 Tumores do saco endolinfático.....	27
2.1.7 Tumores do epidídimo e do ligamento largo do útero .....	28
<b>2.2 Critérios Diagnósticos</b> .....	28
<b>2.3 Manejo clínico e monitorização</b> .....	29
<b>2.4 Gene VHL</b> .....	30
2.4.1 Mutações germinativas e somáticas .....	32
<b>2.5 Correlação Genótipo – Fenótipo</b> .....	33
<b>2.6 Proteína VHL</b> .....	35
<b>2.7 Tratamento Molecular</b> .....	37
<b>2.8 Modelo Animal</b> .....	40
<b>2.9 Aconselhamento genético</b> .....	43
2.9.1 Cuidado familiar .....	44

<b>3 OBJETIVOS</b> .....	48
<b>3.1 Objetivo Geral</b> .....	48
<b>3.2 Objetivos Específicos</b> .....	48
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	49
<b>4.1 Aspectos Éticos</b> .....	49
<b>4.2 Amostra</b> .....	49
<b>4.3 Caracterização clínica</b> .....	50
<b>4.4 Extração de DNA</b> .....	51
<b>4.5 Reação em cadeia da polimerase – Amplificação de Múltiplas Sondas Dependente de Ligação (PCR-MLPA)</b> .....	51
<b>4.6 Reação de Sequenciamento</b> .....	53
<b>5 RESULTADOS</b> .....	54
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	67
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	72
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	73
<b>APÊNDICES</b> .....	85
<b>ANEXO</b> .....	95

## 1 INTRODUÇÃO

A síndrome de von Hippel Lindau (VHL) é uma doença autossômica dominante, com incidência de 1:36.000 a 1:53.000 indivíduos, caracterizada por múltiplos tumores, alguns ricamente vascularizados. Acomete os indivíduos entre vinte e quarenta anos, com uma média de expectativa de vida de 49 anos e com penetrância de aproximadamente 95% por volta dos 60 anos de idade (CHOU et al., 2013).

O gene VHL, identificado por Latif et al (1993), é um gene supressor tumoral, localizado no cromossomo 3(3p25-26), composto por três éxons. No entanto, para que a síndrome se desenvolva é necessária a inativação dos dois alelos para ocorrer a transformação da célula normal em célula tumoral. O gene codifica uma proteína de 213 aminoácidos e outra de 160 aminoácidos. Os dois produtos gênicos apresentam características bioquímicas e funcionais semelhantes e são expressos de maneira ubíqua em tecidos humanos normais (MAHER; NEUMANN; RICHARD, 2011).

A proteína VHL atua por meio da ligação com a Elongina C, Elongina B e Culina, formando o complexo VHL, Elongina C e Elongina B (VCB). Esse complexo guia substratos protéicos para a proteólise através da ubiquitinação, processo no qual o substrato a ser degradado liga-se a ubiquitina e é encaminhado para o proteossoma, onde ocorre a digestão enzimática. Dentre os substratos do complexo VCB está o HIF-1 $\alpha$  fator de transcrição induzido por hipóxia, que aumenta a expressão de genes que codificam proteínas angiogênicas (fator de crescimento do endotélio vascular – VEGF e fator de crescimento derivado de plaquetas PDGF –  $\beta$ ) e mitogênicas (fator de crescimento e transformação – TGF- $\alpha$ ) (HANSEN et al, 2002).

O espectro de mutações do gene VHL inclui grande quantidade de mutações do tipo missense e nonsense, deleções ou inserções de um nucleotídeo, mutações no sítio de splicing e rearranjos, consistindo em deleções parcial ou completa do gene. Mais de 900 mutações já foram identificadas no gene VHL, com 100% de detecção nos portadores da síndrome. Essas mutações estão localizadas nos três éxons do gene; entretanto, são mais descritas nos éxons 1 e 3. Deleções e proteínas truncadas

são associadas com o tipo VHL1, enquanto que o tipo VHL 2 está mais associado com mutações missenses (TONG et al., 2006; BLANSFIELD et al., 2007; HES et al., 2007).

Deleções ou duplicações que compreendem um ou vários éxons, genes completos ou grandes regiões cromossômicas são uma frequente causa de desordens genéticas humanas. Aproximadamente 70% das famílias que possuem a síndrome apresentam mutações intragênicas detectáveis por sequenciamento, com deleções parciais ou completas, descritas na maioria das famílias. Praticamente, todos os tipos de mutação são detectados pela combinação das técnicas de sequenciamento direto e *Southern blotting*. Para a identificação de grandes deleções no gene *VHL* as técnicas de PCR em tempo real e Amplificação de Múltiplas Sondas Dependentes de Ligação (MLPA) têm demonstrado maior eficiência (HATTORI et al., 2006; HES et al., 2007).

Os tumores associados a essa síndrome ocorrem de forma isolada ou múltipla, sendo os do sistema nervoso central (SNC) os de maior ocorrência. Além dos tumores de vasos do SNC, compõem ainda a síndrome: os tumores de vasos da retina, tumores do saco endolinfático, neoplasias do pâncreas, da glândula supra-renal, rins, epidídimos e do ligamento largo do útero (ROCHA et al., 2003).

Os critérios convencionais do diagnóstico clínico são diferenciados conforme a presença ou não de história familiar: é considerado portador de VHL indivíduos com história familiar que apresentem apenas uma manifestação: hemangioblastoma cerebelar ou de medula espinhal, angioma da retina, feocromocitoma, carcinoma de células renais antes dos 60 anos ou tumor do saco endolinfático; entretanto, para diagnosticar VHL em indivíduos sem história familiar é necessário a presença de dois ou mais tumores: dois hemangioblastomas (SNC ou retina) ou um hemangioblastoma e um tumor visceral, feocromocitoma ou carcinoma de células renais (CHOU et al., 2013).

Diante desta multiplicidade de tumores benignos e malignos em vários órgãos do corpo e da grande variedade de sinais e sintomas, faz-se necessário confirmar a existência dessa síndrome familiar para garantir aos portadores um acompanhamento de modo a assegurar a detecção precoce e tratamento das possíveis lesões.

No diagnóstico de doenças genéticas é extremamente importante conhecer a história clínica da família tão detalhadamente quanto possível. Frequentemente torna-se necessário examinar vários membros da família do provável portador de uma doença genética até a conclusão do diagnóstico. Para aumentar a confiabilidade, é necessária uma história da saúde familiar completa, possibilitando assim, um aconselhamento genético mais eficaz, o qual proporciona prognósticos, tratamentos e suporte emocional.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Síndrome de von Hippel Lindau

A síndrome de von Hippel-Lindau (VHL) é uma condição hereditária que predispõe a hemangioblastomas (HB) no sistema nervoso central (SNC) e uma variedade de tumores viscerais. A prevalência da síndrome VHL foi estimada entre 1:36.000 e 1:53.000 (CHOU et al., 2013). A Identificação dos pacientes com VHL foi considerada exaustiva, uma vez que envolvia a análise de todos os membros da família potencialmente afetados. Em 1993, o progresso notável de um teste de rastreio não invasivo foi feito quando o gene responsável pela síndrome VHL foi identificado (LATIF et al., 1993).

A doença que perpetuou os nomes de dois prestigiados médicos europeus, Eugen Von Hippel e Arvid Lindau, é uma síndrome familiar, caracterizada pela ocorrência de tumores altamente vascularizados em diferentes órgãos (LONSER et al., 2003).

Ao oftalmologista alemão Eugen Von Hippel (1867-1938), é geralmente creditado a primeira descrição completa de uma anormalidade vascular da retina (von HIPPEL, 1904). Em 1911, ele nomeou esta anormalidade como *angiomatosis retinae* (von HIPPEL, 1911). Esta condição já havia sido relatada em 1879 e a aparência microscópica foi descrita em dois irmãos em 1894 (COLLINS, 1894). Quinze anos após o relatório de Von Hippel, o sueco Arvid Lindau, patologista, publicou um artigo descrevendo 40 casos com tumores cerebelares císticos. Ele associou *angiomatosis retinae* com hemangioblastomas de cerebelo e medula espinhal, e cistos dos rins, pâncreas e epidídimo e nomeou essa síndrome de angiomatose do sistema nervoso central (LINDAU, 1926).

Streiff observou em 1951 que os médicos franceses haviam relatado pela primeira vez um provável paciente com VHL que morreu com tumores cerebrais e da retina em 1864 (STREIFF, 1951). Os primeiros relatórios sobre envolvimento adrenal na VHL apareceram em 1953 e 1959 (CHAPMAN; KEMP; TALIAFERRO, 1959; GLUSHIEN; MANSUY; LITTMAN, 1953); e em 1964, foi publicada a primeira grande revisão de literatura (MELMON; ROSEN,

1964). Em seguida, Cushing; Bailey (1928) preferiram nomear de "doença Lindau", embora a denominação de doença von Hippel-Lindau já estivesse sendo usada por outros autores, primeiro por Davinson et al. (1936). Foi também chamado de doença von Hippel Lindau por Graig et al. (1941). Desde os anos 1970 a doença é comumente chamada de von Hippel-Lindau ou VHL.

A maioria dos tumores em pacientes com a síndrome VHL tem ocorrência múltipla ou bilateral e manifesta-se numa idade mais jovem do que os casos esporádicos. O espectro de mutações da linha germinativa é variável e com mutações dispostas ao longo do gene *VHL*. Apesar de algumas mutações recorrentes terem sido relatadas, a maioria das famílias tem a sua mutação germinativa própria (HES, 2000).

Até 50% dos pacientes com VHL podem demonstrar apenas uma manifestação da síndrome. Embora haja expressividade variável entre famílias, algumas características clínicas são semelhantes entre familiares (MAHER et al., 1990; NEUMANN; WIESTLER, 1991).

A expectativa de vida dos afetados foi estimada em menos de 50 anos. No entanto, diagnóstico precoce e acompanhamento por protocolos de vigilância, enfatizando o controle regular das complicações previsíveis, seguido de intervenções precoces, pode ter melhorado o prognóstico (FRIEDRICH, 2001).

Embora a ocorrência da síndrome VHL seja relativamente rara, uma compreensão da genética e da biologia da doença poderá ajudar a elucidar o mecanismo de tumorigênese comum em tumores malignos esporádicos, como o carcinoma das células renais e hemangioblastoma (MAHER et al., 1990).

A identificação de membros afetados foi facilitada pelo advento da tomografia computadorizada (TC) e a ultrassonografia (US) na década de 1970 e início de 1980 e resultou na descrição da síndrome VHL nas famílias de todo o mundo (FILL; LAMIELL; POLK, 1979; GREEN; BOWMER; JOHNSON, 1986). Posteriormente, a ressonância nuclear magnética (RNM) tornou-se um método de triagem para as lesões do cerebelo e da coluna.

## 2.2 Características clínicas

As manifestações mais comuns da VHL são hemangioblastomas de retina, cerebelo e medula espinhal; tumores do saco endolinfático (ELST), cistos e carcinoma de células renais (CCR); cistos pancreáticos; feocromocitoma, e cistoadenoma papilar do epidídimo e do ligamento largo do útero, conforme Figura 1 (MELMON; ROSEN, 1964).

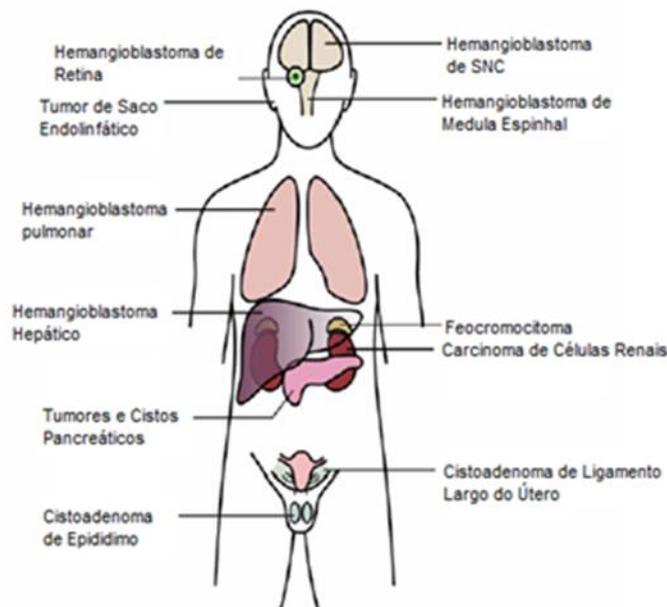


Figura 1: Tumores característicos da Síndrome von Hippel Lindau (Adaptado de FRIEDRICH, 2001).

### 2.2.1 Hemangioblastoma de Sistema Nervoso Central

Hemangioblastomas são tumores benignos, altamente vascularizados e muito frequentes na VHL (LAMIELL; SALAZAR; HSIA, 1989; MAHER; WEBSTER; MOORE, 1995). São tumores não metastáticos do sistema nervoso central e são responsáveis por cerca de 2% de todos os tumores intracranianos (ELLISON et al., 1998). Hemangioblastomas são predominantemente compostos por célula estromal e altamente vascularizados (VORTMEYER et al., 1997; WIZIGMANN-VOOS; PLATE, 1996). Perdas alélicas e mutações do gene *VHL* foram encontradas em células de estroma, indicando que estas células representam o componente neoplásico de um hemangioblastoma (LEE et al., 1998). Os mastócitos são geralmente abundantes e a sua presença é útil no diagnóstico. A presença frequente de hemorragias e cistos faz a aparência

morfológica variável dos tumores. Quatro tipos de HB podem ser reconhecidos macroscopicamente: 5% são cistos, 60% predominantemente císticos, 26% predominantemente sólidos e 9% sólidos (RICHARD et al., 1998).

A inativação de ambas as cópias do gene *VHL* desempenha um papel importante na patogênese do hemangioblastoma. A superexpressão do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e de seus receptores foi recentemente demonstrada nestes tumores, aumentando a possibilidade de origem angioblástica, sendo de grande interesse, pela implicação direta do gene *VHL* em regulação negativa do VEGF (RICHARD et al., 1998).

Os sintomas clínicos dependem do local do hemangioblastoma, as manifestações devido ao aumento da pressão intracraniana são cefaléia é a mais frequente, vômitos, tontura e ataxia. O exame neurológico muitas vezes é normal ou mostra sinais cerebelares. Hemangioblastoma de tronco cerebral pode manifestar-se com hipotensão ortostática. A dor é o sintoma mais comum em hemangioblastoma espinhal e pode ser seguido por perda sensorial e sinais de compressão. A policitemia secundária a hemangioblastoma cerebelar clássico ocorre em cerca de 20% dos casos (LAMIELL et al., 1989; RESCHE et al., 1993; RICHARD et al., 1998).

O tratamento padrão é a microcirurgia com remoção total, se necessário, auxiliada pela embolização pré-operatória para reduzir a vascularização do tumor. Radiocirurgia estereotáxica diminui ou impede o crescimento de HB de pequeno ou médio porte. Cistos adjacentes, no entanto, podem não responder a radiocirurgia e exigem posteriormente e, por vezes, repetidas microcirurgias (NIEMELA et al., 1996; RICHARD et al., 1998).

### 2.2.2 Hemangioblastoma de Retina

Hemangioblastomas oculares são considerados como sendo a primeira manifestação da doença em 43% dos pacientes com *VHL* (AUMILLER, 2005; LAMIELL et al., 1989). Em avaliação de fundo do olho, as lesões são facilmente identificadas, devido aparência globular avermelhada com uma artéria dilatada de alimentação do disco óptico, que conduz para o tumor, que ocorrem mais periféricamente, 8% ocorre no disco óptico e 1% no pólo

posterior (Figura 2). Apesar de sua natureza benigna e de crescimento lento clássico, hemangioblastoma ocular pode cursar com complicações à visão, e continua sendo uma das principais causas de morbidade visual ou cegueira, para os pacientes com VHL. No entanto, detecção precoce e tratamento podem mudar o prognóstico (MOORE et al., 1991; WONG et al., 2007).

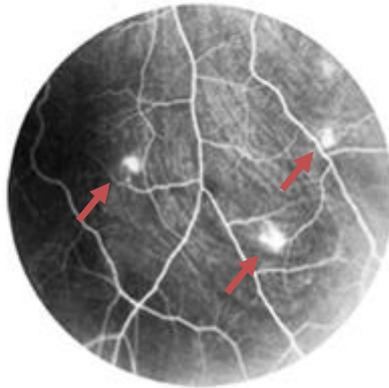


Figura 2: Angiofluoresceinografia mostrando hemangioblastomas de retina (Adaptado de DOLLFUS et al., 2002)

Hemangioblastomas capilares são classificadas com base em sua localização anatômica ocular e aparência oftalmoscópica. Há duas formas distintas, o tumor justapapilar e o hemangioblastoma periférico a retina (SINGH; SHIELDS; SHIELDS, 2001).

Hemangioblastoma de retina periférico, geralmente tornam-se sintomáticos durante a terceira década de vida. Podem causar diminuição da acuidade visual ou induzir um defeito no campo visual por exsudação da retina, hemorragia próxima ao tumor, descolamento de retina, ou regressão espontânea (KREUSEL et al., 2006).

A terapia padrão de angiomas, geralmente assintomáticos é a fotocoagulação a laser, ou no caso de um angioma periférico, métodos de crioterapia (MEYER-SCHWICKERATH, 1961). Tratamento para angiomas maiores incluem crioterapia ou terapia radioativa; o descolamento exsudativo ou tracional de retina é considerado complicação de grandes angiomas e podem requerer cirurgia adicional vítreo-retiniana, mas a terapia poderá ser contra indicada em doença ocular avançada (KREUSEL et al., 1998).

A probabilidade relacionada a angioma e déficit de visão irreversível é elevada em pacientes sintomáticos, a necessidade de um protocolo sistemático de indivíduos pré-sintomáticos em risco é evidente (KREUSEL et al., 1998).

A prevalência de hemangioblastoma de retina na síndrome VHL foi determinada em estudos de grande porte entre 49-68%, com uma média de início aos 25 anos de idade (LAMIPELL et al., 1989; WEBSTER; MAHER; MOORE, 1999). Detecção de angiomas em estado pré-sintomático pequeno é ideal, pois os resultados do tratamento são substancialmente melhores do que em grandes angiomas sintomáticos (WEBSTER et al., 1999). Uma rotina anual de triagem para angiomas novos em portadores de VHL sintomáticos ou não é expressamente recomendada com o objetivo de evitar grandes complicações (KREUSEL et al., 2006; MOORE et al., 1991).

### 2.2.3 Carcinoma de Células Renais

Carcinoma de células renais é a neoplasia maligna mais comum do rim e representa cerca de 2% de todos os cânceres no órgão. Apesar do CCR poder ser curado por nefrectomia radical na maioria dos casos, carcinoma de células renais, que se estende para além dos limites da cápsula renal e com metástase ganglionar tem uma alta taxa de mortalidade específica (TSUI et al., 2000).

Aplicação de terapias convencionais adjuvantes para pacientes com doença avançada tem sido decepcionante por causa da resistência do carcinoma após quimioterapia e radioterapia padrão. Os sinais e sintomas clínicos específicos do carcinoma de células renais geralmente não são úteis para fazer um diagnóstico precoce. A tríade clássica de dor, hematúria e massa palpável no flanco são encontradas em apenas 10% dos casos e é geralmente associada com a presença de doença avançada. O uso generalizado de ultrassom abdominal, tomografia computadorizada e ressonância magnética aumentou a descoberta de pequenos carcinomas de células renais assintomáticos, o qual constitui agora a maioria dos novos casos (ASHIDA et al., 2003; TSUI et al., 2000).

O CCR é responsável por 3% de todas as neoplasias de adultos e é a terceira malignidade urológica mais frequente após câncer de próstata e bexiga. O CCR é altamente resistente à quimioterapia convencional e o prognóstico para pacientes com doença avançada é obscuro (COHEN; MCGOVERN, 2005).

Em pacientes com VHL, lesões renais podem ser divididas em três formas diferentes como cística, cístico-sólida, sólida e carcinoma de células renais (CHOYKE et al., 1992). Estas lesões renais ocorrerem múltipla, bilateralmente e em uma idade relativamente jovem. Embora o carcinoma de células renais, em pacientes esporádicos ocorra predominantemente entre a sétima e oitava décadas de vida, a idade média de apresentação em pacientes VHL é de aproximadamente 36 anos (MAHER et al., 1990; NEUMANN, 1987; WALTHER et al., 1999). Poston et al. (1995) encontraram uma média de 7,8 lesões renais císticas e 3,0 sólidas em pacientes VHL (com uma média de idade ao diagnóstico de 36 anos), o que está de acordo com outros estudos (LAMIELL et al., 1989).

O prognóstico dos pacientes com diagnóstico de tumores renais pré-sintomáticos é significativamente melhor do que o dos pacientes com lesões sintomáticas (RICHARDS et al., 1998). Os cistos renais são geralmente assintomáticos, enquanto o carcinoma de células renais pode apresentar hematúria ou dor nas costas. CCR é a causa de morte em 15-50% de pacientes com VHL (CROSSEY; FOSTER; et al., 1994; LAMIELL et al., 1989), e 30-50% de carcinoma de célula renal sintomático com metástase para os nódulos linfáticos, fígado, ossos, pulmões ou cérebro. Felizmente, hoje em dia, a maioria dos tumores renais é detectada pelo monitoramento periódico dos pacientes com VHL (LAMIELL et al., 1989).

Remissões espontâneas foram relatadas em CCR, provavelmente como resultado de respostas imunológicas e foi a razão para o desenvolvimento de imunoterapias (FLANIGAN et al., 2004; STADLER et al., 2003). A terapia com citocinas tem sido até o momento, a única abordagem de imunoterapia que foi integrada na prática clínica de rotina para CCR. As citocinas mais amplamente utilizadas e estudadas extensivamente para o tratamento de carcinoma de células renais são interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) e

interleucina-2 (IL-2). As taxas de resposta que foram relatadas com estas citocinas estão entre 10-20% (DE MULDER, 2007).

#### 2.2.4 Feocromocitoma

Feocromocitomas são tumores secretores de catecolaminas que se desenvolvem a partir de células cromafins da crista neural. Eles estão localizados principalmente na medula adrenal e, em menor grau, extra medula adrenal. É uma causa rara, mas curável de hipertensão arterial. A maioria dos casos de feocromocitoma tem sido considerada esporádica, mas em cerca de 10% dos tumores podem ser encontrados no contexto das síndromes hereditárias autossômicas dominantes: neoplasia endócrina múltipla tipo 2 (NEM2) (RAUE; FRANK-RAUE; GRAUER, 1994), com carcinoma medular de tireóide e hiperparatireoidismo (MEN2A) ou neuromas cutâneos (MEN2B), e von Hippel-Lindau (MAHER et al, 1990; CHOYKE et al., 1995). Mais raramente, feocromocitoma é encontrado no contexto da neurofibromatose tipo 1 (NF1) (DEANGELIS et al., 1987).

Os tumores de tecido extra-adrenais são referidos como paragangliomas. O paraganglioma é o termo também usado para tumores derivados de tecido parassimpático da cabeça e do pescoço, a maioria dos quais não produz catecolaminas. Quase 80-85% de feocromocitomas surgem a partir da medula supra-renal, ao passo que cerca 15-20% são de extra-adrenais (PACAK et al., 2001). Catecolaminas produtoras de paragangliomas extra-adrenais são normalmente encontradas no abdômen (ERICKSON et al., 2001).

