

JOÃO ROBERTO ANTONIO

**NEUROFIBROMATOSE:
ESTUDO GENÉTICO-CLÍNICO, AVALIAÇÃO
QUANTITATIVA DOS MASTÓCITOS E DOS
COMPONENTES DA MATRIZ EXTRACELULAR EM
NEUROFIBROMAS**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto para obtenção do Título de Doutor no Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Área de Concentração: Biologia Médica.

Orientadora: Profa.Dra. Eny Maria Goloni-Bertollo

Co-Orientador: Prof.Dr. Júlio César André

São José do Rio Preto
2001

Antonio, João Roberto

Neurofibromatose: estudo genético-clínico, avaliação quantitativa dos mastócitos e dos componentes da matriz extracelular em neurofibromas / João Roberto Antonio. São José do Rio Preto, 2001
175 p.; 33 cm

Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Área de Concentração: Biologia Médica

Orientador: Eny Maria Goloni-Bertollo

Co-Orientador: Júlio César André

*“Se pudéssemos prever o futuro,
perderíamos o direito ao sonho e ao medo”.*

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha esposa *Cidinha* e meus filhos
Beto, Carlos e Luiz, razões da minha vontade de viver e
crescer, obrigado pelo estímulo constante, impulsionando-me
a fazer algo que poucos fizeram na minha idade, sem deixar
de cumprir tantos outros afazeres.

AGRADECIMENTOS

Prof^a. Dr^a. Eny Maria Goloni-Bertollo pela orientação competente e amiga.

Prof. Dr. Júlio César André pela co-orientação pronta e segura no capítulo da Matriz Extracelular.

Prof. Dr. Reynaldo de Britto Costa, meu orientador inicial nessa tese e colaborador quanto aos mastócitos.

Prof.Dr. Reinaldo Azoubel pelos ensinamentos amigos em relação a contagem dos mastócitos e pelo incentivo constante.

Prof. Dr. Antonio José Manzato, pela assessoria estatística dada a esse trabalho.

Dr. Adimilson dos Santos Delgado e Dra.Solange C.G.P. d'Avila pelos auxílios histopatológicos a mim prestados.

Dr^a. Marta Ferrari Teixeira, Dr. Marcos Pontes Muniz e Dr. Nelson Igar Valério, respectivamente pelos exames oftalmológicos, radiológicos e psicológicos efetuados nos pacientes.

Ao técnico Domingos Zanchetta Netto pelo preparo das lâminas de histopatologia.

À secretaria Daniela Liebana e ao secretário Celso Pereira Reis Filho, pela paciência nas inúmeras repetições datilográficas na elaboração desse trabalho.

Finalmente, a todos que, direta ou indiretamente colaboraram para que esse trabalho fosse realizado, meus sinceros agradecimentos. Não os nomeiei a fim de não cometer o erro do esquecimento.

À todos alunos dessa FAMERP que vi nascer e à qual dediquei minha vida profissional, aos meus Assistentes da Disciplina de Dermatologia, aos meus Filhos Dermatológicos radicados aqui e por todo Brasil e aos meus Filhos Biológicos, que essa tese seja-lhes mais um ensinamento científico e de vida.

DEDICATÓRIA

*A todos pacientes por mim atendidos e, em especial
aos que participaram desse trabalho.*

*A eles meus mais profundos respeitos pelos
sofrimentos que o destino lhes deu sem ter-lhes dado a
oportunidade de escolha.*

LISTA DE ABREVIATURAS

NF	Neurofibromatose
NF1	Neurofibromatose tipo 1
NF2	Neurofibromatose tipo 2 ou Acústica
MCCL	Manchas café com leite
NIH	“National Institute of Health”
NF3	Neurofibromatose mista
NF4	Neurofibromatose variante
NF5	Neurofibromatose não herdável
NF6	MCCL Familiar
NF7	Neurofibromatose de Início Tardio
NF8	Neurofibromatose não especificada
AD	Autossômico Dominante
HE	Hematoxilina – Eosina
SFA	Substância Fundamental Amorfa
CEPAN	Centro de Pesquisas e Atendimento em Neurofibromatose
FAMERP	Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto-SP.
EEG	Eletroencefalograma
ECG	Eletrocardiograma
HB	Hospital de Base
PC	Perímetro Cefálico
RM	Retardo Mental
C	Grupo controle
QI	Coefficiente Intelectual

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Origem desse Estudo e Escolha do Tema	2
1.2. Uma Introdução Histórica sobre a Neurofibromatose	4
1.3. Características Gerais e Aspectos Genéticos	15
1.4. Quadro Clínico	20
1.5. Mastócitos	44
1.6. Histopatologia dos Neurofibromas	47
1.7. Matriz Extracelular	49
1.8. Objetivos	54
2. CASUÍSTICA E MÉTODO	55
2.1. Avaliação Genético-Clínica	56
2.2. Obtenção de Material para Avaliação Histopatológica	60
2.3. Métodos de Coloração	61
2.2.1. Coloração pelo Azul de Toluidina	61
2.2.2. Coloração pela Hematoxilina-Eosina-Floxina.....	62
2.2.3. Coloração pelo Tricrômio de Gomori.....	62
2.2.4. Coloração pelo Tricrômio do Picrosirius-Hematoxilina	63
2.2.5. Impregnação pela Prata para Reticulina	63
2.2.6. Coloração pela Hematoxilina-Férrica.....	64
2.4. Contagem de Mastócitos	65
2.5. Avaliação da Matriz Extracelular	66
2.6. Documentação Fotográfica	66
2.7. Análise Estatística	67

3. RESULTADOS.....	68
3.1. Quantificação dos Mastócitos	75
3.2. Análise Estatística.....	78
3.3. Quantificação dos Componentes da Matriz Extracelular	79
4. DISCUSSÃO.....	84
4.1. Sinais Clínicos.....	85
4.2. Perspectivas Futuras quanto à Terapêutica ou o Controle da Neurofibromatose.....	132
5. CONCLUSÃO	139
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	142

ANEXO

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** MCCL e neurofibromas característicos da NF 22
- Figura 2.** MCCL presentes desde o nascimento..... 23
- Figura 3.** MCCL , sardas axilares e alguns neurofibromas 24
- Figura 4.** Neurofibroma plexiforme com hiperpigmentação em região cervical estendendo-se ao tórax superior, conferindo assimetria regional. MCCL no tronco 25
- Figura 5.** **A.** Neurofibromas escassos e isolados.
B. Neurofibromas cobrindo o corpo por completo.
C. Neurofibromas em diversos tamanhos.
D e E. Neurofibromas de vários tamanhos em distribuição universal 27
- Figura 6.** **A e B.** Neurofibromas em distribuição universal e um plexiforme gigante em região sacral, cobrindo as nádegas.
C, D e E. Predominância de neurofibromas em diversos tamanhos, distribuídos pelo corpo todo inclusive palmas das mãos (**6 C**) e sem a presença de sardas axilares (**6 E**) 28
- Figura 7.** **A.** Nódulos subcutâneos nos espaços intercostais, delimitados pela palpação e marcação com tinta preta
B. Visualização macroscópica desses nódulos subcutâneos no trajeto do nervo retirado cirurgicamente 29
- Figura 8.** Neurofibroma plexiforme 30
- Figura 9.** **A.** Neurofibromas cutâneos-superficiais, moles e botonosos.
B. Neurofibromas supra-mamilares 31

Figura 10.	A. Neurofibroma plexiforme comprometendo a perna esquerda. B. Neurofibroma plexiforme, visão lateral invadindo todas as camadas da pele	31
Figura 11.	Nódulos de Lisch na superfície da íris.....	32
Figura 12.	Escoliose na coluna vertebral inferior e MCCL na pele.....	34
Figura 13.	A. Deformidade da caixa torácica por comprometimento da coluna vertebral. B. Aspecto radiológico da angulação pronunciada da coluna vertebral.....	35
Figura 14.	A. MCCL na pele e alterações ósseas da caixa torácica. B. Comprometimento radiológico do esterno e úmero. C. Detalhe radiológico das lesões císticas no interior do úmero. D. Lesão cística no interior do perônio.....	37
Figura 15.	A. Neurofibrossarcoma ou schwannoma maligno em nádega e membro inferior esquerdo. B. Neurofibrossarcoma ou schwannoma maligno comprometendo nádega e membro inferior esquerdo (vista dorsal).....	38
Figura 16.	Fotomicrografia de secção de neurofibroma humano, incluído em parafina, cortada com 5µm, corada com azul de toluidina. Aumento 125x.....	73
Figuras 17.	Fotomicrografias de secções de neurofibromas humanos, incluídos em parafina, cortadas com 5µm e coradas com tricrômio de Gomori	79
Figura 18.	Fotomicrografias de secções de neurofibromas humanos incluídos em parafina, cortadas com 5µm, coradas com picrossirius hematoxilina e analisadas em microscopia de polarização	80
Figura 19.	Fotomicrografias de secções de neurofibromas humanos, incluídos em parafina, cortadas com 5µm e coradas pela reticulina de Gomori	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Classificação da Neurofibromatose (RICCARDI, 1982)	39
Tabela 2.	Caracterização da amostra dos pacientes portadores de NF1.....	56
Tabela 3.	Principais sinais clínicos observados nos pacientes com neurofibromatose	68
Tabela 4.	Frequência dos principais sinais clínicos.....	69
Tabela 5.	Frequência e localização dos sinais mais importantes (“Major”) da NF1.....	71
Tabela 6.	Quantificação dos mastócitos nas biópsias de pele humana normal.....	74
Tabela 7.	Quantificação dos mastócitos nas biópsias de neurofibromas humanos.....	75
Tabela 8.	Dados estatísticos comparativos entre o grupo controle e os neurofibromas.....	76
Tabela 9.	Quantificação de componentes da matriz extracelular de neurofibromas humanos, com diferentes técnicas de coloração	78

RESUMO

A Neurofibromatose (NF), é uma anormalidade neuroectodérmica constituída por um conjunto de condições com manifestações clínicas que comprometem principalmente a pele, olhos, ossos, sistema nervoso e, eventualmente, com repercussões aos outros órgãos internos. Seu padrão de herança é autossômica dominante e tem sido considerada uma das mais freqüente na espécie humana com penetrância elevada e expressividade variável.

No presente trabalho, estudou-se os aspectos genético-clínicos, realizou-se a avaliação quantitativa dos mastócitos e da matriz extracelular em neurofibromas de um grupo de 30 pacientes diagnosticados como NF-1 e comparou-se com o grupo controle constituído de 10 indivíduos normais.

A avaliação genético-clínica confirmou o diagnóstico de NF-1 em todos os pacientes. As características principais ou “major” foram os neurofibromas, MCCL, nódulo de Lisch e sardas axilares ou inguinais. Os neurofibromas múltiplos e os nódulos de Lisch foram considerados exclusivos de NF-1. A macrocefalia, quando isoladamente, não demonstrou ser suficiente para o diagnóstico de NF1 e as outras características foram consideradas como complicações.

Em material obtido de biópsias de pele normal e de neurofibromas desses pacientes, realizou-se 10 cortes histológicos os quais foram submetidos às técnicas de coloração pela hematoxilina-eosina, tricrômio de gomori, tricrômio do picrosirius-hematoxilina, impregnação pela prata e hematoxilina-férrica para a avaliação dos componentes da matriz extracelular e pela coloração com o azul de toluidina para a contagem de mastócitos. Houve diferença significativa no número dos mastócitos que encontraram-se aumentados e, quanto a matriz extracelular, apresentou-se alterada em comparação com a pele normal pela alta celularidade associada à elevada densidade dos componentes fibrosos, particularmente do colágeno tipo III, com escassez ou quase ausência de substância fundamental amorfa e ausência de material elástico. Tais achados parecem ter um papel significativo na formação dos neurofibromas e podem colaborar na terapêutica da NF.

SUMMARY

Neurofibromatosis (NF) is a neuroectodermal abnormality composed of a set of conditions having clinical manifestations which mainly affect the skin, eyes, bones, nervous system and eventually have repercussions on other internal organs. Its inheritance pattern is normally autosomally dominant and it has been considered one of the most frequent genetic diseases in the human race with a high penetration and variable expressiveness.

This work studies the genetical-clinical aspects, makes a quantitative evaluation of the mastocytes and the extracellular matrix in neurofibromas in a group of thirty patients diagnosed with NF-1 and makes a comparison with a control group of ten normal individuals.

The genetical-clinical evaluation confirmed the diagnosis of type 1 NF (NF-1) in all the patients. The main characteristics were neurofibromas, café-au-lait spots (CLS), Lisch nodules and axial or inguinal freckles. The multiple neurofibromas and Lisch nodules were considered to be exclusive to NF-1. Macrocephaly, in isolation, was not sufficient for the diagnosis of NF-1 and the other characteristics observed were considered complications.

With the tissue from biopsies of both normal skin and neurofibromas of these patients, ten histologic sections were obtained. These were stained

using hematoxylin-eosine, Gömöri trichrome, picrosirius-hematoxylin, silver and iron-hematoxylin impregnation to evaluate the components of the extracellular matrix and staining using Toluidine blue to count the mastocytes. There was a significant increase in the number of mastocytes and the extracellular matrix was altered compared to the normal skin. This alteration was seen by the high cellularity associated with an increased density of fibrous components, specifically collagen type III, the scarcity or almost non-existence of amorphous fundamental substance and the lack of elastic tissue. These findings seem to have an important role in the formation of neurofibromas and can help in the treatment of NF.

1. INTRODUÇÃO

1.1. ORIGEM DESSE ESTUDO E ESCOLHA DO TEMA

Desde os primórdios da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto-SP, quando ainda atendíamos, juntamente com os alunos nos ambulatórios de dermatologia da Santa Casa de Misericórdia, graças à atenção com que os pacientes eram recebidos, iniciou-se um grande fluxo assistencial e docencial. Especificamente e pelos mesmos motivos, grande era o número de portadores de neurofibromatose (NF), o que possibilitou um maior vínculo médico e afetivo com todos eles. Com a construção dos ambulatórios do Hospital de Base, os atendimentos foram para lá transferidos e continuaram em um volume crescente, o que propiciou, em conjunto com os profissionais das outras especialidades, a criação e a oficialização do CEPAN (Centro de Pesquisa e Atendimento da Neurofibromatose). O CEPAN, além de ser uma referência nesse tipo de atendimento, também motivou várias dissertações de mestrado e teses de doutorado, inclusive essa.

Em relação aos nossos pacientes portadores de NF, devido a esse

apoio recebido, muitos deles passaram a demonstrar uma aceitação e um certo conformismo perante essa condição patológica. Algumas mulheres de nossa casuística contraíram matrimônios e tiveram uma prole, eventualmente numerosa. Suas preocupações maiores recaíram, desse modo, na possibilidade de seus filhos apresentarem esta enfermidade, hereditariamente, o que ocorreu em muitos, possibilitando-me acompanhá-los desde o nascimento até a maturidade.

Por essas razões, científicas em meus estudos e observações, e humanísticas nos atendimentos, dediquei um carinho especial a esses pacientes com o intuito de aliviá-los de seus sofrimentos, consolá-los em seus desesperos, ou ensiná-los a aprender a conviver com a enfermidade, mesmo sabendo da impossibilidade de curá-los.

Assim, o motivo da escolha desse tema para minha tese foi movido por esse sentimento e pelo objetivo de abrir perspectivas futuras que possam contribuir, de alguma forma, para uma melhor qualidade de vida desses pacientes, muitos dos quais vi nascer, acompanhando-os pelas sendas da vida nesses 35 anos de exercício profissional, oferecendo-lhes o melhor de mim, agindo com simpatia e serenidade, procurando compreender cada um deles em seus aspectos biopsicossociais, numa tarefa difícil ao presenciar os incontáveis problemas trazidos porém gratificantes com os bons resultados

muitas vezes obtidos.

A todos eles, o meu mais profundo respeito pelo que o destino lhes deu e pelo que a medicina ainda não lhes pode dar.

Em função desse trabalho, que iniciei concomitante com minha carreira profissional, fui coletando dados sobre a história da neurofibromatose, os quais estão em anexo a essa tese (anexos 1 e 2).

1.2. CARACTERÍSTICAS GERAIS E ASPECTOS GENÉTICOS

A neurofibromatose (NF), doença descrita em 1882 por Friedrich Daniel von Recklinghausen (CRUMP, 1981), é uma anormalidade neuroectodérmica, constituída por um conjunto de condições com manifestações clínicas que comprometem principalmente a pele, olhos, ossos, sistema nervoso (ROOS, 1992) e, eventualmente, com repercussões aos outros órgãos internos. O quadro clínico manifesta-se sob diversas formas em cada paciente, existindo uma considerável variação da enfermidade dentro de uma mesma família. É uma das entidades com padrão de herança autossômica dominante mais freqüente na espécie humana, com incidência estimada em um caso em cada 3.000 habitantes (McKUSIK, 1992) e atinge todas as raças

(RICCARDI, 1992). Acredita-se que pelo menos um milhão de pessoas em todo o mundo sejam portadoras de NF (RICCARDI, 1989; PULST, 1990).

A NF é uma doença autossômica dominante, com alta penetrância e expressividade variável e, segundo estatísticas internacionais (MULVIHILL *et al.*, 1990; RICCARDI, 1991; ROOS, 1992), aproximadamente metade dos casos possuem história familiar, enquanto que a outra metade dos casos descritos surgiram como mutações espontâneas (CROWE *et al.*, 1956).

A penetrância do gene da Neurofibromatose tipo-1 (NF-1) é completa, ou seja, sua capacidade de expressão, quando presente, tem sido estimada em 100% (SAMUELSON & AXELSON, 1981; RITTER & RICCARDI, 1985; RICCARDI & LEWIS, 1988).

O gene da NF-1 foi identificado na banda 11.2 do braço longo do cromossomo 17 e o gene da NF-2 no centro do braço longo do cromossomo 22, por mapeamento genético obtido com determinados marcadores.

Além de confirmar que os dois tipos de neurofibromatose são entidades distintas, o mapeamento é o primeiro passo para se compreender a sua patogênese, permitir o diagnóstico pré-natal e pré-sintomático e colaborar no prognóstico.

Na NF-1, o índice de mutação é extremamente alto, sendo que pelo menos metade dos casos é resultante de mutações novas.

Quanto à expressividade e à heterogeneidade nesta doença, em artigo de revisão sobre avaliação genético-clínica em NF, GOLONI-BERTOLLO, ANTONIO E VARELLA-GARCIA (1994) (trabalho original em anexo 3) destacaram que o termo *expressividade* refere-se à variabilidade de sinais físicos ou clínicos associados a um dado gene. A NF é uma das melhores doenças para exemplificar tal fenômeno, pois expressa alta variabilidade, mesmo intrafamiliar: um paciente gravemente afetado pode ter descendentes levemente afetados e vice-versa. Alguns pacientes podem apresentar formas suaves das características, ou seja, uma expressividade tão leve da doença que o diagnóstico fica extremamente dificultado. Desse modo, em alguns casos, o diagnóstico pode até nem ser feito e, portanto, o indivíduo acaba tendo sua prole sem saber os riscos que está correndo.

Há pelo menos três níveis de variação em NF: a expressividade temporal, por tratar-se de entidade na qual as características clínicas são progressivas; a expressividade individual, por ser a NF altamente variável em suas manifestações de um indivíduo para outro; a heterogeneidade genética ou fisiopatológica, em função de extensas diferenças entre as manifestações de alguns pacientes ou familiares.

Assim sendo, é muito importante a tentativa de um diagnóstico mais específico em diferentes tipos, que compreendam categorias com características genético-clínicas semelhantes.

O gene da NF-1 foi primeiramente mapeado na região pericentromérica do cromossomo 17 (BARKER *et al.*, 1987). Foi também detectada ligação do gene NF-1 com diversos marcadores moleculares do cromossomo 17 em um grande número de famílias afetadas (DIEHL *et al.*, 1987; FAIN *et al.*, 1987; PERICAK-VANCE *et al.*, 1987; STEPHEN *et al.*, 1987; RODENHISER *et al.*, 1991), e o gene da NF-1 foi então localizado no braço longo do cromossomo 17. Posteriormente, além de confirmarem sua localização, esses estudos facilitaram o isolamento, clonagem e a caracterização do gene (CAWTHON *et al.*, 1990, VISKOCHIL *et al.*, 1990 e WALLACE *et al.*, 1990).

Estudos mais específicos mapearam mais precisamente o gene NF-1 em 17q.11.2 (SKOLNICK *et al.*, 1987; SCHMIDT *et al.*, 1987; DIEHL *et al.*, 1989; FONTAIN *et al.*, 1989; O'CONNEL *et al.*, 1989; STEPHENS *et al.*, 1989; COLLINS *et al.*, 1989a, 1989b). O gene da NF-1 possui grandes proporções, com 350 kb e 60 exons.

Transcrições do gene na NF1 são encontradas nos diversos tecidos humanos (WHITE *et al.*, 1991). O produto protéico desse gene, denominado

neurofibromina, é abundante no tecido cerebral (GUTMANN & COLLINS, 1993). A precisa ação da neurofibromina ainda não foi estabelecida, entretanto, sua associação com microtúbulos citoplasmáticos sugere um possível papel na indicação de transdução (GREGORY *et al.*, 1993). Uma pequena porção do gene NF1 é semelhante ao gene que codifica a proteína ativadora da guanosina-trifosfato dos mamíferos, que inativa a proteína proto-oncogênica-ras (DE CLUE *et al.*, 1992). Isso tem sido usado para propor que a função do gene NF1 poderia estar primariamente relacionada à baixa regulação do ras, resultando em não-supressão da proliferação celular (GUTMANN & COLLINS, 1993; DE CLUE *et al.*, 1992; SHANNON *et al.*, 1994).

Em outra forma de neurofibromatose, a designada NF-2, o primeiro resultado de pesquisas para localização do gene NF-2 não foi obtido por análises de ligação genética, mas por estudos citogenéticos de tumores apresentados por pacientes com NF-2, nos quais foram descobertas diferenças específicas do cromossomo 22 (SEIZINGER *et al.*, 1986; BARKER *et al.*, 1987; SEIZINGER *et al.*, 1987). Entretanto, a confirmação da localização do gene NF-2 no cromossomo 22 só pode ser obtida após análises de ligação genética.

Os resultados dos estudos de ROULEAU *et al.* (1987, 1990) sugeriram que o gene está localizado em 22q.11.1 q.13.1 e os estudos de WOLF *et al.* (1992) localizaram o gene NF-2 na banda q.12 do cromossomo 22. Presume-se que ele atua como um gene supressor do desenvolvimento dos neurofibromas.

A estrutura do produto protéico do gene NF2, denominado merlina, é semelhante ao grupo das proteínas com ligações aos componentes do citoesqueleto (TROFFATTER *et al.*, 1993). Entretanto, o papel da merlina na supressão tumoral ainda é obscuro (TROFFATTER *et al.*, 1993).

1.3. QUADRO CLÍNICO

Os sinais clínicos encontrados na NF podem ser resumidos do seguinte modo: na pele, os neurofibromas, manchas café com leite (MCCL) e sardas axilares; nos olhos, os nódulos de Lisch e gliomas óticos; no sistema nervoso central, os defeitos vasculares, tumores cerebrais, macrocefalia e as conseqüentes dificuldade de aprendizagem, retardo mental, cefaléia e epilepsia. Nos ossos, a escoliose, peito escavado, tumores para-espinais, pseudo-artrose, geno-valgo e geno-varo e, finalmente, os outros sinais como

os problemas da fala, puberdade precoce ou atrasada, hipertensão arterial, neurofibromas intestinais e distúrbios da função ocasionados por neurofibromas plexiformes.

Os Critérios Clínicos para o Diagnóstico da NF foram estabelecidos de uma forma mais completa em 1987, por ocasião da “*National Institute Of Health Conference*” em Bethesda, EUA, (NIH, 1988; NIIMURA, 1993). As conclusões a respeito estabeleceram que, para o diagnóstico da NF em sua forma clássica, é necessário a presença de pelo menos duas ou mais das seguintes características: seis ou mais MCCL, dois ou mais neurofibromas, pelo menos um neurofibroma plexiforme, sardas nas regiões axilares e inguinais, glioma óptico, dois ou mais hamartomas de íris (nódulos de Lisch), uma lesão óssea característica e recorrência familiar com pelo menos um parente de primeiro grau.

As manifestações dermatológicas da NF, classicamente, caracterizam-se pela presença clínica de neurofibromas e MCCL distribuídas de maneira variável pelo tegumento cutâneo (**figura 1**).



Figura 1. MCCL e neurofibromas característicos da NF.

As MCCL são máculas acastanhadas que ocorrem em quase todos os pacientes com NF, freqüentemente precedem os tumores cutâneos e podem estar presentes ao nascimento (**figura 2**), ou aparecerem mais tardiamente, aumentando em número e tamanho durante a primeira década de vida, especialmente nos primeiros dois anos (RICCARDI, 1981a; 1981b).

Embora umas poucas MCCL estejam presentes em pessoas sem NF, a presença de mais de seis manchas e acima de 1,5 cm de diâmetro é indicadora desta doença (CROWE & SCHULL, 1953), como também a sua presença nas regiões axilares, constituindo as chamadas sardas axilares, consideradas patognomônicas dessa doença (**figura 3**).

Um outro tipo de mancha hiperpigmentada ocorre sobre toda a extensão dos neurofibromas plexiformes, que apresentam colorações mais escuras que as MCCL (RICCARDI, 1980, 1981) (**figura 4**).



Figura 2. MCCL presentes desde o nascimento.



Figura 3. MCCL , sardas axilares e neurofibromas.



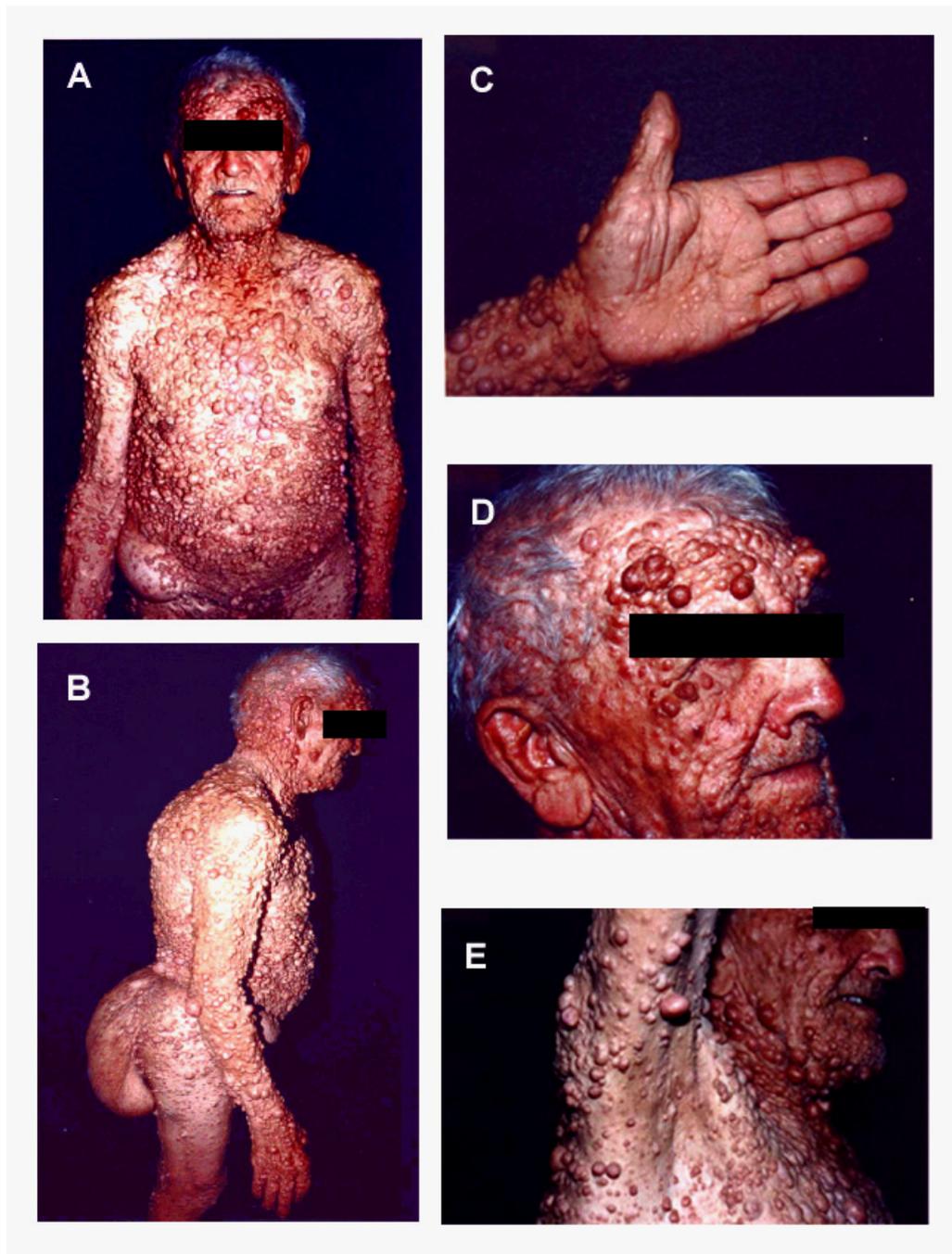
Figura 4. A e B. Neurofibroma plexiforme com hiperpigmentação na região cervical estendendo-se à parte superior do tórax, conferindo assimetria regional. MCCL no tronco.

Histopatologicamente, as MCCL são compostas de melanócitos densamente pigmentados. Nenhum quadro microscópico identifica as MCCL da NF (RICCARDI, 1981a). Determinação quantitativa de macroglóbulos melânicos pela microscopia eletrônica foi proposta como um teste significativo (SLATER, 1986), porém não foi confirmada sua utilidade diagnóstica em estudos subseqüentes (MIHARA *et al.*, 1992; BOUSEMA *et al.*, 1989). Mais recentemente, um aumento no número de terminações nervosas tem sido demonstrado em MCCL (BOUSEMA *et al.*, 1989).

Em adultos, o diagnóstico dermatológico pode ser feito com freqüência somente com os dados clínicos. Os neurofibromas, solitários ou múltiplos, são tumores de consistência macia, semi-globosos ou pediculados, da cor da pele ou violáceos, que variam tanto em número - podendo ser escassos e únicos ou cobrir o corpo por completo (**figuras 5 A, B, C, D e E**), quanto em tamanho - desde punctiformes até massas de 5 ou mais centímetros de diâmetro (**figura 6 A e B**). Em geral, são assintomáticos, entretanto podem ser pruriginosos, dolorosos e sensíveis ao tato.



Figura 5. A. Neurofibromas escassos e isolados.
B. Neurofibromas cobrindo o corpo por completo.
C. Neurofibromas de diversos tamanhos.
D e E. Neurofibromas de vários tamanhos em distribuição universal.



Figuras 6. A e B . Neurofibromas em distribuição universal e um plexiforme gigante em região sacral, cobrindo as nádegas.
C, D e E. Predominância de neurofibromas em diversos tamanhos, distribuídos pelo corpo todo inclusive palmas das mãos (6 C) e sem a presença de sardas axilares (6 E).

Os neurofibromas são tumores displásicos, de textura amolecida, derivados das células de Schwann, que se localizam ao longo dos nervos principalmente nos tecidos subcutâneos (**figura 7**).

Apesar de serem tumores benignos, podem comprometer funções vitais como a visão e audição (RICCARDI, 1981c; JONES, 1988).

Em certos casos, os neurofibromas acompanham todo o trajeto de um nervo atingindo grandes extensões, sendo denominados neurofibromas plexiformes (RICCARDI, 1981c; ALOI e MASSOBRIO, 1989) (**figura 8**).

Assim considera-se que existem quatro tipos de neurofibromas (RICCARDI, 1992): neurofibromas cutâneos-superficiais, moles e botonosos (**figura 9**); neurofibromas subcutâneos - mais profundos, na derme adjacente aos nervos subcutâneos com envolvimento direto das raízes e trajetos dos nervos (**figura 7**), e que freqüentemente acompanham-se de dores localizadas; neurofibromas nodulares plexiformes - formam extensa rede no subcutâneo (**figura 8**) e neurofibromas plexiformes difusos - comprometem todas as camadas da pele, podendo penetrar profundamente nos músculos (**figura 10**) atingir os ossos e, conforme a localização, as vísceras também.

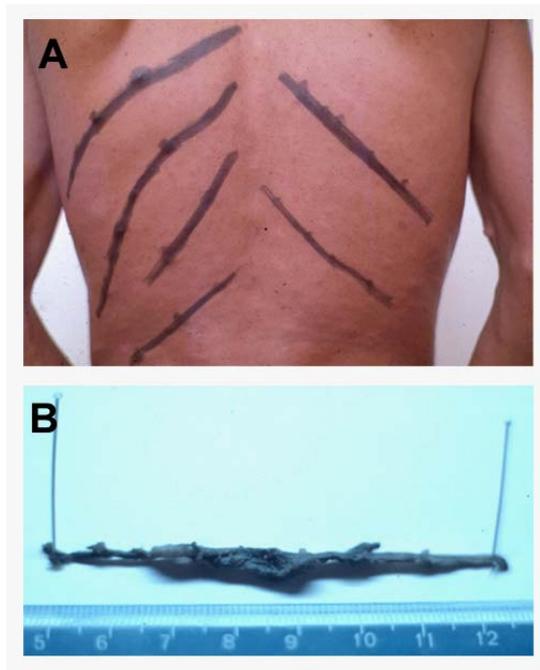


Figura 7. A. Nódulos subcutâneos nos espaços intercostais, delimitados pela palpação e marcação com tinta preta.
B. Visualização macroscópica desses nódulos subcutâneos no trajeto do nervo retirado cirurgicamente.



Figura 8. Neurofibroma plexiforme.

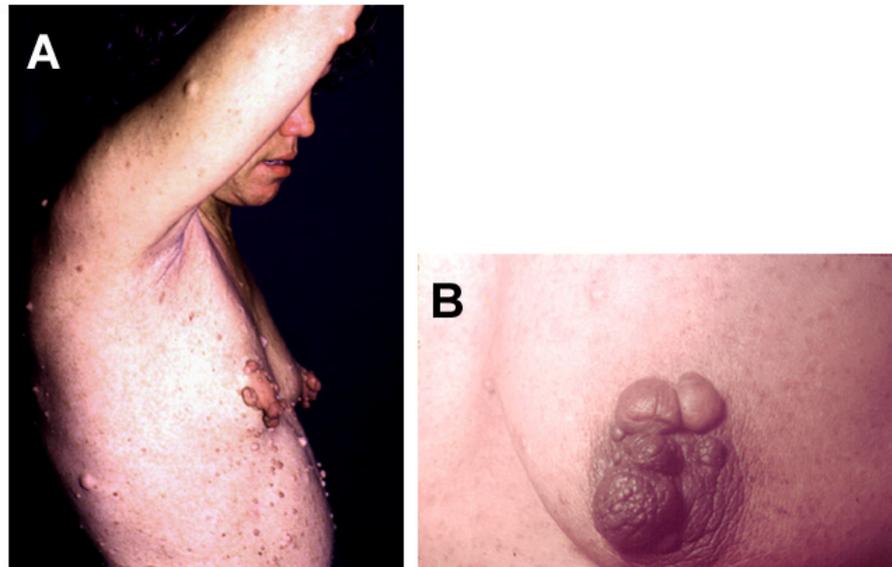


Figura 9. A. Neurofibromas cutâneos-superficiais, moles e botonosos.
B. Neurofibromas supra-mamilares.



Figura 10. A. Neurofibroma plexiforme comprometendo a perna esquerda.
B. Neurofibroma plexiforme invadindo todas as camadas da pele, visão lateral.

