

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 – Locus do gene VHL.....  | 13 |
| Figura 2 – Principais órgãos afetados pela doença de VHL.....              | 14 |
| Figura 3 – Hemangioblastoma de cerebelo.....                               | 16 |
| Figura 4 – Angioma de retina.....  | 17 |
| Figura 5 – CRCC e cisto renal.....   | 18 |
| Figura 6 – Feocromocitoma.....   | 19 |
| Figura 7 – Tumor pancreático neuroendócrino.....                           | 19 |
| Figura 8 – Tumor do saco endolinfático.....                                | 20 |
| Figura 9 – Gene VHL .....  | 24 |
| Figura 10 – Proteína VHL, RNAm e distribuição das famílias e mutações..... | 25 |
| Figura 11 – Distribuição dos tipos de mutações no gene VHL.....            | 26 |
| Figura 12 – Estrutura esquemática da proteína VHL com seus domínios.....   | 32 |
| Figura 13 – Estrutura tridimensional da proteína VHL.....                  | 33 |
| Figura 14 – Regulação do HIF- $\alpha$ pela proteína VHL.....              | 34 |
| Figura 15 – Patogênese do hemangioblastoma.....                            | 35 |
| Figura 16 – Patogênese do CRCC.....  | 36 |
| Figura 17 – Amplificação do éxon 1 .....                                   | 47 |
| Figura 18 – Amplificação do éxon 2 .....                                   | 47 |
| Figura 19 – Amplificação do éxon 3 .....                                   | 48 |
| Figura 20 – Heredograma da família 1.....                                  | 52 |
| Figura 21 – Heredograma da família 2.....                                  | 53 |
| Figura 22 – Heredograma da família 4.....                                  | 54 |
| Figura 23 – Heredograma da família 5.....                                  | 55 |
| Figura 24 – Cromatogramas da família 5.....                                | 56 |
| Figura 25 – Heredograma da família 6.....                                  | 57 |

|  |    |
|--|----|
| Figura 26 – Cromatograma da família 6.....                       | 57 |
| Figura 27 – RFLP da família 6.....                               | 58 |
| Figura 28 – Heredograma da família 7.....                        | 59 |
| Figura 29 – Cromatograma da família 7.....                       | 59 |
| Figura 30 – Heredograma da família 8.....                        | 61 |
| Figura 31 – Cromatograma da família 8.....                       | 61 |
| Figura 32 – Representação esquemática das mutações pontuais..... | 64 |

### **LISTA DE TABELAS**

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1 – Idade de manifestação e freqüência de tumores.....          | 15 |
| Tabela 2 – Idade e freqüência das lesões em pacientes brasileiros..... | 15 |
| Tabela 3 – Manejo clínico para rastreamento das neoplasias.....        | 22 |
| Tabela 4 – Classificação e correlação genótipo-fenótipo.....           | 31 |
| Tabela 5 – Especificações da reação de PCR.....                        | 48 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                  |  |
|------------------|--|
| AGC              | Ambulatório de Aconselhamento Genético do Câncer                 |
| ASCO             | <i>American Society of Clinical Oncology</i>                     |
| CRCC             | Carcinoma Renal de Células Claras                                |
| DHPLC            | <i>Denaturing High Performance Liquid Chromatography</i>         |
| FDA              | <i>Food and Drug Administration</i>                              |
| FISH             | Hibridização Fluorescente <i>in situ</i>                         |
| HCFMRP           | Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto |
| HGMD             | <i>Human Gene Mutation Database</i>                              |
| HIF              | <i>Hipoxia-Inducible Factor</i>                                  |
| MLPA             | <i>Multiplex ligation-dependent probe amplification</i>          |
| OMIM             | <i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>                       |
| PCR              | Reação em cadeia da polimerase                                   |
| pVHL             | proteína VHL   |
| qRT-PCR          | PCR quantitativo em tempo real                                   |
| RFLP             | <i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>                  |
| RM               | Ressonância Magnética  |
| RNA <sub>m</sub> | RNA mensageiro   |
| RT-PCR           | PCR com transcrição reversa                                      |
| SNC              | Sistema Nervoso Central  |
| SSCP             | <i>Single Strand Conformational Polymorphism</i>                 |
| UMD              | <i>Universal Mutation Database</i>                               |
| VEGF             | <i>Vascular-Endothelial Growth Factor</i>                        |
| VHL              | von Hippel-Lindau  |
| VMA              | Ácido Vanil-Mandélico  |