A apresentação clínica de feocromocitoma pode variar muito, com sinais e sintomas similares produzidos por muitas outras condições clínicas. A maioria dos sinais clínicos e sintomas de feocromocitoma são devido à ação direta de catecolaminas secretadas: hipertensão, taquicardia, palidez, dor de cabeça e sensação de pânico ou ansiedade, geralmente dominam o quadro clínico (KEBEBEW; DUH, 1998); efeitos metabólicos incluem a hiperglicemia, acidose láctica e perda de peso. Sinais e sintomas menos comuns são náuseas, febre e rubor.

Episódios hipertensivos podem ser graves e resultar em emergências hipertensivas. A pressão arterial pode também ser consistentemente normal, especialmente em doentes com incidentalomas adrenais. Cerca de 5% de todos os incidentalomas são feocromocitomas, com cerca de 25% de todos feocromocitomas descobertos por acaso durante os estudos de imagem para distúrbios não relacionados (AMAR et al., 2005).

Apresentação bioquímica da produção excessiva de catecolaminas é um passo essencial para o diagnóstico de feocromocitoma e incluem medições de catecolaminas plasmáticas e urinária; e metanefrinas urinárias (BERNINI et al., 2001).

#### 2.2.5 Lesões pancreáticas

A maioria das lesões do pâncreas associada à VHL são cistoadenomas cístico ou seroso. Estas lesões císticas podem ocorrer como uma lesão única ou múltiplas lesões e podem ocorrer em 17-56% dos pacientes com VHL (NEUMANN et al., 1991). Essas lesões não têm potencial maligno, mas pode evoluir o suficiente para provocar insuficiência pancreática endócrina ou exócrina, ou provocar a compressão do intestino ou ducto biliar.

A síndrome VHL também está ligada a tumores neuroendócrino do pâncreas (PNETs). Estas lesões, que são sempre não funcionais, podem ser malignas. PNETs têm sido relatados anteriormente por estar presente em 12-17% dos pacientes com VHL, e podem comportar-se de forma maligna em até 17% dos pacientes (BINKOVITZ; JOHNSON; STEPHENS, 1990; LIBUTTI et al., 1998). Uma associação entre PNETs e feocromocitoma tem sido relatada (JENNINGS; GAINES, 1988).

PNETs continuam a ser uma causa rara de morte, mesmo em pacientes com VHL, mas eles possuem a capacidade de metástase em certos casos. Até agora, o tamanho do PNET primário tem sido o único preditor de potencial maligno (BLANSFIELD et al., 2007).

### 2.2.6 Tumores do saco endolinfático

Tumor do saco endolinfático (ELST) é uma neoplasia rara, com aparência histopatológica benigna e comportamento clinicamente destrutivo que ocorre na base do crânio e frequentemente invade o osso posterior pétrea, o canal mastóide, semicircular, as estruturas de ângulo ponto-cerebelar e de nervos cranianos. Estes tumores podem ser encontrados esporadicamente e quando ocorrem bilateralmente são considerados patognomônico para a síndrome VHL. Devido à raridade deste tumor, ele pode ser facilmente confundido com outros tumores, como paraganglioma, adenoma do ouvido médio, adenocarcinoma, carcinoma papilar de tiróide ou papiloma do plexo coróide (SUN et al., 2012).

Pacientes caracteristicamente apresentam perda auditiva neurossensorial unilateral, zumbido, otalgia, otorréia, vertigem, ataxia e paresia do nervo facial. Um curso clínico indolente e história de longa data dos sintomas são típicos. Ao exame de imagem, o ELST é caracterizado pela presença de uma massa retrolabiríntico associada com a erosão óssea (HO et al., 1996).

Paragangliomas do ouvido médio são citologicamente benignos e podem demonstrar estruturas papilares e células cubóides com citoplasma eosinofílico. No entanto, as células são positivas para paraganglioma cromogranina e sinaptofisina, e pelo menos focalmente estão dispostas em ninhos característicos. Papiloma do plexo Coróide pode ser histologicamente semelhante ao ELST, mas se origina no ventrículo e não invade o tecido ósseo (MEGERIAN et al., 1997).

O tratamento de ELST envolve ressecção do tumor ou mastoidectomia radical ou em combinação com radioterapia. Na fase inicial, a excisão cirúrgica é o melhor tratamento quando o tumor é pequeno. A remissão pode durar anos. Quando o tumor é grande, a excisão completa é praticamente impossível, devido à complexidade da anatomia do saco endolinfático e padrões distintos de extensão. Recorrência local após a cirurgia pode ocorrer. Em casos avançados, a radioterapia exclusiva pode ser a única opção, embora não existam estudos sobre o papel da radioterapia adjuvante. Considerando

que o tumor do saco endolinfático é ricamente vascularizado, alguns estudiosos sugerem que a embolização pré-operatória pode ser útil (SUN et al., 2012).

### 2.2.7 Tumores do epidídimo e do ligamento largo do útero

Cistoadenoma papilar de células claras é um tumor epitelial benigno que ocorre na cabeça do epidídimo; é uma lesão rara que foi encontrada significativamente mais frequente em pacientes com VHL do que na população em geral. Foi encontrada em até 60% dos homens com VHL. Apresentação unilateral raramente pode ser encontrada na população em geral, enquanto que a apresentação bilateral é considerada patognomônico da síndrome VHL (CHOYKE et al., 1995).

Pacientes com cistoadenoma papilar do epidídimo geralmente têm uma massa escrotal facilmente palpável, indolor. Outra possível sintomatologia desta doença inclui dor escrotal persistente, mais comumente visto em casos unilaterais, ou fator masculino de infertilidade devido à azoospermia obstrutiva, mais comumente visto em casos bilaterais (AYDIN et al., 2005).

Características similares são encontradas mais raramente em mulheres com VHL. Histologicamente, a lesão é caracterizada por um complexo papilar. Geralmente, uma única camada de células cúbicas não ciliadas; a parede do cisto é fibrosa e podem ter pequenos feixes de músculo liso ou calcificação focal. Cistoadenomas papilares de origem mesonéfrica são raros, lesões associadas a VHL ocorrem com mais frequência no ligamento largo e retroperitônio nas mulheres (FUNK; HEIKEN, 1989).

## 2.3 Critérios Diagnósticos

Melmon; Rosen (1964) propuseram critérios amplamente aceitos para o diagnóstico da síndrome VHL. Se existe uma história familiar da síndrome VHL, apenas um hemangioma (retina ou SNC) ou uma lesão visceral é necessária para fazer um diagnóstico. Se não existe a história da família, a presença de 2 ou mais hemangiomas (retinal ou no SNC) ou um hemangioma único (retina ou SNC) com uma manifestação visceral, estabelece o

diagnóstico. As lesões viscerais incluem cistos renais, carcinoma renal, feocromocitoma, cistos e tumores das células das ilhotas pancreáticas, os cistoadenomas do epidídimo, ou tumores do saco endolinfático. Os cistos renais ou epididimal não são suficientes por causa de sua ocorrência frequente na população em geral (SEIZINGER et al., 1991). Novas mutações são responsáveis por 1-3% dos casos de VHL (LATIF et al., 1993; RICHARD et al., 1994).

Embora a maioria dos probandos tenha uma história familiar positiva de VHL, outros podem representar casos de mutação *de novo*. Probandos sem uma história familiar de VHL podem ou não ter uma mutação no seu gene supressor de tumor de VHL da linha germinal. É importante evidenciar a presença de mosaicismo em VHL e reconhecer quando um indivíduo sem história familiar tem VHL. Pacientes diagnosticados sem antecedentes familiares da doença foram relatados em até 23% de famílias com VHL. A identificação de indivíduos potencialmente com mosaicismo para VHL influenciará no aconselhamento genético das famílias, e estes indivíduos devem ser incluídos em programas de triagem clínica para a doença (SGAMBATI et al., 2000).

#### **2.4 Manejo clínico e monitorização**

Protocolos de acompanhamento são altamente recomendáveis para os indivíduos em situação de risco e devem ser iniciados na infância. Em casos de hemangioblastomas de retina, se tratados precocemente há uma maior probabilidade de manutenção da visão. Assim, o acompanhamento com o oftalmologista deve começar na infância com rastreamento anual (CHOYKE et al., 1995; LONSER et al., 2003). Rastreamento anual de catecolaminas urinárias deve começar aos dois anos de idade ou quando apresentar quadro de hipertensão arterial (CHOYKE et al., 1995; LAMIELL et al., 1989; LONSER et al., 2003; MAHER et al., 1990). Ultrassom abdominal deve ser realizado anualmente a partir de oito anos de idade; ressonância nuclear magnética deve ser realizada aos 11 anos de idade com o objetivo de obter imagens de base

para acompanhamento; muitos centros de acompanhamento realizam uma ressonância a cada dois ou três anos, no caso de sintomas.

É aconselhável solicitar ressonância magnética quando os pacientes ou familiares assim o desejarem; o impacto dos tumores cerebrais na qualidade de vida pode ser substancial, e gera ansiedade nas famílias. Ressonância magnética abdominal anual é recomendada para pessoas em situação de risco após a idade de 18 anos para reduzir exposição à radiação pela tomografia computadorizada. Se clinicamente indicado, uma tomografia computadorizada abdominal pode melhorar a imagem; ressonância magnética ou tomografia de canais auditivos internos deve ser realizada quando ocorrer sintomas como zumbidos, perda de audição, vertigem ou outro problema auditivo (LONSER et al., 2003).

A detecção precoce das manifestações da síndrome VHL permite uma intervenção oportuna para atingirem-se os melhores resultados. Por isso, a monitorização clínica dos indivíduos assintomáticos em risco, inclusive de crianças, para manifestações patológicas precoces, é adequada. A aderência a estes protocolos reduz a morbimortalidade e melhora a expectativa de vida dos pacientes. Enquanto a sobrevida era estimada em 49 anos em 1990, aumentou para aproximadamente 60 anos na década posterior (MAHER et al., 1990).

## 2.5 Gene VHL

O gene *VHL* é um gene relativamente pequeno que abrange cerca de 14.500 pares de bases de DNA genômico (LATIF et al., 1993). O gene VHL codifica um RNA mensageiro de 4.700 nucleotídeos e na região de codificação da proteína está contido em três exons de, respectivamente, 340, 123 e 179 nucleotídeos.

Por clonagem posicional, Latif et al. (1993) identificaram o gene supressor tumoral, que codifica uma proteína de 213 aminoácidos com um domínio de repetição encontrado na glicoproteína da membrana de superfície do *Trypanosoma brucei*. Os autores identificaram duas cópias de mRNA amplamente expressas de aproximadamente 6 e 6,5 kb.

Richards et al. (1996) usaram hibridação *in situ* para investigar os principais sítios de expressão do gene *VHL* durante a embriogênese. Eles também analisaram, numa variedade de tecidos fetais, os níveis das duas isoformas do VHL, isoforma I, que contém todos os três exons, e isoforma II que contém apenas os exons um e três (Figura 3).

Embora a expressão de *VHL* tenha sido encontrada de forma ubíqua, níveis particularmente elevados de expressão foram detectados no sistema urogenital, cérebro, medula espinhal, gânglios sensoriais, olhos e epitélio brônquico. Este padrão de expressão está correlacionado em certa medida com os órgãos envolvidos na síndrome VHL. Ambas as isoformas de VHL foram detectadas em todos os tecidos e a proporção de isoformas foi semelhante entre os tecidos (RICHARDS et al., 1996).

A região promotora do gene *VHL* possui quatro regiões de conservação entre sequências de DNA de humanos, primatas e roedores. A análise *in silico* identificou sítios de ligação para vários fatores de transcrição nas regiões conservadas (ZATYKA et al., 2002).



Figura 3: Gene VHL com as duas isoformas (www.ncbi.nlm.nih.gov).

Trata-se de um gene recessivo supressor de tumores, cuja inativação de ambos os alelos é um acontecimento crítico na patogênese de tumores VHL. Estudos da perda de heterozigosidade (LOH) mostraram que em sete casos familiares de tumores em que a origem parental da perda do alelo 3(3p25-26) poderia ser determinada, o alelo tinha sido perdido a partir do cromossomo herdado da mãe afetada. Em quatro tumores de VHL, a LOH ocorreu em outros cromossomos (5q21, 13q, 17q), indicando que mutações no gene *VHL*, levando a homozigose, pode ser necessária, mas não suficiente para tumorigênese na síndrome de von Hippel-Lindau (CROSSEY et al, 1994).

### 2.5.1 Mutações germinativas e somáticas

De acordo com a hipótese de Knudson (1971) "two-hit" (duplo evento): a inativação de ambas as cópias do gene *VHL* é necessária para que uma célula normal se torne uma célula tumoral (Figura 4). Nas famílias com VHL, as mutações da linhagem germinativa no gene *VHL* são transmitidas a partir de indivíduos afetados aos seus descendentes. Pacientes herdam uma cópia germinativa mutante do gene *VHL* (o "primeiro hit") a partir de seus pais afetados: são heterozigotos para a mutação germinativa. A cópia remanescente do gene de *VHL* pode ser afetada por um evento de inativação (o "segundo hit"), no nível somático: em tal célula, a ausência do produto do gene normal *VHL* é responsável pela tumorigênese (SEIZINGER et al., 1988).

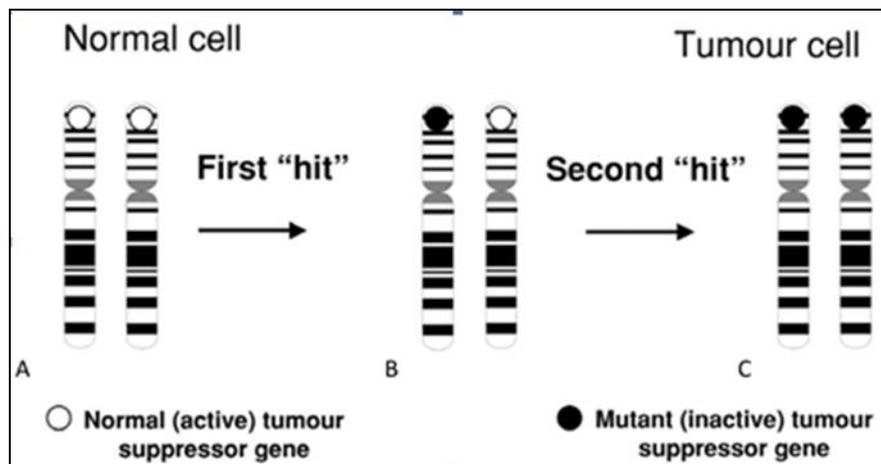


Figura 4: Teoria do duplo evento (*two hits*) proposta por Knudson (adaptado de Knudson, 1971).

Sequenciamento direto continua sendo o padrão ouro para a detecção de pequenas mutações germinativas. No entanto, o sequenciamento não é considerado adequado para a identificação de deleções parciais ou completas do gene *VHL* (KLEIN; WEIRICH; BRAUCH, 2001). A análise por *Southern blot* mostra redução na intensidade do fragmento, então a confirmação de uma grande deleção pode ser realizada com hibridização fluorescente *in situ* (FISH) (HES et al, 2000; STOLLE et al. 1998). Outro estudo demonstra convincentemente a utilização de PCR em tempo real quantitativo como uma alternativa ao *Southern* para detectar rearranjos (HOEBEECK et al., 2005). Hes et al. (2007) foram os primeiros a utilizar a técnica de Amplificação de Múltiplas

Sondas Dependentes de Ligação (MLPA) para detecção de mutações no *VHL*, combinando-a com a técnica de *Southern blot* e sequenciamento para alcançar a detecção de 95% da mutação. Cho et al. (2009) detectaram 100% dos 15 pacientes com VHL selecionados com sequenciamento e MLPA para detectar grandes deleções; o último foi descrito como mais sensível e mais fácil do que FISH e a análise de Southern quantitativa.

Mutações do gene *VHL* foram relatadas em aproximadamente 900 famílias com a síndrome VHL ([http://www.umd.be/VHL/W\\_VHL](http://www.umd.be/VHL/W_VHL)), mas apesar de uma ampla variedade de mutações terem sido descritas, estas estão concentradas principalmente nos primeiros 53 aminoácidos da proteína VHL. Mutações germinativas são heterogêneas, mas o maior grupo, respondendo por cerca de 30-40% dos casos, consiste de deleções (variando de 0,5 a 250 kb) com deleção de um ou mais exons do gene *VHL* (FRANKE et al., 2009).

As demais mutações dividem-se em dois grupos, as substituições e as mutações missense, resultando em uma proteína truncada. Em pacientes sem mosaïcismo com VHL, a detecção de mutação da doença clássica corresponde a mais de 95% (CASCON et al., 2007; MARANCHIE et al., 2004).

## **2.6 Correlação Genótipo – Fenótipo**

Complexas correlações genótipo-fenótipo foram descritas na síndrome VHL com mutações missense associadas a um risco elevado para feocromocitoma e mutações germinativas truncadas associadas com um baixo risco para feocromocitoma (CROSSEY; RICHARDS; et al., 1994; MAHER et al., 1996; ZBAR et al., 1996). Além disso, mutações missense heterozigóticas na linhagem germinativa podem causar feocromocitoma familiar sem outras características da síndrome VHL (CROSSEY et al., 1995; NEUMANN et al., 1995) e mutações missense homozigóticas podem estar associada com policitemia hereditária recessiva (ANG et al., 2002).

Tabela 1: Características dos diferentes tipos da síndrome von Hippel Lindau

Tipos da Síndrome VHL	Tipo de mutações no Gene <i>VHL</i>	Alteração Molecular	Manifestação Clínica
Tipo 1	Perda do gene <i>VHL</i> ou uma mutação que afeta a proteína VHL	Hiperativação do HIF e de seus genes alvo	HB, CCR, baixo risco para PH
Tipo 2A	Mutação Missense	Regulação positiva de HIF- $\alpha$ e HIF genes alvo	HB, PH e baixo risco para CCR
Tipo 2B	Mutação Missense	Regulação positiva de HIF- $\alpha$ e genes alvo	HB, PH e alto risco para CCR
Tipo 2C	Mutação Missense	pVHL não perde capacidade de degradar HIF; diminuição da afinidade pela fibronectina	Somente PH

VHL: von Hippel Lindau, HB: hemangioblastoma, CCR: carcinoma de células renais, PH: feocromocitoma, HIF: Fator induzível de hipóxia (KAELIN, 2002).

A maioria dessas famílias é caracterizada como tipo 2B e manifestam hemangioblastomas, CCR e feocromocitoma, as famílias do tipo 2A manifestam hemangioblastomas e feocromocitoma com um menor risco de CCR. Finalmente, as famílias com mutações missense específicas, em que o feocromocitoma é a única característica, são designadas como tipo 2C (Tabela 1). Esta classificação tem sido muito útil para estudos de investigação correlacionando os efeitos de uma mutação específica em função da proteína VHL e do fenótipo. Contudo, uma família pode mover-se de um subtipo ao outro (por exemplo, um indivíduo pode apresentar-se com um angioma de retina e um CCR – fenótipo tipo 1 – mas se algo longo do acompanhamento apresentar diagnóstico de feocromocitoma, tornar-se um tipo 2B) (CHEN et al., 1995; WOODWARD; MAHER, 2006).

Em pacientes com a doença de VHL clássica, as análises de mutação por sequenciamento direto e de grandes deleções revela uma mutação da linha germinativa em todos os casos (GOMY et al., 2010; STOLLE et al., 1998). Protocolos de vigilância para monitorar pacientes e familiares membros em

situação de risco têm sido desenvolvidos por vários grupos (CHOYKE et al., 1995).

Os membros da família que antes tinham um risco empírico de 50% de ser afetado, com diagnóstico molecular negativo para mutações no gene *VHL*, não necessitam de monitoramento. Estudos de correlação genótipo-fenótipo têm sido úteis no aconselhamento para o prognóstico (FRIEDRICH, 1999).

## 2.7 Proteína VHL

O produto do gene *VHL*, a proteína pVHL, liga-se a dois fatores de transcrição, elongina B e C (Figura 5) e o seu local de ligação está frequentemente mutado na síndrome VHL (DUAN et al., 1995; KISHIDA et al., 1995). A função normal da proteína envolve inibição do alongamento da transcrição (KIBEL et al., 1995).

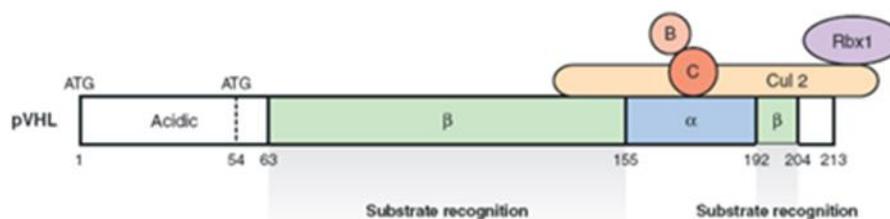


Figura 5: Estrutura esquemática da proteína VHL com seus domínios formando um complexo multiprotéico (adaptado de KAELIN, 2007).

Uma iniciação da tradução alternativa, usando um codon AUG interno (codon 54), produz um produto de gene (pVHL18) com peso molecular de 18 kDa. Quando introduzido em células de carcinoma de células renais carentes do tipo selvagem pVHL, pVHL18 tem efeitos semelhantes como pVHL nativa (ILIOPOULOS; OHH; KAELIN, 1998).

Schoenfeld et al. (1998) identificaram um segundo produto do gene *VHL*. Eles mostraram que esta proteína de 18 kD, é iniciada a partir do segundo sítio de início da tradução no codon 54, que contém uma sequência de consenso de Kozak mais conservada e, portanto, pode servir como um segundo local interno de iniciação de tradução. O significado de um segundo local de início da tradução é enfatizada pela falta de mutações encontradas

entre os primeiro e segundo codons de metionina do gene VHL em ambos os carcinomas renais (esporádico e associado à VHL). Esta observação sugere que a mutação na região pode não levar à inativação do VHL se a tradução puder ser iniciada no segundo codon de metionina, produzindo uma proteína VHL funcional. Assim, a proteína de 18 kD contém a atividade biológica do gene *VHL*.

A proteína VHL30 reside primariamente no citosol, com quantidades inferiores encontradas no núcleo ou em associação com as membranas celulares. Em contraste, VHL19 está igualmente distribuída entre o núcleo e o citosol e não é encontrada em associação com as membranas. Tanto a VHL19 como VHL30, pode ligar-se a elongina B, elongina C e Hs-Cul2 em ensaios de co-imunoprecipitação e pode inibir a produção de proteínas, tais como VEGF – fator de crescimento endotelial vascular e GLUT1 – transportadora de glicose, quando reintroduzidos em células de carcinoma renal, que não possuem um alelo do tipo selvagem de VHL. Assim, as células contêm dois produtos biologicamente ativos do gene de *VHL* (ILIPOULOS et al., 1998).

Os fatores de transcrição, elongina B e elongina C, se ligam *in vitro* e *in vivo*, de uma pequena região da proteína VHL que está frequentemente mutada em tumores humanos. Kibel et al. (1995) mostraram que uma réplica desta região inibiu a ligação da proteína VHL com elongina B e elongina C, ao passo que uma mutação missense pontual, de ocorrência comum em VHL, não teve nenhum efeito. Duan et al. (1995) mostraram que VHL recombinante compete com elongina A pela ligação com a elongina B e C *in vitro*. Os resultados foram interpretados como indicando que a função normal de supressão tumoral da proteína VHL envolve a inibição da transcrição da ligação da elongina B e C (DUAN et al., 1995; KIBEL et al., 1995).