Das manifestações oftalmológicas, a mais importante é o nódulo de Lisch, descrito em 1937 por K. Lisch, e que merecidamente recebeu o seu nome. Caracteristicamente numerosos, são lesões de natureza hamartomatosas, tipo elevações, de aspecto gelatinoso na superfície da íris e de formas arredondadas, variando em coloração de transparente ao amarelo ou marrom, bilaterais e bem definidos (LEWIS & RICCARDI, 1981; PERRY e FONT, 1982; BROWNSTEIN & LITTLE, 1983). A presença de nódulos de Lisch múltiplos é uma característica que parece ser exclusiva da NF (RICCARDI, 1981b; LUBS *et al.*, 1991; GARRETO *et al.*, 1989). São assintomáticos e têm somente significado diagnóstico (**figura 11**).

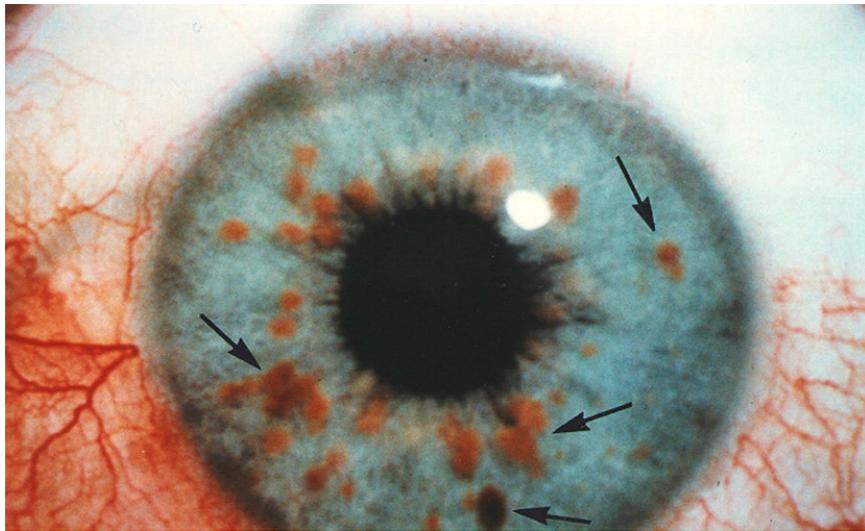


Figura 11. Nódulos de Lisch na superfície da íris (setas).

Quanto à macrocefalia, GORDON (1966) observou que, na maioria das crianças estudadas com NF, ocorreram a macrocrania e a macrocefalia. Os exames de tomografia computadorizada apresentaram-se normais, o que sugere um aumento do tamanho do encéfalo proporcional ao tamanho craniano (HOLT e KUHNS, 1976). No que se refere à baixa estatura, ela ocorre pelas alterações no desenvolvimento (distúrbio do crescimento) e nas estruturas ósseas, sendo que a escoliose é observada em quase metade dos pacientes e geralmente acomete a coluna dorsal inferior e, comumente, apresenta uma angulação pronunciada que pode vir acompanhada de cifose, especialmente mais pronunciada na coluna cervical.

Das complicações ósseas, as mais apontadas na NF incluem escoliose, cifose, cifo escoliose e anomalias da coluna cervical. **(figura 12).**

A pseudoartrose dos ossos longos, proliferação óssea subperiosteal, neoplasias ósseas e meningocele intratorácica também ocorrem, sendo as deformidades de coluna e a pseudoartrose da tíbia os achados mais frequentes. Baixa estatura, peito escavado e genu valgo e genu varo são também descritos. A escoliose ocorre em quase metade dos pacientes, geralmente acomete a coluna dorsal inferior, comumente apresenta uma angulação pronunciada e pode vir acompanhada de cifose, especialmente mais pronunciada na coluna cervical **(figura 13).**

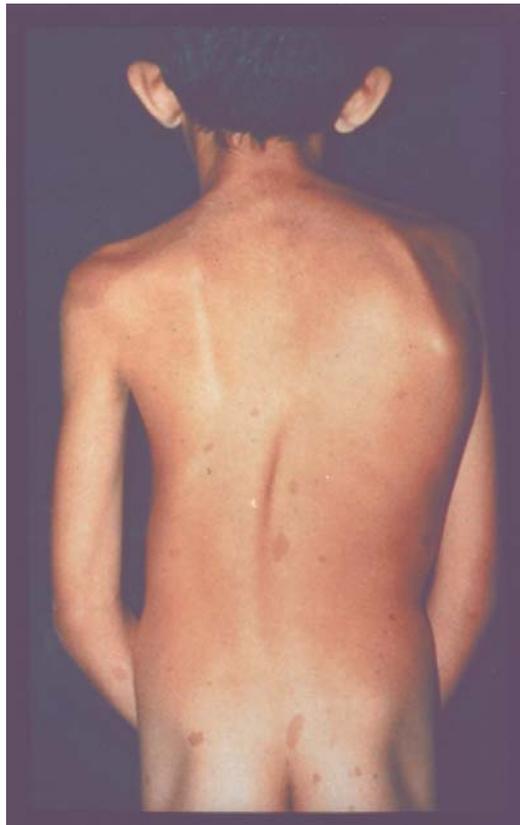


Figura 12: Escoliose na parte inferior da coluna vertebral e MCCL na pele.

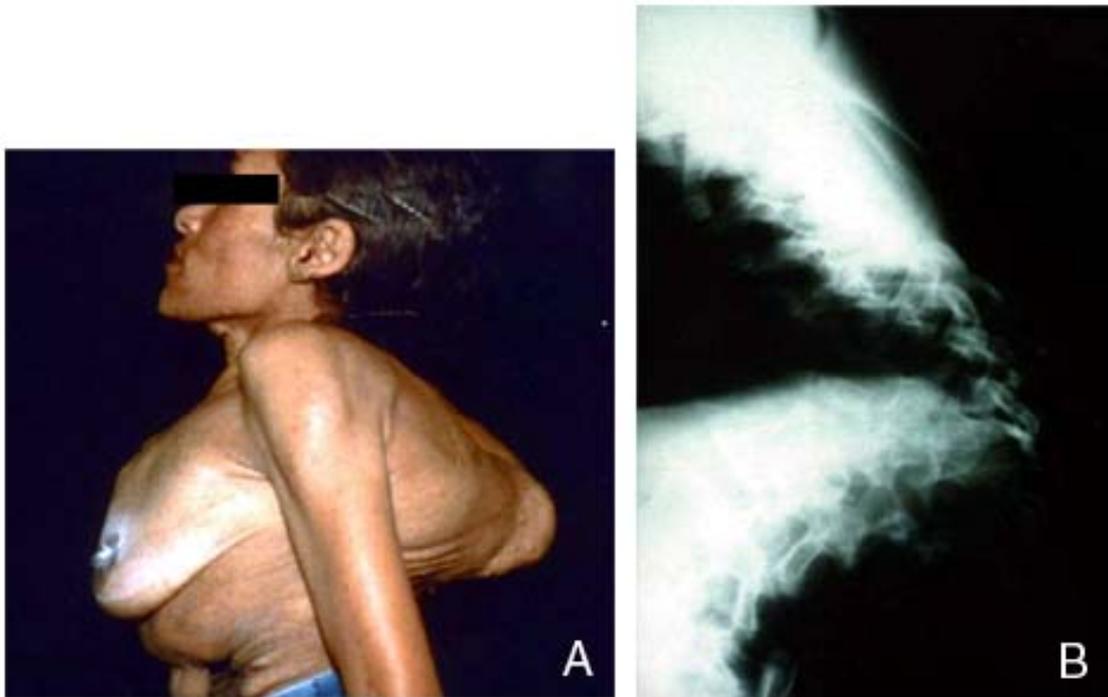


Figura 13:A. Deformidade da caixa torácica por comprometimento da coluna vertebral.
B. Aspecto radiológico da angulação pronunciada da coluna vertebral.

A erosão dos corpos vertebrais e aumento dos forâmens intervertebrais, encontrados em pacientes com NF, devem-se quase sempre ao aparecimento de cistos ou à dilatação dos condutos raquídeo, e não por neurofibromas locais (SALERNO & EDEIKEN, 1970).

As meningoceles intratorácicas, descritas em pacientes com NF, geralmente são assintomáticas e podem apresentar massas mediastinais posteriores na radiografia do tórax, que muitas vezes são erroneamente interpretadas como neurofibromas (SENGPEL *et al.*, 1968). São freqüentemente encontradas no crânio lesões ósseas radioluscentes, arredondadas e irregulares mais comumente vistas junto às suturas lambdóides esquerdas (HANDA *et al.*, 1975).

As alterações em outros ossos ocorrem em menos de 10% dos casos. Essas alterações são as erosões do perióstio por neurofibromas ou em tecidos moles adjacentes, lesões císticas solitárias ou múltiplas dentro do osso (**figura 14**), transtornos do crescimento tipo baixa estatura ou, inclusive, gigantismo, aumento estriado da densidade dos ossos tubulares, afinamento e arqueamento das costelas e dos ossos longos, podendo ocorrer múltiplas fraturas incompletas e pseudoartrose. A pseudoartrose consiste em uma complicação da NF, que pode ocorrer como entidade nosológica à parte (PITT *et al.*,

1972). Metade dos pacientes com pseudoartrose manifestam outros sinais de NF (AEGERTER & KIRKPATRICK, 1964).

As alterações do crescimento ósseo, em particular dos ossos tubulares, são outras manifestações da NF. Em geral, o osso aumenta de comprimento e diâmetro. A hipertrofia pode acontecer em um ou em todos os ossos de uma extremidade junto com a hipertrofia dos tecidos moles (MOORE, 1941).

Entretanto, é possível que não haja neurofibroma localizado na coluna vertebral. A escoliose cervical é um achado frequente na NF, que se combina com escavação anterior e posterior dos corpos vertebrais.

A malignização é a complicação mais séria na NF pelo desenvolvimento das neoplasias malignas (HOPE & MULVIHILL, 1981; BADER, 1986; MOSSO *et al.*, 1987), sendo a mais comum o neurofibrossarcoma ou schwannoma maligno (NEVILLE *et al.*, 1991) (**figura 15**).

Quanto à classificação da NF, RICCARDI (1982) classificou-a em oito tipos, cujas designações, características clínicas e padrões de herança estão relacionados na **tabela 1**.

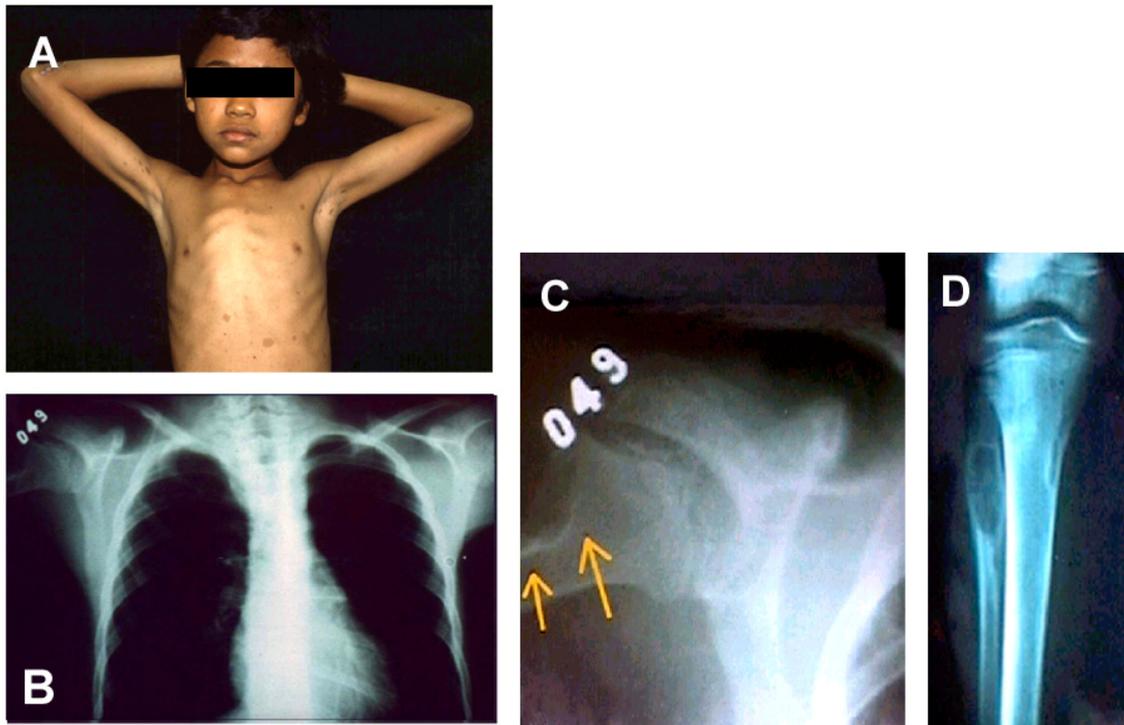


Figura 14. A. MCCL na pele e alterações ósseas da caixa torácica.
B. Comprometimento radiológico do esterno e do úmero.
C. Detalhe radiológico das lesões císticas no interior do úmero.
D. Lesão cística no interior da fíbula.

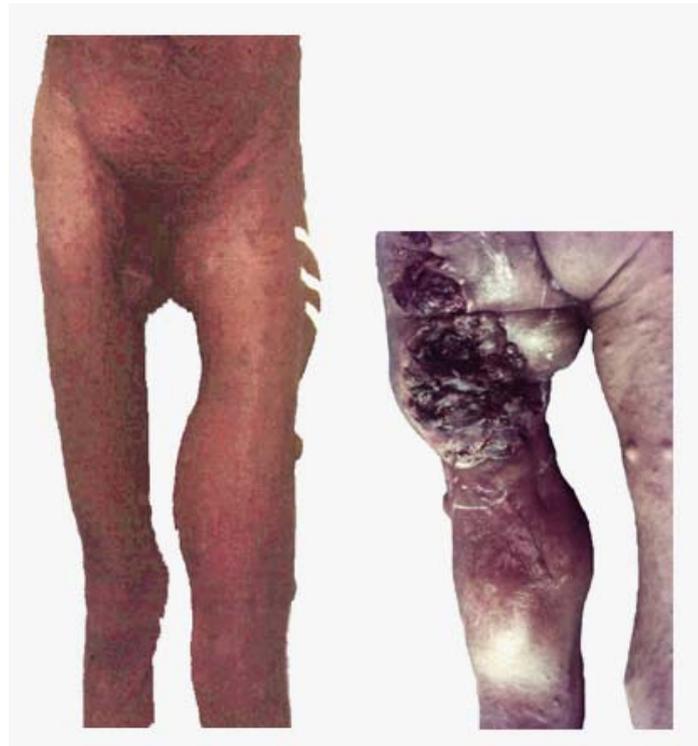


Figura 15. A. Neurofibrossarcoma ou schwannoma maligno em nádega e membro inferior esquerdo.
B. Neurofibrossarcoma ou schwannoma maligno comprometendo nádega e membro inferior esquerdo (vista dorsal).

Tabela 1. Classificação da Neurofibromatose (RICCARDI, 1982).

Tipo	Padrão de Herança	Características Clínicas
Neurofibromatose (NF1)	AD	MCCL, neurofibromas, nódulos de Lisch, sardas axilares, alterações ósseas e neurológicas, neoplasias benignas e malignas
Acústica (NF2)	AD	Neuromas acústicos bilaterais, poucas MCCL e neurofibromas
Mista (NF3)	AD	combinação de 1 e 2
Variante (NF4)	desconhecido	variações nas MCCL, neurofibromas, neoplasias do SNC, nódulos de Lisch
Segmental (NF5)	não herdável	neurofibromas segmentares e/ou MCCL
MCCL Familiar (NF6)	desconhecido	MCCL
Início Tardio (NF7)	desconhecido	após a terceira década de vida, neurofibromas, poucas MCCL
Não Especificada (NF8)	desconhecido	sinais variáveis

AD=autossômico dominante; MCCL=manchas café com leite.

Pouco depois, CAREY *et al.* (1986) propuseram que a NF fosse classificada em apenas cinco tipos, com base nas características clínicas distintas e nas implicações genéticas do paciente assim resumidas: NF1 – clássica, NF2 - acústica, NF3 - segmentar, NF4 - MCCL familiar e NF5 - NF com fenótipo Noonan. Esse último tipo tem sido diagnosticado por vários

pesquisadores (MENDEZ, 1985; KAPLAN & ROSENBLATT, 1985; MEINICKE, 1987). Os afetados por esse tipo de NF apresentam algumas das características comuns à NF clássica, como neurofibromas, MCCL, sardas axilares e nódulos de Lisch, e algumas das características presentes na síndrome de Noonan como ptose palpebral, hipoplasia malar, fissuras palpebrais para baixo, hipertelorismo ocular, pescoço curto, implantação baixa de cabelos na nuca, baixa estatura, cardiopatias, retardo mental e hipotonia. Esse quadro sugere um novo tipo de NF, que foi denominado NF com fenótipo Noonan.

O tipo mais comum é o NF1 (CRUMP, 1981), e justifica mais de 90% de todos os casos, anteriormente conhecido como Doença de von Recklinghausen, ou também NF periférica ou NF "usual".

A NF1 corresponde ao tipo que nos referimos no presente trabalho, é autossômica dominante, afetando aproximadamente 1 em cada 4.000 pessoas. Suas características são as manchas "café com leite", neurofibromas múltiplos e nódulos de Lisch.

A análise da literatura e de nossa casuística (GOLONI-BERTOLO *et al.*, 1994) levaram-nos a sugerir e publicar que deveriam ser considerados apenas três tipos: NF-1 ou clássica ou principal, NF-2 ou acústica e NF

Atípicas, incluindo todas as outras formas, também considerado por HUSON (1994).

As manifestações clínicas da neurofibromatose foram classificadas por HUSON (1994) em "major", "minor" e complicações associadas.

As "major" são específicas de NF, aparecem na grande maioria dos afetados e são a base dos critérios diagnósticos do *National Institute of Health* (1988). São constituídas por MCCL, sardas axilares, neurofibromas periféricos e nódulos de Lisch. As "minor" são também específicas de NF e aparecem em alta frequência nos afetados, mas não são utilizadas como critérios diagnósticos. São definidas como "minor" as características macrocefalia e baixa estatura. As complicações associadas são referidas como as demais características que envolvem os sistemas nervoso, esquelético, gênito-urinário, endócrino, cardiovascular, respiratório, gastrointestinal, hematopoiético e pele.

1.4. MASTÓCITOS

Sob o aspecto histológico, os mastócitos ocorrem na derme normal, em pequeno número, sob a forma de células fusiformes com um núcleo oval. Contêm em seu citoplasma numerosos grânulos que não se coram com

colorações de rotina como Hematoxilina-Eosina (HE). Por essa razão, os mastócitos, em pele normal, usualmente são indistinguíveis dos fibroblastos, embora ocasionalmente possa-se reconhecer neles pequena quantidade de citoplasma, visível somente em microscópio eletrônico. A característica específica dos mastócitos, apontada pela primeira vez por EHRLICH (1877), é que seus grânulos citoplasmáticos basófilos coram-se metacromaticamente, o que os distingue de outras células do tecido conjuntivo de morfologia similar.

A heparina contida nos mastócitos é a responsável pela metacromasia, porém, coube à RILEY (1952) demonstrar que, além da heparina, os mastócitos contêm histamina nos mamíferos. Concentram-se próximos ao epitélio de revestimento e ao redor dos vasos sanguíneos e linfáticos, próximo ou dentro dos feixes nervosos e principalmente abaixo das superfícies basais dos epitélios, tais como os dos sistemas respiratório e gastrointestinal e da pele, que são expostos aos antígenos do meio (METCALFE *et al.*, 1981; GALLI *et al.*, 1984; BIENENSTOCK *et al.*, 1989). Os mastócitos podem ainda apresentar localização intra-epitelial (ENERBACK, 1981).

Na derme normal, a ocorrência dos mastócitos é principalmente na vizinhança dos capilares e, como o maior número de capilares está presente

na região subpapilar e na vizinhança dos apêndices cutâneos, a maioria dos mastócitos é observada nessas áreas.

Embora os mastócitos sejam considerados células do tecido conjuntivo, estudos realizados *in vitro* mostraram que são originados nos tecidos hematopoiéticos (KITAMURA *et al.*, 1979; GALLI *et al.*, 1984; GALLI, 1990). Seus precursores, células progenitoras da medula óssea pluripotente que expressam o antígeno CD34 (KIRSHENBAUM *et al.*, 1992; BURD *et al.*, 1989), migram a partir da corrente sanguínea e, quando chegam ao tecido conjuntivo, diferenciam-se em mastócitos e proliferam (HATANAKA *et al.*, 1979; KITAMURA *et al.*, 1979).

Os grânulos citoplasmáticos dos mastócitos são compostos por substâncias químicas pré-formadas como os proteoglicanos, às quais estão ligadas pequenas moléculas como a histamina e a serotonina, além de proteases neutras e fatores quimiotáticos que participam das reações inflamatórias e dos processos imunológicos (GALLI *et al.*, 1984; SIRAGANIAN, 1988), sendo que a participação dos mastócitos na resposta imune está associada à presença de receptores para IgE encontrados na superfície destas células (ISHIZAKA & ISHIZAKA, 1984).

Os mastócitos do tecido conjuntivo são encontrados freqüentemente próximos dos feixes de fibras nervosas, sugerindo que, em certas condições,

os mastócitos são influenciados diretamente por terminações nervosas (NEWSON *et al.*, 1983).

O número de mastócitos na derme está aumentado em muitas condições inflamatórias, nas quais estas células são encontradas entremeadas com várias células "inflamatórias" como no tecido de granulação de feridas em processo de cura, na dermatite atópica, líquen simples crônico e pênfigo vulgar (MIKHAIL & MILLES-MELINSKA, 1964).

O infiltrado dérmico, nestas condições, via de regra é facilmente diferenciado daquele da urticária pigmentosa na qual o infiltrado, embora possa ser leve, consiste quase que exclusivamente de mastócitos. A exceção é a presença de uma discreta adição de eosinófilos como resultado da desgranulação de alguns mastócitos.

1.5. HISTOPATOLOGIA DOS NEUROFIBROMAS

O exame histopatológico dos neurofibromas cutâneos mostra os mesmos achados dos neurofibromas solitários e os dos encontrados na neurofibromatose (LEVER & SHCAUMBURG-LEVER, 1991). Embora usualmente bem circunscrito, eles não são encapsulados (REED, 1977).

Ocasionalmente não são separados da derme circundante, de modo nítido, porém entremeiam-se no tecido conjuntivo. Eventualmente, grandes tumores estendem-se para a gordura subcutânea.

Os neurofibromas típicos são compostos de fibras colágenas fracamente eosinofílicas, finas, onduladas, dispostas em feixes frouxamente arranjados que se estendem em várias direções. Entre as fibras colágenas há grande número de núcleos, que variam morfológicamente de ovais à fusiformes, com tamanho razoavelmente uniforme. As colorações com o azul de toluidina ou pelo Giemsa revelam um número considerável de mastócitos na maioria dos neurofibromas.

Existe um número variável, mas não grande, de fibras nervosas nos neurofibromas (MONTGOMERY, 1967).

Os neurofibromas plexiformes afetam grandes nervos localizados na profundidade e mostram fascículos nervosos irregulares como resultado de um aumento da matriz endoneural e do perineuro, sem um aumento das fibras nervosas (REED & JACOBY, 1983).

GIORNO & CLAMAN (1988) evidenciaram que os mastócitos estão em íntimo contato com outras células na neurofibromatose, como as células perineurais e os fibroblastos e, assim sendo, os produtos secretórios dos

mastócitos poderiam ser importantes na regulação da síntese do colágeno pelos fibroblastos e pelas células de Schwann.

Estudos realizados por DYER (1978) na derme do tatu, e por KIMURA *et al.* (1988) no nervo ciático, gânglios espinhal, trigêmio e no cérebro do insetívoro *Sucus murinus*, demonstraram uma íntima associação dos mastócitos endoneurais com fibroblastos. Possivelmente esta associação esteja relacionada com a produção e manutenção do tecido conjuntivo endoneural. Sugerem ainda que esta associação pode estar relacionada também com o crescimento e o próprio desenvolvimento da fibra nervosa durante a maturação.

1.6. MATRIZ EXTRACELULAR

Por definição, a matriz extracelular é uma malha tridimensional de moléculas que rodeiam e circundam as células. Junto com a água e outras pequenas moléculas (nutrientes e íons), constitui o ambiente extracelular. Sua composição química é variável, mas consiste basicamente de substância fundamental amorfa, com glicosaminoglicanos, proteoglicanos e glicoproteínas, além das fibras colágenas e elásticas (ANDRÉ, 1998a).

A substância fundamental amorfa (SFA) corresponde a um material translúcido, em forma de gel altamente hidratado, cujas células e fibras do tecido conjuntivo estão cimentadas. Sua fase aquosa constitui um meio através do qual devem passar os nutrientes e os produtos residuais que transitam entre o sangue e o parênquima dos órgãos. Seus principais componentes químicos são o ácido hialurônico, o sulfato de condroitin, o sulfato de queratan e o sulfato de heparan, todos glicosaminoglicanos - uma classe de macromoléculas longas e de polímeros lineares de subunidades de dissacarídeos (JACQUES & CAMERON, 1969). As glicoproteínas de adesão são glicoproteínas que estão envolvidas na interação das células com a matriz extracelular. As fibras colágenas estão presentes em todos os tipos de tecido conjuntivo. Acidófilas, coram-se pela Hematolína-Eosina em rosa, pelo tricrômico de Mallory em azul e pelo tricrômico de Masson em verde. Quando não submetidas à tensão apresentam-se com ondulações e, nas fibras mais largas aparece uma discreta estriação longitudinal, sugerindo um feixe de pequenas fibras. Sob microscopia polarizada, as pequenas fibras exibem uma birrefringência uniforme, indicando que são constituídas de subunidades orientadas paralelamente ao seu eixo fibroso. Pela microscopia eletrônica, as fibras colágenas apresentam-se como fibras paralelas, correspondendo às subunidades responsáveis pelas formações birrefringentes observadas com a

microscopia polarizada. Em eletromicrografias, essas "unidades fibrilares" são estriadas transversalmente com densas bandas eletrodensas, que se repetem a cada 67 nm ao longo de seu comprimento. As unidades fibrilares são polímeros das moléculas do colágeno, constituídas de três cadeias polipeptídicas chamadas cadeias alfa, cada uma com peso molecular de cerca de 100.000 daltons e configuração helicoidal que se entrelaçam formando uma tríplice hélice unidas entre si por uma ligação hidrogenada.

O colágeno é, atualmente, considerado uma família de proteínas intimamente relacionadas, que compartilham certos quadros de organização molecular, porém tendo cadeias alfa que diferem em suas seqüências e composições de aminoácidos.

Doze tipos de colágenos já foram identificados. O colágeno tipo I é o mais encontrado, ocorre na derme, ossos, tendões, fâscias e nas cápsulas dos órgãos. Suas fibrilas agregam-se para formar fibras colágenas e feixes fibrosos de uma ampla variação de tamanhos. As fibras são flexíveis, porém resistentes à tensão. O colágeno tipo II é encontrado na cartilagem elástica e hialina, no núcleo pulposo dos discos intervertebrais e no corpo vítreo dos olhos, onde forma fibras finas que estão incluídas em abundante substância fundamental. Não forma grandes fibras. É visível somente pela luz polarizada ou pela coloração com picro-sírius. O colágeno tipo III é abundante no tecido

conjuntivo frouxo, nas paredes dos vasos sangüíneos, no estroma de várias glândulas, no baço, rins e útero (MEIGEL *et al.*, 1977). Ele forma as fibras com propriedades argirofílicas tradicionalmente chamadas de fibras reticulares.

Os colágenos tipos I, II e III, que formam fibras visíveis microscopicamente e são referidos como "colágeno intersticial", distinguem-se de um grande grupo de colágenos que são detectáveis somente por meio de anticorpos marcados, como os colágenos tipo IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI e XII (BYERS *et al.*, 1982, LEIGH *et al.*, 1988, MEIGEL *et al.*, 1977, YAOITA *et al.*, 1978).

O colágeno tipo IV é uma forma especializada e restrita à lâmina basal dos epitélios. Junto à laminina e heparan sulfato, formam um emaranhado de finos filamentos e constituem um suporte físico do epitélio e uma seletiva barreira de filtração para macromoléculas.

O significado funcional dos múltiplos tipos de colágeno e suas diferentes distribuições ainda não estão bem compreendidos. Os mais comumente observados são os intersticiais tipo I, II e III, que formam fibras visíveis à microscopia de luz (MEIGEL *et al.*, 1977).

O tecido conjuntivo, na maioria dos órgãos, inclui mais de um tipo de colágeno. As pesquisas a respeito deles devem partir da microscopia de luz

utilizando-se luz polarizada e corantes seletivos até a microscopia eletrônica, auxiliada pela imunohistoquímica com anticorpos específicos.

O tecido conjuntivo frouxo contém um inter cruzamento de finas fibras, 0,5 a 2,0 micrômetros, denominadas fibras reticulares, que não são facilmente distinguíveis do fino tecido conjuntivo extensivo, porém podem ser seletivamente impregnados pela prata ou pela reação com ácido periódico e reativo de Schiff (para mucopolissacarídeos), o que é atribuído a seu revestimento glicoprotéico. Consistem principalmente do colágeno III.

As fibras elásticas são fibras delgadas com diâmetro uniforme e tendência a formar ramos que se reúnem em uma malha frouxa, porém eventualmente em uma espécie de lâmina fenestrada como é o caso na parede das grandes artérias. Seu conteúdo de dois aminoácidos pouco usuais, desmosina e isodesmosina, distribuem-se de tal forma que dão a essas fibras propriedades elásticas semelhantes à borracha (JANSEN, 1955; SMITH, 1963). Constituem-se de duas proteínas: fibrilina e elastina.

As fibras elásticas são especialmente abundantes nos tecidos conjuntivos dos órgãos que necessitam de uma elasticidade suficiente após deformidades sofridas como os pulmões, aorta, etc.

A matriz extracelular apresenta diferentes funções em diferentes tecidos, mas basicamente atua sobre as células em contato com ela, afetando e

influenciando suas atividades metabólicas, como forma, migração, divisão e diferenciação (ANDRÉ, 1998).

1.7. OBJETIVOS

1. Investigar aspectos genético-clínicos em pacientes portadores de NF. O levantamento das características clínicas e a sua frequência são importantes para o diagnóstico preciso.
2. Quantificar os mastócitos nos neurofibromas dos pacientes com NF e comparar com a pele humana normal.
3. Avaliar os componentes da matriz extracelular nos neurofibromas, em termos quantitativos, particularmente a substância fundamental e os componentes fibrosos, colágenos e elásticos.

2. CASUÍSTICA E MÉTODO

2.1. AVALIAÇÃO GENÉTICO-CLÍNICA

Foram avaliados 30 pacientes atendidos no CEPAN (Centro de Pesquisas e Atendimento em Neurofibromatose), da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – SP (FAMERP). O CEPAN é um serviço multidisciplinar, que envolve profissionais das áreas de genética, dermatologia, histologia, oftalmologia, radiologia, neurologia, ortopedia, psicologia, ginecologia e otorrinolaringologia.

A **tabela 2** apresenta 30 pacientes avaliados. As letras correspondem às iniciais dos nomes de cada um, de acordo com normas estabelecidas pelo CEPAN. Esta tabela apresenta a idade, sexo, raça, profissão, naturalidade e procedência. Todos foram diagnosticados como neurofibromatose do tipo 1, segundo os critérios anteriormente apontados e todos com padrão de herança autossômica dominante.

A idade dos pacientes variou de 12 a 70 anos, com média de 41 anos e desvio padrão de 41,01 anos. Vinte e um pacientes (70%) são do sexo feminino e nove (30%) do sexo masculino. Em relação à raça, 21 indivíduos (70%) foram classificados como caucasóides, seis (23,4%) como negróides e dois (6,6%) como asiáticos. A recorrência familiar foi observada em todos os pacientes. Quanto à profissão, 18 exerciam atividades no lar. Em relação à naturalidade, todos pacientes são brasileiros, sendo 27 pacientes provenientes do Estado de São Paulo e três de outros estados. Portanto, a maioria é provenientes do Estado de São Paulo, com percentil de 90%.

Tabela 2. Caracterização da amostra dos pacientes portadores de NF1.

Protocolo	Paciente	Idade	Sexo	Raça	Profissão	Naturalidade	Procedência
02	CPSSS	33	F	1	do lar	Outras*	SP
03	AM	54	M	2	vis. sanit.	S.J.R.P	SP
04	PNM	16	F	3	estudante	S.J.R.P	SP
05	BAS	35	M	2	lavrador	S.J.R.P	SP
06	ABB	45	F	1	do lar	S.J.R.P	SP
07	GEPP	25	F	1	do lar	Outras*	SP
09	VMC	36	F	1	do lar	S.J.R.P	SP
12	RSF	12	M	1	estudante	S.J.R.P	SP
13	MGS	29	F	1	do lar	S.J.R.P	SP
14	MBR	39	F	1	do lar	Outras*	Outros ^o
15	JRS	39	F	1	lavrador	S.J.R.P	SP
16	VRS	13	F	3	estudante	S.J.R.P	SP
17	MDC	52	M	1	metalúrgico	S.J.R.P	SP
18	ICT	51	F	1	do lar	S.J.R.P	SP
22	EFS	23	M	1	aux. defes.	S.J.R.P	SP
23	MJVM	33	F	1	do lar	S.J.R.P	SP
24	MVG	65	F	1	do lar	S.J.R.P	SP
25	MS	25	F	2	do lar	S.J.R.P	SP
26	MJN	23	F	1	do lar	S.J.R.P	SP
27	MJBO	41	F	1	do lar	S.J.R.P	SP
30	EBBS	64	F	2	do lar	S.J.R.P	SP
33	SCA	25	F	1	do lar	Outras*	Outros ^o
35	LTR	51	F	1	do lar	S.J.R.P	SP
37	CBS	18	M	2	estudante	S.J.R.P	SP
39	JPC	70	M	1	lavrador	Outras*	Outros ^o
40	MSP	54	F	1	do lar	S.J.R.P	SP
48	FRD	52	F	2	do lar	S.J.R.P	SP
49	ERD	22	M	2	técnico TV	S.J.R.P	SP
52	AS	34	M	1	guarda noturno	S.J.R.P	SP
53	MAS	31	F	1	do lar	S.J.R.P	SP

1 = caucasóide; 2 = negroide; 3 = asiática; SJRP = São José do Rio Preto; Outras* = outras cidades; Outros^o = outros estados

Os pacientes avaliados pertenciam a 30 famílias não-relacionadas.

Alguns foram convocados, via postal, para comparecerem ao CEPAN, a fim de serem reavaliados e cadastrados neste centro específico de

neurofibromatose, já que a maior parte deles havia passado pelo Serviço de Genética do Hospital de Base da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - SP. Alguns pacientes foram encaminhados ao CEPAN por outros serviços da mesma instituição.

A coleta de informações foi realizada utilizando ficha padronizada pelo CEPAN (Anexo 4), contendo todos os dados individuais, familiares, antecedentes pessoais e familiares, heredogramas, dados de exames físicos e demais exames solicitados, inclusive os de outras áreas médicas.

A avaliação oftalmológica foi realizada em todos os pacientes, com a finalidade de detectar nódulos de Lisch e verificar a presença de outras possíveis alterações oculares.

As alterações ósseas foram avaliadas através de radiografias de crânio, tórax, coluna cervical, torácica e lombar, membros superiores e inferiores. Quando necessário, procedeu-se a exames mais específicos com as técnicas de ressonância magnética nuclear e tomografia computadorizada.

Devido ao fato de alguns pacientes apresentarem convulsões, problemas cardíacos e hipertensão arterial, foram realizados eletroencefalograma (EEG) e eletrocardiograma (ECG). Todos os pacientes foram também encaminhados à neurologia, principalmente aqueles com queixa de cefaléias constantes ou dormência em alguma região do corpo.

A avaliação otorrinolaringológica foi realizada quando o paciente apresentava queixa de distúrbios de audição, tonturas, dores localizadas ou zumbidos.