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>13</b> |
| 1.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.....                                       | 15        |
| 1.1.1. <b>Hemangioblastoma de SNC</b> .....                             | 16        |
| 1.1.2. <b>Angioma de retina</b> .....                                   | 17        |
| 1.1.3. <b>Lesões renais</b> .....                                       | 17        |
| 1.1.4. <b>Feocromocitoma</b> .....                                      | 18        |
| 1.1.5. <b>Lesões pancreáticas</b> .....                                 | 19        |
| 1.1.6. <b>Tumores do saco endolinfático</b> .....                       | 20        |
| 1.1.7. <b>Tumores do epidídimo e ligamento largo</b> .....              | 20        |
| 1.1.8. <b>Outros tumores</b> .....                                      | 21        |
| 1.2 CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS.....   | 21        |
| 1.2.1. <b>No indivíduo com história familiar</b> .....                  | 21        |
| 1.2.2. <b>No indivíduo sem história familiar</b> .....                  | 21        |
| 1.3 MANEJO CLÍNICO E MONITORIZAÇÃO.....                                 | 22        |
| 1.4 GENE <i>VHL</i> .....   | 23        |
| 1.4.1. <b>Mutações germinativas e somáticas</b> .....                   | 24        |
| 1.4.1.1. <b>Prevalência das mutações germinativas</b> .....             | 27        |
| 1.4.1.2. <b>Detecção das mutações germinativas</b> .....                | 28        |
| 1.4.1.3. <b>Outras doenças associadas a mutações germinativas</b> ..... | 29        |
| 1.5 CORRELAÇÃO GENÓTIPO-FENÓTIPO.....                                   | 30        |
| 1.6 PROTEÍNA VHL.....   | 31        |
| 1.6.1. <b>pVHL no hemangioblastoma</b> .....                            | 34        |
| 1.6.2. <b>pVHL no CRCC</b> .....  | 35        |
| 1.6.3. <b>pVHL no feocromocitoma</b> .....                              | 36        |
| 1.7 TRATAMENTO MOLECULAR.....   | 37        |
| 1.8 TESTE GENÉTICO PARA CÂNCER HEREDITÁRIO.....                         | 38        |
| 1.8.1. <b>Teste genético para a doença de VHL</b> .....                 | 39        |
| 1.8.2. <b>Aconselhamento genético oncológico</b> .....                  | 41        |
| 1.8.3. <b>Aspectos psicológicos, éticos e sociais</b> .....             | 42        |
| <b>2. OBJETIVOS</b> .....   | <b>44</b> |
| <b>3. CASUÍSTICA E MÉTODOS</b> .....                                    | <b>45</b> |
| 3.1 SUJEITOS DE PESQUISA.....   | 45        |
| 3.2 MÉTODOS.....  | 46        |
| 3.2.1. <b>Extração do DNA</b> .....                                     | 46        |
| 3.2.2. <b>Amplificação do gene VHL por PCR</b> .....                    | 46        |
| 3.2.3. <b>Seqüenciamento do DNA</b> .....                               | 49        |
| 3.2.4. <b>RFLP</b> .....  | 50        |
| <b>4. RESULTADOS</b> .....  | <b>51</b> |
| 4.1 FAMÍLIA 1.....  | 51        |
| 4.2 FAMÍLIA 2.....  | 52        |
| 4.3 FAMÍLIA 3.....  | 53        |
| 4.4 FAMÍLIA 4.....  | 53        |

|                                       |           |
|---------------------------------------|-----------|
| 4.5 FAMÍLIA 5.....                    | 54        |
| 4.6 FAMÍLIA 6.....                    | 56        |
| 4.7 FAMÍLIA 7.....                    | 58        |
| 4.8 FAMÍLIA 8.....                    | 60        |
| <b>5. DISCUSSÃO.....</b>              | <b>62</b> |
| 5.1 IDENTIFICAÇÃO DAS MUTAÇÕES.....   | 62        |
| 5.2 CORRELAÇÃO GENÓTIPO-FENÓTIPO..... | 63        |
| 5.3 ANÁLISE DE EXPRESSÃO.....         | 66        |
| <b>6. CONCLUSÃO.....</b>              | <b>67</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>               | <b>69</b> |
| <b>APÊNDICE.....</b>                  | <b>84</b> |
| <b>ANEXOS.....</b>                    | <b>99</b> |