A proteína codificada, pVHL, regula diversas respostas celulares transcricionais à hipóxia. Normalmente, a ubiquitinação da subunidade  $\alpha$  do fator induzido por hipóxia (HIF) de fator de transcrição é mediada pela pVHL e leva à degradação do HIF na presença de oxigênio – figura 6 (KONDO; KAELIN, 2001). Por conseguinte, a perda de pVHL promove o aumento da produção de proteínas codificadas pelos genes transcricionalmente regulados

por HIF, incluindo fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e eritropoietina (VORTMEYER et al., 2003).

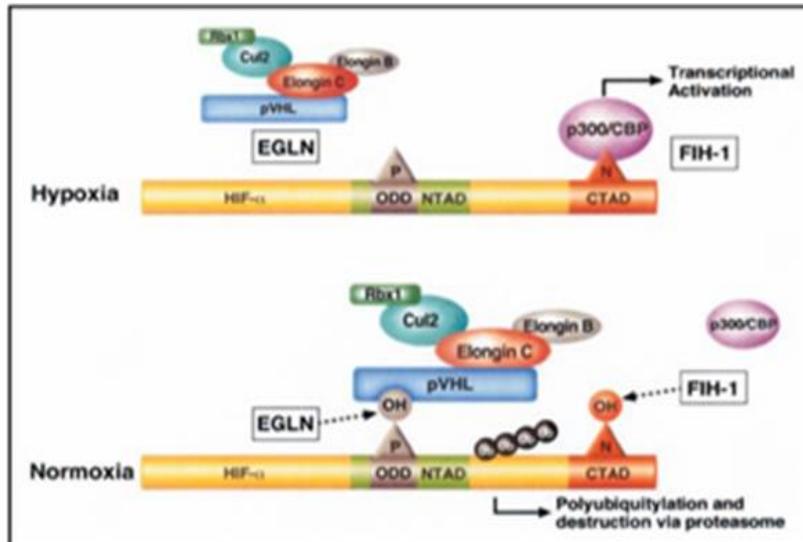


Figura 6: Regulação do fator induzido por hipóxia (HIF- $\alpha$ ) pela proteína VHL em condições normais (normóxia) e de pouco oxigênio (hipóxia). (Adaptado de KIM; KAELIN, 2004).

Embora a perda de pVHL leve a um aumento da expressão do VEGF, explicando a proliferação de vasos sanguíneos não-neoplásicos em HB e a permeabilidade aumentada, permitindo acúmulo de líquido na célula (MACHEIN; PLATE, 2000; WIZIGMANN-VOOS; PLATE, 1996), a proliferação estromal e a histogênese permanecem controversos. A perda da pVHL sozinha com ativação do HIF não promoveu tumorigênese em um modelo animal (MACK et al., 2003). Mutações no gene VHL também ocorrem em angiomas da retina, carcinomas renais, feocromocitomas, tumores nas células das ilhotas, e tumores do saco endolinfático, sugerindo que o potencial para a oncogenicidade em células neuroectodérmicas e neuroendócrinas é sensível à perda de pVHL, possivelmente promovido pela perda de um ou mais genes supressores de tumores (CROSSEY et al., 1994; VORTMEYER et al., 2000).

## 2.8 Tratamento Molecular

A descoberta do gene VHL e do seu papel crítico na regulação do HIF e a resposta celular à hipóxia tem influenciado a busca de novos alvos terapêuticos para o CCR em fase avançada. Dada a relação entre alterações

na função da proteína VHL, levando ao acúmulo do HIF, e subsequente aumento da regulação do VEGF, foi explorado a utilização de um inibidor de VEGF, como uma nova abordagem para o tratamento de CCR (CLARK; COOKSON, 2008).

Uma abordagem para a inibição do VEGF é através da utilização de um anticorpo neutralizador do VEGF, um exemplo de fármaco utilizando o desenvolvimento desse conceito é o Bevacizumab (Avastin, Genentech, Inc.), um anticorpo monoclonal recombinante, humano que se liga e sequestra o VEGF (YANG et al., 2003). Este agente foi testado num ensaio clínico fase dois, com 116 pacientes com CCR avançado que não tinha tratamento prévio com citocinas ou com IFN- $\alpha$  ou IL-2.

Os pacientes foram randomizados para receber Bevacizumab (3 mg/kg) de dose baixa ou uma dose elevada (10 mg/kg), ou placebo. Embora a taxa de resposta parcial não tenha sido relevante (10%) e só visto no braço de alta dose, houve aumento significativo no tempo médio para a progressão da doença no braço de alta dose, comparativamente com o braço placebo. Com base nestes resultados promissores, dois estudos prospectivos, fase três foram iniciados e já concluíram o registro comparando Bevacizumab ao IFN- $\alpha$  como terapia de primeira linha (RINI et al., 2004).

Uma abordagem alternativa para interferir com os eventos de sinalização VHL/HIF é bloquear a função do receptor em vez de bloquear o próprio ligante. Porque os receptores para VEGF, PDGF, TNF- $\alpha$ , todos dependem, pelo menos em parte, sobre a atividade da tirosina-cinase para a sua função de sinalização normal, uma estratégia consiste em bloquear a atividade de tirosina-cinase. Este deve, então, bloquear a sinalização do receptor. Na base da biologia do VHL e CCR, as primeiras tentativas focadas em inibidores relativamente específicos para os receptores do VEGF. Este quadro conceitual resultou no desenvolvimento, testes e agora a aprovação de vários agentes desta classe de drogas recentemente demonstrados em estudos randomizados em larga escala para tratar eficazmente CCR avançado. Há uma expansão de fármacos potencialmente ativos deste tipo (por exemplo: AG-013736, GW572016, PTK787/ZK222584) (KUENEN et al., 2005; KUENEN et al., 2003; SHAHEEN; BUKOWSKI, 2006).

Sorafenib é um biodisponível por via oral multialvo, inibidor da tirosina cinase, originalmente desenvolvido como um inibidor específico da RAF1, um membro da via RAF/MEK/ERK, que se situa próximo a importantes receptores no eixo VHL/HIF. Verificou-se subsequentemente bloqueio da sinalização de uma variedade de tirosina-cinases adicionais, incluindo VEGFR, PDGFR, bem como outras. Esse medicamento é utilizado para pacientes com CCR avançado (CLARK; COOKSON, 2008; ESCUDIER et al., 2007).

Sunitinib também é um inibidor da tirosina-cinase, multialvo que é biodisponível por via oral. Foi demonstrado que sua ação bloqueia a sinalização de vários receptores importantes no CCR, como VEGFR (tipos 1, 2 e 3), bem como do PDGFR.

Os resultados promissores de um estudo fase um utilizando este agente foram confirmados em dois estudos de fase dois em pacientes que ainda não tinham sido submetidos a terapia sistêmica de citocinas seguido por um grande estudo prospectivo, ensaio de fase três, randomizado, em pacientes que não tinham recebido a terapia sistêmica prévia, os resultados foram encorajadores. Esses estudos revelam que Sunitinib oral é substancialmente melhor do que IFN- $\alpha$  para CCR avançado. Com base nesses resultados, o FDA (*Food and Drug Administration*) - aprovou o uso do Sunitinib juntamente com o Sorafenib para uso em CCR avançado (CLARK; COOKSON, 2008; MOTZER et al., 2007).

Outra estratégia em interromper esta cascata VHL/HIF é reduzir os níveis iniciais de HIF- $\alpha$ . Um dos reguladores importantes de HIF- $\alpha$  e os níveis de expressão da proteína na célula subsequentes é a via Akt/mTOR. Há vários fármacos que têm sido estudados, que inibem este caminho e agem diminuindo HIF- $\alpha$ , incluindo a Rapamicina e Everolimus (RAD-001, Novartis). No entanto, o agente que recebeu a maior atenção e estudo em CCR avançado foi o Temsirolimus (CCI-779, Wyeth).

Temsirolimus é um éster de sirolimus, solúvel em água, que é capaz de inibir a atividade da cinase de mTOR, levando a célula a parar o ciclo. Ensaios fase dois foram realizados para avaliar a sua eficácia tanto na combinação com IFN- $\alpha$ ; como citocina como agente único em CCR avançado refratário. Os resultados demonstraram que Temsirolimus como monoterapia melhorou não

só a sobrevida livre de progressão, mas também melhorou a sobrevida global em comparação com IFN- $\alpha$  ou terapia de combinação. Com base nesses resultados, Temsirolimus foi agrupado a Sunitinib e Sorafenib como agentes aprovados para uso em CCR avançado (CLARK; COOKSON, 2008).

O estudo intenso do eixo sinalização VHL/HIF continua com a expectativa de que novos agentes seguirão a partir dos três compostos recém-aprovados (CLARK; COOKSON, 2008). Há seis novos medicamentos no mercado aprovados para CCR avançado, baseados em grande parte em pesquisas sobre o gene VHL e seu produto proteico, pVHL:

- Bevacizumab (Avastin)
- Sunitinib (Sutent)
- Sorafenibe (Nexavar)
- Everolimus (AfiNitor)
- Temsirolimus (Torisel)
- Pazopanib (Votrient)

Houve algumas tentativas limitadas destas drogas para VHL. Até agora, o rim e os tumores do pâncreas mostraram respostas limitadas a estas drogas, o cérebro e tumores medulares mostraram quase nenhuma resposta. O julgamento de Pazopanib para VHL está apenas começando, mais drogas virão no mercado, segmentação de diferentes pontos na sinalização mostrando estas vias de inibição da produção de uma proteína, ou inibir a sua capacidade de "receptor" para receber o sinal. Além disso, espera-se que as próximas gerações de agentes sejam mais especificamente direcionadas ao alvo para terem menos efeitos adversos (VHL FAMILY ALIANÇA, 2012).

## **2.9 Modelo Animal**

Para expressar hemangioblastoma de retina foi desenvolvido um modelo de peixe-zebra que expressou a neovascularização da retina pelo vazamento vascular, edema e descolamento retinal (VAN ROOIJEN et al., 2010).

Este modelo manifestou certos aspectos da degeneração macular relacionada com a idade, retinopatia diabética e alguns casos de VHL. No

entanto, o peixe-zebra não desenvolveu hemangioblastomas. van Rooijen et al. (2010) foram capazes de usar esse modelo de peixe-zebra para demonstrar a inibição da angiogênese através da administração de inibidores da tirosina cinase do receptor de VEGF, nomeado como Sunitinib e 676475.

Estudos pré-clínicos com animais são necessários para o avanço das terapias-alvo; por oferecerem a capacidade de observar a interação do tumor com o microambiente. No caso de VHL, entende-se que células estromais inativadas (células tumorais) atuam sobre as células endoteliais vizinhas (CHAN et al, 1999, VORTMEYER et al, 2003).

Rankin et al. (2006) foram os primeiros a desenvolver um modelo com micro e macrocistos renais com morfologia e características moleculares semelhante às encontradas na doença renal associada à VHL. Suficiente para gerar lesões císticas com morfologia de células claras benigna, um indicativo característico pré-neoplásico. Além disso, para testar qual o elemento VHL teve maior contribuição para o fenótipo, o grupo criou um duplo nocaute deste modelo para HIF- $\beta$  e HIF-1 $\alpha$ .

O modelo VHL/HIF-1 $\alpha$  dKO foi capaz de impedir a formação de cistos, mas os modelos VHL/HIF-2 $\alpha$  dKO e VHL/HIF- $\beta$  dKO foram capazes de parar a formação de cistos. Além disso, pensa-se que o papel da pVHL na manutenção ciliar contribui para a formação de cistos. Em segundo plano, a inativação da pVHL, a inibição adicional da GSK3  $\beta$ , por meio da superexpressão da sinalização PI2K, provoca a perda de cílios (THOMA et al., 2007; THOMA; FREW; KREK, 2007).

Um modelo usando o fator de insulina 1 (PDX) demonstrou a penetrância incompleta expressa em cistos e adenomas microcísticos altamente vascularizados, em *nocautes* da expressão VHL em todo o pâncreas (SHEN et al., 2009).

Com relação aos outros modelos, as explicações possíveis é que há a necessidade de outros eventos antes que estas massas apareçam. Além disso, há uma falta de superexpressão de HIF-2 $\alpha$  nas células pancreáticas (CANTLEY et al., 2009; WIESENER et al., 2003). HIF é um elemento fundamental para a formação de outros tumores associados à VHL (RAVAL et al., 2005).

PTEN (Fosfatase homóloga a tensina), um supressor de tumor envolvido na regulação da PI2K-AKT-mTOR – via de sinalização intracelular (VIVANCO et al., 2007) está ausente e HIF1 $\alpha$  é elevado em tecido de cistoadenoma de célula clara humana. Os camundongos geneticamente modificados foram cruzados para gerar um modelo de camundongo deficiente para VHL e PTEN e específico para o epitélio do trato genital. Estes camundongos foram capazes de desenvolver cistoadenoma de células claras do trato genital em machos e fêmeas. Camundongos com um único *nocaut* exibido apenas um fenótipo leve. Curiosamente, metaplasia escamosa, também foi observado que não está associado com VHL (GLASKER et al., 2006).

Modelos animais atuais podem manifestar parcialmente a síndrome VHL em um órgão em particular (Tabela 2). No entanto, ainda é necessário desenvolver um modelo que manifeste a síndrome VHL. Outras manifestações tais como tumores do saco endolinfático, feocromocitoma, hemangioblastomas cervicais e cerebelares não foram desenvolvidos em qualquer um dos modelos já estudados (PARK; CHAN, 2012).

Tabela 2: Modelos animais disponíveis para síndrome von Hippel Lindau

AUTORES	ORGÃO	CONTROLE CELULAR	ANIMAL	FENÓTIPO DA DOENÇA
van Rooijen et al., 2010	Olho	-	Peixe zebra	Neovascularização, sem HB
Rankinet al., 2006	Rim	Túbulo proximal/PEPCK	Camundongo	Cistos, sem CCR
Shen et al., 2009	Pâncreas	Pancreas/Pdx	Camundongo	Cistos, microcistoadenomas
Frewet al., 2008	Trato Geniturinário	Célula epitelial tubular	Camundongo	Cistos
Haase et al., 2001; Ma et al., 2003	Fígado	-	Camundongo	HB cavernosos

HB: hemangioblastoma, CCR: Carcinoma de células renais, PEPCK: fosfoenolpiruvato carboxiquinase, Pdx: fator promotor de insulina 1 (PARK; CHAN, 2012).

## 2.10 Aconselhamento genético

O aconselhamento genético é o processo de prestação de informações a indivíduos e famílias sobre a natureza, a herança e as implicações de doenças genéticas. Tem sido relatado que cerca de 80% dos indivíduos diagnosticados com a síndrome VHL tem um pai afetado enquanto que mutações “de novo” do gene *VHL* é estimada em cerca de 20% dos probandos. Se a mutação causadora da síndrome VHL é detectada no probando, deve ser disponibilizada aos pais do probando uma triagem oftalmológica e uma avaliação abdominal por exame de imagem (ILIOPOULOS; ENG, 2000).

O padrão de atendimento no aconselhamento genético antes e depois de passar por um teste molecular deve abranger tanto pacientes quanto familiares. A pessoa que presta o aconselhamento deve assegurar ao paciente ou familiar os benefícios potenciais e desvantagens do conhecimento de ter uma mutação genética que os coloca em risco elevado para o desenvolvimento de tumores. Isto inclui prepará-los para as reações comuns que outros pacientes e famílias experimentaram depois de receber um diagnóstico,

incluindo ansiedade, isolamento, negação e culpa (LANGSLEY; WOLTON; GOODMAN, 1964).

Aconselhamento genético em pacientes com VHL ainda é considerado pouco viável, considerando que essa síndrome é rara e que alguns locais ainda não dispõem de centros de estudo para acompanhamento de indivíduos com essa síndrome. Por outro lado, o tratamento cirúrgico de tumores individuais, tais como o hemangioblastomas de SNC, feocromocitomas, tumores pancreáticos entre outros continuam a serem realizados sem um diagnóstico conclusivo de VHL pré-tratamento, impedindo dessa forma que esses pacientes busquem centros especializados para acompanhamento tanto do paciente como de seus familiares (GUTJAHR, 2000).

O teste genético molecular de membros da família em situação de risco é adequado para determinar a necessidade de vigilância clínica quando uma mutação germinativa causadora da doença for identificada em um membro da família afetada. Aqueles que têm a mutação causadora de doença devem requerer vigilância regular, enquanto os membros da família que não herdaram a mutação causadora da doença e seus descendentes não necessitam desse acompanhamento. O teste genético molecular pode ser considerado em crianças com menos de cinco anos (ASCO, 2003).

O teste genético molecular é indicado em todos os indivíduos que apresentam quadro clínico ou tenham suspeita da síndrome VHL. Uma vez que a taxa de detecção de mutações do gene *VHL* é cerca de 100%, o teste molecular pode também ser usado para avaliar indivíduos com um único tumor associado à VHL e uma história familiar negativa da doença. Além disso, para os indivíduos com manifestações da síndrome VHL, que não satisfazem os critérios diagnósticos rigorosos e que não têm uma mutação germinativa detectável, mosaïcismo somático por uma mutação “de novo” causadora da doença deve ser considerado (RASMUSSEN et al., 2006).

### 2.10.1 Cuidado familiar

Segundo o Ministério da Saúde (2001), família pode ser definida como um grupo de pessoas com vínculos afetivos de consanguinidade ou de

convivência, sendo o primeiro núcleo de socialização que transmite valores e costumes que formarão a personalidade e patrimônio cultural do indivíduo. Em geral, a família constitui-se como um contexto social importante, sendo no processo saúde-doença uma unidade de atenção primária na saúde e no cuidado de seus membros (ELSEN, 2004).

A doença é um processo que provoca mudanças na estrutura de vida das famílias, levando seus membros a reestruturar sua vida para conviver com a doença. Tendo um de seus membros doente, a família tende a se esforçar para garantir o bem estar do familiar e aliviar o impacto da situação estressante imposta pela doença (DE MARTINNI et al, 2007).

A família está representada no hospital por um dos seus membros, que assume o papel de cuidador e se constitui no elo entre esta e o hospital. Possui o papel importante na construção da saúde familiar, na manutenção de vínculos, na recuperação e nos cuidados prestados ao ser doente durante e após a intervenção. Sendo uma unidade de cuidar e ser cuidada (SOUZA, RIBEIRO, ECKERT, 2003).

Enquanto unidade de cuidado para a enfermagem, a família pode ser considerada um sistema de saúde para os seus membros, permeado de um conjunto de valores, crenças, conhecimentos e práticas que guiam suas ações na promoção da saúde, prevenção e tratamento da doença, realizando suas atividades e mantendo um bom relacionamento entre o paciente e sua família (ELSEN, 2004).

Neste contexto, visando à participação dos profissionais no cuidado a família, as enfermeiras canadenses Wright e Leahey desenvolveram o Modelo Calgary de Avaliação da Família (MCAF), que é baseado em uma estrutura multidimensional, integrando conceitos da Teoria dos Sistemas, da Cibernética, da Comunicação e fundamentos teóricos de mudança e da biologia da cognição (WRIGTH; LEAHEY, 2002). Assim, é constituído por três categorias principais: estrutural, de desenvolvimento e funcional.

A categoria estrutural compreende a estrutura da família, ou seja, quem faz parte dela, qual é o vínculo afetivo entre seus membros em comparação com os indivíduos de fora, e qual é o seu contexto. Três aspectos da estrutura familiar podem ser examinados prontamente: elementos internos, elementos

externos e contexto. Na estrutura interna da família a sua composição é desenhada descrevendo aspectos como: quem faz parte dessa família; quem mora na residência; quem mudou; quem é considerado pertencente ao grupo; ordem de nascimento; quem é o mais velho, as idades, as doenças, os óbitos, os abortos (FIGUEREDO; MARTINS, 2010).

Na estrutura externa trabalha-se com a família extensa, ou seja, a sua parentela. Neste sentido, é importante entender o valor que a família lhe atribui, se há ou não uma comunicação e integração entre os familiares, mesmo entre os distantes geograficamente. O instrumento preconizado para avaliação estrutural da família é o genograma, que consiste em uma árvore familiar que representa a estrutura familiar interna. O esboço do genograma tende a seguir gráficos convencionais genéticos e genealógicos. Este instrumento desencadeia informações úteis tanto para a família como para os profissionais da saúde. Ao se realizar o genograma, é importante incluir pelo menos três gerações, pois isto propicia a coleta de informações ricas sobre relacionamentos ao longo do tempo, incluindo dados de saúde, doença, ocupação, religião, etnia e migração. O outro instrumento utilizado é o ecomapa, o qual, como no genograma, permite uma visão geral da família, retratando relações importantes de educação ou relações conflituosas e de opressão entre a família e o mundo. Demonstra o fluxo ou a falta de recursos e as privações e tem como objetivo representar os relacionamentos dos membros da família com os sistemas mais amplos. Os membros da família podem ter participação ativa em sua elaboração (FIGUEREDO; MARTINS, 2010).

Nesse contexto investigam-se questões como etnia, raça, classe social, religião e ambiente; a categoria de desenvolvimento refere-se à transformação progressiva da história familiar durante as fases do ciclo de vida: sua história, o curso de vida, o crescimento da família, o nascimento; a categoria funcional refere-se ao modo como os indivíduos da família interagem. Podem ser explorados dois aspectos: o funcionamento instrumental, que se refere às atividades da vida cotidiana, e o funcionamento expressivo, que diz respeito aos estilos de comunicação, solução de problemas, papéis, crenças, regras e alianças (WRIGTH; LEAHEY, 2002).

Assim, a aplicação do Modelo Calgary de Avaliação da Família (MCAF), para a avaliação familiar, permite que a equipe de enfermagem elabore intervenções que ajude não apenas o paciente, mas também a sua família. Proporcionando soluções para seus problemas e alívio do sofrimento físico, emocional e espiritual.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Caracterizar a base molecular do gene *VHL* associado à Síndrome von Hippel Lindau em uma família com hemangioblastoma de sistema nervoso central no Estado do Maranhão

#### **3.2 Objetivos Específicos**

Identificar a mutação germinativa no gene *VHL* segregada na família

Descrever os aspectos clínicos dos indivíduos com lesões associadas a Síndrome von Hippel-Lindau

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

Todos os procedimentos e técnicas utilizados no presente estudo foram realizados no Laboratório de Estudos Genéticos e de Histocompatibilidade-LEGH, do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão e Laboratório de Genética e Biologia Molecular – GENBIMOL, da Universidade Estadual do Maranhão – Centro de Estudos Superiores de Caxias - CESC.

### **4.1 Aspectos Éticos**

Este trabalho é a continuação de um estudo já submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão - HUUFMA, sob processo n.33104-647/2007 (Anexo A). Antes da coleta do material biológico de cada indivíduo, foi lido e entregue o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e, somente depois de assinado, foi realizada a coleta (Apêndice B).

### **4.2 Amostra**

A amostra foi composta por indivíduos pertencentes a uma família com diagnóstico clínico da síndrome VHL. O probando foi internado na clínica de neurocirurgia de um Hospital Universitário, com quadro clínico de cefaléia intensa, náuseas, tontura e astenia. Ao ser realizado tomografia computadorizada de crânio, foi evidenciado hemangioblastoma vascularizado pela artéria cerebelar póstero-inferior esquerda e hidrocefalia; e laudo radiológico sugerindo investigar correlação com VHL (Apêndice C).

Na entrevista para elaboração do Histórico de Enfermagem (instrumento utilizado pela Enfermagem para obtenção de dados clínicos de pacientes), foi encontrada história familiar de dois irmãos com quadro clínico semelhante. A partir de então, se iniciou processo de coleta de dados, com visita ao Povoado de Bituba, no município de Alcântara-MA, local onde reside o maior número de familiares. Assim como, em São Luís, Bequimão, Pinheiro e São Bento no Maranhão.