A avaliação das disfunções psicossociais, distúrbios comportamentais e retardo mental foi realizada pelo Serviço de Psicologia, também integrante do CEPAN.

Em casos apresentando outras queixas clínicas específicas, procedeu-se o encaminhamento dos pacientes para a especialidade indicada.

A técnica fotográfica dos pacientes foi feita com máquina fotográfica Pentax K 1000 e flash Maxwell 222-H, utilizando-se filmes coloridos ASA 100 (Kodak, Agfa ou Fuji).

2.2. OBTENÇÃO DE MATERIAL PARA AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

O material estudado no presente trabalho foi obtido de biópsias de pele normal e de neurofibromas humanos de pacientes portadores de NF, registrados no Serviço de Dermatologia do Hospital de Base (HB), previamente classificados e diagnosticados por patologistas do Hospital de

Base da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - Autarquia Estadual (FAMERP) de São Paulo.

As biópsias, após retiradas, foram fixadas em formaldeído a 10%, durante 24 horas, desidratadas e incluídas em parafina em ponto de fusão a 57°C conforme a rotina.

Dos blocos foram feitos cortes escalonados de 5 micrômetros de espessura em micrótomo rotativo manual Reichert-Jung e colocados em lâminas histológicas com auxílio de banho-maria.

2.3. MÉTODOS DE COLORAÇÃO

Os cortes escalonados (espessura de 5 μ m), num total de 10 cortes aproveitando-se sempre o décimo corte, portanto intervalo de 9 cortes ou 45 μ m, foram submetidos às técnicas de coloração que se seguem.

2.2.1. Coloração pelo Azul de Toluidina

Os cortes, depois de desparafinizados e hidratados, foram corados pela solução de azul de toluidina a 0,5% em água destilada, por 30 a 60 segundos,

passados em água para retirar o excesso de corante. Foram então desidratados, clarificados em xilol e montados com bálsamo do Canadá.

2.2.2. Coloração pela Hematoxilina-Eosina-Floxina (BEHMER et al., 1976)

Os cortes, depois de desparafinizados e hidratados, foram corados pela hematoxilina de Harris por cinco minutos, diferenciados rapidamente em solução de álcool-ácido (nove partes de álcool 70% e uma parte de ácido clorídrico 1N) e lavados em água corrente por dez minutos. Posteriormente, passaram por um rápido banho em álcool 80% e foram contracorados em solução de eosina-floxina (10:1 - V/V) por dois minutos; então foram desidratados, clarificados em xilol e montados com bálsamo do Canadá.

2.2.3. Coloração pelo Tricrômio de Gomori (BEHMER et al., 1976)

Os cortes, após o procedimento usual até a água destilada, foram colocados em solução de Bouin, na estufa a 56°C, por uma hora, lavados em água corrente até desaparecer a cor amarela dos mesmos. Os núcleos foram corados em solução crômica de Gomori por dez minutos. Após a lavagem em água corrente, foram corados pela solução tricrômica por 15 a 20 minutos,

colocados em água acética a 0,5% por dois minutos, então foram desidratados, clarificados em xilol e montados com bálsamo do Canadá.

2.2.4. Coloração pelo Tricrômio do Picrosirius-Hematoxilina (SWEAT et al., 1964; JUNQUEIRA et al., 1978)

Os cortes, depois de desparafinizados e hidratados, foram corados na solução de picrosirius (0,1g de Sirius Red F3B200 - Merck - em 100ml de solução saturada de ácido pícrico) durante 60 minutos. Após rápida lavagem em água destilada, os cortes foram corados pela hematoxilina de Harris durante 15 minutos, lavados em água corrente, desidratados, diafanizados em xilol e montados com bálsamo do Canadá.

2.2.5. Impregnação pela Prata para Reticulina (GÖMORI, 1937)

Os cortes, depois de desparafinizados e hidratados, foram oxidados em solução de permanganato de potássio a 2% por dois minutos. Depois de lavados em água destilada, os cortes foram tratados pela solução de ácido oxálico a 1% por um minuto e lavados em água destilada. Então, foram tratados pelo alumínio de ferro a 2% por um minuto, lavados em água destilada e submetidos à impregnação pela prata amoniacal por dois minutos. Depois de cuidadosa lavagem em água destilada por dois minutos, então

tratados por solução de cloreto de ouro a 2% por um minuto e posteriormente lavados em água destilada. Depois de tratados por solução de hipossulfito de sódio por três minutos e lavados em água destilada, os cortes foram desidratados, clarificados em xilol e montados com bálsamo do Canadá.

2.2.6. Coloração pela Hematoxilina-Férrica (VERHOEFF, 1908)

Os cortes, depois de desparafinizados e hidratados, foram colocados em solução de hematoxilina férrica por 50-60 minutos. Lavados em água corrente para remover o excesso de corante, foram diferenciados, por poucos segundos, em cloreto férrico a 2%, sob controle microscópico. Nova lavagem em água precedeu um banho em álcool 95%, por 5 minutos, seguido de outro banho em água, por mais 5 minutos. Foram contrastados em solução aquosa de eosina a 0,5%, por 5 minutos, desidratados, clarificados e montados com bálsamo do Canadá.

2.4. CONTAGEM DE MASTÓCITOS

Os cortes utilizados para este procedimento foram os obtidos das biópsias de pele normal e de neurofibromas humanos corados com azul de toluidina. Foram contabilizados 10 biópsias de pele normal e 30 biópsias de neurofibromas humanos.

Para a contagem dos mastócitos neste trabalho utilizou-se uma grade idealizada por MERZ (1968), impressa sobre papel, sobre o qual foram feitas as contagens. Esta grade consiste de um quadrado que limita a área teste, contendo um sistema de pontos marcados sobre uma linha sinuosa, formada por uma sucessão de semi-círculos encadeados (**anexo 3**).

A grade de MERZ foi usada para contar mastócitos que estavam presentes em uma determinada estrutura histológica, bastando para isso considerar o número de mastócitos naquela área delimitada. Para cada biópsia foram contados os mastócitos presentes em 20 campos (ocular de 10x e objetiva de 40x).

2.5. AVALIAÇÃO DA MATRIZ EXTRACELULAR

Neste procedimento foram utilizados apenas cortes obtidos das biópsias dos neurofibromas humanos corados com as seguintes técnicas: hematoxilina-eosina, tricrômio de Gomori, tricrômio do Pricrosirius-hematoxilina, impregnação pela prata e hematoxilina-férrica.

Para cada uma das técnicas acima foi avaliado um componente da matriz extracelular.

A análise foi realizada através da observação do corte em microscópio Nikon (YS2-H, Japan) com objetiva de 40X.

Cada componente foi quantificado, pela observação direta, utilizando-se para tanto um sistema de cruces variando de 0 (ausência total) a +++ (quantidade máxima). Os dados foram colocados numa tabela.

2.6. DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA

As lâminas foram fotomicrografadas em fotomicroscópio Zeiss-Jenaval, com objetivas plana cromáticas de 25x, 40x e imersão, com optovar 1,25x, em luz policromática convencional e polarizada, usando-se filmes

Kodakcolor, 135 mm, ASA 100 revelados pelo sistema automático dos laboratórios Kodak da cidade de São José do Rio Preto (SP).

2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística dos dados resultantes da contagem de mastócitos recorreu-se à análise exploratória dos dados com cálculo de média, mediana, desvio padrão, mínimo, primeiro quartil, terceiro quartil e máximo.

Em seguida foi realizado o teste *t-Student* para comparação de médias entre o grupo controle e os neurofibromas, para dados heterocedásticos, ou seja, de variâncias diferentes.

Os objetivos desse estudo foram verificar as diferenças no número de mastócitos do grupo controle (pele normal) comparando-os à um grupo de portadores de neurofibromatose e observar a matriz extracelular dos neurofibromas dos pacientes estudados sob os aspectos histopatológicos.

3. RESULTADOS

Na **tabela 3** observam-se os principais sinais clínicos encontrados em cada paciente e que apareceram com maior frequência como as MCCL, neurofibromas, sardas axiliares, nódulos de Lisch e alterações ósseas. O perímetro cefálico (PC) está apresentado seguido da classificação observada em cada caso utilizando a tabela de Tanner-Withehouse de 1966 (JONES, 1988). Foram considerados portadores de macrocefalia os indivíduos com percentis igual ou superior a 98. Doze deles (50%) apresentaram macrocefalia, seis pacientes não foram avaliados e doze deles apresentaram PC entre os percentis 50 e 98 (50%).

Tabela 3. Principais sinais clínicos observados nos pacientes com neurofibromatose.

PACIENTES		MCCL	Neuro- fibromas	Sardas Axilares	Nódulos Lisch		PC
Protocolo	Nome						
02	CPSSS	+	+	-	-	56	50<P<98
03	AM	+	+	+	+	57	50<P<98
04	PNM	+	+	+	+		NA
05	BAS	+	+	+	+	61,5	P>98
06	ABB	+	+	+	+	58	P=98
07	GEPP	+	+	-	+	58	P=98
09	VMC	+	+	+	+		NA
12	RSF	+	+	+	+	62	P>98
13	MGS	+	+	+	+	53	50<P<98
14	MBR	+	+	+	+	56	50<P<98
15	JRS	+	+	+	+	58	P=98
16	VRS	+	+	+	+	55	50<P<98
17	MDC	+	+	+	+	60	P>98
18	ITC	+	+	-	-	58	P=98
22	EFS	+	+	-	+	57	50<P<98
23	MJVM	+	+	+	+	60	P>98
24	MVG	-	+	-	+	56	50<P<98
25	MS	+	+	+	+	55	50<P<98
26	MJN	+	+	+	+		NA
27	MJBO	+	+	+	+	60	P>98
30	EBBS	+	+	+	+	58	P=98
33	SCA	+	+	+			NA
35	LTR	+	+	+	+		NA
37	CBS	+	+	+	+	56	50<P<98
39	JPC	+	+	-	+	70	P>98
40	MSP	+	+	+	+		NA
48	FRD	+	+	+	+	58	P=98
49	ERD	+	+	+	+	58	50<P<98
52	AS	+	+	+	-	56	50<P<98
53	MAS	+	+	+	-	56	50<P<98

MCCL: manchas café com leite; PC: perímetro cefálico; P: perímetro; NA: não avaliado

Na **tabela 4** podem ser observadas as frequências com que essas características apareceram. As MCCL estavam presentes em 93,66% e os

neurofibromas em 100%. As alterações ósseas e sardas axilares foram observadas em 73,33% e 80%, respectivamente dos pacientes investigados. Os nódulos de Lisch estavam presentes em 86,20% dos pacientes. O retardo mental e os outros tipos de alterações psicológicas foram observados com as respectivas frequências de 85,71 % e 100 % dos pacientes avaliados.

Tabela 4. Frequência dos principais sinais clínicos.

Sinais Clínicos	Presença	Ausência	Não Investigado	Frequência	%
MCCL	29	01	-	29/30	93,66%
Neurofibromas	30	-	-	30/30	100%
Sardas Axilares	24	06	-	24/30	80%
Nódulos de Lisch	25	04	01	25/29	86,20%
Alterações Ósseas	22	08	-	22/30	73,33%
RM	18	03	09	18/21	85,71%
Outras Alterações Psicológicas	21	-	09	21/21	100%

A frequência e localização das MCCL, neurofibromas, nódulos de Lisch e sardas axilares podem ser observadas na **tabela 5**. A frequência desses sinais foi classificada em baixa, média e alta. Portanto, a frequência das MCCL e neurofibromas foi considerada baixa quando era de fácil contagem, ou seja, em número menor que 50; média quando havia uma certa dificuldade em contar os sinais (entre 51 e 150) e alta quando os sinais apareciam em número maior que 150. Para as sardas axilares consideramos frequência baixa até quatro sardas, média até oito e alta acima de oito. Para os nódulos de Lisch, as frequências eram consideradas baixa para até três nódulos, média até seis e alta acima de seis.

Tabela 5. Frequência e localização dos sinais mais importantes (“major”) da NF1.

Paciente		MCCL		Neurofibromas		Sardas Axilares		Nódulos de Lisch	
Protocolo	Nome	Freq.	Local	Freq.	Local	Freq.	Local	Freq.	Local
02	CPSSS	baixa	tronco, braços	Baixa	joelho			ausência	-
03	AM	baixa	difusa	Alta	difusa	baixa	bilat.	baixa	bilat.
04	PNM	alta	difusa	Alta	difusa	alta	bilat.	alta	bilat.
05	BAS	baixa	difusa	Alta	difusa	média	bilat.	baixa	bilat.
06	ABB	alta	difusa	Baixa	tronco/face	alta	bilat.	média	bilat.
07	GEEP	baixa	perna D, abdome D	Baixa	braço D			baixa	unilat. (OD)
09	VMC	média	difusa	Média	difusa	média	bilat.	alta	bilat.
12	RSF	baixa	difusa	Baixa	axila/cabeça	baixa	bilat.	ausência	bilat.
13	MGS	alta	difusa	Média	difusa	alta	bilat.	alta	bilat.
14	MBR	alta	difusa	Média	difusa	alta	bilat.	baixa	bilat.
15	JRS	alta	difusa	Baixa	difusa	alta	bilat.	média	unilat. (OE)
16	VRS	média	difusa	Baixa	antebr.E	média	bilat.	média	bilat.
17	MDC	alta	difusa	Média	difusa	alta	bilat.	alta	bilat.
18	ITC	baixa	abdome e ombro E	Baixa	pelve D/ crânio			ausência	-
22	EFS	baixa	abdome	Baixa	face/abdome			média	unilat. (OD)
23	MJVM	baixa	tronco	Média	difusa	baixa	bilat.	baixa	bilat.
24	MVG			Baixa	difusa			baixa	bilat.
25	MS	alta	difusa	Alta	difusa	alta	bilat.	alta	bilat.
26	MJN	média	difusa	Baixa	braço D	média	bilat.	baixa	bilat.
27	MJBO	alta	difusa	Alta	difusa	alta	bilat.	alta	bilat.
30	EBB	baixa	difusa	Alta	difusa	média	bilat.	média	bilat.
33	SCA	baixa	difusa	Média	difusa	média	bilat.	não inv.	
35	LTR	média	difusa	Alta	difusa	média	bilat.	baixa	unilat. (OE)
37	CBS	baixa	difusa	Baixa	pescoço/face/ombro	baixa	bilat.	baixa	bilat.
39	JPC	baixa	difusa	Alta	difusa			alta	bilat.
40	MSP	baixa	perna e abdome	Alta	difusa	baixa	bilat.	média	bilat.
48	FRD	baixa	difusa	Média	difusa	alta	bilat.	alta	bilat.
49	ERD	alta	difusa	Baixa	antebraço D	alta	bilat.	média	bilat.
52	AS	alta	difusa	Alta	difusa	alta	bilat.	ausência	-
53	MAS	alta	difusa	Alta	difusa	alta	bilat.	ausência	-

freq.:frequência, D: direito, E: esquerdo, OD: olho direito, OE: olho esquerdo, bilat.: bilateral, unilat.: unilateral

Para classificação da localização considerou-se "difusa" quando o sinal aparecia em mais de três diferentes locais do corpo.

Quanto à localização dos sinais, as MCCL apareceram de forma "difusa" em 23 indivíduos (79,31%) e localizados em pelo menos três locais diferentes do corpo em seis indivíduos (20,69%). Os neurofibromas foram observados de forma difusa em 20 indivíduos (66,66%) e em pelo menos três locais diferentes do corpo em 10 (33,33%).

Os nódulos de Lisch foram observados bilateralmente em 21 indivíduos (72,41%) incluindo adultos e crianças, unilateralmente em quatro indivíduos (27,58%), dos quais dois pacientes tinham nódulos apenas no olho esquerdo e dois paciente com nódulos apenas no olho direito. Quatro indivíduos (27,58%) não apresentaram nódulos de Lisch e um não foi investigado, totalizando 29 pacientes desse estudo. As freqüências foram baixa em nove pacientes (31,03%), média em sete (24,13%) e alta em oito (27,58%) e ausência em cinco (17,24%). As sardas axilares foram observadas em 24 casos do total (80%), bilateralmente em todos eles (80%) e ausentes em seis do total dos pacientes estudados (20%). Quanto às freqüências, em cinco (16,66%) foram baixa, em sete (23,33%) foram média e em 12 (40%) foram alta.

3.1. QUANTIFICAÇÃO DOS MASTÓCITOS

A quantificação dos mastócitos foi executada em cortes corados pelo azul de toluidina, cujos mastócitos aparecem corados metacromaticamente (**figura 16**).

O material observado para o grupo controle (C), constituído das biópsias de pele normal, com a contabilização final do número de mastócitos observados, apresentou os resultados que aparecem na **tabela 6**.

Tabela 6. Quantificação dos mastócitos nas biópsias de pele humana normal.

Protocolo	Número de Campos Contados	Número de Mastócitos
C1	20	06
C2	20	06
C3	20	06
C4	20	06
C5	20	08
C6	20	10
C7	20	08
C8	20	06
C9	20	10
C10	20	07

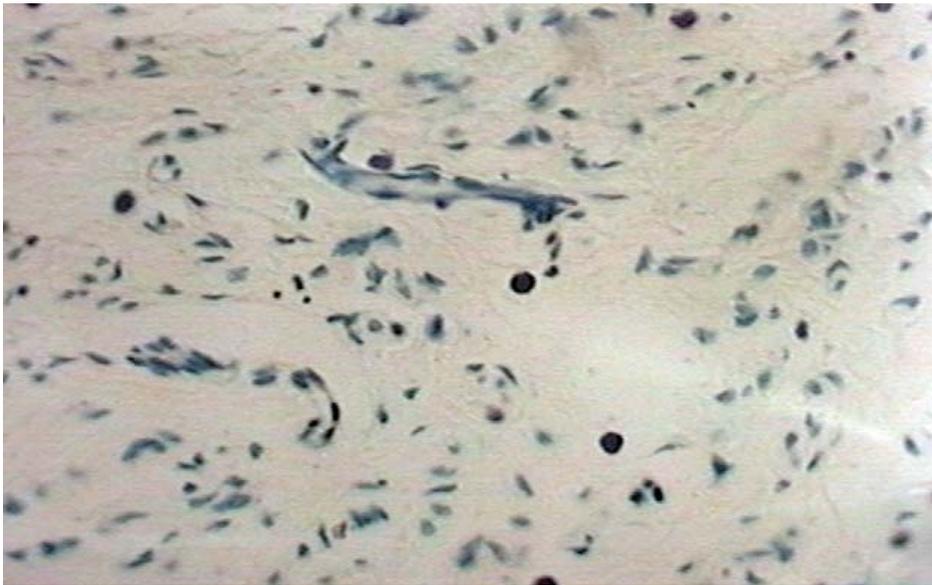


Figura 16. Fotomicrografia de secção de neurofibroma humano, incluído em parafina, cortada com 5 μ m, corada com azul de toluidina. Aumento 125x.

A quantificação dos mastócitos nos neurofibromas apresentou os resultados que aparecem na **tabela 7**.

Tabela 7. Quantificação dos mastócitos nas biópsias de neurofibromas humanos.

Protocolo	Campos	Mastócitos
CEPAN 02	20	16
CEPAN 03	20	90
CEPAN 04	20	22
CEPAN 05	20	31
CEPAN 06	20	44
CEPAN 07	20	68
CEPAN 09	20	109
CEPAN 12	20	29
CEPAN 13	20	64
CEPAN 14	20	135
CEPAN 15	20	23
CEPAN 16	20	55
CEPAN 17	20	45
CEPAN 18	20	153
CEPAN 22	20	67
CEPAN 23	20	55
CEPAN 24	20	101
CEPAN 25	20	50
CEPAN 26	20	35
CEPAN 27	20	47
CEPAN 30	20	27
CEPAN 33	20	33
CEPAN 35	20	52
CEPAN 37	20	40
CEPAN 39	20	31
CEPAN 40	20	24
CEPAN 48	20	23
CEPAN 49	20	26
CEPAN 52	20	36
CEPAN 53	20	30

3.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na **tabela 8** estão apresentados os resultados das estatísticas descritivas para os grupos controle e dos neurofibromas.

Tabela 8. Dados estatísticos comparativos entre o grupo controle e os neurofibromas.

Dados Estatísticos	Controle	Neurofibromas
N	10	30
Média	7,3	52,0
Mediana	6,5	42,0
Desvio Padrão	1,6	34,2
Mínimo	6,0	16,0
Primeiro Quartil	6,0	28,5
Terceiro Quartil	8,5	64,7
Máximo	10,0	153,0

O teste *t-Student* apresentou um valor de $t=7,14$; $p=0,0000$ e graus de liberdade igual a 29.

Verificou-se portanto que o teste foi altamente significativo, ou seja, existe diferenças de médias entre o grupo controle e o grupo experimental.

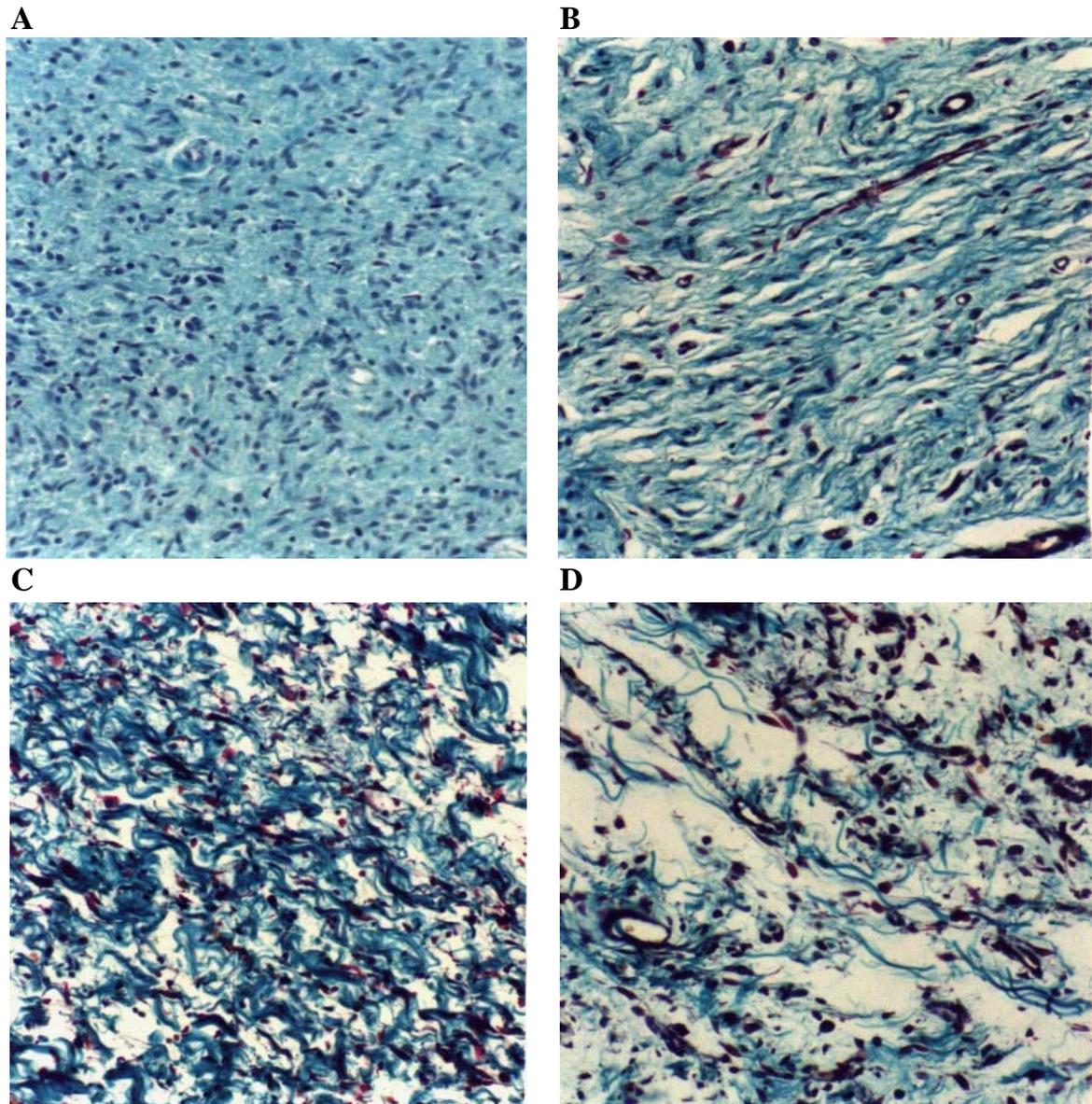
3.3. QUANTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES DA MATRIZ EXTRACELULAR

A quantificação, pela observação direta dos diferentes componentes da matriz extracelular, apresentou os resultados que aparecem na **tabela 9**.

Os resultados da observação direta à microscopia de luz do material, sob diferentes técnicas de coloração, podem ser vistos nas **figuras 17 a 19**.

Tabela 9. Quantificação de componentes da matriz extracelular de neurofibromas humanos, com diferentes técnicas de coloração.

Protocolo	Substância Fundamental Amorfa	Colágeno I	Colágeno III (Fibras Reticulares)	Sistema Elástico
CEPAN 02	+	-	-	-
CEPAN 03	-	-	+++	-
CEPAN 04	+	++	+++	-
CEPAN 05	++	+	++	-
CEPAN 06	-	-	-	-
CEPAN 07	-	-	+++	-
CEPAN 09	+	+	+++	-
CEPAN 12	++	+++	++	-
CEPAN 13	-	++	+++	-
CEPAN 14	+	-	+++	-
CEPAN 15	+	++	+++	-
CEPAN 16	+	++	+	-
CEPAN 17	-	++	+	-
CEPAN 18	+	+++	+++	-
CEPAN 22	+++	++	+++	-
CEPAN 23	-	-	-	-
CEPAN 24	-	+	+++	-
CEPAN 25	+	++	+	-
CEPAN 26	+	-	++	-
CEPAN 27	++	++	+++	-
CEPAN 28	+	+	-	-
CEPAN 30	-	-	+	-
CEPAN 33	+	+	+++	-
CEPAN 35	+	+	+++	-
CEPAN 37	++	++	+++	-
CEPAN 39	++	+	++	-
CEPAN 40	-	-	+++	-
CEPAN 41	-	-	+++	-
CEPAN 48	+	++	+++	-
CEPAN 49	-	-	+	-
CEPAN 52	+	-	++	-
CEPAN 53	++	-	++	-



Figuras 17: Fotomicrografias de secções de neurofibromas humanos, incluídos em parafina, cortadas com 5 μ m e coradas com tricrômio de Gomori.

A: Alta celularidade associada à elevada densidade dos componentes fibrosos com escassez ou quase ausência de substância fundamental amorfa. Aumento: 125x.

B: Menor celularidade e descompactação dos componentes fibrosos com aparecimento de pequena quantidade de espaços antes ocupados pela substância fundamental amorfa (+). Aumento: 125x.

C: Quantidade moderada de espaços antes ocupados pela substância fundamental amorfa (++) . Aumento: 125x.

D: Afrouxamento da malha fibrosa com grande quantidade de espaços antes ocupados pela substância fundamental amorfa (+++). Aumento: 125x.

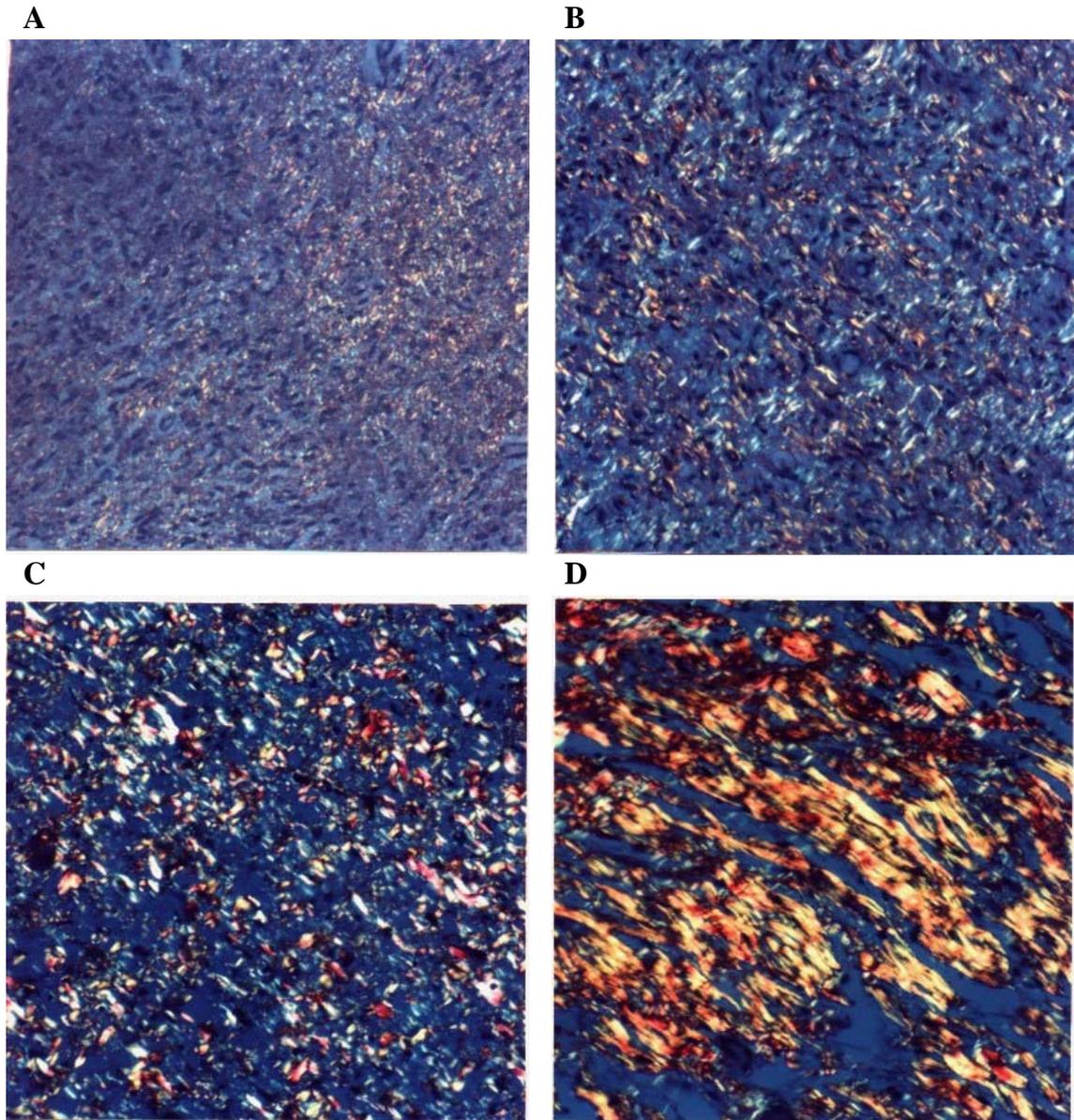


Figura 18: Fotomicrografias de secções de neurofibromas humanos incluídos em parafina, cortadas com 5 μ m, coradas com picosirius hematoxilina e analisadas em microscopia de polarização.

A: Fraca ou quase ausente birrefringência denotando ausência de material fibrilar colágeno. Aumento: 125x.

B: Pequena quantidade de estruturas fibrilares birrefringentes (+) com tom amarelado correspondente à colágeno do tipo I. Aumento: 125x.

C: Quantidade moderada de birrefringência (++) com tom que vai do amarelo ao vermelho - colágeno tipo I - e esverdeadas - colágeno tipo III. Aumento: 125x.

D: Grande quantidade de birrefringência (+++) mostrando estruturas grossas de birrefringência que vai do amarelo ao vermelho - compactação de fibras colágenas do tipo I - e ao fundo estruturas finas esverdeadas - colágeno tipo III. Aumento: 125x.

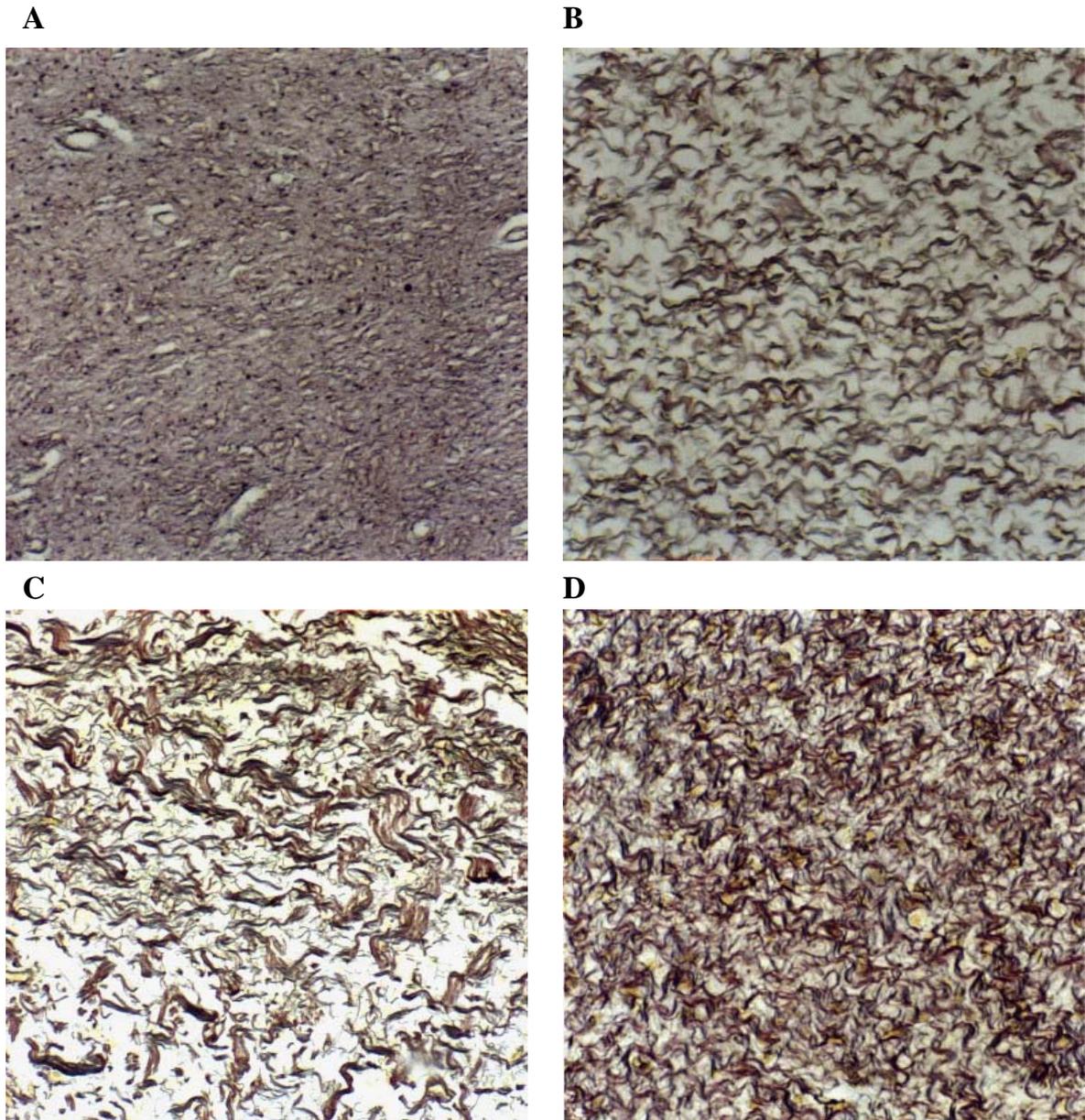


Figura 19: Fotomicrografias de secções de neurofibromas humanos, incluídos em parafina, cortadas com 5 μ m e coradas pela reticulina de Gomori.

A: Ausência de fibras (-). Aumento: 125x.

B: Presença de pequena quantidade de elementos fibrilares (+) impregnadas em negro pela prata - colágeno tipo III. Aumento: 125x.