A entrevista permitiu o estudo de quatro gerações. Dados importantes sobre a história de saúde familiar não foram possíveis coletar, pois os recursos de diagnóstico e tratamento da rede de serviços de saúde não eram disponíveis na época e nos locais onde eles residiam. Muitos dos familiares não tinham acesso aos serviços de saúde utilizando tratamentos alternativos que dificultavam dessa forma a conclusão diagnóstica.

Foram considerados pacientes aqueles indivíduos que ao longo do acompanhamento apresentaram uma das lesões características da síndrome VHL (hemangioblastoma de SNC ou retina, tumor do saco endolinfático, carcinoma de célula renal, feocromocitoma, cisto ou tumor no pâncreas).

Familiares em risco corresponderam aos indivíduos pertencentes a família em estudo e que até o momento não desenvolveram nenhuma lesão associada a síndrome VHL.

Assim, tivemos como casuística:

- Oito indivíduos com lesões associadas à síndrome VHL, sendo que sete realizaram teste molecular e um não realizou por evoluir a óbito antes do consentimento esclarecido, e;
- Oitenta e nove familiares em risco.

### **4.3 Caracterização clínica**

Foi utilizada uma adaptação de Hodgson et al. (2007), que consiste no acompanhamento dos indivíduos afetados ou portador de mutação, onde deve ser realizado exame físico e neurológico, oftalmoscopia direta e indireta e dosagem de metanefrinas (plasmática e urinária) e tomografia computadorizada (TC) do encéfalo e abdome anualmente. Nos casos de diagnóstico de lesão identificados pela TC foi realizada ressonância nuclear magnética (RNM) para confirmação da localização da lesão. Para familiares em risco, o acompanhamento só foi realizado quando estes referiam queixas clínicas E após teste molecular positivo para mutação germinativa da família. O acompanhamento foi realizado conforme fluxograma abaixo:

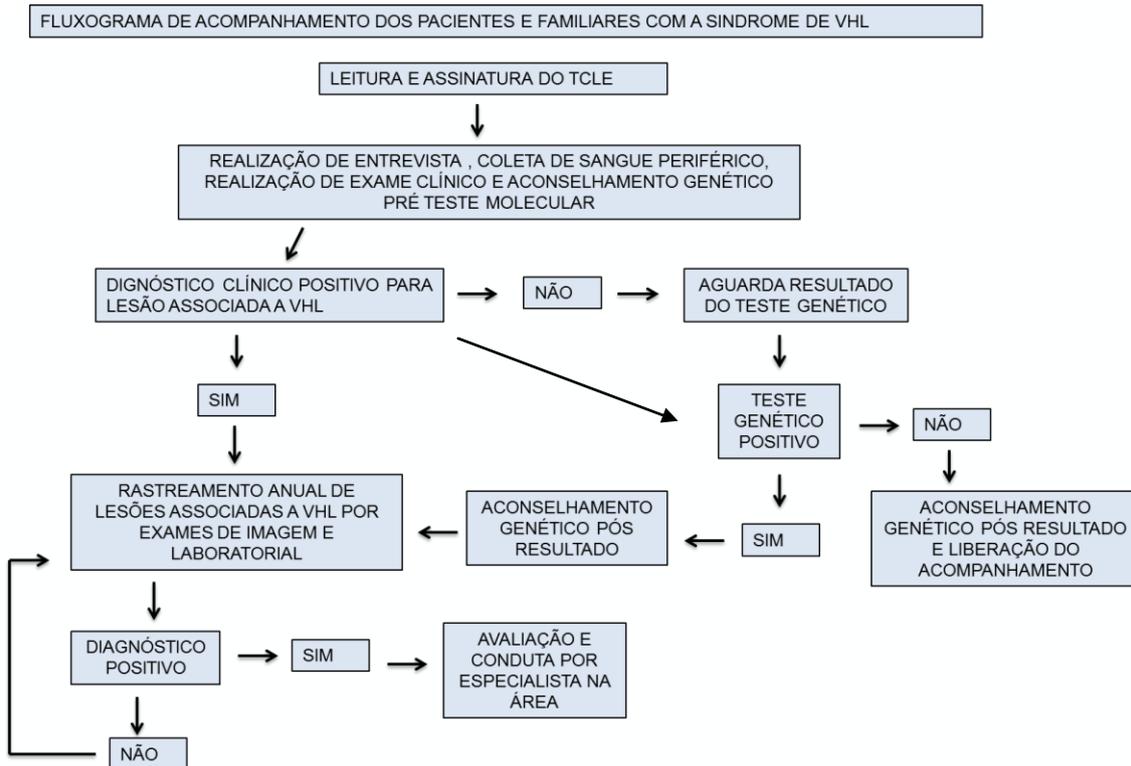


Figura 7: Fluxograma de Acompanhamento dos pacientes e familiares em risco para a síndrome de von Hippel Lindau.

#### 4.4 Extração de DNA

Para extração do DNA foram coletados quatro mililitros de sangue periférico, seguindo os protocolos estabelecidos pelo fabricante do kit Charge Switch gDNA (Invitrogen, USA). Após extração, as amostras foram quantificadas em espectrofotômetro para verificar a concentração (que deve ser de 100ng) e a pureza do DNA, sendo confirmadas através de uma eletroforese em gel de agarose a 1%.

#### 4.5 Reação em cadeia da polimerase – Amplificação de Múltiplas Sondas Dependente de Ligação (PCR-MLPA)

A amplificação foi realizada por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) em um volume total de 50µL. Essa técnica é realizada em dois dias, no primeiro dia foram realizadas as etapas de desnaturação e hibridização e no dia seguinte as etapas de ligação e a PCR.

## Dia 1

### Desnaturação

Foram adicionados 5 $\mu$ L de DNA (100ng) em cada poço e adicionado randomicamente água para controle negativo. Em seguida, colocou-se a placa no termociclador por cinco minutos a 98°C e resfriado a 25°C.

### Reação de hibridização

Preparou-se um mix contendo 1,5 $\mu$ L de Tampão MLPA e 1,5 $\mu$ L de Sonda probemix. E adicionou-se à placa DNA desnaturado. Essa reação foi incubada por um minuto a 95°C e deixado por 20 horas a 60°C.

## Dia 2

### Reação de Ligação

Preparou-se um mix contendo 25 $\mu$ L de água, 3 $\mu$ L de tampão de ligase A, 3 $\mu$ L de tampão de ligase B e 1 $\mu$ L de enzima ligase-65. As amostras foram incubadas a 54°C e a seguir 32  $\mu$ L do mix de ligase em cada amostra, dando continuidade a termociclagem a 54°C por 15 minutos, seguido por cinco minutos a 98°C e em seguida a 20°C.

### Reação de PCR

O mix consistiu de 7,5 $\mu$ L de água, 2 $\mu$ L de salsa PCR primer e 0,5 $\mu$ L de salsa polimerase. À temperatura ambiente, foram transferidos 10 $\mu$ L do mix de polimerase em cada amostra, dando continuidade a termociclagem com 35 ciclos a 95°C por 30 segundos, 60°C por 30 segundos, 72°C por 60 segundos e finalizar com 72°C por 20 minutos e, em seguida, a 15°C. Após termociclagem, os produtos de PCR foram armazenados a 4°C, envoltos em papel alumínio.

#### **4.6 Reação de Sequenciamento**

Foi utilizada uma alíquota de 0,7µL do produto de PCR e acrescido um mix de 0,2 µL de LIZ500 com 9,0 µL de formamida. A seguir a reação foi incubada a 98°C por dois minutos em termociclador e resfriada imediatamente após a incubação. Foram aplicadas randomicamente na placa cinco amostras controle. O sequenciamento foi realizado no ABI 3500 (Life Technology). Para a triagem de mutações, todas as amostras sequenciadas foram analisadas utilizando-se o programa GeneMaker v1.97.

## 5 RESULTADOS

A obtenção da história familiar de portadores de doença genética é um dos aspectos mais importantes no diagnóstico de tumores hereditários. Conforme demonstra o heredograma da família, trata-se de uma família típica para Síndrome de Von Hippel Lindau.

Para descrever a história familiar foi utilizado o heredograma, que representa a herança genética de determinada característica de indivíduos. O heredograma a seguir demonstra a ocorrência das lesões características da Síndrome de von Hippel Lindau (Figura 8). A média de idade dos indivíduos no momento do diagnóstico da primeira lesão foi de 29 anos. De acordo com o acompanhamento clínico, exames de imagem (tomografia computadorizada e ressonância nuclear magnética), assim como exame histopatológico e oftalmoscopia foram possíveis diagnosticar hemangioblastoma de sistema nervoso central e retina, cisto pancreático e massa tumoral renal (Tabela 3).

Todos os indivíduos que apresentaram lesões associadas à síndrome VHL foram acompanhados por uma equipe multiprofissional, de acordo com o protocolo proposto (Apêndice A), aqueles que apresentaram alterações nos exames clínico, laboratorial e/ou de imagem eram avaliados sob a necessidade de tratamento clínico ou cirúrgico, caso houvesse necessidade era realizado a cirurgia. Aqueles que apresentavam lesões, mas que não havia necessidade de cirurgia era acompanhado para verificar a evolução do quadro.

Durante acompanhamento, os oito indivíduos com lesões não apresentaram feocromocitoma, cujas dosagens de metanefrinas urinárias e plasmáticas foram consideradas dentro dos parâmetros para normalidade. Exames de audição foram realizados somente nos indivíduos que referiram sintomas, cujos resultados foram sem alterações. Não foram pesquisados tumores do sistema reprodutivo devido ausência de sintomas.

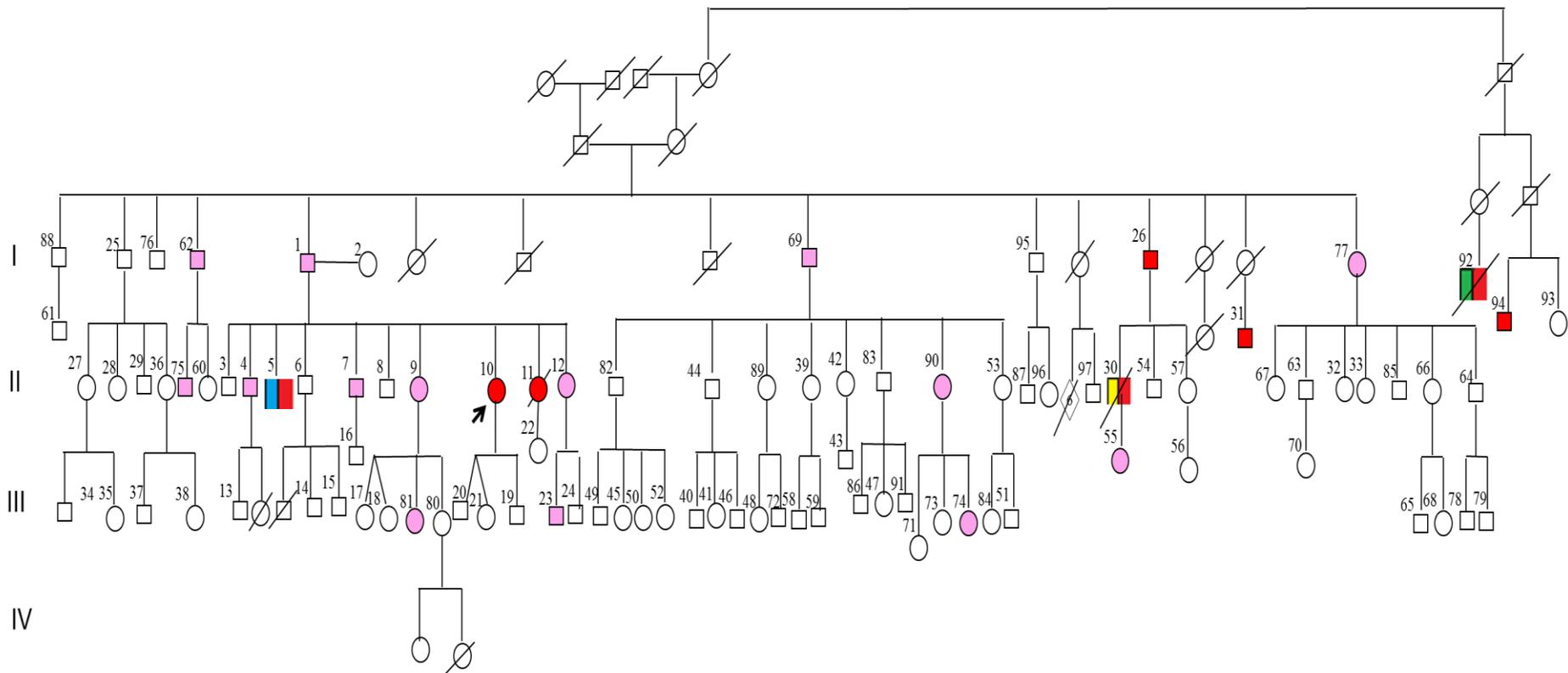


Figura 8: Heredograma demonstrando as características clínicas e moleculares dos indivíduos em estudo. Quadrados representam gênero masculino; círculos: feminino; todos os casos coloridos apresentaram deleção; coloração vermelha: hemangioblastoma de sistema nervoso central; verde: massa tumoral bilateral no rim; amarelo: hemangioblastoma de retina; azul: cisto pancreático; rosa: casos assintomáticos com a deleção c.1-?\_340+?; seta: representa o probando do estudo; reta em diagonal: óbitos; losangos: representa mais de um indivíduo (seis abortos) e; números em romano indicam as gerações da família.

Tabela 3: Indivíduos com lesões associadas a síndrome VHL segundo idade ao diagnóstico da primeira lesão, sexo, localização e descrição clínica da lesão, tratamento e óbito. São Luís - MA, 2013.

Indivíduo	Idade ao diagnóstico da 1ª lesão (em anos)	Sexo	Localização da lesão	Descrição Clínica	Tratamento	Óbito
Caso 5	20	M	Cerebelo e medula cervical	nHB	- Microcirurgia para tumores cerebrais	Não
Caso 10	22	F	Pâncreas Cerebelo, tronco cerebral e medula cervical	CP nHB	- Clínico - Microcirurgia para tumores cerebrais e DVP	Não
Caso 11	19	F	Medula torácica a lombar (T11 – L3)	nHB	- Microcirurgia para tumores cerebrais e Artrodese de coluna via posterior	Sim
Caso 26	62	M	Cerebelo e medula cervical	nHB	- Microcirurgia para tumores cerebrais	Não
Caso 30	23	M	Tronco cerebral, medula cervical e torácica (C3 – T3)	nHB*	- Microcirurgia para tumores cerebrais	Sim
Caso 31	25	M	Retina Cerebelo e tronco cerebral	rHB nHB**	- N.A. - Microcirurgia para tumores cerebrais	Não
Caso 92	44	M	Cerebelo e tronco cerebral	nHB	- Microcirurgia para tumores cerebrais	Sim
Caso 94	23	M	Rim bilateral Cerebelo e tronco cerebral	Massa Tumoral Renal*** nHB**	- N.A. - Microcirurgia para tumores cerebrais	Não

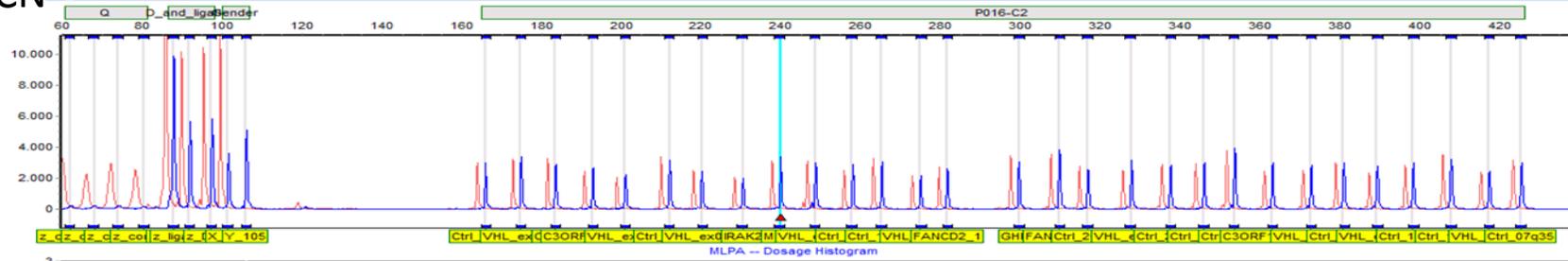
Média de Idade 29  
ao diagnóstico

Legenda: nHB – hemangioblastoma de sistema nervoso central; rHB – hemangioblastoma de retina; CCR – carcinoma de células renais; CP – cisto pancreático; DVP – Derivação Ventrículo Peritoneal; \* - apresentou nHB três vezes; \*\* - apresentou nHB duas vezes; \*\*\* - diagnosticado por TC e RNM; N.A.: não avaliado.

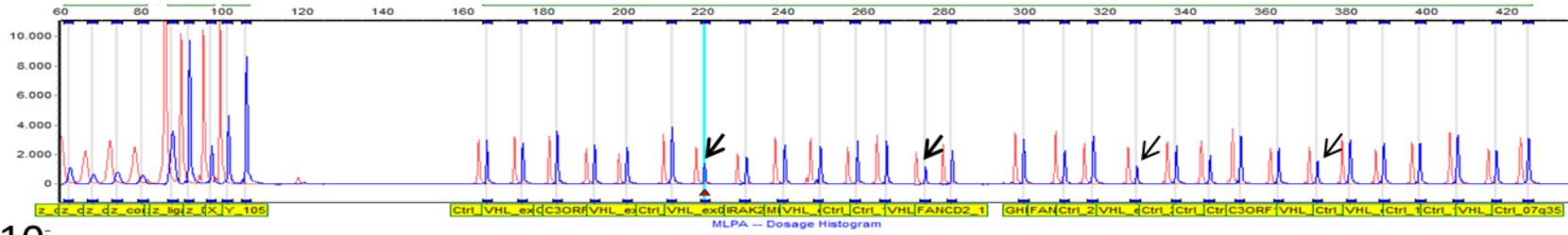
Para o diagnóstico molecular foi utilizado a técnica de amplificação de múltiplas sondas dependente de ligação (MLPA) em todos os indivíduos com clínica. O resultado identificou a deleção c.1-?\_340+? nos casos 05, 10, 26, 30, 31, 92 e 94, correspondendo aos indivíduos que apresentaram lesão clínica associada a VHL, o caso 11, embora tenha confirmação de diagnóstico de hemangioblastoma de SNC, evoluiu a óbito antes do consentimento informado para coleta de sangue periférico para realização de diagnóstico molecular (Figura 9).

Os sinais de pico no eletroferograma correspondem às oito sondas referentes ao gene VHL, exon1 (quatro sondas), o exon 2 (duas sondas) e exon 3 (duas sondas). Enquanto que todos os outros picos representam 21 sondas de controle para outros loci cromossômicos, incluindo o gene FANCD2 (grupo D2 de complementação anemia de Fanconi) (3 sondas) e uma sonda do gene IRAK2 (interleucina-1 associada ao receptor cinase 2) que, semelhante ao VHL, estão localizados no cromossomo 3 (3p). Em MLPA, uma redução de 40-50% da intensidade do sinal da sonda indica tipicamente deleção heterozigótica da sequência genômica correspondente.

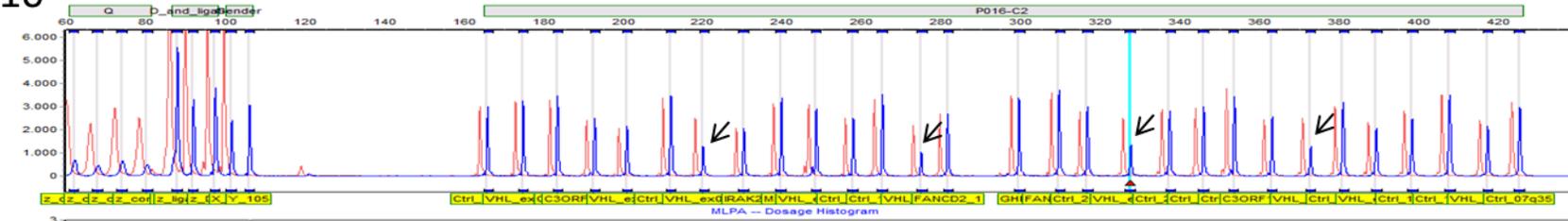
CN



M05



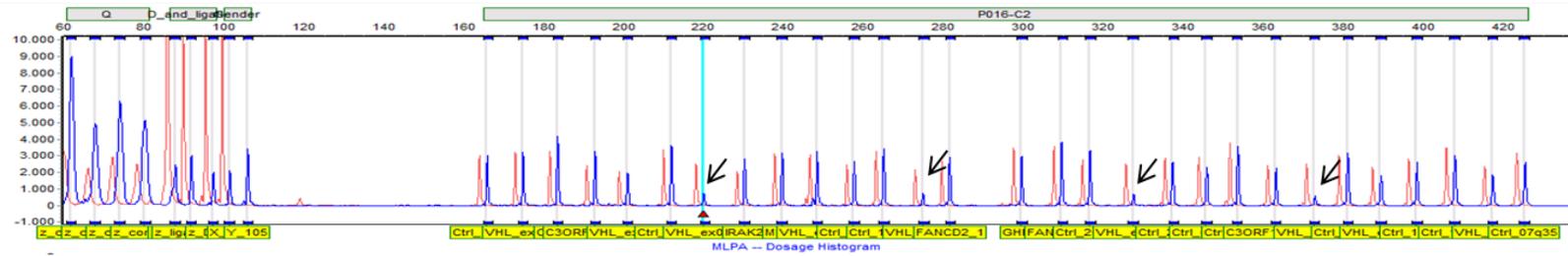
F10



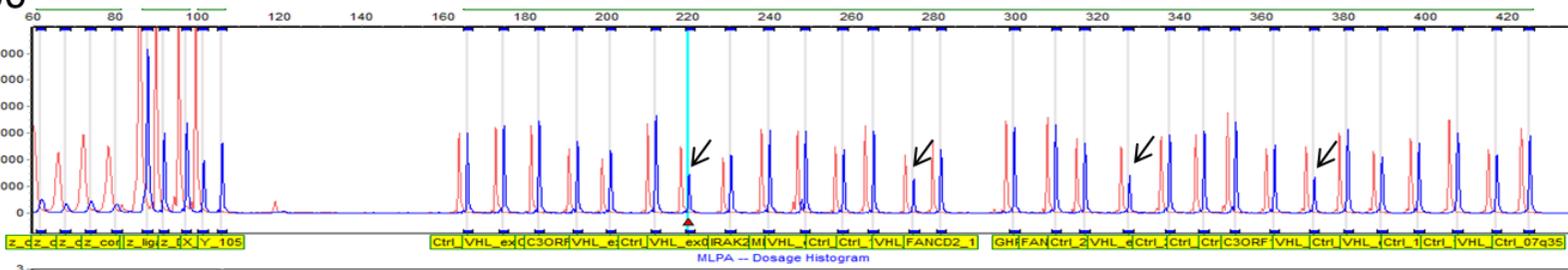
(continua)

(continua)

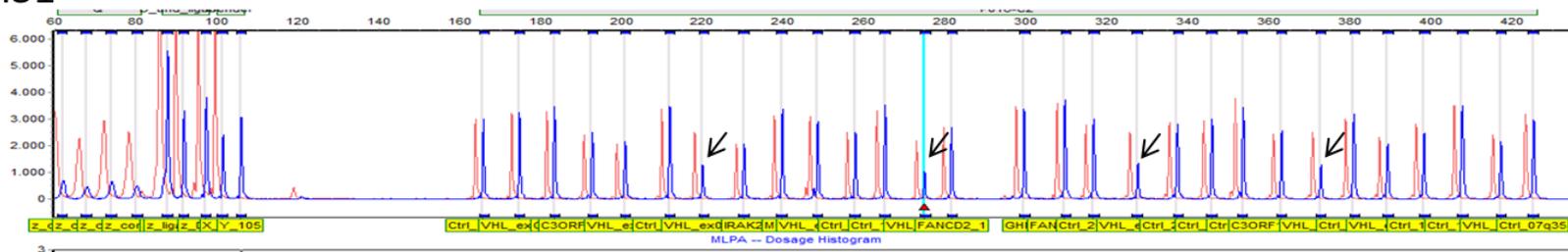
M26



M30

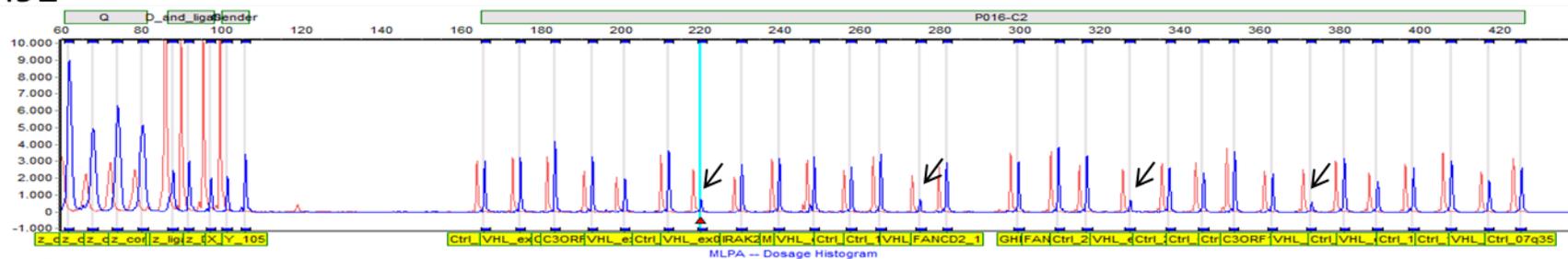


M31



(continua)

M92



M94

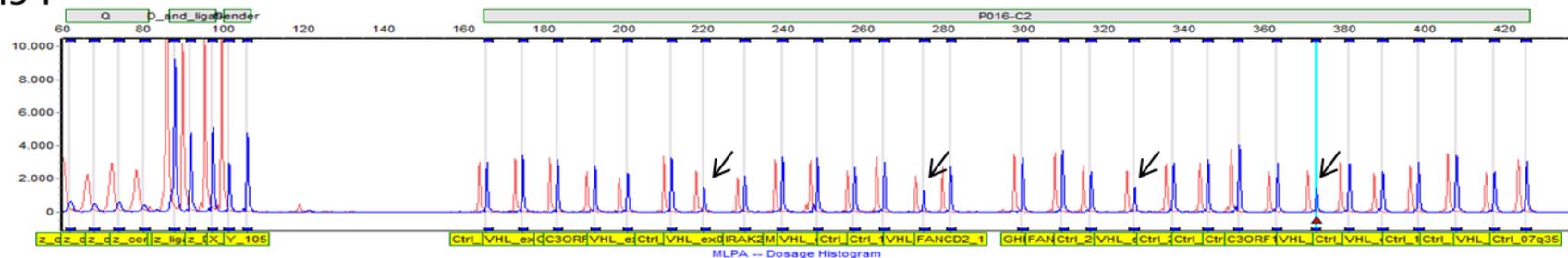


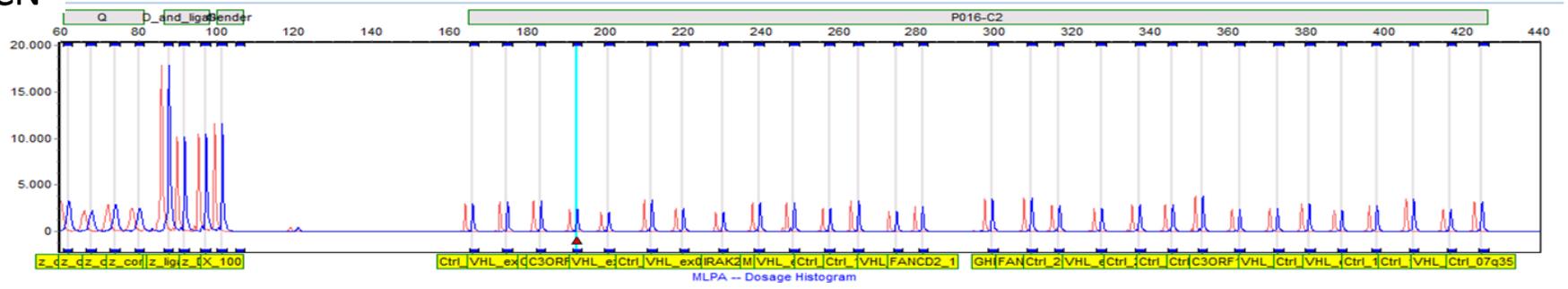
Figura 9: Eletroferograma dos indivíduos que apresentaram lesões associadas a síndrome von Hippel Lindau, demonstrando a deleção c.1-?\_340+?, pela técnica de MLPA. A localização das setas indicam a diminuição do sinal das quatro sondas do exon 1. CN: controle negativo; M: sexo masculino acompanhado do número correspondente ao indivíduo no heredograma, F: feminino. A descrição da mutação está de acordo com a nomenclatura para a descrição de variações proposta pela Sociedade das Variações do Genoma Humano (<http://www.hgvs.org/mutnomen>).

Além dos indivíduos com lesão associada a síndrome VHL, o teste molecular foi realizado em todos os familiares. Sendo encontrada a mesma deleção em 14 indivíduos, os casos 01, 04, 07, 09, 12, 23, 55, 62, 69, 74, 75, 77, 81 e 90 (Figura 10). Não houve diferença em relação ao sexo, sete mulheres e sete homens apresentaram a deleção c.1-?\_340+?,. Quanto a idade variou de 06 a 71 anos, com média de 34 anos (Tabela 4). Após confirmação molecular estes indivíduos foram submetidos aos procedimentos para triagem de lesões associadas à síndrome. Contudo, permanecem assintomáticos, ou seja, sem diagnóstico de lesões associadas à síndrome VHL, em algumas situações de queixa foram realizados exames clínicos, de imagem e/ou de laboratório para elucidação diagnóstica. Os demais familiares, 75 indivíduos não apresentaram alterações no teste molecular, assim como não apresentam características clínicas associadas à síndrome VHL.

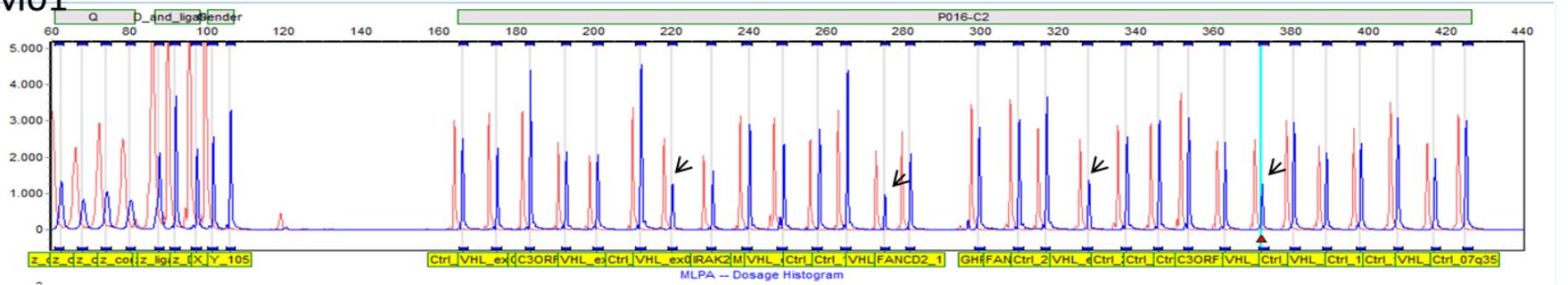
Tabela 4: Familiares em risco que apresentaram a deleção c.1-?\_340+?, pela técnica de MLPA segundo idade e sexo, São Luís - MA, 2013.

Indivíduo	Idade atual (anos)	Sexo
Caso 01	68	M
Caso 04	36	M
Caso 07	34	M
Caso 09	42	F
Caso 12	25	F
Caso 23	06	M
Caso 55	09	F
Caso 62	64	M
Caso 69	71	M
Caso 74	07	F
Caso 75	10	M
Caso 77	53	F
Caso 81	18	F
Caso 90	35	F
Média de idade	34	

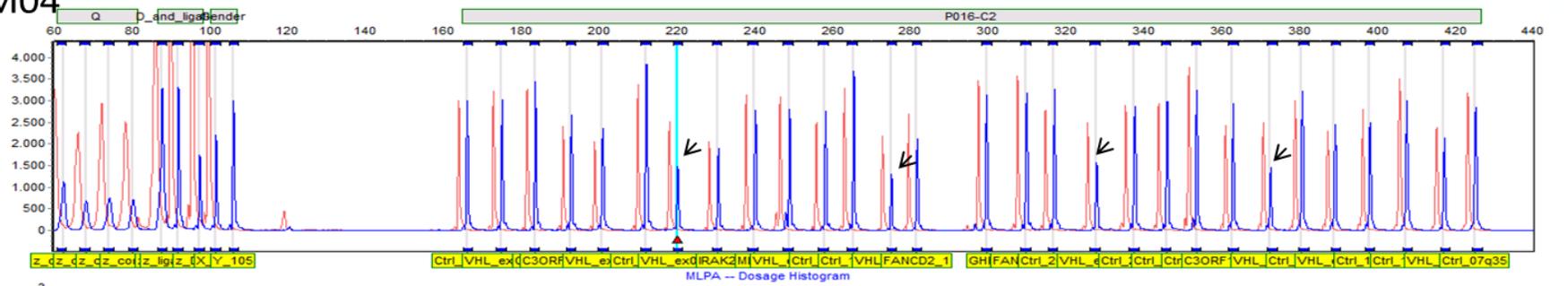
CN



M01



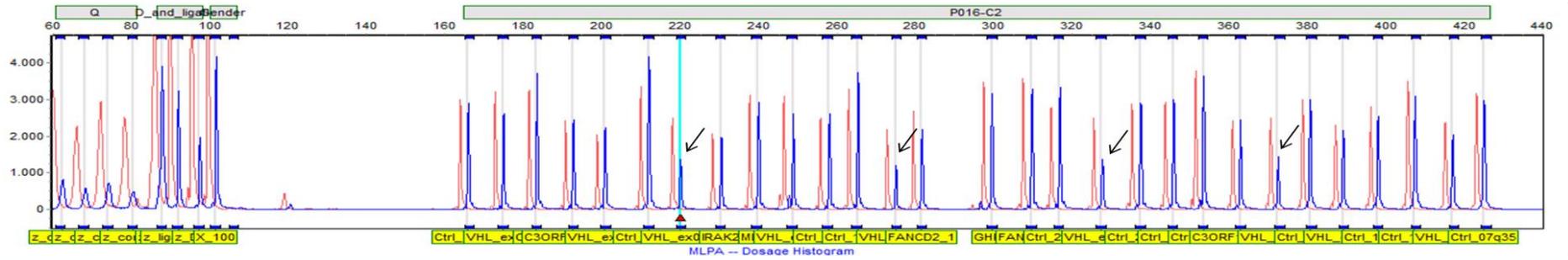
M04



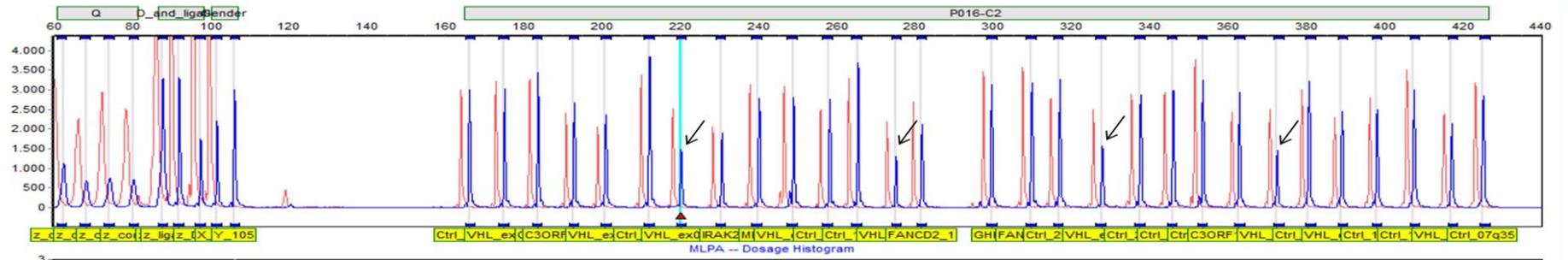
(continua)

(continua)

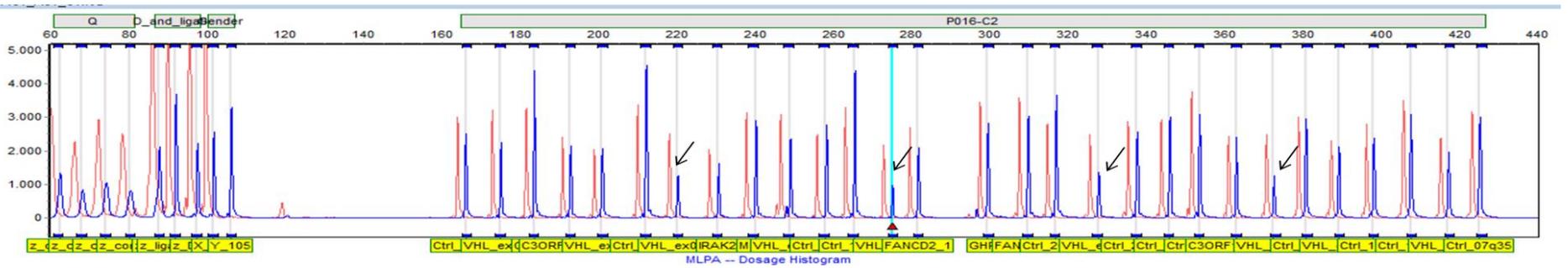
M07



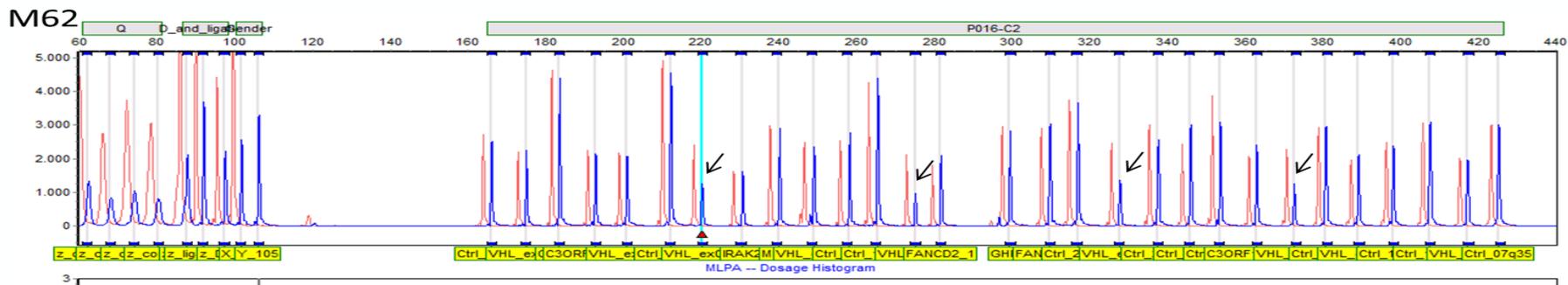
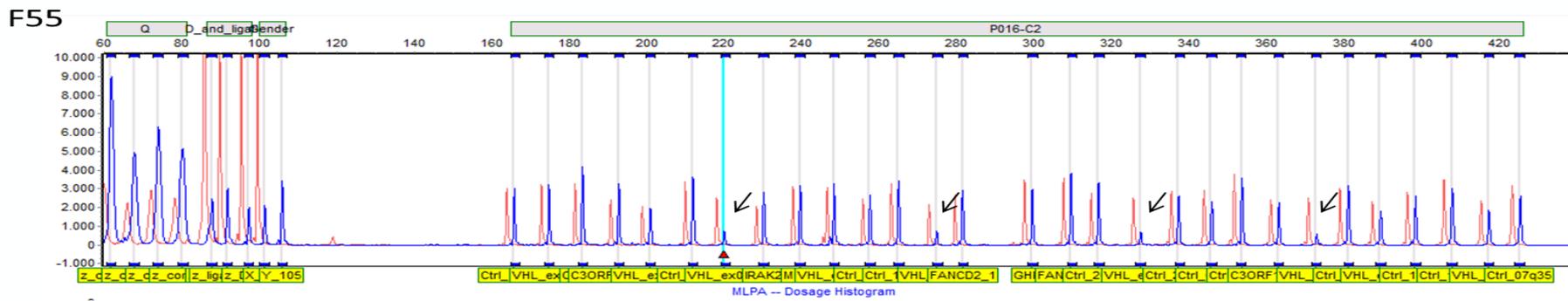
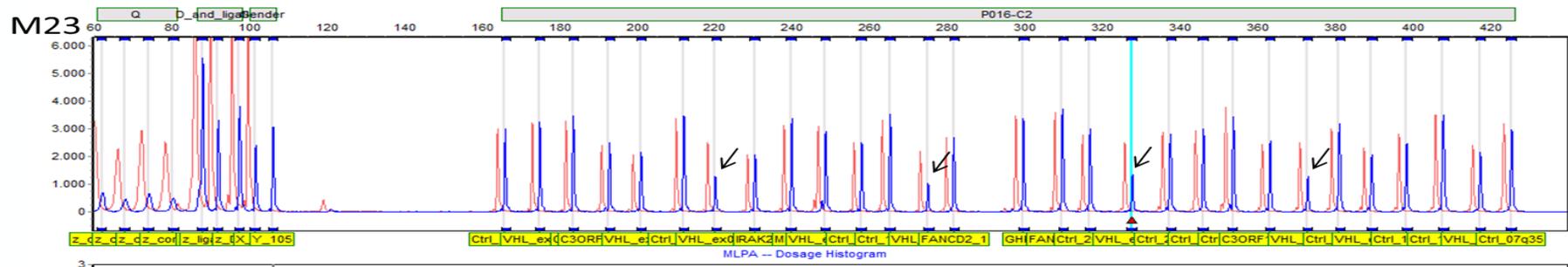
F09



M12

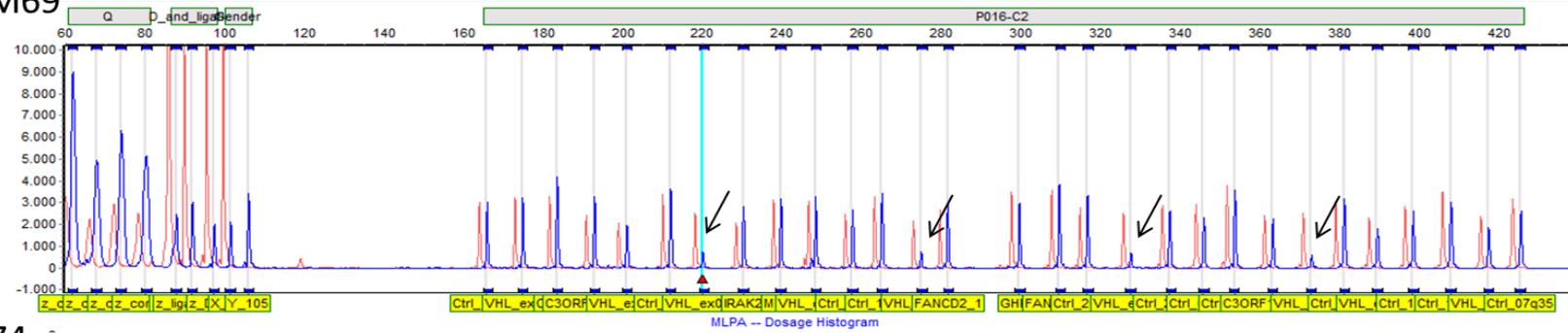


(continua)

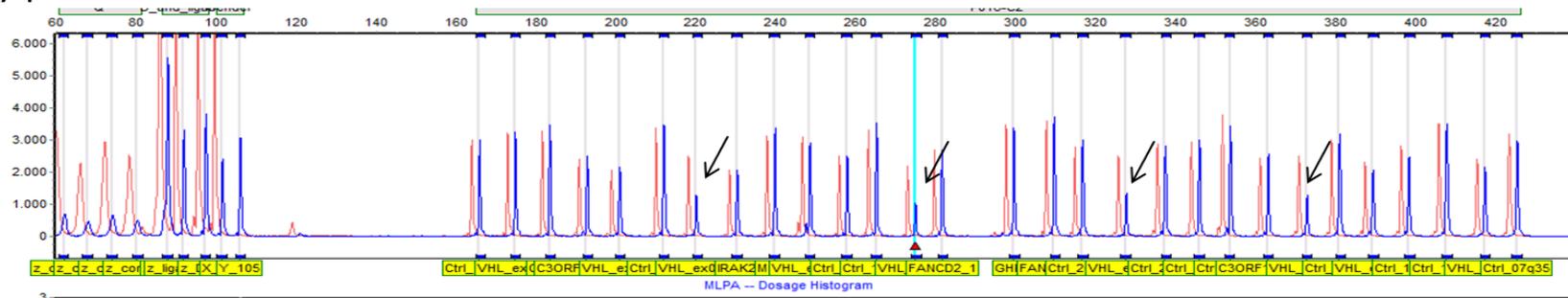


(continua)

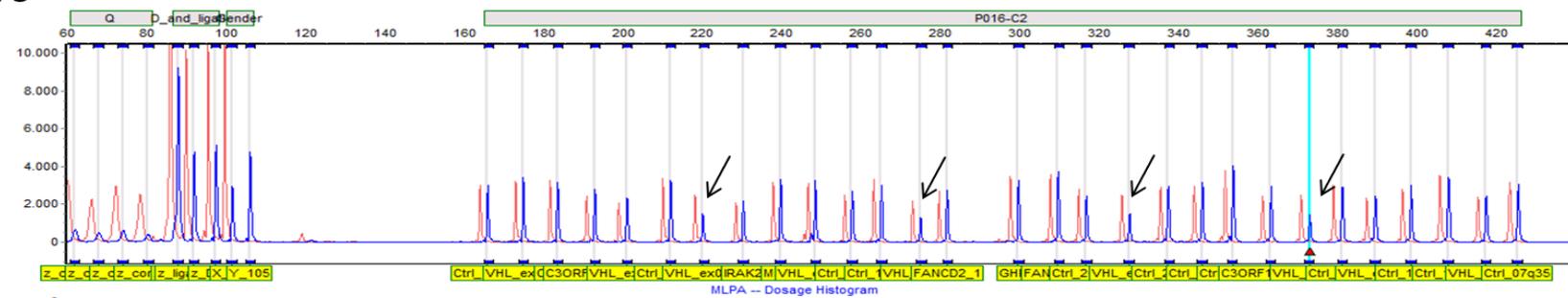
M69



F74



M75



(continua)