C: Quantidade moderada de elementos fibrilares (++) impregnados pela prata - colágeno tipo III - entremeados com elementos fibrilares mais espessos corados em marrom - colágeno tipo I. Aumento: 125x.

D: Trama intensa de elementos fibrilares (+++) impregnados em negro pela prata. Aumento: 125x.

4. DISCUSSÃO

4.1. SINAIS CLÍNICOS

A Neurofibromatose é uma das doenças hereditárias autossômicas dominantes mais freqüentes na espécie humana, envolvendo todo o sistema orgânico, e apresenta um desenvolvimento progressivo de seus sinais clínicos. Além disso, há riscos de desenvolvimento de tumores malignos e uma série de complicações sistêmicas e também psicológicas, comprometendo a estética do indivíduo e sua qualidade de vida. Devido a essas características, o diagnóstico precoce da doença, acompanhamento médico das possíveis complicações, apoio psicológico e aconselhamento genético são muito importante na vida desses pacientes, ajudando-os a enfrentar o problema. O diagnóstico na infância tem sido difícil, devido ao caráter progressivo da NF, e também devido à expressividade muito variável.

Quanto à classificação por tipos, já citadas anteriormente, a proposta por RICCARDI (1982) em Neurofibromatose Clássica-NF1, Acústica-NF2,

Mista-NF3, Variante-NF4, Segmental-NF5, MCCL Familiar-NF6, Início Tardio-NF7 e Não Especificada-NF8, conforme consta na **tabela 1**, não tem sido aceita por todos pesquisadores e clínicos, porque inclui formas de difícil definição e distinção clínica, como é o caso do tipo 3, que é considerado "misto", do tipo 4 que é "variante", do tipo 7 que é de "início tardio" e do tipo 8 que é "não especificado", no que pode ser justificado pelo conjunto de genes do indivíduo. Por essas razões que CAREY *et al.* (1986), como citado anteriormente, propuseram que a NF fosse classificada em apenas cinco tipos.

Dos vários tipos de NF existentes, apenas dois foram descritos na literatura com maior ênfase e com critérios diagnósticos bem definidos, o tipo 1 (NF1) e o tipo 2 (NF2). Apesar de algumas coincidências em suas manifestações, são patologias distintas genética e clinicamente.

O gene NF1 apresenta 350 kb, considerado um dos maiores genes, o que pode explicar a alta frequência de mutações novas. A taxa de mutação da NF1 é considerada alta, ou seja, em torno de 1×10^{-4} por gameta e por geração, sendo que 50% dos pacientes não apresentam uma história familiar da doença, ou seja, são portadores de mutação nova (CROWE *et al.*, 1956, apud HUSON *et al.*, 1988; HUSON *et al.*, 1989; MAYNARD *et al.*, 1997). O risco de recorrência para parentes de uma criança com mutação nova é semelhante ao da população geral, embora recentemente, a recorrência da

NF1 tem sido relatada como sendo devido a um mosaicismismo presente no pai clinicamente normal (LAZARO *et al.*, 1994).

A amostra apresentou 30 indivíduos portadores da NF1, pertencentes a 26 famílias, sendo que a recorrência familiar foi observada em 20 indivíduos de 17 famílias (67%), todos com padrão de herança autossômico dominante, e os casos novos ocorreram em 10 indivíduos, o que equivale a 33% de mutação nova.

A NF1, que corresponde à totalidade dos pacientes do presente trabalho, afeta mais de um milhão de pessoas em todo o mundo, sendo mais de 80.000 pessoas só nos Estados Unidos da América (GOLDBERG *et al.*, 1996). Segundo RICCARDI (1992), a NF1 afeta igualmente homens e mulheres de todos os grupos étnicos. No presente estudo, dos 30 pacientes, 30% eram do sexo masculino e 70% do sexo feminino, 70% caucasóide e 23,4% negróides (incluindo pardos claros e escuros), e 6,6% de outros grupos étnicos provenientes da região noroeste do Estado de São Paulo.

A NF2, também conhecida como acústica, antes denominada Síndrome Hereditária dos Schwannomas Vestibulares Bilaterais, posteriormente conhecida como NF Acústica Bilateral ou NF Central e, atualmente, NF Acústica, caracteriza-se pela presença de neuromas acústicos derivados do oitavo par craniano e freqüentemente acompanhada de outros

neoplasmas do sistema nervoso central (HUSON e THRUSH, 1985; PARRY *et al.*, 1991). É autossômica dominante, com penetrância maior que 95% (ROULEAU *et al.*, 1987; 1993), ocorrendo em cerca de 1 para 50.000 pessoas (KORF, 1990). Tumores bilaterais do nervo acústico são característicos em 95% dos pacientes, porém outros tumores intracranianos ou de medula são também comuns, particularmente schwannomas e meningiomas. Portanto, os critérios diagnósticos para a confirmação do tipo NF2 compreendem a presença de massa tumoral no oitavo nervo craniano associada à incidência familiar de NF, entretanto, na ausência desta incidência, confirma-se o diagnóstico pela presença de pelo menos duas das seguintes características: neurofibroma, meningioma, glioma, schwanoma e opacidade lenticular subcapsular posterior juvenil (ZANELA *et al.*, 1987; PASTORES *et al.*, 1991; GOLONI-BERTOLLO *et al.*, 1994). Em decorrência destes comprometimentos, os sintomas que podem ocorrer são surdez, zumbidos, desequilíbrio e vertigem, que manifestam-se geralmente a partir da segunda década de vida (MATUCCI *et al.*, 1987; MARTUZA e ELDRIDGE, 1988).

A análise dessas discordâncias na literatura e, tomando por base nossa casuística, sugerimos uma simplificação da classificação em apenas três tipos: NF1 ou clássica ou principal, NF2 ou acústica e NF atípicas (GOLONI-BERTOLO *et al.*, 1994).

Baseando-se em todos esses fatos, o *National Institute of Health* (EUA) definiu apenas dois principais tipos: NF1 (doença de von Recklinghausen) ou NF periférica e a NF2 ou NF central (NIH, 1988).

O estabelecimento de novas classificações baseadas na genoheterogeneidade faz-se necessário. Entretanto, os estudos e resultados de pesquisas atuais ainda são insuficientes para explicar todas as manifestações da NF. As contínuas pesquisas das funções dos produtos gênicos de NF1 e NF2 proporcionaram um melhoramento para o diagnóstico e o acompanhamento dos indivíduos afetados. Mas apesar dos avanços dos estudos relacionados à NF até o momento, o diagnóstico da NF1 e NF2 é ainda fortemente baseado nos critérios clínicos.

Contudo, é muito importante que continuem sendo realizados estudos com o objetivo de descrever detalhadamente as características genético-clínicas de pacientes com NF e de identificar critérios diagnósticos mais objetivos para sua classificação em tipos.

HUSON (1994) definiu os sinais clínicos como “major”, “minor” e “complicações associadas”. As características “major” incluem as MCCL, neurofibromas e nódulos de Lisch, consideradas critérios de diagnóstico. As “minor” são a macrocefalia e baixa estatura, frequentes nos pacientes, mas não fundamentais para diagnóstico da doença. As complicações incluem os

neurofibromas plexiformes, retardo mental, alterações ósseas (escoliose, pseudoartrose) e os problemas associados a tumores, tais como glioma tópico, feocromocitomas, entre outros.

Quanto aos sinais clínicos “major”, a presente casuística demonstrou neurofibromas em todos os pacientes (100%) devido aos objetivos do estudo, 29 dos 30 apresentaram MCCL (96,26%), 24 tinham sardas axilares (80%) e 25 eram portadores de nódulos de Lisch (83,33%), o que demonstra o preenchimento dos critérios clínicos para o diagnóstico, coincidentes com os dados da literatura. Os sinais clínicos “minor” também estão presentes, conforme apontados na tabela 3, embora não sejam fundamentais para o diagnóstico.

Para HUSON *et al.* (1988), 82% de 22 casos apresentaram as MCCL desde o primeiro ano de vida. Pode-se observar, portanto, que as MCCL têm grande importância para o diagnóstico precoce da doença, pois podem surgir desde o nascimento até a primeira década de vida, e apresentam um aumento de frequência de acordo com a idade. As MCCL podem, entretanto, estar presentes em indivíduos normais, mas são consideradas como sinais isolados. Outras síndromes como de Albright, Leopard e Xeroderma pigmentoso incluem as MCCL como parte de seus sinais clínicos (FITZPATRICK & MARTUZA, 1986; HUSON, 1994; GOLDBERG *et al.*, 1996).

As MCCL podem aparecer em qualquer parte do corpo, exceto couro cabeludo, sobrancelhas, palma das mãos e planta dos pés (RICCARDI, 1992). Entretanto, segundo YESUDIAN *et al.* (1984), as MCCL podem aparecer nas palmas das mão e na glândula do pênis (RICCARDI, 1992). Em alguns dos pacientes não foi possível investigar essa característica.

As MCCL podem estar presentes desde o nascimento, ou aparecer durante o primeiro ou segundo ano de vida (GUTMAN *et al.*, 1997). Ocorrem em todas as crianças afetadas antes dos seis anos de idade, mas seu tamanho, número e localização variam (OBRINGER *et al.*, 1989). O tamanho pode variar de 1 a 2 mm a 50 cm ou mais (RICCARDI, 1981; HUSON, 1994). **(figura 19).**

Elas estão presentes em cerca de 99% de todos os pacientes com NF1 (RICCARDI, 1981, 1992). Essa frequência apresenta pouca variação entre os vários pesquisadores. SAMUELSSON & AXELSSON (1981) avaliaram 96 pacientes, encontrando uma incidência de 95%; DUNN (1987), em 99,6%. CRAWFORD (1986) encontrou 89% em 116 crianças avaliadas. Em nosso estudo, 29 pacientes apresentavam MCCL, o que confere uma incidência de 96,67% a essa casuística. O tamanho da maioria delas variava de 1 mm até 35 cm. Não há significado clínico quanto ao tamanho das MCCL em relação às manifestações da doença. Portanto, não é relevante se o indivíduo

apresenta pequenas ou grandes MCCL, inclusive o diagnóstico pode ser firmado sem a sua presença, como o caso 24-MVG (**tabela 1**).

Segundo NIH (1988), a presença de seis ou mais MCCL com cerca de 1,5 cm de diâmetro é um dos critérios de diagnóstico da doença, o que torna esse sinal importante nessa circunstância.

Pode-se observar portanto, que as MCCL têm grande importância para o diagnóstico precoce da doença, pois podem surgir desde o nascimento até a primeira década de vida (GUTMAN *et al.*, 1997) e apresentam um aumento de frequência de acordo com a idade (OBRINGER *et al.*, 1989).

Quanto à localização das MCCL nos pacientes investigados nesse estudo, 23 dos 29 que as possuíam (76,66%) apresentaram-nas de forma difusa e 23,33% (seis casos) em pelo menos três partes do corpo.

Portanto, não é relevante se o indivíduo apresenta pequenas ou grandes MCCL, inclusive o diagnóstico pode ser firmado sem a sua presença, como no caso 24-MVG, cuja predominância dermatológica foram neurofibromas disseminados. Quanto à localização das MCCL, também não é relevante sua distribuição.

As sardas podem manifestar-se desde o nascimento, entretanto, são mais comuns na adolescência e na idade adulta (HUSON, 1994). Apresentam

hiperpigmentação, semelhante às MCCL, e variam de 1 a 3 mm em tamanho (RICCARDI, 1992).

Em algumas vezes, a distinção entre uma pequena MCCL e uma sarda torna-se muito difícil. Uma sarda é geralmente considerada uma mácula lentiginosa menor do que 5 mm. A maioria dos indivíduos com NF1 e sardas axilares e inguinais apresentam três ou mais de tais lesões (CROWE, 1964). Outros lugares comuns que as sardas podem aparecer incluem as pálpebras, a base do pescoço abaixo do queixo, na região submamária, nas dobras de pessoas obesas e na região superior do tronco (RICCARDI, 1992). Elas podem também apresentar variações étnicas, sendo comuns em negros e relativamente pouco comuns em asiáticos. As sardas são a segunda característica, dependente de idade, mais comum da NF1, tornando-se um importante critério para diagnóstico em crianças e pré-adolescentes. A identificação das sardas em crianças com suspeita de NF1 e que já apresentam múltiplas MCCL permite, portanto, um diagnóstico mais precoce da doença.

SAMUELSSON & AXELSSON (1981) avaliaram 96 pacientes, encontrando uma incidência de 48% de sardas axilares e DUNN (1987) encontraram 40% de tal característica. HUSON *et al.* (1989) encontraram uma frequência de 67% de sardas axilares e 44% de sardas inguinais.

No presente estudo, a frequência total das sardas axilares foi de 80% entre os pacientes. Em todos os casos investigados, elas foram observadas bilateralmente, o que equivale a 100% dos pacientes. Por esses dados, observamos uma elevada frequência desse sinal clínico, o que facilita o diagnóstico precoce da doença.

As sardas inguinais são características que aparecem com frequência mais baixas e não podem ser utilizadas como critério diagnóstico, como no caso das sardas axilares. Nos 30 pacientes avaliados, as sardas inguinais, quando presentes, apareciam sempre associadas às sardas axilares. Portanto, do total de indivíduos de nossa amostra, somente nove casos (30%) apresentaram sardas axilares e inguinais. As sardas inguinais são características que aparecem com frequência mais baixas e não podem ser utilizadas como critério diagnóstico, como no caso das sardas axilares.

Os neurofibromas múltiplos constituem uma presença característica e patognomônica da NF (McKUSIK, 1992).

Quanto à apresentação clínica, os neurofibromas são classificados em quatro tipos: cutâneo, subcutâneo, plexiforme difuso e plexiforme nodular (RICCARDI, 1992; HUSON, 1994). Os neurofibromas cutâneos, também denominados dérmicos, movem-se junto com a pele, podendo ser sésseis e pequenos, ou em um estágio mais avançado ser pedunculados, e raramente

causam dor ou outros sintomas. Sua coloração pode variar de azulado, amarelado ou violáceo.

A casuística aqui apresentada baseou-se nos estudos microscópicos de neurofibromas que se apresentaram clinicamente do tipo cutâneo. Neurofibromas nas palmas das mãos e planta dos pés foram observados em apenas um caso (**figura 6C**).

Os neurofibromas subcutâneos são localizados mais profundamente na derme, pequenos, com forma esférica ou ovóide e apresentam textura mais firme, podendo causar dor. Os neurofibromas plexiformes do tipo difuso são formados por elementos cutâneos, envolvem grandes extensões de um nervo e tem textura “amolecida”. Eles são freqüentemente originados de nervos periféricos subcutâneos ou viscerais, causando uma aparência fusiforme. Esse tipo apresenta um potencial para progressão maligna em neurofibrossarcoma. Já os neurofibromas plexiformes nodulares são um conjunto de múltiplos tumores nodulares discretos, causam muito mais dor, e são mais difíceis de serem retirados cirurgicamente. Esse tipo aparece mais raramente do que o plexiforme difuso, apresentando também riscos elevados para um progressão maligna em neurofibrossarcoma. Podem ser hiperpigmentados, com coloração mais intensa que as MCCL, podendo também haver hipertricose no local (RICCARDI, 1992; WIESTLER & RADNER, 1994).

Neurofibromas plexiformes são frequentemente congênitos, mas podem se manifestar durante o primeiro ano de vida, como um sutil aumento de tecido com textura amolecida, ou uma grande extensão de hiperpigmentação cutânea. Às vezes, seu crescimento é auto-limitado. Quando retirados cirurgicamente, apresentam uma tendência a reaparecer (GUTMANN *et al.*, 1997). Alguns dos nossos pacientes foram submetidos à cirurgia para retirada dos neurofibromas plexiformes, que comprometiam suas funções normais. Esses neurofibromas podem invadir estruturas viscerais, regiões craniofaciais, cervical e mediastinal superior. Seu crescimento é imprevisível, podendo tornar-se agressivo rapidamente, e tendem a aumentar durante a puberdade (GOLDBERG *et al.*, 1996).

HUSON *et al.* (1988) encontraram um incidência de 32% de neurofibromas plexiformes em 125 casos avaliados, e a mesma pesquisadora (HUSON, 1994), em outro estudo, encontrou 30% de tal característica. No presente estudo, 10 dos 30 pacientes estudados apresentaram neurofibromas plexiformes (33,3%). Destes, apenas um caso apresentou-o de forma isolada, e os outros nove indivíduos apresentaram tais tumores juntamente com os neurofibromas cutâneos. Em alguns dos pacientes, os neurofibromas plexiformes causavam dores, dificuldades motoras e paralisias.

A frequência de vários sinais da NF1 variam com a idade. Os neurofibromas são um ótimo exemplo, pois apresentam um drástico aumento entre as idades de 10 a 20 anos, coincidindo provavelmente com a adolescência (FRIEDMAN & BIRCH, 1997)

Segundo GUTMMAN *et al.* (1997), ao longo da vida, o número e o local dos neurofibromas são imprevisíveis (**figura 19**).

Os neurofibromas tendem a proliferar e aumentar em tamanho durante a puberdade, e esse crescimento está associado com o aumento de dor e prurido (GOLDBERG *et al.*, 1996).

No presente estudo, na amostra total, 100% dos casos, incluindo apenas adultos, apresentavam neurofibromas (cutâneos e plexiformes), sendo que 10 dos 30 pacientes estudados apresentaram neurofibromas plexiformes (33,3%). Destes, apenas um caso apresentou-o de forma isolada, e os outros nove indivíduos apresentaram tais tumores juntamente com os neurofibromas cutâneos e, em outro caso, foram observados neurofibromas nas palmas das mãos e planta dos pés.

Em alguns dos pacientes, os neurofibromas plexiformes causavam dores, dificuldades motoras e paralisias, e foram submetidos à cirurgia para retirada naqueles cuja presença comprometia suas funções normais.

Perante esses incomodativos sinais, um dos principais objetivos desse trabalho foi a pesquisa orientada para esses tumores no sentido de uma tentativa de contribuição para seu controle ou prevenção. Daí os estudos sobre sua celularidade mastocitária e matriz extracelular nos neurofibromas, ou seja, os elementos observados que se apresentaram alterados quando comparados com a pele normal.

Quanto à histogênese, em 1882, von Recklinghausen considerou serem os neurofibromas tumores fibrosos originados do tecido conjuntivo das bainhas nervosas (LEVER & SHCAUMBUR-LEVER, 1991). VEROCAÿ, em 1910, afirmou que as células dos tumores de fibras nervosas, em suas observações, eram células de Schwann e, portanto, de origem neuroectodérmica. A demonstração de atividade da colinesterase inespecífica nos neurofibromas forneceu a primeira evidência objetiva de que os tumores contêm tecido neuroectodérmico (WINKELMANN & JOHNSON, 1962).

Quanto à microscopia eletrônica, o exame dos neurofibromas demonstra três tipos celulares encontrados nos nervos periféricos: células de Schwann, células perineurais e fibroblastos endoneurais (LASSMANN *et al.*, 1976).

Os nódulos de Lisch, presentes na íris, parecem ser um sinal clínico exclusivo da NF (LEWIS & RICCARDI, 1981), e ocorrem em quase todos os

adultos com NF1 (FUELER *et al.*, 1986). Eles não têm sido observados em indivíduos normais ou em pacientes com NF2 ou NF segmentar (LEWIS & RICCARDI, 1981). Os nódulos não têm sido correlacionados com outras manifestações da NF ou com a gravidade da mesma (RICCARDI, 1981). Além disso, não causam sintomas clínicos, aumentam em número com a idade, e provavelmente surgem antes das MCCL e depois dos neurofibromas (LEWIS & RICCARDI, 1981; HUSON, 1994).

HUSON *et al.* (1988) encontraram 93% de 135 casos avaliados, sendo 88% com idade abaixo de 20 anos, e 96% com idade igual ou acima de 20. RICCARDI (1992) apresentou uma incidência de 84%, semelhante ao estudo feito por HUSON *et al.* (1989), que foi de 85%, e CASTANHEIRA-DINIS *et al.* (1996) 42,3%.

Embora as três características mais frequentes da NF1, como as MCCL, neurofibromas e nódulos de Lisch estejam presentes em cerca de 90% de todos os pacientes na puberdade, a frequência desses sinais é extremamente variável (RICCARDI, 1981; HUSON, 1989; HUSON *et al.*, 1989). A combinação desses três sinais clínicos nos adultos aparece em cerca de 100% dos pacientes, entretanto, até mesmo numa mesma família, há uma grande variabilidade clínica, e isto deve ser levado em consideração quando uma criança é avaliada (GOLDBERG *et al.*, 1996).

No presente estudo, foram investigados nódulos de Lisch em 29 dos 30 pacientes. Dos 29 pacientes, os nódulos foram encontrados em 25 (86,20%). Os nódulos de Lisch estavam presentes bilateralmente em 72,41% (21 casos) e unilateralmente em 13,79% (quatro casos). Por esses dados, pode-se observar que os mesmos são próximos aos apresentados pela literatura e a grande importância deste sinal clínico como critério diagnóstico precoce em pacientes portadores da NF. Por ser uma característica exclusiva da NF, caso haja dúvidas quanto ao diagnóstico da doença em algum paciente, a presença do nódulo de Lisch trará uma confirmação precisa da mesma. Caso esteja ausente, deverá ser feita uma investigação genético-clínica bem mais detalhada no indivíduo, a fim de saber se há ou não outros sinais importantes que ajudem no diagnóstico.

LEWIS & RICCARDI (1981) encontraram nódulos de Lisch em três de 16 crianças com idade abaixo dos cinco anos, e em 92% dos indivíduos com seis anos ou mais. ELIASON (1986) relatou que os nódulos apareceram em 30% dos indivíduos afetados, com idade abaixo dos seis anos e em quase todos com idade acima dos 20. FUELLER *et al.* (1986) encontraram incidência de 33% em crianças abaixo de seis anos de idade, 87% nas crianças de seis a 12 anos e 100% naquelas acima de 12 anos. ZEHAVI *et al.* (1986) encontraram nódulos em 40% de crianças com menos de 10 anos de idade e

em 18 de 20 crianças com 11 anos ou mais. FRIEDMAN & BIRCH (1997) encontraram uma incidência de 57% de seus pacientes, com idades menores que seus parentes também investigados (70%). Nossa casuística não envolveu crianças cujos resultados somente referem-se a pacientes adultos.

Alguns autores (HUSON, 1987; RICCARDI, 1992; PURVIN & DUNN, 1994) encontraram neurofibromas dérmicos palpebrais em cerca de 15% dos pacientes com NF. GOLONI-BERTOLLO (1994) encontrou uma frequência semelhante (15%) em oito de 52 pacientes investigados. Em nossa amostra encontramos 11%, ou seja, de 28 pacientes avaliados, três apresentavam tal característica.

Os gliomas ópticos são tumores de sistema nervoso central mais comuns observados em NF1, podendo envolver qualquer região óptica, embora frequentemente originados do quiasma ou pré-quiasma. (LISTERNICK *et al.*, 1995; GOLDBERG *et al.*, 1996). Os gliomas têm sido relatados em cerca de 15% dos pacientes com NF1, mas atualmente, somente um terço dos pacientes tornam-se sintomáticos, necessitando de tratamento (RICCARDI, 1992; RAGGE, 1993; WILSON, 1995).

O início do desenvolvimento do glioma óptico pode ser observado nos anos de pré-escola, com pico de incidência entre quatro e seis anos de idade (LISTERNICK *et al.*, 1995). Uma avaliação anual por um oftalmologista

deve ser realizada como parte da rotina de crianças portadores de NF1, durante a primeira década de vida (GUTMANN *et al.*, 1997; LISTERNICK *et al.*, 1995). Entretanto, uma vez detectada, a anormalidade visual raramente progride. Para a pequena porcentagem de tumores ópticos que progridem clinicamente, cirurgia ou acompanhamento médico pode ser indicado (LISTERNICK *et al.*, 1997).

Segundo GOLDBERG *et al.* (1996), tumores ópticos são características comuns da NF1, enquanto o glaucoma congênito ocorre em cerca de 0,5% dos pacientes com NF1, e a sua detecção é importante para que seja feito um acompanhamento oftalmológico regular, pois pode levar à cegueira. No presente estudo, o glaucoma foi encontrado em apenas um paciente de 28 investigados (3,6%). Já os gliomas ópticos sintomáticos estão associados com anormalidade visual em 52% dos casos, e freqüentemente não progridem para a perda de visão.

Além dos gliomas ópticos e do glaucoma congênito, outras alterações também relacionadas à NF1 incluem a ptose palpebral, devido à presença de neurofibromas plexiformes, ou grave estrabismo (GOLDBERG *et al.*, 1996).

Assim, a avaliação oftalmológica nos pacientes portadores de NF é muito importante, não somente para o detecção dos nódulos de Lisch, mas também de outras alterações oculares, principalmente os tumores que trazem

maiores complicações ao paciente como os gliomas ópticos, tumores mais freqüentes em NF1 (RAGGE *et al.*, 1995; LISTERNICK *et al.*, 1995; CASTANHEIRA-DINIS *et al.*, 1996; DELIGANIS *et al.*, 1996; GARTY *et al.*, 1996).

É de grande importância que todos os pacientes com NF tenham uma avaliação oftalmológica bem detalhada, e se possível por técnicas específicas em certos casos, como a ressonância magnética e tomografia computadorizada, com o objetivo de detectar possíveis tumores. Desta forma, um diagnóstico precoce pode ajudar no tratamento, evitando possíveis complicações mais graves nos pacientes.

Isto deve ser levado em consideração quando uma criança é avaliada com a suspeita dessa doença.

A baixa estatura e macrocefalia são consideradas como características “minor”, segundo HUSON (1994). Essas duas características, quando surgem isoladamente, não são suficientemente específicas para o diagnóstico de NF1 (GUTMANN *et al.*, 1997). Crianças e adultos portadores da doença freqüentemente apresentam relativa macrocefalia de acordo com a altura, e relativa baixa estatura de acordo com a idade, embora a maioria deles tenham o perímetro cefálico e a estatura dentro da média normal.

Pacientes com NF1 tendem a ser, em média, mais baixos do que seus parentes não afetados, e também comparados com a população geral (OBRINGER *et al.*, 1989; NORTH, 1993; GOLDBERG *et al.*, 1996). RICCARDI (1981) foi o primeiro a relatar mais precisamente que uma proporção significativa de pacientes com NF1 apresentava baixa estatura. HOLT & KUHNS (1976) encontraram uma incidência de 46% e CAREY *et al.* (1979), 35%. DUNN (1987) evidenciou baixa estatura em 49% dos seus pacientes. HUSON *et al.* (1988) e HUSON (1994) encontraram este sinal em 34% dos pacientes com NF1 e RICCARDI (1992) estimou essa incidência em torno de 12%. Assim, a baixa estatura tem sido considerada uma característica constitucional da NF1 com uma frequência variável de 12 a 49% na literatura (DUNN, 1987; RICCARDI, 1992; HUSON, 1988; 1994). Nos pacientes do CEPAN, a baixa estatura foi avaliada e relatada em torno de 50% (MACHADO, 1998). Dos 26 pacientes avaliados, o que corresponde a nossa amostra, a baixa estatura esteve presente em 50% dos casos, sendo que destes, 15,4% apresentava percentil abaixo de 10 e 34,6% abaixo do percentil 3. Assim, nossos resultados são compatíveis aos da literatura. A incidência aumentada de cifoescoliose, tumores cerebrais, membros com tamanhos desiguais, displasia vertebral ou outras possíveis anormalidades podem

parcialmente explicar essa tendência à baixa estatura e, portanto, outras causas anatômicas e endócrinas podem ser excluídas.

Quanto à frequência da macrocefalia, tem sido descrita entre 29 a 46% dos casos (NORMAN, 1972; HOLT & KUHNS, 1976; CAREY *et al.*, 1979; DUNN, 1987; HUSON *et al.*, 1988; RICCARDI, 1992). No presente estudo, o perímetro cefálico foi avaliado em 24 pacientes, encontrando uma frequência de 50% de tal característica, com 25% dos pacientes apresentando percentil igual a 98 e 25% acima de 98. A macrocefalia não apresenta relação com déficit intelectual, convulsões ou alterações detectadas por EEG (RICCARDI, 1981; OBRINGER *et al.*, 1989; NORTH, 1993).

Relacionando a macrocefalia com a baixa estatura, segundo GOLDBERG *et al.* (1996), a maior parte das alterações ósseas associadas à NF1 surge na infância. A macrocefalia é resultado de um aumento no tamanho do cérebro e parece não estar correlacionada com a estatura das crianças afetadas.

Quanto às alterações ósseas, conforme já apontado anteriormente, as mais frequentes em NF são a escoliose e cifo escoliose.

A escoliose é um problema muito comum em NF1, podendo ser causada por displasia vertebral ou por neurofibromas paraespinhais, podendo surgir em crianças e adolescentes (**figura 12**). Essas alterações são

observadas em adultos, porém podemos encontrar em pacientes mais jovens que adquirirão proporções completas na idade adulta (MURRAY *et al.*, 1977). Ela costuma iniciar-se por uma desossificação dos ossos de sustentação, que mais tarde podem arquear-se e conseqüentemente fraturar, levando a uma deficiente formação do "calo ósseo", cujo osso não se solda perfeitamente, formando a pseudoartrose. A essas fraturas eram atribuídas a presença de um neurilenoma intra-ósseo, porém AEGERTER e KIRKPATRICK (1964) demonstraram claramente que o tecido osteofibroso contido na fratura é conseqüência e não causa da pseudoartrose. Podem ocorrer pseudofraturas no momento do nascimento, quase sempre no 1/3 inferior da tíbia. Depois da fratura os ossos dão a impressão de estarem curados, porém, ao iniciar a sustentação reaparecem e conduzem a pseudoartroses eventuais (CLEVELAND *et al.*, 1978).

O perióstio é anormal em alguns pacientes com NF, assim a resposta a traumatismos mostra que o perióstio despreza facilmente do osso, o que pode originar uma hemorragia subperióstica que depois se calcifica. A anormalidade do perióstio também explicaria a deficiente formação do calo ósseo e as pseudoartroses. As erosões de superfície perióstica da cortical devem-se a neurofibromas periósticos ou a tumores extra-ósseos. O exemplo

disso são os tumores intercostais, que corroem a borda inferior das costelas (PITT *et al.*, 1972).

As lesões císticas dos ossos chatos guardam relação com alterações osteolíticas das vértebras e representam focos de desossificação (HEUBLEIN *et al.*, 1940). Essas formações císticas podem adquirir grandes dimensões e serem facilmente visualizadas através do raio X.

Os ossos longos podem aumentar de densidade, com espessamento irregular e às vezes com o aumento da densidade nas extremidades. No entanto, não revelam erosões ósseas focais que poderiam sugerir tumores de tecidos moles adjacentes. O afinamento dos ossos, com remodelamento e deformidade, é mais comum nas costelas e na tíbia. É possível um arqueamento acentuado acompanhado de fraturas múltiplas e incompletas. Algumas dessas alterações devem-se a osteomalácia, que pode associar-se com a NF sem a respectiva deficiência dietética (BRAILSFORD, 1948).

A imagem por ressonância magnética mostra focos de hiperintensidade, que têm sido vistos freqüentemente em mais de 75% dos pacientes com NF1.

Essas lesões não determinam efeito de massa ou incremento e parecem representar hematomas nas regiões de mielinização aumentadas (PUTMAN & RAVIN, 1994).

FRIEDMAM & BIRCH (1997) encontraram uma incidência de 26%, quase semelhante a de RICCARDI (1992), que encontrou escoliose em 188 pacientes (25%) de 752 indivíduos, com ou sem cifose. Em nossa avaliação, encontramos 14 indivíduos (48,3%) de 29 investigados. Já a cifo escoliose foi observada em seis casos (21%).

As outras alterações ósseas observadas no presente estudo foram peito escavado, relatadas em frequência de 28%. RICCARDI (1992) encontrou uma frequência de 31% em 675 indivíduos.

O glioma óptico é parte integrante da NF e, em vários casos, já pode ser observado precocemente em crianças. O diagnóstico radiológico do glioma óptico faz-se principalmente na demonstração do aumento do foramen óptico, sendo a tomografia computadorizada o exame de eleição (FAIRBANK, 1994).

Algumas alterações ósseas, como alargamento do forames, alargamento do mediastino e alterações da morfologia do corpo da vértebra, podem ser alterações secundárias a neurofibromas (CRAWFORD & BAGAMERY, 1986; KRIKUN, 1988).

Outras complicações, como vasculares (SCHIEVINK e PIEPGRAS, 1991), cardíacas (NOGAMI *et al.*, 1991), intestinais (BHATTACHARYA e JAMIESON, 1988), ginecológicas (BLINCKSTEIN e LURIE, 1990),

hepáticas (ROMERO *et al.*, 1989), pulmonares (FAINTUCH *et al.*, 1990) e endocrinológicas (LAUE *et al.*, 1985) foram também encontradas em paciente com NF, porém com menor frequência. Através de exames ultra-sonográficos, KATSUBATA *et al.* (1994) avaliaram pacientes com NF-1 e encontraram neurofibromas intra-abdominais envolvendo o fígado, veia porta e seus principais ramos. SHONNARD *et al.* (1992) e BASS *et al.* (1994), associando ultra-sonografia e tomografia computadorizada, observaram massas pélvicas retroperitoniais e ao longo dos músculos psoas, respectivamente. Tais achados foram comprovados como sendo neurofibromas plexiformes.

Diante de todos os sinais clínicos da NF citados até o momento, os sinais “major” são fundamentais para o diagnóstico da doença, e os “minor” e as “complicações” também são considerados. O acompanhamento médico periódico dos pacientes é sempre fundamental, evitando que esses sinais clínicos tragam possíveis complicações secundárias, podendo atingir os vários sistemas do corpo. Esses cuidados irão melhorar em grande parte a qualidade de vida dos pacientes.

Assim, a avaliação completa e detalhada do paciente possibilitará o diagnóstico e conseqüentemente poderá ser realizado aconselhamento genético seguro e adequado. Segundo GUTMANN *et al.* (1997), o aconselhamento genético deve ser realizado para todos os pacientes e seus

familiares, e deve incluir informações sobre o prognóstico, a genética, e a adaptação psicológica e social.

Segundo RICCARDI (1992), o retardo mental e outras alterações psicológicas são complicações também associadas à NF e, conforme RUBENSTEIN *et al.* (1985) e ELDRIDGE *et al.* (1989), as alterações de sistema nervoso central associadas à NF mais freqüentes são o retardo mental (40%), a epilepsia e a macrocefalia (JONES, 1988; McKUSIK, 1992) e os distúrbios do desenvolvimento com problemas de linguagem, hiperatividade, déficit de atenção e dificuldade motora (RUBENSTEIN *et al.*, 1985; ELDRIDGE *et al.*, 1989), anormalidades neuroaudiológicas (PENSAK *et al.*, 1989) e neuropatias (THOMAS *et al.*, 1990). Outras alterações são os neuromas acústicos (MARTUZA, 1982; ZANELLA *et al.*, 1987; SILVALINGAM *et al.*, 1991), os neurilenomas (SILVALINGAM *et al.*, 1991), os meningiomas (RUBENSTEIN *et al.*, 1985; SILVALINGAM *et al.*, 1991), os ganglioneuromas (PARIZEL *et al.*, 1991) e outros tipos mais raros.

Esses problemas provavelmente apresentam diferentes possíveis origens. Uma delas supõe que os dados referentes à fisiopatologia, manifestações e evolução da doença sejam desconhecidos (ESCALONA, 1982; EGBUONU & STARFIELD, 1982; BEITER *et al.*, 1991). Pode ser que sejam conseqüências das características específicas da NF no nível

psicossocial, devido a problemas estéticos, ou que uma mutação do gene NF1 seja responsável por esse tipo de distúrbio da função celular dentro do cérebro.