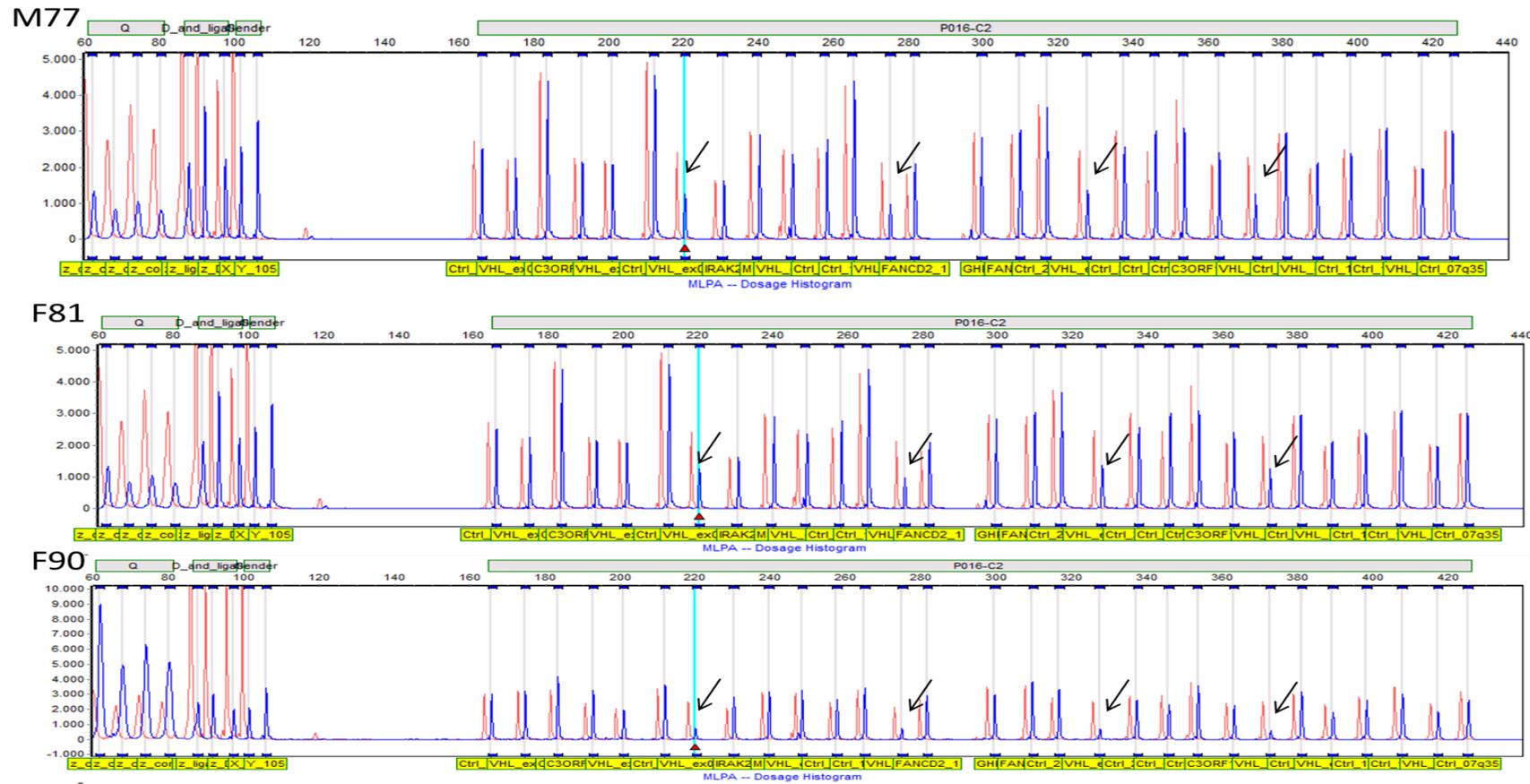


Figura 10: Eletroferogramas de indivíduos assintomáticos apresentando a deleção c.1-?340+?, pela técnica de MLPA. A localização das setas indicam a diminuição do sinal das quatro sondas do exon 1. CN: controle negativo; M: sexo masculino; F: feminino acompanhado do número correspondente ao indivíduo no heredograma.

## 6 DISCUSSÃO

No presente estudo, realizou-se a história familiar de pacientes com a síndrome VHL, com o intuito de verificar a manifestação da síndrome entre os membros da família. Um grande número de membros afetados e um longo período de acompanhamento são considerados necessários para a correlação com o genótipo/fenótipo. Estudos envolvendo vários membros de uma mesma família é um recurso valioso para estudar a heterogeneidade clínica da síndrome e estimar o risco de lesões em familiares de primeiro grau (CHO et al., 2009; ZBAR et al., 2007).

Atualmente, o aspecto mais importante no manejo das famílias com a síndrome VHL é a abordagem de todos os familiares com acompanhamento e rastreamento de lesões. A adesão a protocolos de rastreamento reduz a morbimortalidade, melhorando assim, a expectativa de vida dos pacientes. Em 1990, a sobrevida era em média 49 anos. Dez anos depois, era de aproximadamente 60 anos (HODGSON et al., 2007; MAHER et al., 1990).

Indivíduos com diagnóstico confirmado da síndrome VHL devem ser aconselhados geneticamente e tratados por especialistas ao longo da sua vida, contribuindo para a melhoria do prognóstico e de suas condições psicológicas, causadas pela possibilidade do diagnóstico de novas lesões características da síndrome (SHUIN et al., 2006).

Cada descendência de um indivíduo afetado tem um risco de 50% de herdar o gene *VHL* mutante, mas o grau de gravidade clínica não é previsível, enquanto que o risco para os outros membros da família depende da sua relação biológica com o membro da família afetada e pode ser determinada por análise genética e teste molecular. Com a realização de testes moleculares, os membros da família não portadores são dispensados do acompanhamento clínico. E a necessidade de programas de vigilância dispendiosos e demorados pode ser reduzida, assim como a monitorização pode ser dirigida apenas para os portadores da mutação (LOPEZ-GUERRERO et al., 2008).

Evans et al. (1997) mostraram um alto nível de interesse em pré-sintomáticos de famílias afetadas por genes de susceptibilidade ao câncer ao realizar estudo genético (incluindo VHL), com uma percentagem muito maior de mulheres 93% interessadas que os homens (77%). A análise molecular é

considerada de extrema importância para a avaliação de pacientes e famílias com suspeita de VHL.

Uma das principais causas da mortalidade na síndrome VHL é o carcinoma de célula renal metastático e as complicações neurológicas de um hemangioblastoma. Uma abordagem multidisciplinar é considerada essencial e todos os pacientes e seus familiares devem ser acompanhados para rastreamento de lesões desde a infância, é aconselhável que o intervalo de vigilância seja a cada 12 meses (MAHER, 2004).

A ausência de diagnóstico clínico de feocromocitomas, seja por diagnóstico de imagem ou laboratorial, associado à detecção da deleção genômica do exon 1, pode caracterizar a família como portadora do tipo 1. Famílias do tipo 1, frequentemente apresentam grandes deleções e mutações pontuais que causam uma terminação prematura da transcrição e uma proteína truncada. Entretanto, nos pacientes que apresentam mutações missense, há um risco maior de desenvolver feocromocitoma (FRIEDRICH, 2001; MC NEILL, A. et al., 2009).

As manifestações clínicas apresentadas nessa família foram hemangioblastomas de SNC e retina, cistos no pâncreas e massa tumoral bilateral no rim. A localização da lesão com maior ocorrência foi o sistema nervoso central, nas regiões do cerebelo, tronco cerebral e medula cervical, torácica e lombar. A frequência de cada neoplasia varia dependendo do fenótipo clínico. No geral, hemangioblastoma retina ocorre com maior frequência (73%), seguido por cerebelar hemangioblastoma (57%), carcinoma das células renais (35%), hemangioblastoma espinal (25%), feocromocitoma (20%) e tumor neuroendócrino pancreático (12%) (ONG et al., 2007; CHOU et al., 2013).

Três pacientes apresentaram o desenvolvimento de hemangioblastoma de SNC por duas ou três vezes. Apesar dos resultados satisfatórios com o tratamento cirúrgico para retirada de tumores no SNC, a recorrência de hemangioblastomas, e o desenvolvimento de novos tumores no SNC são fatores preditivos severos para os membros desta família e em geral, para todos os pacientes com a síndrome VHL (VIOLARIS et al., 2007).

Para investigar a epidemiologia genética dos hemangioblastomas no sistema nervoso central, Maher; Yates; Ferguson (1990) realizaram um estudo internacional multicêntrico com pacientes com HB único e múltiplo sem evidência da síndrome

VHL. A idade média dos pacientes com VHL foi significativamente mais jovem do que para casos esporádicos, 29 *versus* 48 anos. Esse resultado corrobora com o resultado encontrado nessa família que teve uma idade média, da primeira apresentação de uma lesão de 29 anos. Para Kaelin (2002), os sintomas da síndrome desenvolvem-se tipicamente na segunda, terceira ou quarta década de vida. No Brasil, o perfil clínico da síndrome VHL mostrou semelhanças quanto à incidência e idade de apresentação de tumores em relação aos outros países (GOMY et al., 2010; ROCHA et al., 2003).

Segundo Ong et al. (2007), a idade média é de 22 anos e as lesões mais comuns estão localizadas no sistema nervoso central (retina e hemangioblastoma cerebelar), rim (carcinoma de células renais, cisto renal), glândula adrenal (feocromocitoma/paraganglioma), pâncreas (tumores neuroendócrinos, cisto no pâncreas, cistoadenoma seroso) e no ouvido médio (tumor de saco endolinfático).

Todos os indivíduos que apresentaram hemangioblastoma de SNC foram submetidos à microcirurgia para tumores cerebrais e somente um paciente evoluiu com paraplegia de membros inferiores no pós-operatório de neurocirurgia, cuja lesão se expandia da região torácica a lombar, evoluindo seis meses depois a óbito, no próprio domicílio. A morbidade resultante de complicações pós-operatória é causada pelo tratamento de hemangioblastomas localizados na medula espinhal, apresentando complicações neurológicas, tais como, paraplegia e distúrbios sensoriais e motores (VIOLARIS et al., 2007). Contudo, remoção cirúrgica é considerada a melhor escolha de tratamento para hemangioblastomas no cerebelo, e apresenta bons resultados (SHUIN et al., 2006).

Os hemangioblastomas surgem, preferencialmente, no cerebelo (75%), medula, e coluna espinhal (25%) (WIZIGMANN-VOOS; PLATE, 1996; WOODWARD et al., 2007); são mais raros no cérebro e são considerados benignos ao exame histopatológico; variam em aparência morfológica. No entanto, complicações podem surgir por causa da tendência para formarem cistos em expansão, levando ao aumento da pressão intracraniana. São compostos predominantemente de células vasculares e do estroma. Na síndrome VHL são frequentemente múltiplos e continuam a surgir ao longo do curso da vida de um paciente (CROSSEY et al., 1995; HES et al., 2000).

O agrupamento de duas ou mais manifestações ou uma manifestação com uma história familiar indica doença de VHL em um paciente (MAHER; KAELIN, 1997). De acordo com Shuin et al. (2006), os HB desenvolve-se tanto em VHL do tipo 1 como do tipo 2A e 2B da síndrome VHL em aproximadamente 70% dos pacientes. Os locais mais comuns para o desenvolvimento dos HB associados à VHL são o cerebelo e a medula espinhal. Os sinais e sintomas desta síndrome são amplamente explicados pela expansão do tumor no espaço craniano ou da medula espinhal. Sinais e sintomas precoces são dor nas costas, dores de cabeça, dormência, tonturas e fraqueza ou dor nos braços e pernas (WOODWARD et al., 2007).

No presente estudo, detectou-se uma mutação germinativa no gene *VHL* em 100% dos pacientes que cumpriram os critérios clínicos para síndrome VHL. De acordo com estudos anteriores (ROCHA et al., 2003; STOLLE et al., 1998), estes resultados implicam que a maioria dos casos que preenche os critérios clínicos está relacionada com mutações no gene *VHL* e estratégias de detecção de mutações para todos os tipos de mutações são necessárias para avaliação de risco e aconselhamento dos pacientes e familiares.

Os sete indivíduos com clínica e os 14 indivíduos que apresentaram a deleção foram submetidos a protocolo de rastreamento de lesões associadas à síndrome VHL. Segundo Gomy (2008), o teste genético permite a vigilância clínica somente dos indivíduos portadores de mutação, o que melhora o custo-benefício do rastreamento. O manejo efetivo dos pacientes e familiares requer uma abordagem multidisciplinar, em um contexto hospitalar de referência, de modo que o encaminhamento e seguimento desses indivíduos sejam coordenados por uma equipe capacitada em câncer familiar.

A análise de mutações permite a correlação do fenótipo com o genótipo. Em um estudo realizado por Maher; Kaelin (1997), 15-20% dos pacientes apresentam grandes deleções germinativas, 27% mutações *missense*, *nonsense* ou *frameshift* e além de deleção ou inserção não detectadas. Estudos posteriores, utilizando o desenvolvimento das técnicas de diagnóstico molecular, permitiram a detecção de mutações em 100% dos pacientes com VHL (FRIEDRICH, 2001; STOLLE et al., 1998; CHO et al., 2009).

A análise do DNA e identificação de portadores de uma mutação da linha germinativa em famílias com a síndrome VHL permite um melhor acompanhamento do desenvolvimento de um tumor e otimiza o tratamento. A identificação de mutações germinativas em pacientes com a síndrome VHL demonstra a importância de teste genético-molecular para o manejo clínico e tratamento mais adequado a estes pacientes. Portanto, a identificação destas mutações no gene *VHL* permite triagem pré-sintomática para o início de tumores relacionados com a doença. A ausência de outras características clínicas da síndrome VHL nestes pacientes pode refletir variações específicas da mutação no fenótipo (WOODWARD et al., 1997).

A mutação germinativa segregada na família foi a deleção genômica do exon 1 (c.1-?\_340+?). A identificação de grandes deleções no gene *VHL* é de fundamental importância para aumentar a taxa de detecção de mutações em pacientes com VHL e planejar a vigilância para detecção precoce de tumores, assim como correlacionar genótipo e fenótipo. Estudos mostraram uma frequência de deleção parcial do gene *VHL* de 23-30% e deleção completa em torno de 8-10% dos pacientes com a síndrome VHL (GLAVAC et al., 1996; ROCHA et al., 2003; STOLLE et al., 1998).

Vários métodos estão disponíveis para a detecção de grandes deleções no gene *VHL*, incluindo PCR longa com três pares de *primers* que se sobrepõem, PCR quantitativa, a análise por *Southern* quantitativa e hibridação fluorescente *in situ* (FISH) (CYBULSKI et al., 1999; CYBULSKI et al., 2002; SCHOUTEN et al., 2002). O resultado obtido neste estudo demonstrou que a análise por MLPA é uma ferramenta simples, rápida e confiável para a detecção de grandes deleções no gene *VHL*. Trata-se de um método mais rápido quando comparado com análise multiplex PCR quantitativo e FISH (CHO, KI, KIM, 2009).

## 7 CONCLUSÃO

- De acordo com a história familiar e a ocorrência das lesões características da síndrome VHL, pode-se considerar essa família como portadora da síndrome VHL;

- Oito indivíduos de uma mesma família apresentaram hemangioblastoma de SNC e retina, cisto no pâncreas e massa tumoral bilateral no rim;

- Foi realizado teste molecular em sete indivíduos que apresentaram lesões associadas a VHL e nos familiares em risco, com detecção da deleção c.1-?\_340+? pela técnica de amplificação de múltiplas sondas dependente de ligação;

- Oitenta e nove indivíduos pertencentes à família em estudo realizaram teste molecular e, destes, 14 apresentaram a mesma deleção dos indivíduos sintomáticos;

- A lesão com maior ocorrência foi o hemangioblastoma de sistema nervoso central, e a localização mais frequente foi o cerebelo e o tronco cerebral; não foi evidenciado feocromocitoma pela triagem clínica;

- A média de idade na apresentação da primeira lesão foi de 29 anos, não houve predominância em relação ao sexo e idade;

- Não foram diagnosticadas lesões associadas à síndrome VHL nos portadores da deleção c.1-?\_340+? assintomáticos até o momento;

- Neste estudo foi possível estudar, além do probando, os outros componentes da família. Essa conduta poderá diminuir a morbimortalidade da doença e proporciona uma melhor qualidade de vida aos familiares.

## REFERÊNCIAS

AMAR, L. et al. Year of diagnosis, features at presentation, and risk of recurrence in patients with pheochromocytoma or secreting paraganglioma. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 90, n. 4, p. 2110-2116, Apr 2005.

AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY (ASCO). **Genetic testing for cancer susceptibility**. Policy statement; published ahead of print 2003.

ANG, S. O. et al. Disruption of oxygen homeostasis underlies congenital Chuvash polycythemia. **Nat Genet**, v. 32, n. 4, p. 614-621, Dec 2002.

ASHIDA, S. et al. Molecular detection of von Hippel-Lindau gene mutations in urine and lymph node samples in patients with renal cell carcinoma: potential biomarkers for early diagnosis and postoperative metastatic status. **J Urol**, v. 169, n. 6, p. 2089-2093, Jun 2003.

ATUK N.O et al. Familial pheochromocytoma, hypercalcemia and von Hippel Lindau disease. **Medicine** n. 58, p. 209-218, 1979.

AUMILLER, M. S. Juxtapapillary hemangioma: a case report and review of clinical features and management of von Hippel-Lindau disease. **Optometry**, v. 76, n. 8, p. 442-449, Aug 2005.

AYDIN, H. et al. Clear cell papillary cystadenoma of the epididymis and mesosalpinx: immunohistochemical differentiation from metastatic clear cell renal cell carcinoma. **Am J Surg Pathol**, v. 29, n. 4, p. 520-523, Apr 2005.

BERNINI, G. P. et al. A new human chromogranin 'A' immunoradiometric assay for the diagnosis of neuroendocrine tumours. **Br J Cancer**, v. 84, n. 5, p. 636-642, Mar 2 2001.

BINKOVITZ, L. A.; JOHNSON, C. D.; STEPHENS, D. H. Islet cell tumors in von Hippel-Lindau disease: increased prevalence and relationship to the multiple endocrine neoplasias. **AJR Am J Roentgenol**, v. 155, n. 3, p. 501-5015, Sep 1990.

BLANSFIELD, J. A. et al. Clinical, genetic and radiographic analysis of 108 patients with von Hippel-Lindau disease (VHL) manifested by pancreatic neuroendocrine neoplasms (PNETs). **Surgery**, v. 142, n. 6, p. 814-818; discussion 818 e1-2, Dec 2007.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Políticas de Saúde. **Violência Intrafamiliar**: orientações para prática em serviço. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2001. Cadernos de Atenção Básica, n.8. Série Normas e Manuais Técnicos n.131.

CANTLEY, J. et al. Deletion of the von Hippel-Lindau gene in pancreatic beta cells impairs glucose homeostasis in mice. **J Clin Invest**, v. 119, n. 1, p. 125-135, Jan 2009.

- CASCON, A. et al. Loss of the actin regulator HSPC300 results in clear cell renal cell carcinoma protection in Von Hippel-Lindau patients. **Hum Mutat**, v. 28, n. 6, p. 613-621, Jun 2007.
- CHAPMAN, R. C.; KEMP, V. E.; TALIAFERRO, I. Pheochromocytoma associated with multiple neurofibromatosis and intracranial hemangioma. **Am J Med**, v. 26, n. 6, p. 883-890, Jun 1959.
- CHEN, F. et al. Germline mutations in the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene: correlations with phenotype. **Hum Mutat**, v. 5, n. 1, p. 66-75, 1995.
- CHEW, E. Y. Ocular manifestations of von Hippel-Lindau disease: clinical and genetic investigations. **Trans Am Ophthalmol Soc**, v. 103, p. 495-511, 2005.
- CHO, H. J.; KI, C. S.; KIM, J. W. Improved detection of germline mutations in Korean VHL patients by multiple ligation-dependent probe amplification analysis. **J Korean Med Sci**, v. 24, n. 1, p. 77-83, Feb 2009.
- CHOU et al. von Hippel Lindau syndrome. **Endocrine Tumor Syndromes and Their Genetics**, v. 41, p. 30-49, 2013.
- CHOYKE, P. L. et al. von Hippel-Lindau disease: genetic, clinical, and imaging features. **Radiology**, v. 194, n. 3, p. 629-642, Mar 1995.
- CHOYKE, P. L. et al. The natural history of renal lesions in von Hippel-Lindau disease: a serial CT study in 28 patients. **AJR Am J Roentgenol**, v. 159, n. 6, p. 1229-1234, Dec 1992.
- CLARK, P. E.; COOKSON, M. S. The von Hippel-Lindau gene: turning discovery into therapy. **Cancer**, v. 113, n. 7 Suppl, p. 1768-1778, Oct 1 2008.
- COHEN AJ et al. Hereditary renal cell carcinoma associated with a chromosomal translocation. **N Engl J Med** n. 301, p. 592-594, 1979.
- COHEN, H. T.; MCGOVERN, F. J. Renal-cell carcinoma. **N Engl J Med**, v. 353, n. 23, p. 2477-2490, Dec 8 2005.
- COLLINS, E. T. Intra-ocular growths (two cases, brother and sister, with peculiar vascular new growth, probably primarily retinal, affecting both eyes). **Trans. Ophthalm. Soc. U.K.**, n. 14, p. 141-149, 1894.
- CRAIG WM, WAGENER HP, KERNOHAN JW. Lindau-von Hippel disease: a report of four cases. **Arch Neurol Psychiat** n. 46, v. 36, 1964.
- CROSSEY, P. A. et al. Molecular genetic diagnosis of von Hippel-Lindau disease in familial pheochromocytoma. **J Med Genet**, v. 32, n. 11, p. 885-886, Nov 1995.
- CROSSEY, P. A. et al. Molecular genetic investigations of the mechanism of tumorigenesis in von Hippel-Lindau disease: analysis of allele loss in VHL tumours. **Hum Genet**, v. 93, n. 1, p. 53-58, Jan 1994.