NORDLUND *et al.* (1993) sugerem que a expressão alterada da neurofibromina no cérebro pode levar a complicações neurocognitivas e neurológicas em NF1. KAYES *et al.* (1994) relataram grandes deleções no gene NF1 associadas ao déficit intelectual em cinco casos. No entanto, VALÉRIO *et al.* (1996) relataram grandes deleções associadas com RM em apenas um caso de seis investigados.

NORTH *et al.* (1997), a partir da compreensão da função da gene NF1, fenótipo cognitivo e as correlações entre os achados neuroradiológicos, patológicos e neuropsicológicos, desenvolveram uma hipótese para explicar os problemas cognitivos em NF1. Os autores propõem que se mutações no gene resultam num controle de crescimento celular anormal e diferenciação no sistema nervoso central (ou seja, através da perda da neurofibromina relacionada ao GAP ou outra função potencial dessa proteína), isto levaria às áreas de glioses displásicas e mielinização anormal no parênquima cerebral. Áreas de displasia interrompem importantes circuitos neuronais no córtex cerebral que regulam o complexo das funções cognitivas (NORTH *et al.*, 1994).

Apesar dessas hipóteses citadas, os autores ainda não chegaram a uma conclusão, propondo que, futuramente, a determinação do mecanismo, pelo qual as anormalidades na neurofibromina afetam a função cerebral e dos neurônios, proporcionará uma melhor visão da patogênese do déficit cognitivo e problemas de aprendizado (NORTH *et al.*, 1997).

Clinicamente, os pacientes manifestam problemas de aprendizado específicos, associados a uma leve diminuição de coeficiente intelectual (QI). No nível molecular, há duas possibilidades: as mutações heterozigotas no gene NF1 podem afetar a ordenada diferenciação de neurônios e células gliais, resultando em uma lesão cerebral (glioses astrocíticas) localizada ou generalizada; a segunda hipótese propõe que a perda da heterozigosidade do gene NF1 em uma subpopulação de células pode ser necessária para o desenvolvimento das lesões do sistema nervoso central. O retardo mental é considerado um grupo heterogêneo de condições clínicas e etiológicas. Esta heterogeneidade é particularmente realçada quando se considera a genética do retardo mental. Recentes avanços nas técnicas de biologia molecular têm proporcionado uma melhor compreensão sobre a base molecular de várias síndromes associadas ao RM. Em contraste, quando não há uma causa definida, a interação da genética e influências ambientais permanecem pouco

entendidas. Nos indivíduos com RM leve, fatores psicossociais podem ter uma importância etiológica primária (THAPAR *et al.*, 1994).

CROWE *et al.* (1956) relataram média de QI de 45, em 20 pacientes com NF1. Alguns autores (ROSMAN & PEARCE, 1967; RUBENSTEIN *et al.*, 1985; ELDRIDGE *et al.*, 1989) relataram a presença de RM em 40% dos afetados com NF. RICCARDI & EICHER (1986) encontraram 8,4% de 203 pacientes com RM, comparados com cerca de 3% da população geral. HUSON *et al.* (1988) verificaram incidência de 3,2% de RM. RICCARDI (1992) referiu 8% de RM e FERNER (1994) encontrou 8% de 103 pacientes com RM. GOLONI-BERTOLLO (1994) investigou 30 pacientes portadores de NF, encontrando RM em 43,3% deles, sendo 3,3% com RM moderado e 40% com RM leve.

No presente estudo, foi encontrada frequência de 66,7% de retardo mental em 24 pacientes avaliados, nos quais RM grave e moderado foram observados em 4,2% e RM leve em 58,3%. A alta incidência de RM encontrada nessa amostra, quando comparada com a literatura, pode ser explicada pela seleção dos pacientes nos arquivos do CEPAN de São José do Rio Preto, por apresentarem um nível sócio-econômico mais baixo em relação aos pacientes avaliados pelos autores citados anteriormente.

Seria importante que os testes psicológicos aplicados no Brasil fossem normatizados para esse nível mais baixo da população, pois de alguma forma isto pode também ter influenciado a frequência elevada dos resultados. Os testes psicológicos, uma vez que são instrumentos originalmente norte-americanos, e apesar de serem utilizados em larga escala no Brasil, ainda assim podem não ter níveis de exigências compatíveis com esta população de NF1 (VALERIO, 1996).

Todas essas alterações psicológicas encontradas podem, de alguma forma, influenciar na dificuldade de aprendizado, inclusive escolar, fato observado na maioria dos pacientes investigados. Dados da literatura comprovam esses resultados.

Por outro lado, FERNER (1995) investigaram a frequência, natureza, gravidade e causa do déficit intelectual em NF1 de 103 pacientes e 105 controles igualando por idade, sexo e estado sócio-econômico. O grau de déficit intelectual foi leve. Os pacientes também apresentaram uma pobre habilidade de leitura e um déficit de memória de curto prazo. Todos os pacientes apresentaram déficit de atenção e eram “vagarosos” para desenvolverem e adaptarem estratégias a tarefas complexas e não familiares. Presença de complicações neurológicas e/ou médicas foi pouco associada, com redução na média de QI nos pacientes com NF1. Fatores sócio-

demográficos, diferenças de idade e sexo e presença de macrocefalia não contribuíram para o déficit neurocognitivo em NF1. Outros autores (HOFMAN *et al.*, 1994; NORTH *et al.*, 1994; FERNER *et al.*, 1996) confirmam que não há associação entre diminuição de QI e variáveis como estado sócio-econômico e sexo.

Segundo alguns autores (TAYLOR & ASPINWALL, 1990; MIYAZAKI, 1993; VALERIO *et al.*, 1993; VALERIO, 1996), pacientes com doenças orgânicas e/ou mentais crônicas apresentam maior vulnerabilidade para ansiedade, com frequência aumentada nos pacientes com NF1 avaliados. RICCARDI (1992) estudou 69 pacientes com NF1 e relatou uma frequência de 33% de doença mental.

Alguns estudos relataram que problemas psiquiátricos, como depressão ou ansiedade, estão associados com déficits em muitas tarefas cognitivas (ALMKVIST *et al.*, 1992; BACKMAN & FORSELL, 1994).

Habilidades que apresentam déficits organizacionais e de atenção afetam a execução em muitas áreas, embora o aumento de distração não está obrigatoriamente associado à hiperatividade (HOFMAN *et al.*, 1994; NORTH *et al.*, 1995; FERNER *et al.*, 1996). Problemas de fala (articulação) são comuns, mas raramente graves ou suficientemente prejudicada nos pacientes (NORTH *et al.*, 1995).

STINE & ADAMS (1989) discutem as dificuldades de aprendizagem apresentadas por pacientes com NF. Os autores criticam estudos que não fazem uma distinção entre retardo mental e distúrbio de aprendizado. Na realidade, profissionais inexperientes podem deixar de realizar esse diagnóstico diferencial ao levarem em consideração apenas resultados quantitativos dos testes de nível intelectual. Esse fato tem sérias implicações na medida em que o diagnóstico de um distúrbio de aprendizado requer uma conduta clínica e educacional diferente daquela necessária em casos de RM. Assim, uma análise qualitativa do teste, bem como uma avaliação do funcionamento global de paciente, devem ser realizadas antes que se possa concluir por um quadro de RM.

A dificuldade escolar apresenta freqüências muito variáveis entre os estudos apontados na literatura. Por exemplo: CAREY *et al.* (1979) encontraram uma incidência de 21%, SAMUELSSON & AXELSSON, (1981), 30%; HUSON *et al.* (1989b), 38%; RICCARDI (1992), 69%; e FRIEDMAM & BIRCH (1997), 40%. Essas discrepâncias provavelmente são resultantes das diferentes definições para esse tipo de problema. Semelhantemente aos estudos de RICCARDI (1992), os dados encontrados nos pacientes do CEPAN mostraram-nos uma incidência de 69% com dificuldade escolar. O nível de escolaridade desses pacientes foi baixo, sendo

que 50% dos indivíduos adultos não concluíram o 1º grau; apenas dois casos (6,7%) com 1º grau completo e um caso (3,3%) com 2º grau completo. A maioria dos indivíduos de nossa amostra apresentava nível sócio-econômico baixo, e um dos fatores que levaram a encerrarem os estudos foi a necessidade de trabalhar para ajudar financeiramente a família. Faz-se importante salientar que esse é um problema típico dos países subdesenvolvidos, e que provavelmente possa ter interferido nos resultados desse estudo, quanto ao nível de escolaridade dos pacientes aqui avaliados (VALERIO, 1996).

Assim, relacionados com os problemas de aprendizado, é possível que diversos fatores estejam envolvidos nesse processo. Mais pesquisas nessa área precisam ser realizadas para esclarecimento de uma série de dúvidas, até mesmo entre os especialistas. Portanto, para melhor averiguação dessas alterações, seriam indicadas avaliações fonoaudiológica e psicológica para comprovar se tais achados estão relacionados à NF1, pois, uma vez detectados os problemas, estes necessitam de acompanhamento educacional e psicológico com finalidade de melhorar o desempenho dos pacientes e proporcionar uma forma mais adequada de encarar a doença.

Quanto aos aspectos psicológicos, com freqüência, os pacientes dermatológicos podem apresentar-se com baixa estima, envergonhados e menosprezando sua auto-imagem. Isto ocorre particularmente em pacientes

que apresentam o início da doença, quando ainda são jovens, quando as lesões são extensas ou localizadas em áreas expostas (PONTELO e NEME, 1996).

Dessa forma, eles costumam apresentar dificuldades em seus relacionamentos principalmente com o sexo oposto (JONANOVIC *et al.*, 1994), tornando-se introspectivos e solitários ou, em outros casos, agressivos e rebeldes.

O curso das condições individuais dos pacientes com NF é imprevisível, e isso preocupa a maioria deles e também seus familiares. Um maior conhecimento da história natural da NF1 pode ajudar a melhorar a habilidade de prognosticar a probabilidade das complicações individuais dos pacientes e seus familiares (FRIEDMAN & BIRCH, 1997).

As análises clínica e genética da NF proporcionam uma nova estrutura para sua avaliação e tratamento. A identificação dos genes da NF1 e NF2 proporcionou uma melhor compreensão da base molecular da doença. As contínuas pesquisas das funções dos produtos gênicos de NF1 e NF2 proporcionaram um melhoramento para o diagnóstico e o acompanhamento dos indivíduos afetados. Mas apesar dos avanços dos estudos relacionados à NF até o momento, o diagnóstico da NF1 e NF2 é ainda fortemente baseado nos critérios clínicos (GUTMANN *et al.*, 1997).

Quanto aos mastócitos, nesse estudo eles estão significativamente aumentados nos neurofibromas quando comparados com a pele normal. Estes dados estão de acordo com os relatados na literatura, embora nenhum trabalho anterior relate uma amostra tão significativa.

Eles estão presentes em quase todos os órgãos (DVORAK, 1992) e a liberação de seus produtos pode causar sinais e sintomas relacionados a qualquer órgão. Sugere-se que os progenitores de mastócitos migrem para os diferentes tecidos onde amadurecem, passando a exibir fenótipos específicos relacionados a esses tecidos (ROTTEM *et al.*, 1991). A proliferação e amadurecimento nos tecidos conjuntivos periféricos, os quais são diferentes micro-ambientes, induzem a uma heterogeneidade, que se manifesta tanto fenotípica como funcionalmente (KIRSHENBAUM *et al.*, 1991).

Os mastócitos possuem uma população homogênea de grânulos, sendo uma de natureza secretora e outra lisossomal (JAMUR e VUGMAN, 1990). Produzem e liberam vários produtos que atuam em outras células do estroma do tecido conjuntivo, células endoteliais e epiteliais, células musculares lisas e nervos, tanto local como sistemicamente (GALLI, 1989; METCALFE *et al.*, 1980).

Os mastócitos cutâneos tendem a ter grânulos com diferente aspecto de granulação e ultraestrutura morfológica semelhante a um entrelaçado,

contendo duas proteases: triptase e quimase (WEEDNER & AUSTIN, 1990). Mastócitos que contêm somente triptase predominam mais em outros órgãos. Mastócitos cutâneos têm ótima liberação de mediadores a 30°C, temperatura apropriada para a célula, funcionando em um ambiente cutâneo de relativa baixa temperatura. A temperatura ideal para a liberação de outros tipos de mediadores de mastócitos é 37°C (COHAN, 1989).

Os mastócitos possuem receptores para imunoglobulina E (IgE), e quando expostos a estes anticorpos, os fixam em sua membrana plasmática tornando-se sensibilizados. O contato destes mastócitos com o antígeno leva à subsequente liberação de substâncias armazenadas.

CAWLEY e HOCH-LIGETI (1961) referem que em muitos tumores, particularmente tumores benignos, o estroma contém um número aumentado de mastócitos, presença de enzimas liberadas por estimulação imunológica do mastócito paralelamente com a histamina e a presença de fosfatase ácida, aril-sulfatase B e dipeptidil amino-peptidase II (BARKER & BAINTON, 1980; JAMUR *et al.*, 1986, JAMUR e VUGNAM, 1987) e ATIT *et al.* (1999) conclui ser o número de mastócitos particularmente grande nos neurofibromas. A presença de grande número de mastócitos nos neurofibromas é um fato conhecido entre os histopatologistas, desde 1911, publicado por GREGGIO (1911).

ISAACSON (1976) estudou a concentração e a distribuição dos mastócitos em 132 casos de tumores benignos derivados da bainha nervosa. Verificou que, com raras exceções, os neurofibromas são caracterizados por uma alta concentração de mastócitos difusamente distribuídos. Desse modo, a presença dos mastócitos sugere um achado freqüente nos neurofibromas, podendo se tornar uma característica desta lesão.

RICCARDI (1981), em estudo das manifestações cutâneas da NF e suas interações celulares, incluindo os mastócitos, afirma que o mastócito é um mediador do prurido e provavelmente do desenvolvimento dos neurofibromas.

JOHNSON *et al.* (1989) comentam que os neurofibromas contêm concentrações relativamente altas de mastócitos, significativamente maiores do que outras neoplasias ou em tumores reacionais das bainhas nervosas, e que os mastócitos são marcadores celulares importantes dos neurofibromas, devendo participar na patogênese desta neoplasias.

Alguns autores tentaram também estabelecer uma correlação entre a freqüência dos mastócitos em tumores de partes moles e o tipo e o grau de malignidade. DONHUIJSEN *et al.* (1992) escrevem que uma alta concentração de mastócitos é considerada característica dos neurofibromas mas não dos schwannomas malignos e dos neurilemomas. A fim de verificar a

extensão e a veracidade destes achados, resolveram contar os mastócitos existentes em 61 tumores periféricos de bainha nervosa e em 103 sarcomas de partes moles não neurogênicos. Além disso, investigaram a correlação entre o número de mastócitos e vários aspectos destes tumores, entre os quais o grau de malignidade. Os neurofibromas apresentaram uma contagem muito alta de mastócitos, o que o presente trabalho também mostra. Entretanto, segundo os autores, isto se aplica somente a cerca de 70% destes tumores, o que na casuística aqui relatada se aplica a 100% desses tumores. Os schwannomas malignos, os histiocitomas fibrosos malignos e os leiomiossarcomas tiveram valores médios acentuadamente altos de mastócitos com grande dispersão dentro dos grupos histológicos. Os sarcomas sinoviais foram o único grupo que continha mastócitos em todos os casos embora freqüentemente em menor número. Dos estudos em tumores, o número de mastócitos foi negativamente correlacionado com o grau de malignidade, com a celularidade e com a atividade mitótica dos sarcomas, fato esse não analisado nesse estudo por utilizarmos amostras orientadas para os neurofibromas, tumores com características benignas.

O fato dos mastócitos estarem aumentados em apenas 70% dos neurofibromas analisados por DONHUIJSEN *et al.* (1992) pode ser devido aos neurofibromas serem de diferentes tipos de neurofibromatose, enquanto

em nosso trabalho, no qual há um aumento de mastócitos em 100% dos casos, foram analisados apenas neurofibromas de pacientes diagnosticados como NF1.

KIRKPATRICK e CURRY (1988) examinaram sete casos de neurofibromatose através da microscopia eletrônica de transmissão, a fim de estudar a relação entre os mastócitos e as outras células presentes no tumor. Observaram uma íntima relação entre os mastócitos e os fibroblastos perineurais, mas não entre os mastócitos e as células de Schwann. Na superfície de contato entre os mastócitos e os fibroblastos perineurais, numerosas estruturas tipo vesículas foram observadas, com vesículas endocitóticas correspondentes na membrana plasmática dos fibroblastos. Os autores especularam esta íntima relação morfológica como evidência, *in vivo*, para um possível papel dos mastócitos no metabolismo dos fibroblastos, uma conclusão que já se chegou por meio de estudos *in vitro*, mas até agora inadequadamente confirmada por observações *in vivo*.

SANGUINETTI *et al.* (1992), utilizando microscopia de luz e microscopia eletrônica de transmissão, verificaram que os neurofibromas apresentam numerosos mastócitos em íntimo contato com as células perineurais, mas nunca com as células de Schwann. Muitas vesículas eletrodensas foram observadas entre as células. Estas vesículas aparecem

quando a membrana plasmática dos mastócitos apresenta uma pequena elevação localizada e entra em contato com as células perineurais adjacentes. Vesículas endocitóticas são freqüentemente encontradas nos citoplasmas das células perineurais. Os autores acima deduzem que existe uma interação metabólica entre estes dois tipos de células e que os mastócitos desempenham um papel ativo na evolução do tumor. Duas teorias são propostas: 1) os mastócitos estimulam ativamente o crescimento do tumor; 2) os mastócitos alteram o fenótipo da célula tumoral. Sugerem o uso de esquemas de tratamento que inibam a atividade dos mastócitos, em tese, ou interrompam a proliferação do neurofibroma ou sua transformação maligna.

Fundamentado no grande número de mastócitos presentes em neurofibromas e da possibilidade destes mastócitos contribuírem diretamente para o crescimento do tumor, podemos raciocinar que a utilização de medicamentos, cujo mecanismo de ação estabilize ou bloqueie a desgranulação dos mastócitos, possa evitar a liberação de histamina dos grânulos (KALINER, 1979). RICCARDI (1987) utilizou, em 11 pacientes, com um ou mais neurofibromas sintomáticos, o cetotifeno em doses variáveis de 2 a 4 mg/dia por 30 a 43 meses. Todos melhoraram do prurido ou dor e da consistência das lesões, com aparente diminuição do crescimento do tumor. O autor sugere então que a liberação de substâncias dos mastócitos contribui

para o crescimento do tumor e da sintomatologia associada, e que o bloqueio desta secreção pode retardar este crescimento. Esse tipo de raciocínio pode ter fundamentos na casuística aqui apresentada, cujo número considerável da população de mastócitos justifica um papel significativo na formação dos neurofibromas. Conseqüentemente, substâncias que inibam o metabolismo do desenvolvimento dos mastócitos poderão, teoricamente e possivelmente na prática clínica, dificultar o aparecimento dos neurofibromas, como também o seu crescimento, principalmente em pacientes diagnosticados precocemente.

Quanto às contagens dos mastócitos nos resultados das estatísticas descritivas para os grupos controle (pele normal variando de 6 a 10 por campos) e nos neurofibromas (variando de 16 a 153 por campos), o teste *t-student* apresentou um valor de $t=7,14$; $p=0,0000$ e graus de liberdade igual a 29, o que demonstra que eles estão significativamente aumentados nos neurofibromas quando comparados com a pele normal. Estes dados estão de acordo com os relatados na literatura, embora nenhum trabalho anterior contasse com uma amostra tão significativa. Isso leva-nos a sugerir que essas concentrações relativamente altas de mastócitos fazem-nos verdadeiros marcadores celulares importantes dos neurofibromas, devendo participar na patogênese desta neoplasia. Na casuística aqui relatada se aplica a 100%

desses tumores. Assim, concordamos que possivelmente os mastócitos estimulem ativamente o crescimento e/ou alterem o fenótipo da célula tumoral

GIORNO *et al.* (1989) mostraram evidências ultraestruturais de ativação dos mastócitos num caso de neurofibromatose. Observaram que os neurofibromas contêm fibroblastos e muitos mastócitos e que hipóteses recentes têm ligado o crescimento do tecido fibroso aos mastócitos ativados. Descreveram a ultraestrutura dos mastócitos e dos fibroblastos num caso de neurofibromatose. Os mastócitos eram numerosos e mostravam sinais evidentes de ativação e freqüentemente estavam associados aos fibroblastos. Os grânulos dos mastócitos podiam ser vistos no interior dos fibroblastos ("transgranulação"). Os fibroblastos também estavam ativados. Os resultados sugerem que interações entre os mastócitos e os fibroblastos podem ser importantes na proeminente produção de colágeno que existe nestes tumores.

DONHUIJSEN *et al.* (1992) relatam que o número de mastócitos tendia a se correlacionar positivamente com a quantidade de tecido conjuntivo mixóide e colágeno, bem como com os infiltrados linfocíticos. Uma análise de regressão linear múltipla revelou uma correlação positiva com o grau de malignidade e a quantidade de tecido conjuntivo em seu estudo.

Tendendo para essa abordagem, é importante considerar que a matriz extracelular apresenta importante papel na manutenção da arquitetura

tecidual, morfogênese, filtração seletiva de macromoléculas e substrato de ancoragem (WEWER *et al.*, 1986) e também nos processos de diferenciação celular normal (BISSEL *et al.*, 1982) e patológica (COTRAN *et al.*, 1994).

Entre seus principais componentes estão o ácido hialurônico, a substância fundamental, as fibras colágenas e os glicosaminoglicanos. Pelo fato do ácido hialurônico constituir uma das importantes barreiras contra a invasão de bactérias, que podem penetrar na substância fundamental, só conseguem fazê-la aquelas que produzem a enzima hialuronidase, conseguindo assim despolimerizá-lo (JOHNSON *et al.*, 1963). A substância fundamental tem um papel significativo na fisiopatologia do edema que se forma nos tecidos e que ocorre quando a quantidade de fluidos, provenientes das arteríolas capilares, excede a quantidade absorvida pelas células, acumulando-se na matriz extracelular.

Algumas células possuem receptores em suas membranas, que podem se ligar diretamente às fibras colágenas, porém a fixação de outros tipos celulares é mediada por glicoproteínas de adesão como a fibronectina, laminina, trombospondina e outras, que têm locais de ligação para a membrana celular e para colágeno ou glicosaminoglicanos da matriz extracelular. Sua principal função é manter a adesão das células ao seu substrato, porém também influenciam o estado de diferenciação das células e

a organização do seu citoesqueleto. Diferem dos proteoglicanos pela sua alta proporção de proteínas e pela natureza de sua cadeia lateral polissacarídica.

Assim, além da compreensão dos fatores de regulação do crescimento e desenvolvimento dos neurofibromas, torna-se importante um conhecimento avançado da celularidade e interação célula/matriz extracelular, podendo se especular o que tais conhecimentos trariam de benefício ao paciente com NF.

UITTO & PEREJDA (1987) examinaram um total de nove neurofibromas cutâneos pelos métodos morfológico e bioquímico e concluíram que o componente predominante da matriz extracelular é o colágeno, o qual compreende aproximadamente 70% do tecido (peso seco), 3% de proteoglicanos e menores quantidades de fibras elásticas, demonstrados pelos métodos estruturais e bioquímicos.

A distribuição e a natureza da matriz protéica extracelular no tecido neurofibromatoso foi estudada pela imunoflorescência indireta e microscopia imunoeletrônica por FLEISCHMAJER *et al.* (1985), demonstrando uma notável característica. Observaram uma extensa rede de membrana basal localizada principalmente ao redor das células de Schwann e dos pequenos vasos sangüíneos. Os dados indicam que as células de Schwann contribuem consideravelmente para a produção da matriz no neurofibroma.

Na seqüência, a aplicação de técnicas imunohistoquímicas que utilizam anticorpos altamente específicos para colágeno permitiram novos estudos comparativos na distribuição e deposição de tipos geneticamente diferentes de colágeno na NF (GAY *et al*, 1983).

A quantificação dos diferentes componentes da matriz extracelular pela observação direta demonstrou, em nosso material, uma alta celularidade associada à elevada densidade dos componentes fibrosos, com escassez ou quase ausência de substância fundamental amorfa, compactação de fibras colágenas do tipo I e grande quantidade de colágeno tipo III, fatos esses pobremente estudados na literatura consultada no que se refere à neurofibromatose. Os estudos de FLEISHMAJER *et al.* (1985), mostrando uma extensa rede de membrana basal, são compatíveis com os nossos achados de grandes quantidades de colágeno do tipo III (**tabela 9**), uma vez que é sabido que este tipo de colágeno aparece associado à lâmina basal como constituinte da *pars fibroreticularis* da membrana basal (ANDRÉ, 1998b). Já a ausência completa de elementos do sistema elástico (**tabela 9**) de nossa casuística contradiz um pouco os achados de UITTO & PEREJDA (1987), o que poderia ser explicado pelo fato da nossa amostra incluir exclusivamente neurofibromas de pacientes diagnosticados como NF1. Esta pode ser uma característica histopatológica exclusiva da NF1 em relação às demais, o que

deveria ser melhor investigado. Os resultados assim apresentados em nosso material, isto é, as diferenças na distribuição e organização dos componentes fibrilares da matriz nas lesões mostram que os graus de agregação ou dispersão da trama molecular fibrosa dos colágenos na matriz das lesões, quando comparados à matriz normal, podem ser indicativos morfológicos de respostas da matriz à lesão, já que a proliferação celular é um fato a ser levado em conta em ambas as lesões (benignas ou malignas). Estas proliferações, sejam de natureza maligna ou não, sempre promovem alterações localizadas na estrutura, cuja matriz deverá responder com remodelações regionais.

As diferenças na remodelação regional (particularmente as variações nas quantidades de SFA e do colágeno do tipo I) observadas em nossa casuística (**tabela 9**) poderiam estar associadas às variações etárias, sexo, tipo e local do neurofibroma. Estas variações não apresentaram nenhuma correlação positiva ou negativa quando comparadas à idade e sexo, informações constantes do protocolo de nosso estudo. Já a correlação com o tipo e local do neurofibroma não pôde ser estabelecida, considerando a ausência destes dados em nosso protocolo de entrada do material no laboratório de histotecnologia, cujas amostras foram processadas e merecem maior investigação.

Com todos esses resultados, podemos raciocinar que a utilização de medicamentos, cujos mecanismos de ações estabilizem ou bloqueiem os mastócitos e promovam remodelações dos componentes alterados da matriz extracelular, pode interferir no desenvolvimento dos neurofibromas. Esse tipo de raciocínio pode ter fundamentos na casuística aqui apresentada, cujo número considerável da população de mastócitos e as diferenças na distribuição e organização dos componentes fibrilares da matriz extracelular nas lesões justificam um papel significativo dos mesmos na formação dos neurofibromas, principalmente em pacientes diagnosticados precocemente. Esses fatos constituem um início das possibilidades terapêuticas em uma patologia *ad eternum* para o portador dessa doença.

4.2. PERSPECTIVAS FUTURAS QUANTO À TERAPÊUTICA OU O CONTROLE DA NEUROFIBROMATOSE

Conforme relatado anteriormente, a análise clínica e genética da NF proporciona uma nova estrutura para sua avaliação e tratamento. A identificação dos genes da NF1 e NF2 permitiu uma melhor compreensão da base molecular da doença. As contínuas pesquisas das funções dos produtos

gênicos de NF1 e NF2 possibilitaram uma melhora no diagnóstico e no acompanhamento dos indivíduos afetados. Mas, apesar dos avanços desses estudos relacionados à NF até o momento, o diagnóstico da NF1 e NF2 é ainda fortemente baseado nos critérios clínicos. Nenhum tipo de tratamento médico está disponível para prevenir ou reverter lesões características da NF1. Ao invés disso, o acompanhamento médico está centralizado no aconselhamento genético e na detecção precoce das complicações que possam ser tratadas. A cura definitiva para uma doença herdada pode ser a terapia gênica, entretanto, esse tipo de terapia para NF1 deve ser difícil por várias razões. Em primeiro lugar, por a NF1 ser uma doença autossômica dominante, o sucesso da terapia gênica pode exigir uma correção do alelo mutante NF1. A análise de mutação em NF1, no entanto, mostra que a maioria das mutações identificadas deveria causar uma neurofibromina gravemente alterada. Isso sugere que a NF1 possa resultar de uma dosagem insuficiente da neurofibromina normal. Se isto for verdade, a introdução de um alelo NF1 normal pode ser útil na realização da terapia sem a correção do alelo mutante. Em segundo lugar, a NF1 frequentemente envolve múltiplos tecidos com uma alta variação. Seria muito difícil reproduzir o gene NF1 normal nos tecidos alvos. Isso poderia ser realizado somente por terapia gênica em linhagem germinativa, sobre o qual ainda há muitos debates éticos. Terceiro, existem

dificuldades para criar um modelo animal satisfatório, embora vários modelos em diferentes espécies tenham sido relatados. Entretanto, o envolvimento de genes modificados, que atuam na expressão do gene NF1, pode dificultar ainda mais a obtenção de tal modelo animal para a terapia gênica. Novos conhecimentos da função do gene NF1 podem também auxiliar o desenvolvimento de novas terapias para a NF1.

No que se refere aos mastócitos, sugerimos que a liberação de substâncias próprias deles contribui para o crescimento do neurofibroma e da sintomatologia associada, e que o seu bloqueio pode retardar este crescimento. Esse tipo de raciocínio pode ter fundamentos no número considerável de mastócitos, o que justifica um papel significativo na formação dos neurofibromas. Conseqüentemente, medicamentos que inibam o metabolismo do desenvolvimento dos mastócitos poderão, teoricamente e possivelmente na prática clínica, dificultar o aparecimento dos neurofibromas, como também o seu crescimento, principalmente em pacientes diagnosticados precocemente.

Novos métodos para a caracterização dos mastócitos pela coloração dos seus grânulos com a avidina e a localização dos receptores Fc para IgE na membrana têm sido explorados. Tais procedimentos deverão ajudar na compreensão dos parâmetros envolvidos na modulação do crescimento celular

nos neurofibromas. Abordagens futuras no estudo da dinâmica celular nestes tumores deverão incluir a detecção de mastócitos ativados (degranulados), das células de Schwann e os efeitos dos produtos dos mastócitos sobre a expressão do gene do colágeno.

Um dos aspectos principais relacionados com a biologia do colágeno consiste nos mecanismos responsáveis no controle do depósito do colágeno nos tecidos. As conseqüências de um acúmulo descontrolado podem ocasionar as alterações observadas em lesões básicas de determinadas doenças, como ocorre nos neurofibromas na NF. De acordo com as considerações teóricas, o depósito de colágeno nos tecidos poderia então ser controlado em diferentes níveis da biossíntese ou degradação, tipo de secreção e conversão das formas precursoras do colágeno ou pela remoção das fibras colágenas extracelulares.

A inibição da produção pró-colágena em culturas de fibroblastos da pele humana, a curto prazo, é pouca seletiva e praticamente nenhum efeito foi notado na síntese da proteína não colagênica ou na expressão dos genes não colagênicos, o que é determinado pela abundância da beta-actina e dos níveis de RNAm para fibronectina (KEENE *et al.*, 1988). Assim, avanços no uso de medicamentos que possam alterar o balanço entre a produção de colágeno e a degradação das proteínas para o tratamento das condições fibróticas

(RYYNANEN *et al.*, 1992; Christiano *et al.*, 1992) poderiam atuar nas lesões tumorais da NF.

Outro aspecto são os mecanismos segundo os quais os hormônios regulam a expressão dos genes para o colágeno, os quais não se conhecem com precisão em todos os casos, porém, existem diversas alterações endocrinológicas que afetam significativamente a quantidade de colágeno encontrada nos tecidos conjuntivos (KIVIRIKKO, 1970; UITTO & PROCKOP, 1975). Assim, torna-se importante o efeito de diversos medicamentos relacionados a isso. Como exemplo, citamos a ação dos corticóides sobre o colágeno da derme e de outros tecidos conjuntivos. A biossíntese do colágeno é inibida pela hidrocortisona e por vários corticosteróides fluorados utilizados na clínica dermatológica (CUTRONEO *et al.*, 1981; OIKARINEN & UITTO, 1985). Essa inibição é muito mais pronunciada com os corticosteróides fluorados do que com a hidrocortisona (PONEC *et al.*, 1979; CUTRONEO *et al.*, 1981). O resultado final dessa inibição consiste na diminuição da quantidade de colágeno neossintetizado, o que talvez explique os efeitos colaterais dos corticosteróides no tecido conjuntivo como, por exemplo, a atrofia da derme, freqüentemente observada após a aplicação intralesional ou tópica prolongada de corticosteróides fluorados (STEVANOVIC, 1972; BOOTH *et al.*, 1982).

Assim, conforme citado anteriormente, a matriz extracelular apresenta importante papel na manutenção da arquitetura tecidual, morfogênese, filtração seletiva de macromoléculas e substrato de ancoragem e também nos processos de diferenciação celular normal e patológica. Nos neurofibromas, a matriz extracelular é composta de fibras colágenas, com deposição de material mucinoso nos espaços interfibrilares, evidenciando que o crescimento e o desenvolvimento dos neurofibromas apresentam essas dependências. Conseqüentemente, um modo de tratar farmacologicamente esses elementos também poderiam limitar o crescimento e o desenvolvimento dos neurofibromas.

É aqui assinalada a possibilidade do uso bem direcionado da terapia gênica ou de algum fármaco, cujo mecanismo de ação venha ser, potencialmente, mais uma proposta de benefício para os pacientes com NF, promovendo uma certa esperança de controle ou de alívio dessa enfermidade.

5. CONCLUSÃO

- As características principais ou “major” foram observadas em todos os pacientes. Os neurofibromas e nódulos de Lisch foram considerados exclusivos da NF.
- A macrocefalia foi observada em 50% da amostra e isoladamente, não pode ser considerada característica de NF. Os outros sinais observados foram considerados como complicações.
- A quantidade de mastócitos nos neurofibromas, quando comparada a da pele normal, mostrou-se elevada.
- A matriz extracelular nos neurofibromas apresentou-se alterada em comparação com a pele normal.
- Nos neurofibromas houve uma alta celularidade associada à elevada densidade dos componentes fibrosos, particularmente do colágeno tipo III, com escassez ou quase ausência de substância fundamental amorfa e ausência de material elástico.

- Os graus de agregação ou dispersão da trama molecular fibrosa dos colágenos do tipo I e tipo III parecem ter um papel significativo na formação dos neurofibromas.
- Os achados do presente trabalho podem colaborar com estudos relacionados à terapêutica de NF.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adrian C, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.

Aegerter E, Kirkpatrick JA. *Orthopedic diseases*. WB Sanders; 1964.

Akenside M, apud Ricardi VM. Neurofibromatosis phenotype natural history and pathogenesis. 2nd ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press; 1992. p.1.

Almkvist O, et al. White-matter hiperintensity and neuropsychological functions in dementia and healthy ageing. *Arch Neurol* 1992;49:626-32.

Aloi F, Massobrio R. Solitary plexiform neurofibroma. *Dermatologica* 1989;179:84-6.

Andersen LB, Fountain JW, Gutmann DH, Tarlé SA, Glover TW, Dracopoli NC, et al. Mutation in the neurofibromatosis 1 gene in sporadic malignant melanoma cell lines. *Nature Genet* 1993;3:118-21.

André JC. Matriz extracelular. In: André JC, editor. *Princípios de biologia celular para as ciências da saúde*. São José do Rio Preto: Educare Editora, São José do Rio Preto; 1998a. p.75-82.

André JC, editor. *Princípios de biologia celular para as ciências da saúde*. São José do Rio Preto: Educare Editora, São José do Rio Preto; 1998b.

Atit RP, Crowe MJ, Greenhalgh DG, Wenstrup RJ, Ratner N. The NF1 tumor suppressor regulates mouse skin wound healing, fibroblast proliferation, and collagen deposited by fibroblasts. *J Invest Dermatol* 1999;112:835-42.

Backman L, Forsell Y. Episodic memory functioning in a community-based sample of old adults with major depression: utilization of cognitive support. *J Abnorm Psychol* 1994;103:361-70.

Bader JL. Neurofibromatosis and cancer. *Ann NY Acad Sci* 1986;86:57-65.

Barker DE, Wright K, Nguien K, Cannon L, Fain P, Goldgar D, et al. Gene for Von Recklinghausen neurofibromatosis is in the pericentric region of chromosome 17. *Science* 1987;236:1100-2.

- Barker ME, Bainton DF. Cytochemical localization of arylsulfatase B in rat basophils and mast cells. *J Histochem Cytochem* 1980;28:1055-61.
- Bass JC, Korobkin M, Francis IR, Ellis JH, Cohan RH. Retroperitoneal plexiform neurofibromas: CT findings. *AJR Am J Roentgenol* 1994;163:617-20.
- Behmer AO, Tolosa EMC, Neto AGF. Manual de práticas para histologia normal e patológica. São Paulo: EDART-EDUSP; 1976. 329p.
- Beiter M, Ingersoll G, Ganser J, Orr DP. Relationship of somatic symptoms to behavioral and emotional risk in young adolescents. *J Pediatr* 1991;118:473-8.
- Bhattacharya R, Jamieson GG. Recurrent perforation complicating intestinal neurofibromatosis. *Aust N Z J Surg* 1988;58:749-51.
- Bienenstock J, Blennerhassett M, Kakuta Y, Macqueen G, Marshall J, Perdue M, et al. Evidence for central and peripheral nervous system interaction with mast cells. In: Galli SJ, Austen KF. Mast cell and basophil differentiation and function in health and disease. New York: Raven Press; 1989. p.275-84.
- Bissel NJ, Hall HG, Parry G. How does the extracellular matrix direct gene expression? *J Theor Biol* 1982;99:31-68.
- Blickstein I, Lurie S. The gynaecological problems of neurofibromatosis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1990;30:380-2.
- Booth BA, et al. Steroid-induced dermal atrophy: Effects of glucocorticosteroids on collagen metabolism in human skin fibroblast cultures. *Int J Dermatol* 1982;21:333.
- Bousema MT, Vuevski VD, Oranje AP, Heyle F, Stolz E, van Joost T. Non-von Recklinghausen's neurofibromatosis resembling a giant pigmented nevus. *J Am Acad Dermatol* 1989;20:358-62.
- Bouzas EA, Mastorakos G, Chrousos GP, et al. Lisch nodules in Cushing's disease [Letter]. *Arch Ophthalmol* 1993;111:439-40.
- Brailsford JF. Discussion on generalized disease of bone in the adult. *Proc R Soc Med* 1948;41:738.
- Brasfield JF, Das Gupta TK. Von Recklinghausen Disease: a clinicopathological study. *Ann Surg* 1972;175: 86-103.
- Bricaire H, Fardeau M, Mazet PH. Endocrine disorders associated with the Pahkomatosis. In: Vinken PJ, Bruyn GW, editores. Handbook of clinical neurology. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972.

- Briggaman RA. Is there any specificity to defects of anchoring fibrils in epidermolysis bullosa dystrophica, and what does this mean in terms of pathogenesis? *J Invest Dermatol* 1985;84:371.
- Brooks L, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.
- Brownstein S, Little JM. Ocular neurofibromatosis. *Ophthalmology* 1983;90:1595-9.
- Bruckner-Tuderman L, et al. Anchoring fibrils and type VII collagen are absent from skin in severe recessive dystrophic epidermolysis. *J Invest Dermatol* 1989;93:3.
- Burd PR, Roger HW, Gordon JR, et al. Interleucin-3 dependent and independent mast cells stimulated with IgE and antigen express multiple cytoknes. *J Exp Med* 1989;170:245-57.
- Byers PH, Barsh GS, Holbrook KA. Molecular pathology in in herited disorders of collagen metabolism. *Hum Pathol* 1982;13:89-95.
- Canale DJ, Bebin J. Von Recklinghausen disease of the Nervous System. In: Vinken PJ, Bruyn GW, editores. *Handbook of clinical neurology*. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972:4. p.132-62.
- Carey JC, Laub JM, Hall BD. Penetrance and variability in neurofibromatosis: a genetic study of 60 families. *Birth Defects* 1979;15(5B):271-81.
- Carey JC, Baty BJ, Johnson JP, Morrison T, Skolnik M, Kivlin J. The genetic aspects of neurofibromatosis. *Ann NY Acad Sci* 1986;486,p.45-6.
- Castanheira-Dinis A, et al. Visual function in Neurofibromatosis. *J Neuro-Ophthal* 1996;16:234-40.
- Cawley EP, Hoch-Ligeti C. Association of tissue mast cell and skin tumors. *Arch Dermatol* 1961;83:92-6.
- Cawthon RM, Weiss R, Xy G, et al. A major neurofibromatosis type-1 gene: cDNA sequence, genomic structure, and point mutations. *Cell* 1990;62:193-201.
- Cauffard MA, apud Musger A. Dermatological aspects of the phakomatosis. In: Vinken PJ, Bruyn GW. *Handbook of clinical neurology*. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972:14. p.562-72.
- Chaves C, Bieler J, Morettor R. Neurofibromatose de von Recklinghausen. *Rev Med HSE* 1972;24:177-201.
- Clark RD. Proteus syndrome: an expanded phenotype. *Am J Med Genet* 1987;27:99-118.

- Clark RD. Proteus syndrome. In: Huson SM, Hughes RA, editores. The neurofibromatosis: a pathogenetic and clinical overview. London: Chapman Hall; 1994. p.402-13.
- Clementi M, et al. Headache in patients with neurofibromatosis type 1. *Headache* 1996;36:10-3.
- Cleveland RH, Gilsanz V, Wilkinson RH. Congenital pseudoarthrosis of the radius. *AJR* 1978;130:955.
- Cohan VL, Massey WA, Gitten SD, et al. The heterogeneity of human histamine containing cells. In: Galli SJ, Austin KF, editores. Mast cell and basophil differentiation and function in healths and disease. New York: Raven Press; 1989. p.149-59.
- Cohen MM. Further diagnostic thoughts about the elephant man. *J Med Genet* 1988;29:777-82.
- Collins FS, Ponder BAJ, Seizinger BR, Epstein CJ [Editorial]. The von Recklinghausen neurofibromatosis region on chromosome 17- genetic and physical maps come into focus. *Am J Hum Genet* 1989a:1-5.
- Collins FS, O'connell P, Ponder BAJ, Seizinger BR. Progress towards identifying the neurofibromatosis (NF1) gene. *Hum Genet Dis* 1989b;5:217-21.
- Cotran RS, Kumar J, Robins SL. Male genital System. In: Robins SL. Pathologic basis of disease. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1994. p.1007-32.
- Christiano AM, et al. The large non-collagenase domain (NC-1) of type VII collagen in amino-terminal and chimeric. *Hum Molec Genet* 1992;1:475.
- Crawford AH, Bagamery N. Osseous manifestations of neurofibromatosis in childhood. *J Ped Orthop* 1986;6:72-88.
- Crowe FW, Shull WJ. Diagnostic importance of café-au-lait spot in neurofibromatoses. *Arch Intern Med* 1953;91:758-66.
- Crowe FW, Shull WJ, Neels JV, et al. Clinical pathological and genetic study of multiple neurofibromatoses. Springfield, IL: Charles C. Thomas; 1956.
- Crowe FW. Axillary freckling as a diagnostic aid in neurofibromatosis. *Ann Inter Med* 1964;61:1142-3.
- Crump T. Tranlation of case reports in veber die multiplen fibrome der haut und ihre beziehung zu den multiplen neuomen by F.V. Reclinghausen. *Adv Neurol* 1981;29:259-75.

- Cushing HW, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.
- Cutroneo KR, et al. Anti-inflammatory steroids and collagen metabolism. Glucocorticoid-mediated decrease of prolyl hydroxylase. *Mol Pharmacol* 1975;11:44.
- Cutroneo KR, et al. Glucocorticoids and collagen synthesis: Comparison of in vivo and cell culture studies. *Collagen Rel Res* 1981;1:557.
- Davis, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Prob Surg* 1977;14:1-81.
- De Castro, apud Bricaire H, Fardeau M, Mazet PR. Endocrine disorders associated with the phakomatosis. In: Vinken PJ, Bruyn GW. *Handbook of clinical neurology*. Amsterdam: Holland Publishing Company;1972:14. p.731-44.
- De Clue JE, Papageorge AG, Fletcher JA, et al. Abnormal regulation of mammalian p21 contributes to malignant tumor growth in von Recklinghausen neurofibromatosis. *Cell* 1992;69:265-73.
- Deliganis AV, Geyer JR, Berger MS. Prognostic significance of type 1 neurofibromatosis (von Recklinghausen disease) in childhood optic glioma. *Neurosurgery* 1996;38:1114-8.
- de Thè et al. Identification of a retinoic acid responsive element in the retinoic acids receptor B gene. *Nature* 1990;343:177.
- Diehl SR, Boehnke M, Erikson RP, Baxter AB, Bruce MA, Lieberman JL, et al. Linkage analysis of von Recklinghausen neurofibromatosis to DNA markers on chromosome 17. *Genomics* 1987;1:361-3.
- Diehl SR, Boehnke M, Erickson RP, Ploughman LM, Seiler KA, Lieberman JL, et al. A refined genetic maps of the region of chromosome 17 surrounding the von Recklinghausen neurofibromatosis (NF1) gene. *Am J Human Genet* 1989;44:33-7.
- Donhuijsen K, Sastry M, Volker B, Leder LD. Mast cell frequency in soft tissues tumors. Relation to type and grade of malignancy. *Pathol Res Pract* 1992;188:1-2;61-6.
- Ducroquet, apud Klatter EC, Franken EA, Smith JA. Radiographic spectrum in neurofibromatosis. *Semin Roentgenol* 1976;11:17-33.
- Dunn DW. Neurofibromatosis in childhood. *Curr Probl Pediatr* 1987;17:445-97.
- Dvorak AM. Human mast cells: ultrastructural observation of in situ, ex vivo, and in vitro sites, sources, and systems. In: Kaliner MA, Metcalfe DD, editores. *The mast cells in health and disease*. New York: Marcel Dekker; 1992. p.1-90.

- Dyer RF. Endoneurial mast cells in peripheral nerves of the Armadillo Dermis. *Cell Tissue Res* 1978;192:97-105.
- Egbonu L, Starfield D. Child health and social status. *Pediatrics* 1982;69:550-7.
- Ehrlich P. Beitrage zur Kenntnis der Anilinfärbungen und ihrer Verwendung in der mikroskopischen Technik. *Arch Mikrosk Anat* 1877;13:263-77.
- Eldridge R, Denckla MB, Bien E, Myers S, Kaiser-Kupfer MI, Pikus A, et al. Neurofibromatosis type 1 (Reckenghausen's disease). *Am J Dis Children* 1989;143:833-7.
- Eliason MJ. Neurofibromatosis: implications for learning and behavior. *J Dev Behav Pediatr* 1986;7:175-9.
- Enerbäck L. The gut mucosal mast cell. *Monogr Allergy* 1981;17:222.
- Escalona SK. Babies at double hazard: early development in infants at biologic and social risk. *Pediatrics* 1982;70:670-6.
- Fain PR, Barker DF, Goldgar DE, Wright E, Nguyen K, Carey J, et al. Genetic analysis of NF1. Identification of close flanking markers on chromosome 17. *Genomics* 1987;1:340-5.
- Faintuch JJ, Saito R, Warth MPTN, Rocha AS. Comprometimento pulmonar letal na neurofibromatose. *Rev Hosp Clin FMUSP* 1990;45.
- Fairbank J. Orthopedic manifestations of neurofibromatosis, In: Huson SM, Hughes RA, editores. *The neurofibromatosis. A pathogenetic and clinical overview*. New York: Hapman & Hall Medical; 1994. p.275-304.
- Ferner RE. Intellect in neurofibromatosis 1 and medical complications of neurofibromatosis 1. In: Huson SM, Hughes RA, editores. *The neurofibromatosis. A pathogenetic and clinical overview*. New York: Hapman & Hall Medical; 1994. p.233-52; 316-30.
- Ferner RE, Hughes RA, Johnson MR. Neurofibromatosis 1 and multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995;58:582-5.
- Ferner RE, Hughes RAC, Weinman J. Intellectual impairment in neurofibromatosis 1. *J Neurol Sci* 1996;138:125-33.
- Feyrter F, apud SCHURCH W, MESSERLI FH, GENEST J, LEFEBVRE R, ROY P, CARTIER P & ROJO-ORTEGA JM - Arterial hipertension and neurofibromatosis: renal artery stenosis and coarctation of abdominal aorta. *Can Med Assoc.J.* 113(9): 879885, 1975.

Fitzpatrick TB, Martuza RL. Clinical diagnosis of von Recklinghausen's neurofibromatosis. *Ann NY Acad Sci* 1986;486:383-5.

Fleischmajer R, Timpl R, Dziadek M, Lebowitz M. Basement membrane proteins, interstitial collagens, and fibronectin in neurofibroma. *J Invest Dermatol* 1985;85:54-9.

Fountain JW, Wallace MR, Bruce MA, Seizinger BR, Menon AG, Gusella JF, et al. Physical mapping of a translocation breakpoint in neurofibromatosis. *Science* 1989;224:1085-7.

Friedman JM, Birch PH. Type 1 neurofibromatosis: a descriptive analysis of the disorder in 1,728 patients. *Am J Med Genet* 1997;70:138-43.

Fueller V, Boltshauser E, Kichhofer A. A iris hamartoma as diagnostic criterion in neurofibromatosis. *Neuropediatrics* 1986;17:183-5.

Galli SJ. New concepts about the mast cell. *N Engl J Med* 1989;328:257-65.

Galli SJ. New insights into "the riddle of the mast cells": microenvironmental regulation of mast cell development and phenotypic heterogeneity. *Lab Invest* 1990;62:5-33.

Galli SJ, Dvorak AM, Dvorak HF. Basophils and Mast Cells: morphologic insights into their biology, secretory patterns, and function. In: Ishizaka K. Mast cell activation and mediator release. *Prog Allergy* 1984;34:1-14.

Garreto NS, Ameriso S, Molina HA, et al. Type 2 neurofibromatosis with Lisch nodules. *Neurofibromatosis* 1989;2:315-21.

Garty BZ, Laor A, Danon YL. Myopia in neurofibromatosis. *Israel J Med Sci* 1996;32:297-9.

Gay RE, Gay S, Jones RE Jr. Histological and immunohistological identification of collagens in basement membranes of Schwann cells of neurofibroma. *Am J Dermatopathol* 1983;5:317-25.

Genersich, apud Schmitt J. Visceral aspects of the phakomatosis. In: Vinken PJ, Bruyn GW. *Handbook of Clinical Neurology*. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972:14. p.668-91.

Gerhardt, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.

Ghadially FN. *Ultrastructural pathology of the cell and matrix*. 3rd ed. London: Butterworths; 1988. p.128.

Gholam AP, Sanders DR, Goldberg ME. The Phakomatosis. In: Albert DM, Jacobiec FA. Principles and Practice of Ophthalmology. Philadelphia: WB Saunders Company; 1980. p.1197-1201.

Giorno RE, Claman MN. Mast cells and neurofibromatosis. Neurofibromatosis 1988;1:100-4.

Giorno R, Lieber JE, Claman HN. Ultrastructural evidence for mast cell activation in a case of neurofibromatosis. Neurofibromatosis 1989;2:35-41.

Glenn F, apud Schurch W, Messerli FH, Genest J, Lefebvre R, Roy P, Cartier P, et al. Arterial hypertension and neurofibromatosis: renal artery stenosis and coarctation of abdominal aorta. Can Med Assoc J 1975;113:879-85.

Goldberg Y, et al. Neurofibromatosis type 1 - an update and review for the primary pediatrician. Clin Pediatr 1996;35:545-61.

Goloni-Bertollo E.M. Estudo citogenético e genético-clínico em neurofibromatose [doutorado]. São José do Rio Preto: Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas; Vinken PJ, Bruyn GW. 1994.

Goloni-Bertollo EM, Antônio JR, Varella-Garcia M. Avaliação genético-clínico em neurofibromatose. An Bras Dermatol 1994;69:311-22.

Gomori G. Silver impregnation of reticulum in paraffin sections. Am J Pathol 1937;13:993-1002.

Gordon RRS. Measurement of cranial capacity in children. Br J Radiol 1966;39:377.

Greggio H. Les cellules granuleuses (Mastzellen) dans les tissus normaux et dans certaines maladies chirurgicales. Arch Med Exp 1911;23:323.

Gregory PE, Guttmann DH, Mitchell A, et al. Neurofibromatosis type 1 gene product (neurofibromin) associates with microtubules. Som Cell Molec Genet 1993;19:265-74.

Grenne JF Jr, Fitzwater JE, Burgess J. Arterial hypertension associated with neurofibromatosis. Am J Clin Pathol 1974;62:481.

Guttmann DH, Collins FS. The neurofibromatosis type 1 gene and its protein product, neurofibromin. Neuron 1993;10:335-43.

Guttmann DH, et al. The diagnostic evaluation and multidisciplinary management of neurofibromatosis 1 and neurofibromatosis 2. JAMA 1997;278:51-7.

Halpern M, Currarino G. Vascular lesion causing hypertension in neurofibromatosis. N Engl J Med 1965;273:248-51.

- Hamilton, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.
- Handa J, Kayama T, Shimizu Y, Yoneda S. Skull defect involving the lambdoid suture in neurofibromatosis. *Surg Neurol* 1975;3:119.
- Harrison, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.
- Hatanaka K, Kitamura Y, Nishimura Y. Local development of bone marrow-derived precursor in the skin of mice. *Blood* 1979;53:142.
- Henshen, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.
- Heublein GW, Pendergrass EP, Widman NBP. Roent finding in the neurocutaneous syndromes. *Radiology* 1940;35:701.
- Hofman KJ, et al. Neurofibromatosis type 1: the cognitive phenotype. *J Pediatr* 1994;124:S1-8.
- Holt JF, Kuhns LR. Macrocranium and macroencephaly in neurofibromatosis. *Skeletal Radiol* 1976;1:25-8.
- Hope DG, Mulvihill M. Malignancy in neurofibromatosis. *Adv Neurol* 1981;29:33-56.
- Hosoi K. Multiple neurofibromatosis (von Recklinghausen disease) with special reference to malignant transformation. *Arch Surg* 1931;22:258-81.
- Howard M, Ford P. *The true history of the Elephant Man*. London: Allison & Busby; 1980.
- Huson SM, Thrush DC. Central neurofibromatosis. *Quartely J Med* 1985;55:213-24.
- Huson SM, Jones D, Beck L. Ophthalmic manifestation of neurofibromatosis. *Br J Ophthalmol* 1987;71:235-8.
- Huson SM, Harper PS, Compston AS. Von Recklinghausen neurofibromatosis – a clinical and population study in southeast Wales. *Brains* 1988;111:1355-81.
- Huson S.M. Recent developments in the diagnosis and management of neurofibromatosis. *Arch Dis Child* 1989a;64:745-9.
- Huson SM, Compston DAS, Clark P, et al. A genetic study of von Recklinghausen neurofibromatosis in south-east Wales. I. Prevalence, fitness, mutation rate, and effect of parental transmission on severity. *J Med Genet* 1989b;26:704-11.

- Huson SM. 1. Neurofibromatosis: histological perspective, classification and diagnostic criteria. 7. Neurofibromatosis 1: a clinical and genetic overview. In: Huson SM, Hughes RAC. The neurofibromatoses. A pathogenetic and clinical overview. Preface. London: Chapman & Hall; 1994.
- Isaacson P. Mast cells in benign nerve sheath tumours. *J Pathol* 1976;119:193-6.
- Ishizaka T, Ishizaka K. Activation of mast cells for mediator release through IgE receptors. *Prog Allergy* 1984;34:188-235.
- Israel-Asselain & Davies, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.
- Jacques J, Cameron HCS. Changes in the ground-substance of healing wounds. *J Pathol* 1969;99:337-40.
- Jamur MC, Vugman I. Cytochemical demonstration of basic proteins in rat peritoneal mast cell maturation. *Cell Mol Biol* 1987;33:69-72.
- Jamur MC, Vugman I. Cytochemical demonstration of acid phosphatase and basic proteins in rat peritoneal mast cell during 48/80 exocytosis. *Cell Mol Biol* 1990;36:509-14.
- Jamur MC, Vugman I, Hand AR. Ultrastructural and cytochemical studies of acid phosphatase and trimetaphosphatase in rat peritoneal mast cells developing in vivo. *Cell Tissue Res* 1986;244:557-63.
- Jansen LH. The structure of the connective tissue: An explanation of the symptoms of the Ehlers-Danlos syndrome. *Dermatologica* 1955;110:108-20.
- Johnson MD, Kamso-Pratt J, Federspiel CF, Whetsell WO Jr. Mast cell and lymphoreticular infiltrates in neurofibromas. Comparison with nerve sheath tumors. *Arch Pathol Lab Med* 1989;113:1263-70.
- Johnson WC, Helwig EB. Histochemistry of the acid mucopolysaccharides of the skin in normal and in certain pathologic conditions. *Am J Clin Pathol* 1963;40:123-31.
- Jonanovic M, Duran V, Poljacki M. Modern psychosomatic aspects of dermatology. *Med Pregl* 1994;47:105-10.
- Jones KL. Smith's Recognizable patterns of human malformation. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Co.; 1988. p.778.
- Junqueira LC, Cossermeli W, Bentrani R. Differentia staining of collagens type I, II and III by Sirius Red and Polarization microscopy. *Arch Histol Jap* 1978;41:267.

- Jurecka W, Lassmann H, Gebhart W [Abstract]. Classification of peripheral nerve sheath tumor. *Arch Dermatol Res* 1977;258:100.
- Katsubata Y, Kakitsubata S, Sonoda T, Watanabe K. Neurofibromatosis type 1 involving the liver: ultrason and CT manifestation. *Pediatric Radiol* 1994;24:66-7.
- Kaliner MA [Editorial]. The mast cell, a fascinating riddle. *N Engl J Med* 1979;301:498-9.
- Kaplan P, Rosenblatt B. A distinctive facial appearance in neurofibromatosis von Recklinghausen. *Am J Med Genet* 1985;21:463-70.
- Kayes LM, et al. Deletions spanning the neurofibromatosis 1 gene: identification and phenotype of five patients. *Am J Hum Genet* 1994;54:424-36.
- Keene DR, et al. Ultrastructure of type Vi collagen in human skin and cartilage suggests an anchoring function for this filamentous net work. *J Cell Biol* 1988;107:1995.
- Kimura M, Tohya K, Toda S. Na electron microscopical observation of the endoneural mast cells of the laboratory musk shrew: *Suncus murinus*. *Anat Anz Jena* 1988;165:143-50.
- Kitamura Y, Matsuda H, Hatanaka K. Clonal nature of mast cell clusters formed in W/Wv mice after abone marrow transplantation. *Nature* 1979;281:154-5.
- Kirkpatrick CJ, Curry A. Interaction between mast cells and perineural fibroblast in neuro fibroma. New insights into mast cell function. *Pathol Res Pract* 1988;183:453-61.
- Kirshenbaum AS, Kessler SW, Goff JP, et al. Dermonstration of the origin of human mast cells from CD34+ bone marrow progenitor cells. *J Immunol* 1991;146:1410-5.
- Kirshenbaum AS, Goff JP, Kessler SN, et al. Effect of IL-3 and stem cell factor on the appearence of human basophils and mast cells from CD34+ pluripotent progenitors cells. *J Immunol* 1992;148:772-7.
- Kivirikko KI. Urinary excretion of hydroxyproline in health and disease. *Int Rev Connect Tissue Res* 1970;5:93.
- Klatte EC, Franken EA, Smith JA. Radiografic spectrum in neurofibromatosis. *Semin Roentgenol* 1976;11:17-33.
- Korf BR. The genetic basis of neurofibromatosis. *Neurol Forum* 1990;II:2-7.
- Krikun ME. Imaging modalities in spinal disorders. Philadelphia: WB Saunders Company; 1988. p.691.

Lassmann H, Jurecka W, Gebhart W. Some electron microscopic and autoradiographic results concerning cutaneous neurofibromas en von Recklinhausen`s disease. *Arch. Dermatol Res* 1976;255:69-81.

Laue L, Comite F, Henck K, Liriaux DL, Cutler GB Jr, Prexovitz GH. Precocious puberty associated with neurofibromatosis and optic gliomas. Treatment with luteinizing hormone releasing hormone analogue. *Ann J Dis Child* 1985;139:1097-100.

Lázaro C, et al. Neurofibromatosis type 1 due to germline mosaicism in a clinically normal father. *N Engl J Med* 1994;331:1403-7.

Legius E, et al. Neurofibromatosis type 1 in childhood: correlation of MRI findings with intelligence. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995;59:638-40.

Leigh IM, Eady RAJ, Heagerty AHM. Type VII collagen is a normal component of epidermal basement membrane. *J Invest Dermatol* 1988;90:639-42.

Lever WF, Shcaumburg-Lever. *Histopatologia da pele*. 7^a ed. S.Paulo: Manole; 1991.

Lewis RA, Riccardi VM. Von Recklinghausen neurofibromatosis. Incidence of iris hamartomata. *Ophthalmology* 1981; 88:348-54.

Lisch K, apud Riccardi VM. Neurofibromatosis-phenotype, natural history and pathogenesis. 2nd ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press; 1992. p.86.

Listernick R, et al. Optic pathway glioma in children: the effect of neurofibromatosis 1 on clinical manifestations and natural history. *J Pediatr* 1995;127:718-22.

Listernick R, et al. Optic pathway glioma in children with neurofibromatosis 1: consensus statement from the Optic Pathway Glioma Task Force. *Ann Neurol* 1997;41:143-9.

Lubs MLE, Bauer M.J, Formas ME, Djokic B. Lisch nodules in neurofibromatosis type 1. *N Engl J Med* 1991;324:1264-6.

Lund AM, Skovby F. Optic gliomas in children with neurofibromatosis type1. *Eur J Pediatr* 1991;150:835-8.

Machado LA. Avaliação clínica, cromossômica e molecular e pacientes portadores de neurofibromatose [Dissertação]. Botucatu: Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista; 1998.

Madigan P, Shaw RV. Neurofibromatosis. In: 13th Century Austria Neurofibromatosis 1988;1:339-41.

Madigan P, Masello M.J. Report of neurofibromatosis - like case: Monstrorum Historia, 1642. *Neurofibromatosis* 1988;2:53-6.

- Marchand, apud Bricaire H, Fardeau M, Mazet PR. Endocrine disorders associated with the Phakomatosis. In: Vinken PJ, Bruyn GW, editores. Handbook of clinical neurology. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972:14. p.731-44.
- Marie and Barnard, apud Murger A. Dermatological aspects of the phakomatosis. In: Vinken PJ, Bruyn GW, editores. Handbook of clinical neurology. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1975:21. p.562-72.
- Martuza RL, Eldridge R. Neurofibromatosis 2 (bilateral acoustic neurofibromatosis). N Engl J Med 1988;318:684-8.
- Martuza RL, Ojamann RG. Bilateral acoustic neuromas: clinical aspects, pathogenesis and treatment. Neurosurgery 1982;10:1-12.
- Mattucci KF, Glass WM, Setzen M, Levin W. Childhood acoustic neuroma. NY S J Sem 1987;87:665-6.
- Maynard J, Krawczak M, Upadhyaya M. Characterization and significance of nine novel mutations in exon 16 of the neurofibromatosis type 1 (NF1) gene. Hum Genet 1997;99:674-6.
- McKusik VA. Mendelian Inheritance in man. 10th ed. Baltimore: Johns Hopkins Univ. Press; 1992. p.1741.
- Meigel WN, Gay S, Weber L. Dermal architecture and collagen type distribution. Arch Dermatol Res 1977;259:1-10.
- Meinicke P. Evidence that the "neurofibromatosis noonan syndrome" is a variant of von Recklinghausen neurofibromatosis. Am J Med Genet 1987;26:741-5.
- Mendez HMM. The neurofibromatosis-noonan syndrome. Am J Med Genet 1985;21:471-6.
- Merz WA. Die Streckenmessung an gerichtetem struktme in mikroskop und ihre anwendung zun bestimmung von Oberflächen-Volumen - relationen in knochengewebe. Mikroskopie 1968;6:132-46.
- Metcalf DD, Kaliner M, Donlon MA. The mast cell. CRC Crit Rev Immunol 1981;2:23.
- Metcalf DD, Sotis NA, Wasserman ST. Identification of sulfated mucopolysaccharides including heparin in the lesional skin of a patient with mastocytosis. J Invest Dermatol 1980;74:210-5.
- Mihara M, Nakayama H, Aki T, et al. Cutaneous nerves in café au lait spots with white halos in infants with neurofibromatosis. Arch Dermatol 1992;128:957-61.

- Mikhail GR, Miller-Milinska A. Mast cell population in human skin. *J Invest Dermatol* 1964;43:249-54.
- Miyazaki MCOS. Enfoque psicossocial da doença crônica: um estudo sobre pacientes pediátricos portadores de asma e suas mães [dissertação]. Campinas: PUCCAMP; 1993.
- Montgomery H. Neurofibromatosis in dermatopathology. New York: Hasper and Row; 1967:2. p.1072-6.
- Moore BH. Some orthopaedic relationships of neurofibromatosis. *J Bone Joint Surg* 1941;23A:109.
- Mosso ML, Castell M, Bellani FF, Ditullio MT, Loiacomo F, Paolucci G, et al. Neurofibromatosis and malignant childhood cancer: a survey in Italy, 1970-83. *Tumori* 1987;73:209-12.
- Mulvihill JJ, Parry DM, Sherman JL, Pikus A, Kaiser-Kupper ML, Eldridge R. Neurofibromatosis 1 (recklinghausen disease) and neurofibromatosis 2 (bilateral acoustic neurofibromatoses). *Ann Intern Med* 1990;113:39-52.
- Murger A. Dermatological aspects of the phakomatosis. In: Vinken PJ, Bruyn GW. *Handbook of Clinical Neurology*. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972. p.562-72.
- Murray RO, Jacobson HG. *The radiology of skeletal disorders*. 2nd ed. Edinburg: Livingstone; 1977.
- Myllylä R, et al. Assay of collagen galactosyltransferase and collagen glucosyltransferase activities and preliminary characterization of enzymatic reactions with transferases from chick embryo cartilage *Eur J Biochem* 52:401, 1975.
- Neville BW, Hann J, Narang RL, Garen P. Oral neurofibrosarcoma associated with neurofibromatosis type 1. *Oral Surg Oral Med Pathol* 1991;72:456-61.
- Newson B, Dahlstrom A, Enerbäck L, Ahlman H. Suggestive evidence for a direct innervation of mucosal mast cells. An electron microscopy study. *Neuroscience* 1983;10:565.
- National Institutes of Health Consensus Development Conference. Neurofibromatosis. *Arch. Neurol* 1988;45:575-8.
- Niimura M. Neurofibromatoses: in dermatology progress and perspective. *The Proceedings of the 18th World Congress of Dermatology*. New York: the Parthenon Publishing Group Inc.; 1993. p.767-8.

- Nogami A, Hirol M, Marumo F. Regional sympathetic denervation in von Recklinghausen's disease with coronary spasm and myocarditis. *Intern J Cardiol* 1991;32:397-400.
- Nordlund M, et al. Neurofibromin is enriched in the endoplasmic reticulum of CNS neurons. *J Neurosci* 1993;13:1588-1600.
- Norman ME. Neurofibromatosis in a family. *Am J Dis Child* 1972;123:159-60.
- North K. Neurofibromatosis type 1: review of the first 200 patients in an Australian clinic. *J Child Neurol* 1993; 8:395-402.
- North NK, et al. Learning difficulties in neurofibromatosis type 1: the significance of MRI abnormalities. *Neurology* 1994;44:878-83.
- North NK, et al. Cognitive function and academic performance in children with neurofibromatosis type 1. *Dev Med Child Neurol* 1995;37:427-36.
- North NK, et al. Cognitive function and academic performance in neurofibromatosis 1: consensus statement from the NF1 cognitive disorders task force. *Neurology* 1997;48:1121-7.
- Obringer AC, Meadows AT, Zackai EH. The diagnosis of neurofibromatosis 1 in the child under the age of 6 years. *Am J Dis Child* 1989;143:717-9.
- O'Connell P, Leach RJ, Ledbetter DH, Cawthon RM, Culter M, Eldridge JR, et al. Fine structure DNA mapping studies of the chromosomal region harboring the genetic defect in neurofibromatosis type I [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.
- Odier, apud Canale DJ, Bebin J. Von Recklinghausen disease of the nervous system. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972. p.132-62.
- Oikarinen A. Effect of betamethasone-17 – valerate on synthesis of collagen and prolyl hydroxylase activity in chick embryo tendon cells. *Biochem Pharmacol* 1977;26:875.
- Oikarinen AI, Uitto J. Molecular mechanisms of glucocorticosteroid action on connective tissue metabolism. In: Uitto J, Perejda AJ, editores. *Diseases of Connective Tissue: The Molecular Pathology of the Extracellular Matrix*. In Series: Farber E, Pitot HC. *The Biochemistry of Disease. A Molecular Approach to Cell Pathology*. New York: Marcel Dekker; 1985.
- Parizel PAM, Martin JJ, van Vyve M, van den Hauwe L, Schepper AM. Cerebral ganglioglioma and neurofibromatosis type I. *Neuroradiology* 1991;33:357-9.

- Parry DM, Kaiser-Kupfer MI, Sherman JL, Pikus A, Elbridge R. Neurofibromatosis 2 (bilateral acoustic or central neurofibromatosis), a treatable cause of deafness. *Ann NY Acad Sci* 1991;630:305-7.
- Pastores GM, Michels VV, Jack CR. Early childhood diagnosis of acoustic neuromas in presymptomatic individuals at risk of neurofibromatosis 2. *Am J Med Genet* 1991;41:325-9.
- Pensak ML, Keith RW, Dignan PSJ, Stowens DW, Towbin RB, Katbamna B. Neuroaudiologic abnormalities in patients with type 1 neurofibromatosis laryngoscope. 1989;99:702-6.
- Pericak-Vance MA, Yamaoka LH, Vance JM, Small K, Resenwasser GOD, Gaskell PC, et al. Genetic linkage studies of chromosome 17 RFLPS in Von Recklinghausen neurofibromatosis (NF1). *Genomics* 1987;1:349-52.
- Perry HD, Font RL. Iris nodules in von Recklinghausen's neurofibromatosis. Electron microscopic confirmation of their melanocytic origin. *Arch Ophthalmol* 1982;100:1635-40.
- Pitt MJ, Mosher JF, Edeiken J. Periosteum and abnormal bone in neurofibromatosis. *Radiology* 1972;103:143.
- Pohl, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.
- Ponec M, et al. Effects of glucocorticosteroids on cultured human skin fibroblasts: Specific decrease in the synthesis of collagen but no effects on its hydroxylation. *Biochem Pharmacol* 1979;28:2777.
- Pontelo R, Neme LC. Psicodermatoses. *Rev Bras Med* 1996;53:1074-81.
- Poser, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.
- Preiser and Davenport, apud Canale DJ, Bebin J. Von Recklinghausen disease of the Nervous System, In: Vinken PJ, Bruyn GW, editores. *Handbook of clinical neurology*. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972:14. p.132-62.
- Pulst SM. Prenatal diagnosis of the neurofibromatosis. *Clin Perinatol* 1990;17:829-44.
- Purvin VA, Dunn DW. Ophthalmological manifestations of neurofibromatosis 1 and 2. In: Huson SM, Hughes RA, editores. *The neurofibromatosis. A pathogenetic and clinical overview*. New York: Chapman & Hall Medical; 1994. p.253-74.
- Putman CE, Ravin CE. *Textbook of diagnostic imaging*. Sanders 1994;2:255-6.