- CROSSEY, P. A. et al. Identification of intragenic mutations in the von Hippel-Lindau disease tumour suppressor gene and correlation with disease phenotype. **Hum Mol Genet**, v. 3, n. 8, p. 1303-1308, Aug 1994.
- CUSHING, H., BAILEY, P. Hemangiomas of cerebellum and retina (Lindau's disease), with the report of a case. **Arch. Ophthalmol.** N. 57, p. 447-463, 1928.
- CYBULSKI, C. et al. Long polymerase chain reaction in detection of germline deletions in the von Hippel-Lindau tumour suppressor gene. **Hum Genet**, v. 105, n. 4, p. 333-336, Oct 1999.
- CYBULSKI, C. et al. Germline mutations in the von Hippel-Lindau (VHL) gene in patients from Poland: disease presentation in patients with deletions of the entire VHL gene. **J Med Genet**, v. 39, n. 7, p. E38, Jul 2002.
- DAVINSON C, BROCK S, DYKE CG. Retinal and central nervous hemangioblastomatosis with visceral changes (von Hippel-Lindau's disease). **Bull Neurol Inst New York** n. 5, v. 72, 1936.
- DE MULDER, P. H. Targeted therapy in metastatic renal cell carcinoma. **Ann Oncol**, v. 18 Suppl 9, p. 98-102, Jul 2007.
- DEANGELIS, L. M. et al. Multiple paragangliomas in neurofibromatosis: a new neuroendocrine neoplasia. **Neurology**, v. 37, n. 1, p. 129-133, Jan 1987.
- DE MARTINNI, A. M. et al. Estrutura e funcionalidade de famílias de adolescentes em tratamento hemodialítico. **Rev. Eletro. Enf.** v. 9, n. 2, p. 329-343, 2007.
- DOLLFUS, H. et al. Retinal hemangioblastoma in von Hippel-Lindau disease: a clinical and molecular study. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, v. 43, n. 9, p. 3067-3074, Sep 2002.
- DUAN, D. R. et al. Inhibition of transcription elongation by the VHL tumor suppressor protein. **Science**, v. 269, n. 5229, p. 1402-1406, Sep 8 1995.
- ELLISON D et al. **Miscellaneous neoplasms: hemangioblastoma**. In Hodgson S, ed. *Neuropathology, a reference text of CNS pathology*. Vol 1. London: Mosby, p. 45-47, 1998.
- ELSEN I. Cuidado familiar: uma proposta inicial de sistematização conceitual. In: Elsen I, Marcon SS, Silva MRS. **O viver em família e sua interface com a saúde e a doença**. Maringá: Eduem; 2004. p.19-28.
- ERICKSON, D. et al. Benign paragangliomas: clinical presentation and treatment outcomes in 236 patients. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 86, n. 11, p. 5210-5216, Nov 2001.
- ESCUDIER, B. et al. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. **N Engl J Med**, v. 356, n. 2, p. 125-134, Jan 11 2007.
- EVANS, D. G. et al. Uptake of genetic testing for cancer predisposition. **J Med Genet**, v. 34, n. 9, p. 746-748, Sep 1997.

FIGUEREDO, M.H. DE.J.S; MARTINS, M.M.F.S. Avaliação Familiar: do Modelo Calgary de avaliação da família aos focos da prática de enfermagem. **Revista ciência, cuidado e saúde** v. 9, n. 3p. 552-559, jul/set 2010.

FILL, W. L.; LAMIELL, J. M.; POLK, N. O. The radiographic manifestations of von Hippel-Lindau disease. **Radiology**, v. 133, n. 2, p. 289-295, Nov 1979.

FLANIGAN, R. C. et al. Cytoreductive nephrectomy in patients with metastatic renal cancer: a combined analysis. **J Urol**, v. 171, n. 3, p. 1071-1076, Mar 2004.

FRANKE, G. et al. Alu-Alu recombination underlies the vast majority of large VHL germline deletions: Molecular characterization and genotype-phenotype correlations in VHL patients. **Hum Mutat**, v. 30, n. 5, p. 776-786, May 2009.

FRIEDRICH, C. A. Genotype-phenotype correlation in von Hippel-Lindau syndrome. **Hum Mol Genet**, v. 10, n. 7, p. 763-767, Apr 2001.

FRIEDRICH, C. A. von Hippel Lindau Syndrome, **Cancer**, n. 11, v. 86, p. 2478-2482, 1999.

FUNK, KC, HEIKEN JP. Papillary Cystadenoma of the Broad Ligament in a Patient with von Hippel-Lindau Disease, **AJR**, n. 153, p. 527-528, 1989.

GLASKER, S. et al. Epididymal cystadenomas and epithelial tumourlets: effects of VHL deficiency on the human epididymis. **J Pathol**, v. 210, n. 1, p. 32-41, Sep 2006.

GLAVAC, D. et al. Mutations in the VHL tumor suppressor gene and associated lesions in families with von Hippel-Lindau disease from central Europe. **Hum Genet**, v. 98, n. 3, p. 271-280, Sep 1996.

GLENN, G. M. et al. Screening for von Hippel-Lindau disease by DNA polymorphism analysis. **JAMA**, v. 267, n. 9, p. 1226-1231, Mar 4 1992.

GLUSHIEN, A. S.; MANSUY, M. M.; LITTMAN, D. S. Pheochromocytoma; its relationship to the neurocutaneous syndromes. **Am J Med**, v. 14, n. 3, p. 318-327, Mar 1953.

GOMY, I. **Identificação e caracterização de mutações germinativas no gene VHL em famílias com a doença de von Hippel-Lindau**. 2008. 111 p. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica). Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo.

GOMY, I. et al. Clinical and molecular characterization of Brazilian families with von Hippel-Lindau disease: a need for delineating genotype-phenotype correlation. **Fam Cancer**, v. 9, n. 4, p. 635-642, Dec 2010.

GOODMAN, M. D. et al. Cytogenetic characterization of renal cell carcinoma in von Hippel-Lindau syndrome. **Cancer**, v. 65, n. 5, p. 1150-1154, Mar 1 1990

GREEN, J. S.; BOWMER, M. I.; JOHNSON, G. J. Von Hippel-Lindau disease in a Newfoundland kindred. **CMAJ**, v. 134, n. 2, p. 133-138, 146, Jan 15 1986.

GUTJAHR, P. von Hippel-Lindau disease. **Neurosurg Rev**, v. 23, n. 1, p. 23, Mar 2000.

HANSEN, W. et al. Diverse effects of mutation in Exon II of the von Hippel-Lindau (VHL) Tumor Suppressor Gene on the interaction of pVHL with the Cytosolic Chaperonin and pVHL - dependent ubiquitin ligase activity. **Mol. Cell. Biol.** v. 22, n.6, p. 1947-1960, 2002.

HATTORI, K. et al. Detection of germline deletions using real-time quantitative polymerase chain reaction in Japanese patients with von Hippel-Lindau disease. **Cancer Sci.** v. 97, n. 5, p. 400-405, 2006.

HES, F.J. **Von Hippel-Lindau disease: clinical and genetic investigations in the Netherlands.** 2000. 216 p. Tese (Doutorado). Utrecht University.

HES, F. J.; LIPS, C. J.; VAN DER LUIJT, R. B. Molecular genetic aspects of Von Hippel-Lindau (VHL) disease and criteria for DNA analysis in subjects at risk. **Neth J Med**, v. 59, n. 5, p. 235-243, Nov 2001

HES, F. J. et al. Cryptic von Hippel-Lindau disease: germline mutations in patients with haemangioblastoma only. **J Med Genet**, v. 37, n. 12, p. 939-943, Dec 2000.

HES, F. J. et al. Frequency of Von Hippel-Lindau germline mutations in classic and non-classic Von Hippel-Lindau disease identified by DNA sequencing, Southern blot analysis and multiplex ligation-dependent probe amplification. **Clin Genet**, v. 72, n. 2, p. 122-129, Aug 2007.

HO, V. T. et al. Low-grade adenocarcinoma of probable endolymphatic sac origin: CT and MR appearance. **AJNR Am J Neuroradiol**, v. 17, n. 1, p. 168-170, Jan 1996.

HODGSON et al. **A practical guide to cancer genetics.** Cambridge: Cambridge University Press, 2007.

HOEBEECK, J. et al. Rapid detection of VHL exon deletions using real-time quantitative PCR. **Lab Invest**, v. 85, n. 1, p. 24-33, Jan 2005.

HORTON W.A, WONG V. ELDRIDGE R. Clinical and pathological manifestations in nine families with 50 affected members. **Arch Intern Medn.** 136, p. 769-777, 1976.

ILIOPOULOS, O.; ENG, C. Genetic and clinical aspects of familial renal neoplasms. **Semin Oncol**, v. 27, n. 2, p. 138-149, Apr 2000

ILIOPOULOS, O.; OHH, M.; KAELIN, W. G., JR. pVHL19 is a biologically active product of the von Hippel-Lindau gene arising from internal translation initiation. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 95, n. 20, p. 11661-11666, Sep 29 1998.

JENNINGS A.M et al. von Hippel Lindau disease in a large British family: clinicopathological features and recommendations for screening and following. **Q J Med** n. 66, v. 251, p. 233-249, 1988.

JENNINGS, C. M.; GAINES, P. A. The abdominal manifestation of von Hippel-Lindau disease and a radiological screening protocol for an affected family. **Clin Radiol**, v. 39, n. 4, p. 363-367, Jul 1988.

KAELIN, W. G., JR. Molecular basis of the VHL hereditary cancer syndrome. **Nat Rev Cancer**, v. 2, n. 9, p. 673-682, Sep 2002.

KAELIN, W.G. von Hippel Lindau disease. **Annu Rev Pathol Mech Dis**, v. 2, p. 145-173, 2007.

KEBEBEW, E.; DUH, Q. Y. Benign and malignant pheochromocytoma: diagnosis, treatment, and follow-Up. **Surg Oncol Clin N Am**, v. 7, n. 4, p. 765-789, Oct 1998.

KIBEL, A. et al. Binding of the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein to Elongin B and C. **Science**, v. 269, n. 5229, p. 1444-1446, Sep 8 1995.

KIM, W. Y.; KAELIN, W. G. Role of VHL gene mutation in human cancer. **J Clin Oncol**, v. 22, n. 24, p. 4991-5004, Dec 15 2004.

KISHIDA, T. et al. Cellular proteins that bind the von Hippel-Lindau disease gene product: mapping of binding domains and the effect of missense mutations. **Cancer Res**, v. 55, n. 20, p. 4544-4548, Oct 15 1995.

KLEIN, B.; WEIRICH, G.; BRAUCH, H. DHPLC-based germline mutation screening in the analysis of the VHL tumor suppressor gene: usefulness and limitations. **Hum Genet**, v. 108, n. 5, p. 376-384, May 2001.

KONDO, K.; KAELIN, W. G., JR. The von Hippel-Lindau tumor suppressor gene. **Exp Cell Res**, v. 264, n. 1, p. 117-125, Mar 10 2001

KREUSEL, K. M. et al. Retinal angiomatosis in von Hippel-Lindau disease: a longitudinal ophthalmologic study. **Ophthalmology**, v. 113, n. 8, p. 1418-1424, Aug 2006

KREUSEL, K. M. et al. Ruthenium-106 brachytherapy for peripheral retinal capillary hemangioma. **Ophthalmology**, v. 105, n. 8, p. 1386-1392, Aug 1998.

KUENEN, B. C. et al. Dose-finding study of the multitargeted tyrosine kinase inhibitor SU6668 in patients with advanced malignancies. **Clin Cancer Res**, v. 11, n. 17, p. 6240-6246, Sep 1 2005.

KUENEN, B. C. et al. Efficacy and toxicity of the angiogenesis inhibitor SU5416 as a single agent in patients with advanced renal cell carcinoma, melanoma, and soft tissue sarcoma. **Clin Cancer Res**, v. 9, n. 5, p. 1648-1655, May 2003.

LAMIELL, J. M.; SALAZAR, F. G.; HSIA, Y. E. von Hippel-Lindau disease affecting 43 members of a single kindred. **Medicine (Baltimore)**, v. 68, n. 1, p. 1-29, Jan 1989.

LANGSLEY, D. G.; WOLTON, R. V.; GOODMAN, T. A. A Family with a Hereditary Fatal Disease; Psychological Studies of a Family with Lindau's Disease. **Arch Gen Psychiatry**, v. 10, p. 647-652, Jun 1964.

- LATIF, F. et al. Identification of the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. **Science**, v. 260, n. 5112, p. 1317-1320, May 1993.
- LEE, J. Y. et al. Loss of heterozygosity and somatic mutations of the VHL tumor suppressor gene in sporadic cerebellar hemangioblastomas. **Cancer Res**, v. 58, n. 3, p. 504-508, Feb 1 1998.
- LIBUTTI, S. K. et al. Pancreatic neuroendocrine tumors associated with von Hippel Lindau disease: diagnostic and management recommendations. **Surgery**, v. 124, n. 6, p. 1153-1159, Dec 1998.
- LINDAU A. Studien ber kleinbirncysten bau: pathogenese und beziehungen zur angiomatosis rentinae. **Acta Radiol Microbiol Scandinavica** n. 1 (suppl) p. 1-128, 1926.
- LINDAU, A. Zur Frage der Angiomatosis Retinae und Ihrer Hirncomplication. **Acta Ophthal.** n. 4, p. 193-226, 1927.
- LONSER, R. R. et al. von Hippel-Lindau disease. **Lancet**, v. 361, n. 9374, p. 2059-2067, Jun 14 2003.
- LOPEZ-GUERRERO, J. A. et al. Genetic counseling in renal masses. **Adv Urol**, p. 720-840, 2008.
- MACHEIN, M. R.; PLATE, K. H. VEGF in brain tumors. **J Neurooncol**, v. 50, n. 1-2, p. 109-120, Oct-Nov 2000.
- MACK, F. A. et al. Loss of pVHL is sufficient to cause HIF dysregulation in primary cells but does not promote tumor growth. **Cancer Cell**, v. 3, n. 1, p. 75-88, Jan 2003.
- MAHER, E. R. et al. Von Hippel-Lindau disease: a genetic study. **J Med Genet**, v. 28, n. 7, p. 443-447, Jul 1991.
- MAHER, E. R.; KAELIN, W. G., JR. von Hippel-Lindau disease. **Medicine (Baltimore)**, v. 76, n. 6, p. 381-391, Nov 1997.
- MAHER ER, NEUMANN HP, RICHARD S. von Hippel Lindau disease: a clinical and scientific review. **Eur J Hum Genet**, v. 19, p. 617-623, 2011.
- MAHER, E. R.; WEBSTER, A. R.; MOORE, A. T. Clinical features and molecular genetics of Von Hippel-Lindau disease. **Ophthalmic Genet**, v. 16, n. 3, p. 79-84, Sep 1995.
- MAHER, E. R. et al. Phenotypic expression in von Hippel-Lindau disease: correlations with germline VHL gene mutations. **J Med Genet**, v. 33, n. 4, p. 328-332, Apr 1996.
- MAHER, E. R. et al. Clinical features and natural history of von Hippel-Lindau disease. **Q J Med**, v. 77, n. 283, p. 1151-1163, Nov 1990
- MAHER, E.R. von Hippel-Lindau disease. **Curr Mol Med** n. 4, p. 833-842, 2004.

MAHER, E.R;YATES, J.R; FERGUSON S.M.A.Statistical analysis of the two stage mutation model in von Hippel-Lindau disease, and in sporadic cerebellar haemangioblastoma and renal cell carcinoma. **J Med Genet** n. 27, p.311-314, 1990.

MARANCHIE, J. K. et al. Solid renal tumor severity in von Hippel Lindau disease is related to germline deletion length and location. **Hum Mutat**, v. 23, n. 1, p. 40-46, Jan 2004.

MARTELLA, M. et al. Molecular analysis of two uncharacterized sequence variants of the VHL gene. **J. Hum Genet.** v. 51, p. 964-968, 2006.

MC NEILL, A. et al. Genotype-phenotype correlations in VHL exon deletions. **Am J Med Genet A** n. 149A, p. 2147–2151, 2009.

MELMON, K. L., ROSEN, S. W. Lindau's disease: review of the literature and study of a large kindred. **Am. J. Med.** n. 36, p. 595-617, 1964.

MEGERIAN, C. A. et al. Differential expression of transthyretin in papillary tumors of the endolymphatic sac and choroid plexus. **Laryngoscope**, v. 107, n. 2, p. 216-221, Feb 1997.

MEYER-SCHWICKERATH, G. The preservation of vision by treatment of intraocular tumors with light coagulation. **Arch Ophthalmol**, v. 66, p. 458-466, Oct 1961.

MOORE, A. T. et al. Ophthalmological screening for von Hippel-Lindau disease. **Eye (Lond)**, v. 5 ( Pt 6), p. 723-728, 1991.

MOTZER, R. J. et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. **N Engl J Med**, v. 356, n. 2, p. 115-124, Jan 11 2007

NEUMANN, H. P. Basic criteria for clinical diagnosis and genetic counselling in von Hippel-Lindau syndrome. **Vasa**, v. 16, n. 3, p. 220-226, 1987.

\_\_\_\_\_. [The von Hippel-Lindau syndrome]. **Dtsch Med Wochenschr**, v. 116, n. 1, p. 28-34, Jan 4 1991.

NEUMANN, H. P. et al. Pancreatic lesions in the von Hippel-Lindau syndrome. **Gastroenterology**, v. 101, n. 2, p. 465-471, Aug 1991.

NEUMANN, H. P. et al. Consequences of direct genetic testing for germline mutations in the clinical management of families with multiple endocrine neoplasia, type II. **JAMA**, v. 274, n. 14, p. 1149-1151, Oct 11 1995.

NEUMANN, H. P.; WIESTLER, O. D. Clustering of features of von Hippel-Lindau syndrome: evidence for a complex genetic locus. **Lancet**, v. 337, n. 8749, p. 1052-1054, May 1991.

NIEMELA, M. et al. Gamma knife radiosurgery in 11 hemangioblastomas. **J Neurosurg**, v. 85, n. 4, p. 591-596, Oct 1996.

ONG K.R, et al. Genotype-phenotype correlations in von Hippel-Lindau disease. **Hum Mutat** n. 28, p.143–149, 2007.

PACAK, K. et al. Recent advances in genetics, diagnosis, localization, and treatment of pheochromocytoma. **Ann Intern Med**, v. 134, n. 4, p. 315-329, Feb 2001.

PARK, S.; CHAN, C. C. Von Hippel-Lindau disease (VHL): a need for a murine model with retinal hemangioblastoma. **Histol Histopathol**, v. 27, n. 8, p. 975-984, Aug 2012.

POSTON, C. D. et al. Characterization of the renal pathology of a familial form of renal cell carcinoma associated with von Hippel-Lindau disease: clinical and molecular genetic implications. **J Urol**, v. 153, n. 1, p. 22-26, Jan 1995.

RANKIN, E. B.; TOMASZEWSKI, J. E.; HAASE, V. H. Renal cyst development in mice with conditional inactivation of the von Hippel-Lindau tumor suppressor. **Cancer Res**, v. 66, n. 5, p. 2576-2583, Mar 2006.

RASMUSSEN, A. et al. Von Hippel-Lindau disease germline mutations in Mexican patients with cerebellar hemangioblastoma. **J Neurosurg**, v. 104, n. 3, p. 389-394, Mar 2006.

RAUE, F.; FRANK-RAUE, K.; GRAUER, A. Multiple endocrine neoplasia type 2. Clinical features and screening. **Endocrinol Metab Clin North Am**, v. 23, n. 1, p. 137-156, Mar 1994.

RAVAL, R. R. et al. Contrasting properties of hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) and HIF-2 in von Hippel-Lindau-associated renal cell carcinoma. **Mol Cell Biol**, v. 25, n. 13, p. 5675-5686, Jul 2005.

RESCHE, F. et al. Haemangioblastoma, haemangioblastomatosis, and von Hippel-Lindau disease. **Adv Tech Stand Neurosurg**, v. 20, p. 197-304, 1993.

RICHARD, S. et al. Haemangioblastoma of the central nervous system in von Hippel-Lindau disease. French VHL Study Group. **J Intern Med**, v. 243, n. 6, p. 547-553, Jun 1998.

RICHARD, S. et al. Renal lesions and pheochromocytoma in von Hippel-Lindau disease. **Adv Nephrol Necker Hosp**, v. 23, p. 1-27, 1994.

RICHARDS, F. M. et al. Expression of the von Hippel-Lindau disease tumour suppressor gene during human embryogenesis. **Hum Mol Genet**, v. 5, n. 5, p. 639-644, May 1996.

RICHARDS, F. M. et al. Molecular genetic analysis of von Hippel-Lindau disease. **J Intern Med**, v. 243, n. 6, p. 527-533, Jun 1998.

RINI, B. I. et al. Cancer and Leukemia Group B 90206: A randomized phase III trial of interferon-alpha or interferon-alpha plus anti-vascular endothelial growth factor antibody (bevacizumab) in metastatic renal cell carcinoma. **Clin Cancer Res**, v. 10, n. 8, p. 2584-2586, Apr 15 2004.

ROCHA, J. C. et al. High frequency of novel germline mutations in the VHL gene in the heterogeneous population of Brazil. **J Med Genet**, v. 40, n. 3, p. e31, Mar 2003.

SCHOENFELD, A.; DAVIDOWITZ, E. J.; BURK, R. D. A second major native von Hippel-Lindau gene product, initiated from an internal translation start site, functions as a tumor suppressor. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 95, n. 15, p. 8817-8822, Jul 21 1998.

SCHOUTEN, J. P. et al. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. **Nucleic Acids Res**, v. 30, n. 12, p. e57, Jun 2002.

SEIZINGER, B. R. et al. Von Hippel-Lindau disease maps to the region of chromosome 3 associated with renal cell carcinoma. **Nature**, v. 332, n. 6161, p. 268-269, Mar 17 1988.

SEIZINGER, B. R. et al. Genetic flanking markers refine diagnostic criteria and provide insights into the genetics of Von Hippel Lindau disease. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 88, n. 7, p. 2864-2868, Apr 1 1991.

SGAMBATI, M. T. et al. Mosaicism in von Hippel-Lindau disease: lessons from kindreds with germline mutations identified in offspring with mosaic parents. **Am J Hum Genet**, v. 66, n. 1, p. 84-91, Jan 2000.

SHAHEEN, P. E.; BUKOWSKI, R. M. Targeted therapy for renal cell carcinoma: a new therapeutic paradigm. **Cancer Invest**, v. 24, n. 6, p. 640-656, Oct 2006.

SHEN, H. C. et al. Deciphering von Hippel-Lindau (VHL/Vhl)-associated pancreatic manifestations by inactivating Vhl in specific pancreatic cell populations. **PLoS One**, v. 4, n. 4, p. e4897, 2009

SHUIN et al. Von Hippel-Lindau Disease: Molecular Pathological Basis, Clinical Criteria, Genetic Testing, Clinical Features of Tumors and Treatment. **Jpn J Clin Oncol**, v.36, n. 6, p. 337-343, 2006.

SILVA, L.; BOUSSO, R.S.; GALERA, S.A.F. Aplicação do Modelo Calgary para avaliação de famílias de isodos na prática clínica. **Rev. Bras. Enfermagem**. v. 62. n. 4. Brasília Jul/Ago 2009.

SINGH, A. D.; SHIELDS, C. L.; SHIELDS, J. A. von Hippel-Lindau disease. **Surv Ophthalmol**, v. 46, n. 2, p. 117-142, Sep-Oct 2001.

SOUZA, I.J.; RIBEIRO, E.M.; ECKERT, R. Dialogando com a equipe de enfermagem sobre necessidades educativas dos acompanhantes de crianças internadas: construindo caminhos para o cuidado á família. **Texto e contexto-Enfermagem**. Florianópolis, v.12, n.3, p.280-288, jul/set. 2003.2003.

STADLER, W. M. et al. Prognostic factors for survival with gemcitabine plus 5-fluorouracil based regimens for metastatic renal cancer. **J Urol**, v. 170, n. 4, v. 1, p. 1141-1145, Oct 2003.

STOLLE, C. et al. Improved detection of germline mutations in the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. **Hum Mutat**, v. 12, n. 6, p. 417-423, 1998.

STREIFF, E. B. [A new case, the first, of Hippel-Lindau disease; historical note]. **Ophthalmologica**, v. 122, n. 6, p. 367-368, Dec 1951

SUN, Y. H. et al. Endolymphatic sac tumor: case report and review of the literature. **Diagn Pathol**, v. 7, p. 36, 2012.

TONG, A. et al. von Hippel-Lindau gene mutation in Non-Syndromic Familial Pheochromocytomas. **New York Academy of Sciences**, n. 1053, p. 203-207, 2006.

THOMA, C. R. et al. pVHL and GSK3beta are components of a primary cilium-maintenance signalling network. **Nat Cell Biol**, v. 9, n. 5, p. 588-595, May 2007.