- Ragge NK. Clinical and genetic patterns of neurofibromatosis 1 and 2. *Br J Ophthalmol* 1993;77:662-72.
- Ragge NK, Baser ME, Klein J, Nechiporuk A, Sainz J, Pulst SM, Riccardi VM. Ocular abnormalities in neurofibromatosis 2. *Am J Ophthalmol* 1995; 120:634-41.
- Reed ML, Jacoby RA. Cutaneous neuroanatomy and neuropathology. Normal nerves, neural crest derivatives and benign neural neoplasms in the skin (review). *Am J Dermatopathol* 1983;5:335-62.
- Reed RJ. Cutaneous manifestations of neural crest disorders (neurocristopathies) (review). *Int J Dermatol* 1977;16:807-26.
- Reubi F. Les vaisseaux et les glands endocrines dans la neurofibromatose: le syndrome sympathicotonique dans la maladie de Recklinghausen. *Schweiz Z Pathol Bacteriol* 1944;7:168-239.
- Riccardi VM. Pathophysiology of neurofibromatosis. Dermatological insights into heterogeneity and pathogenesis. *J Am Acad Dermatol* 1980;3:157-66.
- Riccardi VM. Cutaneous manifestations of neurofibromatosis: cellular interaction, pigmentation, and mast cells. *Birth Defects* 1981a;17:129-45.
- Riccardi VM. Von Recklinghausen neurofibromatosis (review). *N Engl J Med* 1981b;305:1617-27.
- Riccardi VM. Von Recklinghausen neurofibromatosis. An overview and new directions in clinical investigation. *Adv Neurol* 1981c;29:1-9.
- Riccardi VM. Neurofibromatosis: clinical heterogeneity. *Curr Probl Cancer* 1982;8:1-34.
- Riccardi VM, Eichner JE, editores. *Neurofibromatosis*. Baltimore: Johns Hopkins University Press; 1986. p.169-83.
- Riccardi VM. Mast-cell stabilization to decrease neurofibroma growth. Preliminary experience with ketotifen. *Arch Dermatol* 1987;123:1011-6.
- Riccardi VM, Lewis R. A penetrance of von Recklinghausen neurofibromatosis: a distinction between predecessors and descendants. *Am J Hum Genet* 1988;42:284-9.
- Riccardi VM. Neurofibromatosis update. *Neurofibromatosis* 1989;2:284-91.
- Riccardi VM. Neurofibromatosis mimicry. *Arch Dermatol* 1991;127:1714-5.
- Riccardi VM. *Neurofibromatosis phenotype natural history and pathogenesis*. 2nd ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press; 1992. p.498.

Riccardi VM. Type 1 neurofibromatosis and the pediatric patient. *Curr Probl Pediatr* 1992;22:66-106.

Riley JF. Histamine in tinere mast cells. *J Physiol* 1952;177:72.

Ritter JL, Riccardi VM. Von Recklinghausen neurofibromatosis (NF-1): an argument for very high penetrance and a comparison of sporadic and inherited cases. *Ann J Hum Genet* 1985;37:A135.

Rodenhiser DJ, Coulter-Machie MB, Jung JH, Singh SM. A genetic study of neurofibromatosis 1 in South-Western Ontario. I population, familial segregation of phenotype, and molecular linkage. *Am J Med Genet* 1991;28:746-51.

Romero MF, Ortega M, Camacho F. Is chronic diffuse hepatopathy a manifestation of neurofibromatosis? *J Am Acad Dermatol* 1989;21:1026.

Rosman NP, Pearce J. The brain in multiple neurofibromatosis (von Recklinghausen's disease): a suggested neuropathological basis for the associated mental defects. *Brain* 1967;90:829-38.

Ross KL. The neurofibromatosis. *ENT J* 1992;71:512-8.

Rottem M, Kirshenbaum AS, Metcalfe DD. Early development of mast cells. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1991;94:104-9.

Rouleau GA, Merel P, Lutchman M, Sanson M, Zucman J, Marineau C, et al. Alteration a new gene encoding a putative membrane-organizing protein causes neuro-fibromatosis type 2. *Nature* 1993;363:515-21.

Rouleau GA, Wertelecki W, Haines JL, Hobbs WJ, Trofatter JA, Seizinger BR, et al. Genetic linkage of bilateral acoustic neurofibromatosis to a DNA marker on chromosome 22. *Nature* 1987;329:246-8.

Rouleau GA, Seizinger BR, Wertelecki W, Haines JL, Supermeau DW, Martuza RL, et al. Flanking markers bracket the neurofibromatosis type 2 (NF2) gene on chromosome 22. *Am J Hum Genet* 1990;46:323-8.

Rubenstein A, Wallerstein A, Aron A, Wallace S. Lack of correlation of megalencephaly with learning disability in disseminated neurofibromatosis. *Am J Hum Genet* 1985;37:74.

Rush JA, Young BR, Campbell RJ, et al. Optic glioma: long term follow up of 85 histopathologically verified cases. *J Ophthalmol* 1982;89:1213-9.

Russel DS, Rubenstein IJ. *Pathology of Tumors of the Nervous System*. Baltimore: Willians and Wilkins Co.; 1963.

- Ryynanen J, et al. Type VII collagen gene expression by cultured human cells and in fetal skin. Abundant mRNA and protein levels in epidermal keratinocytes. *J Clin Invest* 1992;89:163.
- Saddy EMY, Marchiori E, Obadia I, Azulay RD. Neurofibromatose (IV). *An Bras Dermatol* 1986;61:63-8.
- Salerno N, Edeiken J. Vertebral Scalloping in neurofibromatosis. *Radiology* 1970;97:509.
- Samuelsson B, Axelsson R. Neurofibromatosis. A clinical and genetic studie of 96 cases in Gothenburg, Sweden. *Acta Dematovener* 1981;95:67-71.
- Sanguinetti C, Greco F, De Palma L, Spechia N, Toesca A, Noris S. The ultrastructure of peripheral neurofibroma: the role of mast cells and their interaction with perineural cells. *Ital J Orthop Traumatol* 1992;18:207-16.
- Schenkein I, Buecker ED, Helson L, Axelrod F, Dancis J. Nerve growth factor in disseminated neurofibromatosis. *N Engl J Med* 1974;292:1134-6.
- Schievink WI, Piepgras DG. Cervical vertebral artery aneurysm and arteriovenous fistulae in neurofibromatosis. Type 1: case reports. *Neurosurgery*, v.29, n.5, 1991.
- Schmitt J. Visceral Aspects of the phakomatosis. In: Vinken PJ, Bruyn GW. *Handbook of Clinical Neurology*. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972. p.668-70; 672-91.
- Schmidt MA, Michels VV, Dewald GW. Cases of neurofibromatosis with rearrangements of chromosome 17 involving band 17q11.2. *Am J Med Genet* 1987;28:771-7.
- Schwann, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.
- Seizinger BR, Martuza RL, Gusella JF. Loss of genes on chromosome 22 in tumorigenesis of human acoustic neuroma. *Nature* 1986;322:664-7.
- Seizinger BR, Rouleau GA, Ozelius LY, et al. Common pathogenetic mechanisms for three tumor types in bilateral acoustic neurofibromatosis. *Science* 1987;236:317-9.
- Seizinger BR, Rouleau GA, Lane AH, Farmer G, Ozelius LJ, Haines JL, et al. Linkage analysis in von Recklinghausen neurofibromatosis (NF1) with DNA markers for chromosome 17. *Genomics* 1987a;1:589-94.
- Sengpiel GW, Ruzicka FF, Lodnnel EA. Lateral intra thoracic meningocele. *Radiology* 1968;50:515.

- Shannon KM, O'Connell P, Martin GA, et al. Loss of normal NF1 allele from the bone marrow of children with type 1 neurofibromatosis and malignant myeloid disorders. *N Engl J Med* 1994;330:597-601.
- Shonnard KM, Jelinek JS, Benedikt RA, Kransdorf, MJ, MRI OF. Neurofibromatosis of the bladder. *J Comput Assist Tomogr* 1992;16:433-8.
- Siraganian RP. Mast cells and basophils. In: Galli JJ, Goldstein IM. Snyderman Inflammation: basic principles and clinical correlates. New York: Raven Press; 1988. p.513-42.
- Silvalingam A, Augsburg J, Perilongo G, Zimmerman R, Barabas G. Combined hamartoma of the retina and retinal pigment epithelium in a patient with neurofibromatosis type 2. *J Pediatr Ophthalm Strab* 1991;28:320-2.
- Skolnick MH, Ponder BAJ, Seizinger B. Linkage of NF-1 to 12 chromosome 17 markers: a summary of eight concurrent reports. *Genomics* 1987;1:382-3.
- Slater C, Hayes M, Saxe N, et al. Macromelanosomes in the early diagnosis of neurofibromatosis. *Am J Dermatophol* 1986;8:284-9.
- Smith RW Jr. The dermal oleastoses. *Arch Dermatol* 1963;88:382-92.
- Smith RW. Tractile-like structures in neurofibromas. An ultrastructural study. *Acta Neuropathol* 1980;50:233-6.
- Stephens K, Riccardi VM, Rising M, Ng S, Green P, Collins FS, Rediker KS, et al. Linkage studies with chromosome 17 DNA markers in 45 neurofibromatosis 1 families. *Genomics* 1987;1:353-7.
- Stephens K, Green P, Riccardi VM, Ng S, Rising M, Barker D, Darby JK, et al. Genetic analysis of eight loci tightly linked to neurofibromatosis 1. *Am J Hum Genet* 1989;44:13-9.
- Sterling KM, et al. Dexamethasone decreases the amounts of type I procollagen mRNAs in vivo and in fibroblast cell cultures. *J Biol Chem* 1983;258:7644.
- Stevanovic D. Corticosteroid-induced atrophy of the skin with telangiectasia. *Br J Dermatol* 1972;87:548.
- Stine SB, Adams WV. Learning problems in neurofibromatosis patients. *Clin Orthop* 1989;245:43-8.
- Suzuki T, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis, *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.

Sweat F, Puchtler H, Rosenthal SI. Sirius Red F3BA as stain for connective tissue. *Arch Pathol* 1964;78:69.

Szabo G, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.

Taylor SE, Aspinwall LG. Psychosocial aspects of chronic illness. In: Costa P, Vanden Bos GR. Psychological aspects of serious illness chronic conditions, fatal diseases and clinical care. Washington: American Psychological Association; 1990. p.3-60.

Thapar A, et al. The genetics of mental retardation. *Br J Psych* 1994;164:747-58.

Thomas PK, King RHM, Chiang TR, Scaravilli F, Sharma AK, Downie AW. Neurofibromatous neuropathy. *Muscle & Nerve* 1990;13:93-101.

Thomsom, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.

Tidman MJ, Eady RAJ. Evaluation of anchoring fibrils and other components of the dermal-epidermal junction in dystrophic epidermolysis bullosa by a quantitative ultrastructural technique. *J Invest Dermatol* 1985;84:374.

Treves F. A case of congenital deformity. *Trans Pathol Soc Lond* 1885a;36:494-8.

Treves F. Congenital deformity in reports of societies: pathological society of London. *Br Med J* 1885b;i:595-6.

Treves F. *The Elephant man and other reminiscences*. London: Cassel; 1923.

Trofatter JA, Maccollinm MM, Rutter JL, et al. A novel moesin-, ezrin-, radixin-like gene is a candidate for the neurofibromatosis 2 tumor suppressor. *Cell* 1993;72:791-800.

Uitto J, Prockop DJ. Molecular defects in collagen and the definition of "collagen disease". In: Good RA et al. *Thomas Molecular Pathology*. Springfield, IL: Charles Co.; 1975. p.670.

Uitto J, et al. Inhibition of collagen accumulation in fibrotic processes: Review of pharmacologic agents and new approaches with amino acids and their analogues. *J Invest Dermatol* 1982;79 suppl 1:113s.

Uitto J, Perejda A. *Connective tissue disease. Molecular Pathology of the Extracellular Matrix*. New York: Marce Dekker; 1987. p.271-86.

Valerio NI, et al. Estudo psicológico de pacientes com neurofibromatose atendidos em serviço de aconselhamento genético. *Rev Bras Genet* 1993;16:85.

Valerio NI. Neurofibromatose: gravidade da doença do ponto de vista de observadores e estratégias de enfrentamento [Dissertação]. São José do Rio Preto: Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto; 1996.

Verhoeff FH. Some new staining methods of wide applicability; including a rapid differential stain for elastic tissue. *JAMA* 1908;50:876.

Verocay J. Zur kenntnis der neurofibrome. *Beitr Pathol Anat Allg Pathol* 1910;48:1-69.

Verocay J, apud Canale DJ, Bebin J. Von Recklinghausen disease of the nervous system. In: Vinken PJ, Bruyn GW. *Handbook of clinical neurology*. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972:14. p.132-62.

Virchow R, apud Canale DJ, Bebin J. Von Recklinghausen disease of the nervous system. In: Vinken PJ, Bruyn GW. *Handbook of clinical neurology*. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972:14. p.132-62.

Viskochil D, Buchberg AM, Xu G, et al. Deletion and a translocation interrupt a cloned gene at the neurofibromatosis type 1 locus. *Cells* 1990;62:187-92.

von Michel, apud Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.

von Recklinghausen F, apud Canale DJ, Bebin J. Von Recklinghausen disease of the nervous system. In: Vinken PJ, Bruyn GW. *Handbook of clinical neurology*. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972:14. p.132-62.

Wallace MR, Marchuk DA, Andersen LB, et al. Type-1 neurofibromatosis gene: identification of a large transcript disrupted in three NF1 patients. *Science* 1990;249:181-6.

Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg* 1977;14:1-81.

Weedner N, Austin KF. Evidence for morphologic diversity of human mast cells: an ultrastructural study of mast cells from multiple body sites. *Lab Invest* 1990;63:63-72.

Weischelbaum, apud Bricaire H, Fardeau M, Mazet PR. Endocrine disorders associated with the phakomatosis. In: Vinken PJ, Bruyn GW. *Handbook of clinical neurology*. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972:14. p.731-44.

Wewer VM, Alberchtsen R, Rao CN, Liota LA. The extracellular matrix in malignancy. *Reumatol Am Rev* 1986;10:451-78.

Wiestler OD, Radner H. Pathology of neurofibromatosis 1 and 2. In: Huson SM, Hughes RA, editores. *The neurofibromatosis. A pathogenetic and clinical overview*. New York: Chapman & Hall; 1994. p.135-59.

Wilson WB. Optic nerve gliomas: treatment differences for the benign and malignant varieties. In: Tusa RJ, Newman SA, editores. Neuroophthalmological disorders: work-up and management. New York: Marcel Dekker; 1995. p.163-72.

Winkelman RK, Johnson LA. Cholinesterases in neurofibromas. Arch Dermatol 1962;85:106-14.

White R, Viskochil D, O'Connell P. Identification and characterization of the gene for neurofibromatosis type 1. Curr Opin Neurobiol 1991;1:462-7.

Wolf RK, Frazer KA, Jacker RK, Lanser MJ, Pitts LH, Cox DR. Analysis of chromosome 22 deletions in neurofibromatosis type 2-related tumors. Am J Hum Genet 1992;51:478-85.

Yaoita H, Foidart JM, Katz SI. Localization of the collagenous component in the skin basement membrane. J Invest Dermatol 1978;70:191-3.

Yesudian P, Premalatha S, Thambiah AS. Palmar melanocyt macules. A sign of neurofibromatosis. Int J Dermatol 1984;23:468-71.

Zanella FE, Benz-Bohm G, Steinbrich W. Neurofibromatosis of the central nervous system in children: demonstration by magnetic resonance imaging. Ann Radiol 1987;30:446-51.

Zehavi C, Romano A, Goodman RM. Iris (Lisch) nodules in neurofibromatosis. Clin Genet 1986;29:51-5.

- Kimura M, Tohya K, Toda S. Na electron microscopical observation of the endoneurial mast cells of the laboratory musk shrew: *Suncus murinus*. *Anat Anz Jena* 1988;165:143-50.
- Kitamura Y, Matsuda H, Hatanaka K. Clonal nature of mast cell clusters formed in W/W^v mice after bone marrow transplantation. *Nature* 1979;281:154-5.
- Kirkpatrick CJ, Curry A. Interaction between mast cells and perineural fibroblast in neurofibroma. New insights into mast cell function. *Pathol Res Pract* 1988;183:453-61.
- Kirshenbaum AS, Kessler SW, Goff JP, et al. Demonstration of the origin of human mast cells from CD34+ bone marrow progenitor cells. *J Immunol* 1991;146:1410-5.
- Kirshenbaum AS, Goff JP, Kessler SN et al. Effect of IL-3 and stem cell factor on the appearance of human basophils and mast cells from CD34+ pluripotent progenitor cells. *J Immunol* 1992;148:772-7.
- Kivirikko KI. Urinary excretion of hydroxyproline in health and disease. *Int Rev Connect Tissue Res* 1970;5:93.
- Klatte EC, Franken EA, Smith JA. Radiographic spectrum in neurofibromatosis. *Semin Roentgenol* 1976;11: 17-33.
- Korf BR. The genetic basis of neurofibromatosis. *Neurol Forum* 1990;II:2-7.
- Krikun ME. Imaging modalities in spinal disorders. Philadelphia: WB Saunders Company; 1988. p.691.
- Lassmann H, Jurecka W, Gebhart W. Some electron microscopic and autoradiographic results concerning cutaneous neurofibromas in von Recklinhausen's disease. *Arch. Dermatol Res* 1976;255:69-81.
- Lázaro C, et al. Neurofibromatosis type 1 due to germline mosaicism in a clinically normal father. *N Engl J Med* 1994;331:1403-7.
- Legius E, et al. Neurofibromatosis type 1 in childhood: correlation of MRI findings with intelligence. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995;59:638-40.
- Leigh IM, Eady RAJ, Heagerty AHM. Type VII collagen is a normal component of epidermal basement membrane. *J Invest Dermatol* 1988;90:639-42.
- Lever WF, Schaumburg-Lever. *Histopatologia da Pele*. 7^a ed. S.Paulo: Manole; 1991.
- Lewis RA, Riccardi VM. Von Recklinghausen neurofibromatosis. Incidence of iris hamartomata. *Ophthalmology* 1981; 88:348-54.

- Lewis RA, Gerson LP, Axelson KA, Riccardi VM, Whitford RP. Von Recklinghausen neurofibromatosis. II Incidence of optic gliomata. *Ophthalmology* 1984;91:929-35.
- Listernick R, et al. Optic pathway glioma in children: the effect of neurofibromatosis 1 on clinical manifestations and natural history. *J. Pediatr.*, v.127, p.718-722, 1995.
- Listernick R, et al. Optic pathway glioma in children with neurofibromatosis 1: consensus statement from the Optic Pathway Glioma Task Force. *Ann Neurol* 1997;41:143-9.
- Lubs MLE, Bauer M.J, Formas ME, Djokic B. Lisch Nodules in neurofibromatosis type 1. *N Engl J Med* 1991;324:1264-6.
- Lund AM, Skovby F. Optic gliomas in children with neurofibromatosis type 1. *Eur J Pediatr* 1991;150:835-8.
- Machado. Avaliação clínica, cromossômica e molecular e pacientes portadores de neurofibromatose [dissertação]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista – campus de Botucatu; 1998.
- Madigan P, Shaw RV. Neurofibromatosis. In: 13th Century Austria Neurofibromatosis 1988;1:339-41.
- Madigan P, Masello M.J. Report of neurofibromatosis - like case: Monstrorum Historia, 1642. *Neurofibromatosis* 1988;2:53-6.
- Marchand, apud BRICAIRE H, FARDEAU M & MAZET PR - Endocrine Disorders Associated With the Phakomatosis. In: *Handbook of Clinical Neurology* Amsterdam, Holland Publishing Company, v.14, cap. 24, p. 731-744, 1972.
- Marie & Barnard, apud MURGER A - Dermatological Aspects of the Phakomatosis. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Amsterdam, Holland Publishing Company, cap.21, p.562-572, 1975.
- Martuza RL, Eldridge R. Neurofibromatosis 2 (bilateral acoustic neurofibromatosis). *N Engl J Med* 1988;318:684-8.
- Martuza RL, Ojamann RG. Bilateral acoustic neuromas: clinical aspects, pathogenesis and treatment. *Neurosurgery* 1982;10:1-12.
- Mattucci KF, Glass WM, Setzen M, Levin W. Childhood acoustic neuroma. *NY S J Sem* 1987;87:665-6.
- Maynard J, Krawczak M, Upadhyaya M. Characterization and significance of nine novel mutations in exon 16 of the neurofibromatosis type 1 (NF1) gene. *Hum Genet* 1997;99:674-6.

- McKusik VA. Mendelian Inheritance in man. 10th ed. Baltimore: Johns Hopkins Univ. Press; 1992. p.1741.
- Meigel WN, Gay S, Weber L. Dermal architecture and collagen type distribution. Arch Dermatol Res 1977;259:1-10.
- Meinicke P. Evidence that the "neurofibromatosis noonan syndrome" is a variant of von Recklinghausen neurofibromatosis. Am J Med Genet 1987;26:741-5.
- Mendez HMM. The neurofibromatosis-noonan syndrome. Am J Med Genet 1985;21:471-6.
- Merz WA. Die Streckenmessung an gerichtetem Strukturm in Mikroskop und ihre Anwendung zur Bestimmung von Oberflächen- Volumen- Relationen in Knochengewebe. Mikroskopie 1968;6:132-46.
- Metcalf DD, Kaliner M, Donlon MA. The mast cell. CRC Crit Rev Immunol 1981;2:23.
- Metcalf DD, Sotis NA, Wasserman ST. Identification of sulfated mucopolysaccharides including heparin in the lesional skin of a patient with mastocytosis. J Invest Dermatol 1980;74:210-5.
- Mihara M, Nakayama H, Aki T, et al. Cutaneous nerves in café au lait spots with white halos in infants with neurofibromatosis. Arch Dermatol 1992;128:957-61.
- Mikhail GR, Miller-Milinska A. Mast cell population in human skin. J Invest Dermatol 1964;43:249-54.
- Miyazaki MCOS. Enfoque psicossocial da doença crônica: um estudo sobre pacientes pediátricos portadores de asma e suas mães [dissertação]. Campinas: PUCCAMP; 1993.
- Montgomery H. Neurofibromatosis in dermatopathology. Vol.2. New York: Harper and Row; 1967. p.1072-6.
- Moore BH. Some orthopaedic relationships of neurofibromatosis. J Bone Joint Surg 1941;23A:109.
- Mosso ML, Castell M, Bellani FF, Ditullio MT, Loiacomo F, Paolucci G, et al. Neurofibromatosis and malignant childhood cancer: a survey in Italy, 1970-83. Tumori 1987;73:209-12.
- Mulvihill JJ, Parry DM, Sherman JL, Pikus A, Kaiser-Kupper ML, Eldridge R. Neurofibromatosis 1 (recklinghausen disease) and Neurofibromatosis 2 (bilateral acoustic neurofibromatoses). Ann Intern Med 1990;113:39-52.

Murger A. Dermatological Aspects of the Phakomatosis. In: Handbook of Clinical Neurology. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972. p.562-72.

Murray RO, Jacobson HG. The Radiology of Skeletal Disorders. 2nd ed. Edinburg: Livingstone; 1977.

Myllylä R, et al. Assay of collagen galactosyltransferase and collagen glucosyltransferase activities and preliminary characterization of enzymatic reactions with transferases from chick embryo cartilage Eur J Biochem 52:401, 1975.

Neville BW, Hann J, Narang RL, Garen P. Oral neurofibrosarcoma associated with neurofibromatosis type 1. Oral Surg Oral Med Pathol 1991;72:456-61.

Newson B, Dahlstrom A, Enerbäck L, Ahlman H. Suggestive evidence for a direct innervation of mucosal mast cells. An electron microscopy study. Neuroscience 1983;10:565.

National Institutes of Health Consensus Development Conference. Neurofibromatosis. Arch. Neurol 1988;45:575-8.

Niimura M. Neurofibromatoses: in Dermatology Progress and Perspective. The proceedings of the 18th World Congress of Dermatology. New York: the Parthenon Publishing Group Inc.; 1993. p.767-8.

Nordlund M, et al. Neurofibromin is enriched in the endoplasmic reticulum of CNS neurons. J Neurosci 1993;13:1588-1600.

North K. Neurofibromatosis type 1: review of the first 200 patients in an Australian clinic. J Child Neurol 1993; 8(4):395-402.

North NK, et al. Learning difficulties in neurofibromatosis type 1: the significance of MRI abnormalities. Neurology 1994;44:878-83.

North NK, et al. Cognitive function and academic performance in children with neurofibromatosis type 1. Dev Med Child Neurol 1995;37:427-36.

North NK, et al. Cognitive function and academic performance in neurofibromatosis 1: consensus statement from the NF1 cognitive disorders task force. Neurology 1997;48:1121-7.

Obringer AC, Meadows AT, Zackai EH. The diagnosis of neurofibromatosis 1 in the child under the age of 6 years. Am J Dis Child 1989;143:717-9.

O'Connell P, Leach RJ, Ledbetter DH, Cawthon RM, Culter M, Eldridge JR, et al. Fine structure DNA mapping studies of the chromosomal region harboring the genetic defect in

neurofibromatosis type I [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

ODIER, apud Canale DJ, Bebin J. Von Recklinghausen disease of the nervous system. In: Handbook of Clinical Neurology. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972. p.132-62.

Oikarinem A. Effect of betamethasone-17 – valerate on synthesis of collagen and prolyl hydroxylase activity in chick embryo tendon cells. *Biochem Pharmacol* 1977;26:875.

Oikarinen AI, Uitto J. Molecular mechanisms of glucocorticosteroid action on connective tissue metabolism. In: Uitto J, Perejda AJ, editores. Diseases of Connective Tissue: The Molecular Pathology of the Extracellular Matrix. In Series: Farber E, Pitot HC. The Biochemistry of Disease. A Molecular Approach to Cell Pathology. New York: Marcel Dekker; 1985.

Parcker RJ, Bilaniuk LT, Cohen BH, et al. Intracranial visual pathway gliomas in children with neurofibromatosis. *Neurofibromatosis* 1988;1:212-22.

Pardini S, Bosincu L, Bonfigli S, Dore F, Longinotti M. Anaphylactic-like syndrome in systemic mastocytosis treated with alpha-2-interferon. *Acta Haematol* 1991; 85(4):220.

Parizel PAM, Martin JJ, van Vyve M, van den Hauwe L, Schepper AM. Cerebral ganglioglioma and neurofibromatosis type I. *Neuroradiology* 1991;33:357-9.

Parry DM, Kaiser-Kupfer MI, Sherman JL, Pikus A, Elbridge R. Neurofibromatosis 2 (bilateral acoustic or central neurofibromatosis), a treatable cause of deafness. *Ann NY Acad Sci* 1991;630:305-7.

Pastores GM, Michels VV, Jack CR. Early childhood diagnosis of acoustic neuromas in presymptomatic individuals at risk of neurofibromatosis 2. *Am J Med Genet* 1991;41:325-9.

Pensak ML, Keith RW, Dignan PSJ, Stowens DW, Towbin RB, Katbamna B. Neuroaudiologic abnormalities in patients with type 1 neurofibromatosis laryngoscopy. 1989;99:702-6.

Pericak-Vance MA, Yamaoka LH, Vance JM, Small K, Resenwasser GOD, Gaskell PC, et al. Genetic linkage studies of chromosome 17 RFLPS in Von Recklinghausen neurofibromatosis (NF1). *Genomics* 1987;1:349-52.

Perry HD, Font RL. Iris nodules in von Recklinghausen's neurofibromatosis. Electron microscopic confirmation of their melanocytic origin. *Arch Ophthalmol* 1982;100:1635-40.

- Pitt MJ, Mosher JF, Edeiken J. Periosteum and abnormal bone in neurofibromatosis. *Radiology* 1972;103:143.
- POHL, apud WANDER JV & DAS GUPTA TK - Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg*, 14(2): 1977.
- Ponec M, et al. Effects of glucocorticosteroids on cultured human skin fibroblasts: Specific decrease in the synthesis of collagen but no effects on its hydroxylation. *Biochem Pharmacol* 1979;28:2777.
- Pontelo R, Neme LC. Psicodermatoses. *Rev Bras Med* 1996;53:1074-81.
- POSER, apud WANDER JV & DAS GUPTA TK - Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg*, 14(2), 1977.
- PREISER & DAVENPORT, apud CANALE DJ & BEBIN J - Von Recklinghausen disease of the Nervous System, In: *Hadbook of Clinical Neurology*, Amsterdam, Holland Publishing Company, v.14, cap.4, p.132-162, 1972.
- Pulst SM. Prenatal diagnosis of the neurofibromatosis. *Clin Perinatol* 1990;17:829-44.
- Purvin VA, Dunn DW. Ophthalmological manifestations of neurofibromatosis 1 and 2. In: Huson SM, Hughes RA, editores. *The neurofibromatosis. A pathogenetic and clinical overview*. New York: Chapman & Hall Medical; 1994. p.253-74.
- Putman CE, Ravin CE. *Textbook of diagnostic imaging*. Sanders 1994;2:255-6.
- Ragge NK. Clinical and genetic patterns of neurofibromatosis 1 and 2. *Br J Ophthalmol* 1993;77:662-72.
- Ragge NK, Baser ME, Klein J, Nechiporuk A, Sainz J, Pulst SM, Riccardi VM. Ocular abnormalities in neurofibromatosis 2. *Am J Ophthalmol* 1995; 120(5):634-41.
- Reed ML, Jacoby RA. Cutaneous neuroanatomy and neuropathology. Normal nerves, neural crest derivatives and benign neural neoplasms in the skin (review). *Am J Dermatopathol* 1983;5:335-62.
- Reed RJ. Cutaneous manifestations of neural crest disorders (neurocristopathies) (review). *Int J Dermatol* 1977;16:807-26.
- REUBI F, apud SCHURCH W, MESSERLI FH, GENEST J, LEFEBVRE R, ROY P, CARTIER P & ROJO - ORTEGA JM - Arterial hypertension and neurofibromatosis: renal artery stenosis and coarctation of abdominal aorta. *Can Med Assoc. J*, 113(9): 879-885, 1975.

- Riccardi VM. Pathophysiology of neurofibromatosis. Dermatological insights into heterogeneity and pathogenesis. *J Am Acad Dermatol* 1980;3:157-66.
- Riccardi VM. Cutaneous manifestations of neurofibromatosis: cellular interaction, pigmentation, and mast cells. *Birth Defects* 1981a;17:129-45.
- Riccardi VM. Von Recklinghausen neurofibromatoses (review). *N Engl J Med* 1981b;305:1617-27.
- Riccardi VM. Neurofibromatosis: clinical heterogeneity. *Curr Probl Cancer* 1982;8:1-34.
- Riccardi VM, Eichner JE, editores. Neurofibromatosis. Baltimore: Johns Hopkins University Press; 1986. p.169-83.
- Riccardi VM. Mast-cell stabilization to decrease neurofibroma growth. Preliminary experience with ketotifen. *Arch Dermatol* 1987;123:1011-6.
- Riccardi VM, Lewis R. A penetrance of von Recklinghausen neurofibromatosis: a distinction between predecessors and descendants. *Am J Hum Genet* 1988;42:284-9.
- Riccardi VM. Neurofibromatosis update. *Neurofibromatosis* 1989;2:284-91.
- Riccardi VM. Neurofibromatosis mimicry. *Arch Dermatol* 1991;127:1714-5.
- Riccardi VM. Neurofibromatosis phenotype natural history and pathogenesis. 2nd ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press; 1992. p.498.
- Riccardi VM. Type 1 neurofibromatosis and the pediatric patient. *Curr Probl Pediatr* 1992;22:66-106.
- Riley JF. Histamine in tinere mast cells. *J Physiol* 1952;177:72p.
- Ritter JL, Riccardi VM. Von Recklinghausen neurofibromatosis (NF-1): an argument for very high penetrance and a comparison of sporadic and inherited cases. *Ann J Hum Genet* 1985;37:A135.
- Rodenhiser DJ, Coulter-Machie MB, Jung JH, Singh SM. A genetic study of neurofibromatosis 1 in South-Western Ontario. I population, familial segregation of phenotype, and molecular linkage. *Am J Med Genet* 1991;28:746-51.
- Rosman NP, Pearce J. The brain in multiple neurofibromatosis (von Recklinghausen's disease): a suggested neuropathological basis for the associated mental defects. *Brain* 1967;90:829-38.
- Ross KL. The neurofibromatosis. *ENT J* 1992;71:512-8.

- Rottem M, Kirshenbaum AS, Metcalfe DD. Early development of mast cells. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1991;94:104-9.
- Rouleau GA, Merel P, Lutchman M, Sanson M, Zucman J, Marineau C, et al. Alteration a new gene encoding a putative membrane-organizing protein causes neuro-fibromatosis type 2. *Nature* 1993;363:515-21.
- Rouleau GA, Wertelecki W, Haines JL, Hobbs WJ, Trofatter JA, Seizinger BR, et al. Genetic linkage of bilateral acoustic neurofibromatosis to a DNA marker on chromosome 22. *Nature* 1987;329:246-8.
- Rouleau GA, Seizinger BR, Wertelecki W, Haines JL, Supermeau DW, Martuza RL, et al. Flanking markers bracket the neurofibromatosis type 2 (NF2) gene on chromosome 22. *Am J Hum Genet* 1990;46:323-8.
- Rubenstein A, et al. Neurological complications in 250 cases of neurofibromatosis. *Ann Neurol* 1984;16:133.
- Rubenstein A, Wallerstein A, Aron A, Wallace S. Lack of correlation of megalencephaly with learning disability in disseminated neurofibromatosis. *Am J Hum Genet* 1985;37:74.
- Rush JA, Young BR, Campbell RJ, et al. Optic glioma: long term follow up of 85 histopathologically verified cases. *J Ophthalmol* 1982;89:1213-9.
- Russel DS, Rubenstein IJ. *Pathology of Tumors of the Nervous System*. Baltimore: Willians and Wilkins Co.; 1963.
- Ryynanen J, et al. Type VII collagen gene expression by cultured human cells and in fetal skin. Abundant mRNA and protein levels in epidermal keratinocytes. *J Clin Invest* 1992;89:163.
- Saddy EMY, Marchiori E, Obadia I, Azulay RD. Neurofibromatose (IV). *An Bras Dermatol* 1986;61:63-8.
- Salerno N, Edeiken J. Vertebral Scalloping in neurofibromatosis. *Radiology* 1970;97:509.
- Samuelsson B, Axelsson R. Neurofibromatosis. A clinical and genetic studie of 96 cases in Gothenburg, Sweden. *Acta Dematovener* 1981;95:67-71.
- Sanguinetti C, Greco F, De Palma L, Spechia N, Toesca A, Noris S. The ultrastructure of peripheral neurofibroma: the role of mast cells and their interaction with perineural cells. *Ital J Orthop Traumatol* 1992;18:207-16.
- SCHENKEIN, apud WANDER JV & DAS GUPTA TK - Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg*. 14(2): 1977.

Schmitt J. Visceral Aspects of the Phakomatosis. In: Handbook of Clinical Neurology. Amsterdam: Holland Publishing Company; 1972. p.668-70; 672-91.

Schmidt MA, Michels VV, Dewald GW. Cases of neurofibromatosis with rearrangements of chromosome 17 involving band 17q11.2. Am J Med Genet 1987;28:771-7.

Schurch W, Messerli FH, Genest J, Lefebvre R, Roy P, Cartier P, et al. Arterial hypertension and neurofibromatosis: renal artery stenosis and coarctation of abdominal aorta. Can Med Assoc J 1975;113:879-85.