THOMA, C. R.; FREW, I. J.; KREK, W. The VHL tumor suppressor: riding tandem with GSK3beta in primary cilium maintenance. **Cell Cycle**, v. 6, n. 15, p. 1809-1813, Aug 2007.

TSUI, K. H. et al. Prognostic indicators for renal cell carcinoma: a multivariate analysis of 643 patients using the revised 1997 TNM staging criteria. **J Urol**, v. 163, n. 4, p. 1090-1095, Apr 2000.

VAN ROOIJEN, E. et al. von Hippel-Lindau tumor suppressor mutants faithfully model pathological hypoxia-driven angiogenesis and vascular retinopathies in zebrafish. **Dis Model Mech**, v. 3, n. 5-6, p. 343-353, May-Jun 2010.

VHL FAMILY ALIANÇA. **The VHL Handbook**. what you need to know about VHL, Boston -EUA, 2012, <http://www.vhl.org>.

VIOLARIS, K. et al. A case report of a family with 7 patients of the Von Hippel-Lindau disease, **Surgical Neurology**, n. 68, p. 650-654, 2007.

VIVANCO, I. et al. Identification of the JNK signaling pathway as a functional target of the tumor suppressor PTEN. **Cancer Cell**, v. 11, n. 6, p. 555-569, Jun 2007.

VON HIPPEL E. Die anatomische Grundlage der von mir beschriebenen "sehr seltenen Erkrankung der Netzhaut". von Graefes **ArchOphth** n. 79, p. 350-377, 1911.

VON HIPPEL E. Über eine sehr self seltene erkrankung der netzhaut. Klinische Beobachtungen **Arch Ophthalmol** n. 59, p. 83-106, 1904.

VORTMEYER, A. O. et al. Developmental arrest of angioblastic lineage initiates tumorigenesis in von Hippel-Lindau disease. **Cancer Res**, v. 63, n. 21, p. 7051-7055, Nov 2003.

VORTMEYER, A. O. et al. von Hippel-Lindau gene deletion detected in the stromal cell component of a cerebellar hemangioblastoma associated with von Hippel-Lindau disease. **Hum Pathol**, v. 28, n. 5, p. 540-543, May 1997.

VORTMEYER, A. O. et al. Somatic von Hippel-Lindau gene mutations detected in sporadic endolymphatic sac tumors. **Cancer Res**, v. 60, n. 21, p. 5963-5965, Nov 2000.

- WALTHER, M. M. et al. Renal cancer in families with hereditary renal cancer: prospective analysis of a tumor size threshold for renal parenchymal sparing surgery. **J Urol**, v. 161, n. 5, p. 1475-1479, May 1999.
- WEBSTER, A. R.; MAHER, E. R.; MOORE, A. T. Clinical characteristics of ocular angiomas in von Hippel-Lindau disease and correlation with germline mutation. **Arch Ophthalmol**, v. 117, n. 3, p. 371-378, Mar 1999.
- WIESENER, M. S. et al. Widespread hypoxia-inducible expression of HIF-2alpha in distinct cell populations of different organs. **FASEB J**, v. 17, n. 2, p. 271-273, Feb 2003.
- WIZIGMANN-VOOS, S.; PLATE, K. H. Pathology, genetics and cell biology of hemangioblastomas. **Histol Histopathol**, v. 11, n. 4, p. 1049-1061, Oct 1996.
- WONG, W. T. et al. Genotype-phenotype correlation in von Hippel-Lindau disease with retinal angiomas. **Arch Ophthalmol**, v. 125, n. 2, p. 239-245, Feb 2007.
- WOODWARD, E. R. et al. Genetic predisposition to pheochromocytoma: analysis of candidate genes GDNF, RET and VHL. **Hum Mol Genet**, v. 6, n. 7, p. 1051-1056, Jul 1997.
- WOODWARD, E. R.; MAHER, E. R. Von Hippel-Lindau disease and endocrine tumour susceptibility. **Endocr Relat Cancer**, v. 13, n. 2, p. 415-425, Jun 2006.
- WOODWARD, E. R. et al. VHL mutation analysis in patients with isolated central nervous system haemangioblastoma. **Brain**, v. 130, n. Pt 3, p. 836-842, Mar 2007.
- WRIGHT LM, LEAHEY M. **Enfermeiras e famílias: um guia para avaliação e intervenção na família**. 3ª. ed. São Paulo: Roca; 2002.
- YANG, J. C. et al. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. **N Engl J Med**, v. 349, n. 5, p. 427-434, Jul 31 2003.
- ZATYKA, M. et al. Genetic and functional analysis of the von Hippel-Lindau (VHL) tumour suppressor gene promoter. **J Med Genet**, v. 39, n. 7, p. 463-472, Jul 2002.
- ZBAR, B. et al. Familial renal carcinoma: clinical evaluation, clinical subtypes and risk of renal carcinoma development. **J Urol**, v. 177, n. 2, p. 461-465; discussion 465, Feb 2007.
- ZBAR, B. et al. Germline mutations in the Von Hippel-Lindau disease (VHL) gene in families from North America, Europe, and Japan. **Hum Mutat**, v. 8, n. 4, p. 348-357, 1996.
- ZBAR B.H et al. Loss of alleles of loci on the short arm of chromosome 3 in renal cell carcinoma. **Nature** n. 327, p. 721-724, 1987.

APENDICES

## Apendice A

## FICHA DE ACOMPANHAMENTO DE PACIENTES COM CLÍNICA SUGESTIVA DA SÍNDROME DE VON HIPPEL LINDAU

## IDENTIFICAÇÃO

Nome: \_\_\_\_\_

Filiação: \_\_\_\_\_ e \_\_\_\_\_

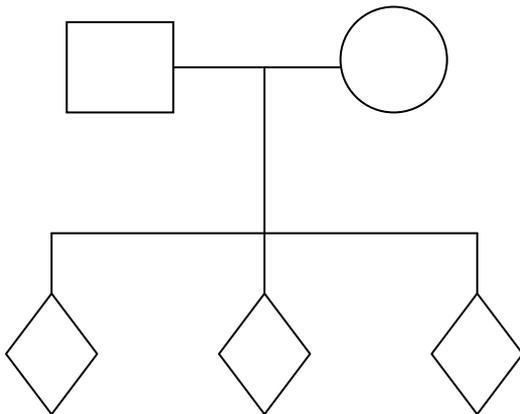
Data de Nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_      Gênero: ( ) masc. ( ) fem.

Escolaridade: \_\_\_\_\_ Profissão: \_\_\_\_\_

Cor: \_\_\_\_\_ Ocupação: \_\_\_\_\_

## ACONSELHAMENTO GENÉTICO

Construção do Heredograma:



- Investigar mortes ou problemas ocorridos no período pré-natal, neo-natal e infância, por defeitos congênitos (causas, idade do óbito);
- Investigar ocorrência de abortos e quantidade de gestações;
- Se há consangüinidade na família;
- Se algum dos cônjuges tem filhos em outro casamento, e em caso positivo, se são ou não saudáveis.

## EXAME FÍSICO

Altura: \_\_\_\_\_ Temperatura Axilar: \_\_\_\_\_ Pressão Arterial: \_\_\_\_\_

Peso: \_\_\_\_\_ Frequência Cardíaca: \_\_\_\_\_ Frequência Respiratória: \_\_\_\_\_

ECTOSCOPIA: \_\_\_\_\_

EXAME DOS SISTEMAS ORGÂNICOS:

#### ACOMPANHAMENTO CLÍNICO

Paciente afetado ou portador de mutação:

- Exame físico e neurológico (anualmente)
- Oftalmoscopia direta e indireta (anualmente)
- TC de encéfalo (a cada 3 anos) até os 50 anos e após os 50 anos (a cada 5 anos)
- TC de abdome (anualmente)
- Urinálise de 24 horas e coleta de plasma para dosagem de metanefrinas urinária e plasmática (anualmente)

#### Manejo clínico para rastreamento de lesão

Familiar em risco:

- Exame físico e neurológico (anualmente)
- Oftalmoscopia direta e indireta desde os 5 anos até os 60 anos (anualmente)
- TC de encéfalo (a cada 3 anos) desde os 15 anos até os 40 anos e dos 40 até os 60 anos (a cada 5 anos)
- TC renal desde os 16 até os 65 anos (anualmente)
- Urinálise de 24 horas e plasma para dosagem de metanefrinas urinária e plasmática (anualmente).

## APÊNDICE B

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO  
LABORATÓRIO DE ESTUDOS GENÔMICOS E DE HISTOCOMPATIBILIDADE -  
LEGH

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A Síndrome de von Hippel-Lindau (VHL) é uma doença hereditária e se constitui basicamente pelo desenvolvimento de tumores benignos e malignos em uma ou mais partes do corpo. Muitos desses tumores implicam em um desenvolvimento anormal de vasos sanguíneos.

Diante desta multiplicidade de tumores benignos e malignos em vários órgãos do corpo e da grande variedade de sinais e sintomas faz-se necessário confirmar a existência dessa síndrome familiar para garantir aos portadores dessa doença um esquema de acompanhamento de modo a assegurar a detecção precoce e tratamento das possíveis lesões. Assim como, reduzir as consequências mais graves através da prevenção.

O diagnóstico precoce permite à equipe médica a possibilidade de propiciar ao paciente um tratamento mais direcionado e conseqüentemente uma melhora no quadro clínico e na sua qualidade de vida.

Sendo assim, nós, da equipe de estudos da síndrome VHL no Maranhão, convidamos você a participar de uma pesquisa com o nome de "ANÁLISE DO GENE VHL EM PACIENTES COM CLÍNICA SUGESTIVA DA SÍNDROME DE VON HIPPEL-LINDAU NO MARANHÃO" que tem como objetivo buscar conhecimento sobre essa doença, orientar a sua família sobre a importância de ser atendida por uma equipe de saúde e traçar um programa de acompanhamento clínico para prevenir e detectar agravos referentes a essa doença.

A pesquisa será realizada com os membros de sua família por meio de uma entrevista com data e horários que estejam de acordo com a sua disponibilidade. O benefício da pesquisa será prevenir e detectar agravos a sua saúde e orientar a sua família quanto à importância do acompanhamento dos seus familiares.

Para a realização do exame genético será coletada uma pequena amostra de sangue sem oferecer nenhum risco ao paciente, este sentirá apenas uma dor leve no momento da introdução da agulha.

No demais, o desconforto que você terá será o tempo gasto com a entrevista ou com alguma pergunta que lhe deixe constrangido.

O que você quiser saber sobre a pesquisa será esclarecido, sua identidade será mantida em sigilo e você não terá danos moral, físico ou financeiro, se você desejar sair da pesquisa não terá nenhum prejuízo.

Os resultados dessa pesquisa estarão em trabalhos de Conclusão do Mestrado em Ciências da Saúde da aluna Patrícia Ribeiro Azevedo e do Curso de Ciências Biológicas UFMA desenvolvido pela aluna Fabiana do Nascimento Prazeres, ambos sob a orientação da Professora e Doutora Emygdia Rosa Leal Mesquita. Provavelmente este trabalho será publicado em revista científica e apresentado no auditório do Hospital Universitário, você está convidado a assistir a apresentação do trabalho.

Tomando conhecimento do estudo, declaro concordar em participar da pesquisa e que entendi as informações lidas nesse termo de consentimento.

#### CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu, \_\_\_\_\_,  
 RG \_\_\_\_\_ CPF/  
 n.º \_\_\_\_\_ abaixo assino, concordo em participar do estudo "Análise do gene *VHL* em pacientes com clínica sugestiva da Síndrome von Hippel-Lindau". Assim como permito o desenvolvimento de outras pesquisas desde que entrem em contato prévio solicitando a minha participação, como sujeito. Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador \_\_\_\_\_ sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis desconfortos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Local e data

---

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável:

---

Nome e Assinatura do pesquisador:

---

*Pesquisador Responsável:*

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Emygdia Rosa Leal Mesquita  
Rua dos Prazeres, 215 (Cobertura do Hospital Materno Infantil), Centro.  
CEP: 65020 - 090  
Laboratório de Estudos Genômicos e de Histocompatibilidade - LEGH  
Fone: (098) 2109 – 12 65 ou 12 58

*Pesquisador Técnico Responsável:*

Patrícia Ribeiro Azevedo  
Rua dos Prazeres, 215 (Cobertura do Hospital Materno Infantil), Centro.  
CEP: 65020 - 090  
Laboratório de Estudos Genômicos e de Histocompatibilidade - LEGH  
Fone: (098) 2109 – 12 65 ou 12 58

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa – HUUFMA:

Prof<sup>o</sup>. Dr. Wildoberto Batista Gurgel  
Rua Barão de Itapary S/N - Centro  
HUUFMA – Unidade Presidente Dutra  
Fone: (098) 2109 – 1223

## APENDICE C

### Síndrome de von Hippel Lindau: história familiar

AZEVEDO, P.R.; DIAS, R.S. Síndrome de von Hippel Lindau: história familiar. In: DIAS, R.S. (Org). **Assistir e Cuidar**: convergência do ser e fazer Enfermagem da Residência do HUUFMA. São Luís: EDUFMA, 2009, p. 157-161.

### INTRODUÇÃO

A Síndrome de von Hippel Lindau (VHL) é autossômica dominante, com incidência de 1:36.000 a 1:45.000 indivíduos na população geral (RICHARD, 2000). Esta síndrome é caracterizada por hemangioblastomas no cerebelo e medula espinhal (HB), hemangioblastoma de retina (RA), carcinoma de células renais (CCR), feocromocitoma (PH), tumores pancreáticos, cistos papilares do epidídimo e do ligamento largo do útero (ROCHA et al., 2003).

O prognóstico da doença dependerá essencialmente da localização e do tipo de alteração que o portador irá desencadear. A existência de um hemangioblastoma de SNC em sua fase inicial terá um prognóstico mais favorável do que a existência de um tumor sólido no pâncreas. Portanto, a gravidade da doença será determinada pelo tipo de alteração desenvolvida, sendo será única para cada caso (FALAVIGNA, 2001).

O conhecimento da história familiar representa um importante instrumento de alerta para manifestações precoces ou potenciais problemas mesmo antes do surgimento dos sintomas (GORMLEY, 1985).

### OBJETIVO

Traçar a história clínica familiar de portadores da Síndrome de von Hippel Lindau

### METODOLOGIA

Pesquisa qualitativa, do tipo estudo de caso com foco na história familiar. Realizada no povoado de Bituba – Alcântara - MA, os sujeitos de pesquisa foram os membros da família (avós, pais, tios e filhos). Os dados foram coletados de julho a agosto de 2006. A entrevista se deu na casa da matriarca da família, cada entrevista durou em média trinta minutos, sendo que as cinco primeiras entrevistas tiveram

tempo maior, pois foram com os familiares da segunda geração, que tinham as informações mais detalhadas.

## RESULTADOS

A família é composta por noventa e duas pessoas, setenta e sete vivos. Partindo do probando (diz-se o primeiro caso de uma história de câncer familiar) descreve-se a história da sua família e da linhagem paterna. Pois, a família materna não apresenta casos relacionados à VHL. O pai do probando A.B, 60 anos, é acompanhado pela equipe de estudos de VHL, não apresenta alterações. A mãe, G.F, 52 anos, teve diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica, faz acompanhamento com a equipe de VHL. Os irmãos, M.F.B, 09 anos, masculino, não apresenta sintomas e D.F.B, 25 anos, masculino, apresenta há três anos cefaléia intensa, foi avaliado, sem alterações. Teve um casal de filhos, a menina foi a óbito no Hospital Municipal de Pinheiro - MA, apresentando distensão abdominal, presença de massa abdominal, icterícia, emagrecimento acentuado, morreu sem diagnóstico com declaração de óbito com laudo de falência de múltiplos órgãos. O outro filho, 06 anos, masculino, queixa-se de cefaléia, está em acompanhamento, sem alterações. A.F.B, 21 anos, irmão da probando, masculino, caiu da própria altura, apresentando cefaléia intensa, foi internado no Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Bello, realizou microcirurgia para tumores cerebrais, com histopatológico de HB. Está em acompanhamento pela equipe de VHL, teve diagnosticado atrofia de rim direito e cistos pancreáticos.

A.F.B, 31 anos, queixa-se de cefaléia e dores abdominais, em acompanhamento, sem alterações; J.N.F.B, 28 anos, masculino e E.F.B, 14 anos, apresentam cefaléia ainda não foram avaliados pela equipe de VHL; I.F.B, 33 anos, feminino, apresenta diminuição da acuidade visual e cefaléia, avaliada pela equipe, exames dentro da normalidade; I.F.B, 24 anos, considerada o probando, feminino, foi internada no Hospital Universitário Materno Infantil com dor de cabeça, vômito e tontura, 28 semanas de gestação, realizou cesariana gemelar, permanecendo com quadro clínico, realizou TC (tomografia computadorizada) de crânio e ressonância nuclear magnética (RNM) evidenciado HB de cerebelo, tronco cerebral e medula cervical. Foi transferida para Hospital Universitário Presidente Dutra (HUPD), foi submetida a microcirurgia para tumores cerebrais. Recebeu alta hospitalar, orientada as consultas de retorno e acompanhamento por outros especialistas.

Permanece com quadro de tontura intratável, sem possibilidade de desenvolver atividades do trabalho de lavradora.

E.F.B, 19 anos, internada no HUPD em junho de 2005, com queixa de paraplegia em membros inferiores a esclarecer. Realizou RNM de coluna dorsal, com laudo de processo expansivo intramedular lombar de T11 a L3, associada à hidroseringomielia. Realizou artrodese de coluna. Recebeu alta hospitalar no décimo quarto dia de pós-operatório com quadro de parestesia de membros inferiores, retornou a sua residência em Bituba - MA evoluiu para óbito seis meses depois no domicílio.

Ao concluir a descrição da história familiar da família F.B, no desenvolvimento das entrevistas, ficou evidente a prevalência de casos de VHL na linhagem paterna, portanto, foi realizada entrevista com a família.

L.B, 28 anos, feminino, durante seis anos referia cefaléia intensa, dor na região cervical, com rigidez de nuca, familiares desconhecem a causa do óbito e referem “que ela morreu de dor de cabeça insuportável”. G.B, 28 anos, masculino, há dois anos realizou microcirurgia para tumores cerebrais (HB de cerebelo), no HUPD, permaneceu em acompanhamento, teve novo quadro de HB no tronco cerebral, realizou cirurgia, evoluiu desfavoravelmente, comatoso, teve diagnóstico de HB de retina, com perda da visão do olho esquerdo. Evoluiu para óbito na Unidade de Terapia Intensiva do HUPD por choque séptico.

M.R.B, 18 anos, feminino, após gravidez, apresentou cefaléia, cegueira, dor no pescoço, vômito em jato e convulsão, evoluindo a óbito dois meses depois. M.C.B, 20 anos, apresentou quadro semelhante a M.R.B, associado a paralisia de membros inferiores e soluço permanente, morreu em casa. M.B, 23 anos, ao participar desta pesquisa, referia sentir dores de cabeça, foi acompanhado e diagnosticado HB de fossa posterior, realizou cirurgia, apresenta-se sem comprometimento neurológico.

#### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Somente uma análise de DNA seria suficiente para diagnosticar uma família como portadora de VHL. No entanto, existem critérios internacionalmente aceitos para diagnosticar VHL, que consiste na existência de dois HB ou de um HB somado a uma manifestação visceral em casos isolados e nos casos familiares só uma manifestação é suficiente para o diagnóstico (VHL, 1997). Diante da história clínica

familiar exposta, considera-se que essa família apresenta ocorrência significativa de HB de SNC e de tumores viscerais que a classificam como portadora dessa síndrome, com uma expectativa de vida de 25 anos, em média, foi mais frequente nas mulheres e os sintomas exacerbaram durante o processo de gravidez.

#### REFERÊNCIAS

FALAGVINA, A; GRANDI. Hemangioblastoma em paciente com doença de von Hippel Lindau (VHL), Rev. Cient. Amecs. v. 10, n. 1, p. 71-74, 2001.

GORMLEY, M.V. "Helpful. Facts about genetic diseases. Emph" Los Angeles Times, v. 5, p. 10-11, feb. 1995.

RICHARD, S. et al. Central nervous system hemangioblastomas, endolymphatic sac tumor, and von Hippel Lindau disease. Neurosurg Rev, n. 23, p. 1-22, 2000.

ROCHA, J.C.C. et al. High frequency of novel germline mutations in the VHL gene in the heterogeneous population of Brazil. J Med Genet, p. 31-40, mar. 2003.

VHL. Family Alliance. Manual para pessoas com a doença de von Hippel Lindau para as suas famílias e para o apoio pessoal. 2. Ed. Massachusetts: Clinton Road/Brookline, 1997.

ANEXO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO  
COMITÊ ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO

Parecer Nº. 358/07

Pesquisador(a) Responsável: Emygdia Rosa do Rêgo Barros Pires Leal Mesquita

Equipe executora: Emygdia Rosa do Rêgo Barros Pires Leal Mesquita, Patricia Ribeiro Azevedo e Fabiana do Nascimento Prazeres

Tipo de Pesquisa: Projeto de Pesquisa

Registro do CEP: 131/07 Processo Nº. 33104-647/2007

Instituição onde será desenvolvido: Hospital Universitário Unidade Materno Infantil

Grupo: III

Situação: APROVADO

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão analisou na sessão do dia 18.05.2007 o processo Nº. 33104-647/2007, referente ao projeto de pesquisa: "Análise do gene VHL em pacientes com clínica sugestiva da síndrome de Von Hippel-Lindau no Maranhão", tendo como pesquisadora responsável Emygdia Rosa do Rêgo Barros Pires Leal Mesquita, cujo objetivo geral é "Contribuir para um melhor caracterização da Síndrome Von Hippel-Lindau na população brasileira, desenvolvendo um estudo pioneiro no Maranhão". Na metodologia: Trata-se de um estudo de caso, cuja amostra será composta por pacientes atendidos a ser no Hospital Universitario Unidade Presidente Dutra. Tendo apresentado pendências na época de sua primeira avaliação, veio em tempo hábil supri-las adequada e satisfatoriamente de acordo com as exigências das Resoluções que regem esse Comitê. Assim, mediante a importância social e científica que o projeto apresenta, a sua aplicabilidade e conformidade com os requisitos éticos, somos de parecer favorável à realização do projeto classificando-o como APROVADO, pois o mesmo atende aos requisitos fundamentais da Resolução 196/96 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde.

Lembramos a V.S<sup>a</sup> que o sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalidade alguma e sem prejuízo ao seu cuidado, e deve receber uma cópia do TCLE, na íntegra, por ele assinado. O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou, aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa que requeiram ação imediata. O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à ANVISA, quando for o caso, junto com seu posicionamento. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve envia-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente em 20/07/2008 e ao término do estudo, gravado em CD ROM.

São Luis, 20 de julho de 2007.

  
Wildoberto Batista Guigel

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa  
Hospital Universitário da UFMA  
*Ethica homini habitat est*

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão

Rua Barão de Itapary, 227 Centro C.E.P. 65. 020-070 São Luís – Maranhão Tel: (98) 3219-1223

E-mail huufma@huufma.br

Azevedo, Patrícia Ribeiro.

Caracterização clínico-molecular de pacientes com síndrome de von Hippel-Lindau no Maranhão/ Patrícia Ribeiro Azevedo. – São Luís: UFMA, 2013.

96f.

Orientador: Emygdia Rosa do Rego Barros Pires Leal-Mesquita

1. Síndrome de von Hippel Lindau. I. Leal-Mesquita, Emygdia Rosa do Rego Barros Pires (orientador). II. Título.

CDU: 616.155.392 (812.1)