SCHWANN, apud WANDER JV & DAS GUPTA TK - Neurofibromatosis. Curr Probl Surg, 14(2): 1977.

Seizinger BR, Martuza RL, Gusella JF. Loss of genes on chromosome 22 in tumorigenesis of human acoustic neuroma. Nature 1986;322:664-7.

Seizinger BR, Rouleau GA, Ozelius LY, et al. Common pathogenetic mechanisms for three tumor types in bilateral acoustic neurofibromatosis. Science 1987;236:317-9.

Seizinger BR, Rouleau GA, Lane AH, Farmer G, Ozelius LJ, Haines JL, et al. Linkage analysis in von Recklinghausen neurofibromatosis (NF1) with DNA markers for chromosome 17. Genomics 1987a;1:589-94.

Sengpiel GW, Ruzicka FF, Lodnnel EA. Lateral intra thoracic meningocele. Radiology 1968;50:515.

Shannon KM, O'Connell P, Martin GA, et al. Loss of normal NF1 allele from the bone marrow of children with type 1 neurofibromatosis and malignant myeloid disorders. N Engl J Med 1994;330:597-601.

Shonnard KM, Jelinek JS, Benedikt RA, Kransdorf, MJ, MRI OF. Neurofibromatosis of the bladder. J Comput Assist Tomogr 1992;16:433-8.

Siraganian RP. Mast cells and basophils. In: Galli JI, Goldstein IM. Snyderman Inflammation: basic principles and clinical correlates. New York: Raven Press; 1988. p.513-42.

Silvalingam A, Augsburg J, Perilongo G, Zimmerman R, Barabas G. Combined hamartoma of the retina and retinal pigment epithelium in a patient with neurofibromatosis type 2. J Pediatr Ophthalm Strab 1991;28:320-2.

Skolnick MH, Ponder BAJ, Seizinger B. Linkage of NF-1 to 12 chromossome 17 markers: a summary of eight concurrent reports. Genomics 1987;1:382-3.

Slater C, Hayes M, Saxe N, et al. Macromelanosomes in the early diagnosis of neurofibromatosis. *Am J Dermatopathol* 1986;8:284-9.

Smith RW Jr. The dermal elastoses. *Arch Dermatol* 1963;88:382-92.

SMITH RW, apud CANALE DJ & BEBIN J - Von Recklinghausen disease of the nervous system. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Amsterdam, Holland Publishing Company, v.14, cap.4, p.132-162, 1972.

Sorensen AS, Mulvihill JL, Nielsen A. Long-term follow-up of von Recklinghausen neurofibromatosis. Survival and malignant neoplasms. *N Engl J Med* 1986;314:1010-5.

Stephens K, Riccardi VM, Rising M, Ng S, Green P, Collins FS, Rediker KS, et al. Linkage studies with chromosome 17 DNA markers in 45 neurofibromatosis 1 families. *Genomics* 1987;1:353-7.

Stephens K, Green P, Riccardi VM, Ng S, Rising M, Barker D, Darby JK, et al. Genetic analysis of eight loci tightly linked to neurofibromatosis 1. *Am J Hum Genet* 1989;44:13-9.

Sterling KM, et al. Dexamethasone decreases the amounts of type I procollagen mRNAs in vivo and in fibroblast cell cultures. *J Biol Chem* 1983;258:7644.

Stevanovic D. Corticosteroid-induced atrophy of the skin with telangiectasia. *Br J Dermatol* 1972;87:548.

Stine SB, Adams WV. Learning problems in neurofibromatosis patients. *Clin Orthop* 1989; 245:43-8.

SUZUKI, apud WANDER JV & DAS GUPTA TK - Neurofibromatosis, *Curr Probl. Surg*, 14(2): 1977.

Sweat F, Puchtler H, Rosenthal SI. Sirius Red F3BA as stain for connective tissue. *Arch Pathol* 1964;78:69.

SZABO G, apud WANDER JV & DAS GUPTA TK - Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg*, 14(2): 1977.

Taylor SE, Aspinwall LG. Psychosocial aspects of chronic illness. In: Costa P, Vanden Bos GR. *Psychological aspects of serious illness chronic conditions, fatal diseases and clinical care*. Washington: American Psychological Association; 1990. p.3-60.

Thapar A, et al. The genetics of mental retardation. *Br J Psych* 1994;164:747-58.

Thomas PK, King RHM, Chiang TR, Scaravilli F, Sharma AK, Downie AW. Neurofibromatous neuropathy. *Muscle & Nerve* 1990;13:93-101.

THOMSOM, apud WANDER & DAS GUPTA TK - Neurofibromatosis. *Curr Probl. Surg* 14(2): 1977.

Tidman MJ, Eady RAJ. Evaluation of anchoring fibrils and other components of the dermal-epidermal junction in dystrophic epidermolysis bullosa by a quantitative ultrastructural technique. *J Invest Dermatol* 1985;84:374.

Trofatter JA, Maccollinm MM, Rutter JL, et al. A novel moesin-, ezrin-, radixin-like gene is a candidate for the neurofibromatosis 2 tumor suppressor. *Cell* 1993;72:791-800.

Uitto J, Prockop DJ. Molecular defects in collagen and the definition of "collagen disease". In: Good RA et al. *Thomas Molecular Pathology*. Springfield, IL: Charles Co.; 1975. p.670.

Uitto J, et al. Inhibition of collagen accumulation in fibrotic processes: Review of pharmacologic agents and new approaches with amino acids and their analogues. *J Invest Dermatol* 1982;79 suppl 1:113s.

Uitto J, Perejda A. Connective tissue disease. *Molecular Pathology of the Extracellular Matrix*. New York: Marce Dekker; 1987.

VALERIO NI, et al. Estudo psicológico de pacientes com neurofibromatose atendidos em serviço de aconselhamento genético. *Rev Bras Genet* 1993;16:85.

VALERIO NI. Neurofibromatose: gravidade da doença do ponto de vista de observadores e estratégias de enfrentamento. *Dissertação*, 1996.

Verocay J. Zur kenntnis der neurofibrome. *Beitr Pathol Anat Allg Pathol* 1910;48:1-69.

VEROCAY, apud CANALE DJ & BEBIN J - Von Recklinghausen disease of the nervous system. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Amsterdam, Holland Publishing Company, v.14, cap.4, p.132-162, 1972.

VIRCHOW, apud CANALE DJ & BEBIN J - Von Recklinghausen disease of the nervous system. IN: *handbook of Clinical Neurology* Amsterdam, Holland Publishing Company, v.14, cap4, p.132-162, 1972.

Viskochil D, Buchberg AM, Xu G, et al. Deletion and a translocation interrupt a cloned gene at the neurofibromatosis type 1 locus. *Cells* 1990;62:187-92.

VON MICHEL, apud WANDER JV & DAS GUPTA TK - Neurofibromatosis. *Curr Probl Surg*. 14(2), 1977.

VON RECKLINGHAUSEN, apud CANALE DJ & BEBIN J - Von Recklinghausen disease of the nervous system. In: Handbook of Clinical Neurology, Amsterdam, Holland Publishing Company, v.14, cap.4, p.132-162, 1972.

Wallace MR, Marchuk DA, Andersen LB, et al. Type-1 neurofibromatosis gene: identification of a large transcript disrupted in three NF1 patients. Science 1990;249:181-6.

Wander JV, Das Gupta TK. Neurofibromatosis. Curr Probl Surg 1977;14(2).

Weedner N, Austin KF. Evidence for morphologic diversity of human mast cells: an ultrastructural study of mast cells from multiple body sites. Lab Invest 1990;63:63-72.

WEISCHSELBAUM, apud BRICAIRE H, FARDEAU M & MAZET PR - Endocrine disorders associated with the phakomatosis. In: Handbook of Clinical Neurology. Amsterdam, Holland Publishing Company, v.14, cap, 24, p. 731-744, 1972.

Wewer VM, Alberchtsen R, Rao CN, Liota LA. The extracellular matrix in malignancy. Reumatol Am Rev 1986;10:451-78.

WICHERT et al, 1973, pág. 108

Wiestler OD, Radner H. Pathology of neurofibromatosis 1 and 2. In: Huson SM, Hughes RA, editores. The neurofibromatosis. A pathogenetic and clinical overview. New York: Chapman & Hall; 1994. p.135-59.

Wiestler OD, Von Siebenthal K, Schmitt HP, Feiden W, Kleihues P. Distribution and immunoreactivity of cerebral microhamartomas in bilateral acoustic neurofibromatosis (neurofibromatosis 2). Acta Neuropathol 1989, 79(2):137-43.

Wilson WB. Optic nerve gliomas: treatment differences for the benign and malignant varieties. In: Tusa RJ, Newman SA, editores. Neuroophthalmological disorders: work-up and management. New York: Marcel Dekker; 1995. p.163-72.

Winkelmann RK, Johnson LA. Cholinesterases in neurofibromas. Arch Dermatol 1962;85:106-14.

White R, Viskochil D, O'Connell P. Identification and characterization of the gene for neurofibromatosis type 1. Curr Opin Neurobiol 1991;1:462-7.

Wolf RK, Frazer KA, Jacker RK, Lanser MJ, Pitts LH, Cox DR. Analysis of chromosome 22 deletions in neurofibromatosis type 2-related tumors. Am J Hum Genet 1992;51:478-85.

Yaoita H, Foidart JM, Katz SI. Localization of the collagenous component in the skin basement membrane. J Invest Dermatol 1978;70:191-3.

Yesudian P, Premalatha S, Thambiah AS. Palmar melanocit macules. A sign of neurofibromatosis. *Int J Dermatol* 1984;23:468-71.

Zanella FE, Benz-Bohm G, Steinbrich W. Neurofibromatosis of the central nervous system in children: demonstration by magnetic resonance imaging. *Ann Radiol* 1987;30:446-51.

Zehavi C, Romano A, Goodman RM. Iris (Lisch) nodules in neurofibromatosis. *Clin Genet* 1986;29:51-5.

ANEXOS

ANEXO 1

A HISTÓRIA DO "HOMEM ELEFANTE"

Conforme relatado anteriormente, o interesse pela neurofibromatose teve um despertar em 1884, o que pode ser atribuído ao relato de Sir Frederick Treves, cirurgião inglês, sobre seu paciente Joseph Carey Merrick, então com 22 anos, que desde sua infância era cruelmente explorado por seu irmão que o apresentava ao público, em um circo, com o nome de "o homem elefante", (HOWARD e FORD, 1980). Merrick apresentava deformidades cutâneas e ósseas, como aumento do tecido subcutâneo, crescimento de múltiplas papilomatoses, extensas exostoses ósseas e hipertrofia dos membros. Tinha uma doença do quadril que foi atribuída à tuberculose mas, provavelmente, tratava-se de lesões ósseas císticas; como também uma sintomatologia do tipo bronquite desenvolvida pelo paciente que poderia ter sido doença cística pulmonar. Analisando a descrição de Sir F. Treves, concluiu-se que Merrick, talvez o mais famoso portador de uma doença neurológica da época, tinha extensas lesões tipo neuromas plexiformes, fibromas cutâneos pedunculados, hiperostose, acentuada cifoescoliose e elefantíase dos membros, o que foi descrito em um artigo dermatológico da época como uma forma atípica de neurofibromatose. Devido às essas deformidades que o paciente foi cognominado "O Homem Elefante", cuja história foi comovidamente documentada (Treves F: *The Elephant Man and Other Reminiscences*, London, Cassell and Col, 1923). O mais trágico de todos os aspectos do caso foi, sem dúvida, a grande inteligência de Merrick e consciência total de sua enfermidade. Era obrigado a dormir sentado por causa do peso de sua cabeça, mas tinha um grande desejo de dormir como as outras pessoas porém, quando tentava, experimentava um comprometimento respiratório insuportável. Em abril de 1880 Merrick internado no London Hospital, foi encontrado morto em seu leito. Sua morte foi atribuída à asfixia por compressão da traquéia pelo peso da cabeça, todavia, como ele estava em decúbito dorsal e não havia sinal de desarrumação em seu leito, supõe-se que tenha sofrido deslocamento atlantoaxial com compressão medular por uma atitude espontânea e voluntária do próprio Merrick, que não suportava mais viver (SADDY *et al.*, 1986). Inspirado nesse relato, surgiu um filme "O Homem Elefante" que narra a história da dignidade humana frente a uma enorme deformidade física.

Merrick foi considerado como uma forma atípica de neurofibromatose, sendo este diagnóstico recusado posteriormente. Sabe-se atualmente que ele era portador da recentemente descrita "Síndrome

Proteus" (CLARK, 1987), cujas características incluem pele e tecido subcutâneo adelgaçados (particularmente nas mãos e nos pés), hiperplasia plantar, nevus epidérmico linear, hamartomas de tecido conjuntivo ou lipomas volumosos ou massas subcutâneas inespecíficas, macrocefalia e hipertrofia dos ossos longos e escolioses (COHEN, 1988). A Síndrome Proteus recebeu esta denominação por seus aspectos semelhantes ao deus Proteus da mitologia grega, cujas características eram a de uma pessoa que poderia adotar várias formas durante seu desenvolvimento corporal, fato este ocorrido nesse paciente porém não observado em nenhum dos nossos casos como também nos descritos na casuística citada por outros autores (HUSON, 1994). Concluindo, a Síndrome Proteus é um distúrbio hamartomatoso raro, diferente da neurofibromatose (NF-1), erroneamente atribuída à doença de Joseph Merrick, que foi chamado de "homem elefante", termo pejorativo que infelizmente tem acompanhado os portadores da NF-1 por todos esses anos, quando afetados pelos tumores e alterações desfigurantes (CLARCK, 1994). Embora J.C.Merrick tenha sido o primeiro paciente com síndrome Proteus diagnosticada erroneamente como NF-1, certamente não será o último. Na literatura, cerca de 50 casos já relatados como síndrome Proteus foram inicialmente designados como NF (CLARCK, 1987; 1994). Esta confusão se deve ao fato de que a síndrome Proteus é desconhecida pela maioria dos clínicos e mais lembrada pelos geneticistas e pelos que se dedicam aos estudos da NF (os quais são, relativamente, em pouco número).

Esse caso tema de livro e filme, ao expor a história triste e degradante de um ser humano disforme e inteligente, com dores intensas e uma angústia frente a sua aparência repulsiva, porém com um interior carente de amor e sentimentos afetivos, aumentando enormemente seu sofrimento, serviu para estigmatizar o termo neurofibromatose.

Vários pacientes portadores de neurofibromatose, que tomaram conhecimento dessa história, nos chegaram com a angustiante pergunta se os filhos que gerarem serão ou não um "homem elefante". Não é justo, nem historicamente correto estigmatizarmos esta moléstia que incorretamente foi assim comparada e denominada. Daí a necessidade de esclarecimento aos médicos e leigos que ignoram este fato, para que evitem esse termo pejorativo, angustiante, deprimente, discriminatório, estigmatizante, vergonhoso e humilhante para os pacientes que sofrem de neurofibromatose, e nos procuram, suplicantemente, à procura de um apoio médico e humano.

ANEXO 2

DADOS HISTÓRICOS SOBRE A NEUROFIBROMATOSE RELATADOS CRONOLOGICAMENTE

- Nos séculos XIII e XVI surgem na literatura, os casos mais antigos, descritos por MADIGAN, SCHAW, MASELLO em "Neurofibromatosis in 13th Century and Report of NF-like Case - Monstrorum History"- in Neurofibromatosis, vol.1 e 2, 1988.
- 1785 - MARK AKENSIDI apresenta relatos maiores referentes a um paciente apelidado de homem verruga ("wart man"), com nódulos cutâneos, manchas nas pernas, escaras, prurido e uma cabeça enorme.
- 1803 - ODIER introduz o termo neuroma para descrever enfaticamente o envolvimento nervoso do tumor.
- 1830 - SCHWANN descreve o predomínio das células da bainha do nervo nos neurofibromas.
- 1847 - VIRCHOW relatou neuromas em vários membros de uma mesma família e, em 1863, dividiu os tumores dos nervos periféricos em neuromas verdadeiros (que conteriam elementos nervosos) e falsos (originários do tecido conjuntivo da bainha dos nervos).
- 1849 - ROBERT SMITH relata dois casos de pacientes com neuromas, semelhantes àqueles descritos, posteriormente, por von Recklinghausen em 1882.
- 1870 - GENERICK publica a propósito de um caso de múltiplos neuromas associados a lesões cutâneas e viscerais (nos rins, ureteres e estômago) e cifoescoliose.
- 1873 - VON MICHEL, pela primeira vez, reportou um paciente com glioma ótico.
- 1878 - GERHARDT relata, pela primeira vez, o envolvimento do trato urinário em portadores de neurofibromas generalizados.
- 1880 - MARCHAND e, em 1881, WEISCHSELBAUM, dois patologistas, relataram tumores da supra-renais associados a pigmentações sugestivas de portadores de neurofibromas (NF). WEISCHSELBAUM baseou-se na autópsia de um paciente de 76 anos de idade com múltiplos neuromas, encontrando um ganglioneuroma na supra-renal, interpretando esse tumor como produto do crescimento de tecidos embrionários.

- 1882 - FRIEDERICH DANIEL VON RECKLINGHAUSEN reconheceu a NF como entidade nosológica ao descrever dois casos de neurofibromatose múltipla, um dos quais foi à necrópsia. Postulou que os tumores ao longo dos grandes nervos periféricos e também os falsos neuromas da pele provinham do tecido conjuntivo da bainha dos nervos e dos plexos nervosos, particularmente do perinervo e do endonervo; também descreveu áreas pigmentadas na pele, mas aparentemente não incluiu as manchas "café-com-leite" como parte da doença; frisou que raramente tumores de sistema nervoso central eram acompanhados das manifestações cutâneas. Nenhum dos pacientes tinha manifestações neurológicas, exceto baixo nível de inteligência.
- 1884 - SIR FREDERICK TREVES relatou, com grandes detalhes, a vida de seu paciente Joseph Carey Merrick, então com 22 anos de idade, com deformidades cutâneas e ósseas, que era cruelmente apresentado em circos cognominado como o "homem elefante" e diagnosticado, erroneamente por décadas, como uma forma atípica de NF. Isso foi tema do livro e do filme "The Elephant Man", que narra a sofrida história de um homem disforme, de aspecto repugnante, porém inteligente, carente de amor e de afetividade. Atualmente ficou evidente que ele não tinha NF e sim a Síndrome Proteus. Esse triste fato estigmatizou a NF com a figura do chamado "homem elefante".
- 1892 - HAMILTON, em seu livro "Lectures on Tumors from a Clinical Standpoint", 2nd ed. Detroit G.S.Davis, publica a primeira ilustração sobre NF.
- 1896 – MARIE & BARNARD e CHAUFFARD foram os pioneiros em indicar a pigmentação macular como um sinal além do neurofibroma.
- 1900 - THOMSON salienta o caráter hereditário da NF.
- 1901 - ADRIAN descreveu a transmissão hereditária da NF em 20% dos casos por ele pesquisado.
- 1909 - SUZUKI foi o primeiro a apontar a associação da NF com feocromocitoma.
- 1910 - VEROCAÿ sugeriu o nome de neurinoma a esses tumores nervosos e postulou sua origem a partir de células indiferenciadas (neuroectodermicas), capazes de dar origem aos vários tipos de tumores da doença de von Recklinghausen.
- 1911- GREGGIO publica a presença de grande número de mastócitos nos neurofibromas.
- 1916 - HENSHEN identificou a alta incidência de neuromas bilaterais no nervo acústico como parte da doença.

- 1917 - CUSHING estabeleceu meningiomas múltiplos e neuromas bilaterais no nervo acústico como componentes da NF.
- 1918 - PREISER & DAVENPORT estabeleceram que a doença não era ligada ao sexo e que obedecia à lei de Mendel como um caráter dominante.
- 1924 - BROOKS & LEHMAN classificaram, pela primeira vez, as alterações esqueléticas na literatura americana.
- 1924 - HARRISON identificou a origem das células de Schwann na crista neural.
- 1931 - HOSOI, com base em dados da literatura, calculou a incidência de degeneração maligna em cerca de 13% dos casos publicados e tabulou princípios para o tratamento cirúrgico da NF: 1. a excisão parcial do neurofibroma pode estimular sua malignização; 2. após completa excisão de um neurofibrossarcoma outro neurofibroma pode tornar-se maligno; 3. após cirurgia, recorrências locais ou regionais são comuns; e 4. metástases a distância são raras.
- 1933 - POHL relata, pela primeira vez, um paciente com meningocele torácica e NF.
- 1937 - LISCH descreve outra manifestação clínica da NF: nódulos na superfície da íris tipo elevações de aspecto gelatinoso e de forma arredondada, caracteristicamente numerosos, de natureza hamartomas, variando em coloração de transparente ao amarelo ou marrom, bilaterais e bem definidos. Merecidamente recebeu o seu nome: nódulos de Lisch.
- 1937 - DUCROQUET (apud KLATTE *et al.*, 1976) associa, como primeiro relato, a pseudo-artrose por ele encontrada em nove dentre onze pacientes com NF.
- 1940 - DAVIS estabeleceu o glioma ótico como parte da doença.
- 1940 - REUBI & FEYRTER reconheceram uma relação direta entre NF e lesão vascular, como uma tendência proliferativa de tecidos não nervosos ou um desenvolvimento blastomatoso dos vasos próprios dos nervos. De acordo com REUBI, a lesão vascular resultaria então de uma proliferação geral de tecidos não nervosos, enquanto FEYRTER acreditava que ela representava um desenvolvimento blastomatoso dos vasos próprios dos nervos. Mais recentemente, investigações ultra-estruturais sugerem que a lesão vascular pode ser devido, em parte, a uma displasia mesodérmica (GREENE *et al.*, 1974).
- 1952 - GLENN *et al.* descrevem uma paciente com NF e hipertensão arterial e coarctação da aorta abdominal.

- 1959 - SZABO reconheceu, microscopicamente, os grânulos gigantes pigmentados nos melanócitos como uma característica da doença.
- 1963 - ISRAEL-ASSELAIN & DEVIES identificaram alterações císticas e fibrose pulmonar como parte da doença.
- 1963 - RUSSEL & RUBENSTEIN observaram que dois tipos morfológicos de neoplasias, neurofibroma e schwannoma, podem ser encontrados juntos (fundidos) numa única e grande massa, e que cada um dos componentes pode mostrar evidência histológica de malignidade.
- 1965 - HALPERN & CURRARINO enfatizam a estenose renal como causa de hipertensão em NF.
- 1967 - ROSMAN & PEARCE identificaram alterações da arquitetura cortical associadas à deficiência mental em pacientes com NF.
- 1972 - BRASFIELD & DAS GUPTA, em 110 pacientes, identificaram 29% de transformação maligna para tumores da bainha nervosa e 15% para tumores epiteliais, e encontraram igual distribuição entre os sexos. Outros autores haviam anteriormente observado maior incidência no sexo masculino (PREISER & DAVENPORT, 1918 e CANALE *et al.*, 1972).
- 1972 - BRICAIRE *et al.* apontam que o mérito de se ter dado atenção à associação de acromegalia e NF pertence, inequivocamente, a DE CASTRO (1934), ao descrever um caso de um homem de 33 anos com múltiplos neurofibromas cutâneos (aproximadamente 67 tumores), deformidades acromegalias da face e mãos e escoliose evidente. A suspeita de um tumor cerebral teve como base as queixas de dores de cabeça associadas à glicosúria, distúrbios oculares com atrofia ótica bilateral e radiografia evidenciando sela túrcica alargada em todas direções. A necropsia confirmou a existência de um tumor de hipófise formando saliência dentro da cavidade craniana.
- 1972 - CHAVES *et al.* estudaram os dermatoglifos nos dedos de dois pacientes encontrando padrão de alça em 90% (alça cubital 50% e alça radial 40%) e 10% padrão de arco. Comparando com os do controle normal, referiram ao predomínio da alça radial seguido pela de arco, mas não concluíram por julgarem muito pequeno o número de pacientes em estudo.
- 1974 - SCHENKEIN *et al.* identificaram atividade estimuladora de crescimento nervoso no soro de pacientes com a enfermidade.
- 1976 - ISAACSON estudou a concentração e a distribuição dos mastócitos em 132 casos de tumores benignos derivados da bainha

nervosa e verificou que, com raras exceções, os neurofibromas são caracterizados por uma alta concentração de mastócitos difusamente distribuídos.

- 1977- JURECKA *et al.* apontam, histopatologicamente, que os núcleos de mastócitos representam aproximadamente 5% de todos os núcleos presentes nos neurofibromas.
- 1980- GHOLAM *et al.* apontaram a experiência na terapêutica do glaucoma congênito da NF, que é o mesmo daquela usada para os outros tipos de glaucomas congênitos, porém com prognóstico pior. Ressaltam que o glaucoma congênito foi primeiramente relatado como uma complicação da NF dois anos após von Recklinghausen estabelecê-la como entidade nosológica.
- 1982- RICCARDI classificou a NF em oito tipos com designações, características clínicas e padrões de herança.
- 1986- CAREY *et al.* propuseram que a NF fosse classificada em apenas cinco tipos, com base nas características clínicas distintas e nas implicações genéticas para o paciente.
- 1987- RICCARDI sugere que a liberação de substâncias dos mastócitos contribui para o crescimento do tumor e da sintomatologia associada e que a utilização de medicamentos que bloqueiem essa secreção possa retardar esse crescimento.
- 1987 - BARKER *et al.* e SEIZINGER *et al.* mapearam o gene da NF-1 na região pericentromérica do cromossomo 17.
- 1988 – O *National Institute of Health* (NIH) estabelece critérios de diagnósticos para NF.
- 1989 - COLLINS *et al.*, DIEHEL *et al.*, FOUNTAIN *et al.*, O'CONNEL *et al.* e STEPHENS *et al.* determinaram a região em que o gene NF1 está localizado, no braço longo do cromossomo 17
- 1990 - CAWTHON *et al.*, VISKOCHIL *et al.* e WALLACE *et al.* mapearam o gene em 17q11.2 e efetuaram estudos que facilitaram o desenvolvimento do isolamento, clonagem e a caracterização do gene.
- 1990 - ROULEAU *et al.* e WOLF *et al.* localizaram o gene NF2 na banda q.1.2 do cromossomo 22 e presumiram que ele atua como um gene supressor.
- 1993-ROULEAU *et al.* e TROFATTER *et al.* clonaram o gene NF2.
- 1993 - LEGIUS *et al.* e ANDERSEN *et al.* concluíram que o NF é um gene supressor.

- 1994 - COLLINS *et al.*, em estudos mais específicos, mapearam mais precisamente o gene NF1 em 17q11.2.
- 1994 - GOLONI-BERTOLLO *et al.*, em artigo de revisão sobre avaliação genética-clínica em NF, quanto à expressividade e a heterogeneidade nesta doença, destacam que há pelo menos três níveis de variação:
 - a expressividade temporal, características clínicas progressivas;
 - a expressividade individual, altamente variável em suas manifestações de um indivíduo para outro; e
 - a heterogeneidade genética ou fisiopatológica, extensas diferenças entre as manifestações de alguns pacientes ou familiares.

Concluíram da importância de um diagnóstico mais específico nos diferentes tipos que compreendem categorias com características genético-clínicas semelhantes.

- 1994 - HUSON classifica as características clínicas da NF em "major", "minor" e complicações associadas com base nos critérios diagnósticos da *National Institute of Health* (1988).
- 1996 - VALERIO, em dissertação de mestrado, propôs uma classificação psicossocial de NF.
- 1997 a 2001 - São realizadas inúmeras pesquisas para a detecção de mutações do gene NF-1, com a finalidade de correlacionar fenótipo com o genótipo.

Muitas contribuições têm expandido nossos conhecimentos sobre a NF mas, ainda que se tenha passado mais de um século de sua completa identificação, ela continua a nos desafiar, tanto por não conhecermos sua patogênese completa como por não podermos interromper o seu curso.

ANEXO 3

ANEXO 4
CEPAN - Centro de Pesquisa e Atendimento em Neurofibromatose
Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

Protocolo de Neurofibromatose

Data		
Protocolo NF n°.	Família	RG HB n°.

I - Identificação

Nome:			
Data Nasc.	Idade:	Sexo:	Cor:
Profissão:			
Naturalidade:		Procedência:	
Endereço:			
Fone contato:			

II - Dados Familiares

Nome do Pai:	
Data Nasc.	Profissão:
Nome da Mãe:	
Data Nasc.	Profissão:

III - Antecedentes Pessoais

Pré-Natal:		
RN:		
Escolaridade:	Dificuldades:	
Doenças Prévias:		
Medicamentos em Uso:		
Hábitos:	Fuma: <input type="checkbox"/>	Bebe: <input type="checkbox"/>
Outros:		

IV - Antecedentes Familiares

Patologias:		
Consanguinidade: <input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Tipo:
Heredograma:		

V - Exame Físico

V.1 Exame Genético-Clínico

1. Manifestação da NF:	desde os	anos
2. MCCL:	<input type="checkbox"/>	
Localização:		
Quantidade:		
Tamanho:		
Pigmentação:	<input type="checkbox"/> Hipo	<input type="checkbox"/> Hiper
3. Sardas Axilares:	<input type="checkbox"/> Unilateral	<input type="checkbox"/> Bilateral
4. Neurofibroma:	<input type="checkbox"/>	
Localização:		
Quantidade:		
Tamanho:		
Pigmentação:	<input type="checkbox"/>	
Textura:		
Plexiformes:	<input type="checkbox"/> Nodulares	<input type="checkbox"/> Difusos
Difusos		
Histopatológico:	<input type="checkbox"/>	
Lâmina nº.		
Contagem de Mastócitos:		
Matriz Extracelular: Subst.Fundamental:		
Colágeno I:		
Colágeno III:		
Sist.Elástico:		

5. Outros Tumores:	
6. Deformidades Ósseas: <input type="checkbox"/>	
Tipo Clínico	
Localização:	
7. Documentação Fotográfica: <input type="checkbox"/>	
8. Estudo Citogenético sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/>	
Estudo de DNA para Estudo Molecular sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/>	

V.2 Exame Oftalmológico

1. Tratamento Prévio:						
Cirurgia:	<input type="checkbox"/>	Tipo:				
Oclusão:	<input type="checkbox"/>	OD	OE			
Óculos:	<input type="checkbox"/>	OD:	cc	cil	Adição	
		OD:	cc	cil	Adição	
2. Acuidade Visual:						
Sem correção:	<input type="checkbox"/>	OD	OE			
Com correção:	<input type="checkbox"/>	OD	OE			
3. Refração:						
Dinâmica: OD	cc	cil	OE	cc	Cil	
Estática: OD	cc	cil	OE	cc	Cil	
4. Desvios <input type="checkbox"/>						
Tipo:						
rotações: OD	RS	RI	RM	RL	OI	OS
OE	RS	RI	RM	RL	OI	OS
5. Órbita:						
Exoftalmometria:	OD	OE				

6. Biomicroscopia:				
a. Pálpebras:				
Ptose:	<input type="checkbox"/>	OD	OE	
Neurofibroma:	<input type="checkbox"/>	OD	OE	
Plexiforme:	<input type="checkbox"/>	OD	OE	
MCCL:	<input type="checkbox"/>	OD	OE	
Outros:				
b. Conjuntivas:				
Neurofibromas:	<input type="checkbox"/>	OD	OE	
Outros:				
c. Esclera:				
Neurofibromas:	<input type="checkbox"/>	OD	OE	
Outros:				
d. Córnea:				
Ceratocone:	<input type="checkbox"/>	OD	OE	
Espes. de Nervos	<input type="checkbox"/>	OD	OE	
Outros:				
e. Íris:				
Nódulos de Lisch:	<input type="checkbox"/>			
Quantidade:		OD	OE	
Outros:				
f. Cristalino				
Catarata:	<input type="checkbox"/>	OD	OE	
7. PIO:		OD	mmHg	OE MmHg
8. Fundoscopia:				
Papilas:				
Mácula:				
Retina:				
9. Gonioscopia:	<input type="checkbox"/>	OD	OE	
10. Fluoresceinografia:	<input type="checkbox"/>	OD	OE	
11. Carpimetria:	<input type="checkbox"/>	OD	OE	
12. Outros:				

V.3 Exame Neurológico

Achados:					
Exames Comp.	EEG <input type="checkbox"/>	Mielografia <input type="checkbox"/>	Líquor <input type="checkbox"/>	Eletroneuromiografia <input type="checkbox"/>	Artériografia <input type="checkbox"/>

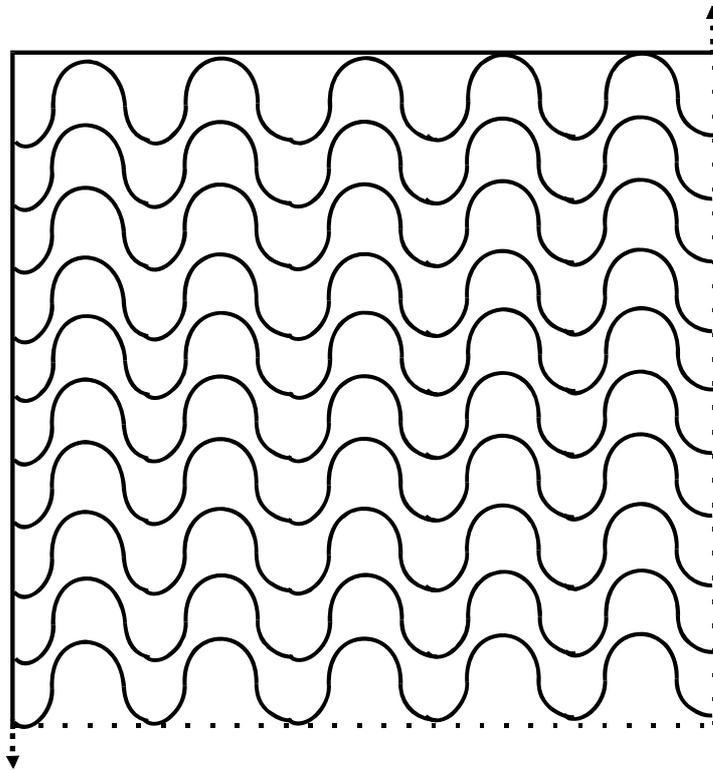
V.4 Exame Otorrinolaringologia

Audiometria: <input type="checkbox"/>				
Achados:				
a. Pescoço:				
Linfonodos: <input type="checkbox"/>		Localização:		
Alteração Tireóide: <input type="checkbox"/>		Tipo:		
Obs:				
b. Alteração Laringe: <input type="checkbox"/>				
Cordas vocais <input type="checkbox"/>		Epiglote <input type="checkbox"/>	Falsas cordas <input type="checkbox"/>	Aritenóides <input type="checkbox"/>
Fossa Piriforme <input type="checkbox"/>				
Obs:				
c. Alteração Boca e Orofaringe: <input type="checkbox"/>				
Língua <input type="checkbox"/>		Amígdalas <input type="checkbox"/>	Palato <input type="checkbox"/>	Faringe <input type="checkbox"/>
Obs:				
d. Alteração Nasofaringe: <input type="checkbox"/>				
Abobada <input type="checkbox"/>		Parede lateral <input type="checkbox"/>	Fosseta Rosenmuller <input type="checkbox"/>	
e. Alteração Nariz e Seios Paranasais: <input type="checkbox"/>				
Septos <input type="checkbox"/>		Cornetos <input type="checkbox"/>	Meato <input type="checkbox"/>	
Obs:				
f. Alteração Ouvidos: <input type="checkbox"/>				
Septos <input type="checkbox"/>		Cornetos <input type="checkbox"/>	Meato <input type="checkbox"/>	

ANEXO 3

Modelo de Protocolo de Contagem de Mastócitos.

PROTOCOLO Nº _____	PACIENTE RG Nº _____	
AUMENTO: _____	LÂMINA Nº _____	Nº DE CAMPOS _____
ESPESSURA DOS CORTES _____	ÓRGÃO: _____	



MERZ-1968