



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**KAYLINE DE SOUZA PEREIRA ARAÚJO**

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DERMATOLÓGICAS E ESTUDO  
IMUNOHISTOQUÍMICO DO RECEPTOR ESTROGÊNICO  $\alpha$  E DA PROTEÍNA  
MENIN EM LESÕES CUTÂNEAS DE PORTADORES DE NEOPLASIA  
ENDÓCRINA MÚLTIPLA TIPO 1.**

**FORTALEZA**

**2018**

KAYLINE DE SOUZA PEREIRA ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DERMATOLÓGICAS E ESTUDO  
IMUNOHISTOQUÍMICO DO RECEPTOR ESTROGÊNICO  $\alpha$  E DA PROTEÍNA  
MENIN EM LESÕES CUTÂNEAS DE PORTADORES DE NEOPLASIA  
ENDÓCRINA MÚLTIPLA TIPO 1.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestrado em Farmacologia. Área de concentração: Farmacologia.

Orientador: Profa. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes.

Co-orientador: Profa. Dra. Ana Rosa Pinto Quidute.

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

A689a Araújo, Kayline de Souza Pereira.  
AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DERMATOLÓGICAS E ESTUDO IMUNOHISTOQUÍMICO DO RECEPTOR ESTROGÊNICO &#945; E DA PROTEÍNA MENIN EM LESÕES CUTÂNEAS DE PORTADORES DE NEOPLASIA ENDÓCRINA MÚLTIPLA TIPO 1. / Kayline de Souza Pereira Araújo. – 2018.  
66 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2018.

Orientação: Profa. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes.

Coorientação: Profa. Dra. Ana Rosa Pinto Quidute.

1. Neoplasia endócrina múltipla tipo 1. 2. lesões cutâneas. 3. Menin. I. Título.

---

CDD 615.1

KAYLINE DE SOUZA PEREIRA ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DERMATOLÓGICAS E ESTUDO  
IMUNOHISTOQUÍMICO DO RECEPTOR ESTROGÊNICO  $\alpha$  E DA PROTEÍNA  
MENIN EM LESÕES CUTÂNEAS DE PORTADORES DE NEOPLASIA  
ENDÓCRINA MÚLTIPLA TIPO 1.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestrado em Farmacologia. Área de concentração: Farmacologia.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Elisabete Amaral de Moraes  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Rosa Pinto Quidute  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Heitor de Sá Gonçalves  
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

---

Prof. Dr. Delmar Muniz Lourenço Júnior  
Universidade de São Paulo (USP)

A Deus.

Aos meus pais, Samuel e Raquel.

Ao meu marido Haroldo.

E aos meus filhos, Sarah e Miguel

## AGRADECIMENTOS

À Deus por me dar saúde força para que eu chegasse até aqui.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Elisabete Amaral de Moraes, pela orientação e disposição em ajudar no que fosse necessário.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Rosa Pinto Quidute pela excelente co-orientação, disponibilidade e dedicação dispensadas ao meu trabalho.

Aos professores participantes da banca examinadora da qualificação e da banca de defesa Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Negreiros Alves Nunes, Prof. Dr. Manoel Ricardo Alves Martins, Prof. Dr. Delmar Muniz Lourenço Júnior e Prof. Dr. Heitor de Sá Goncalves pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos colegas da turma do mestrado, pelas reflexões críticas e sugestões recebidas.

Aos meus pais, Samuel e Raquel, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando em minhas decisões e acreditando em meu potencial.

Ao meu marido, Haroldo, por toda ajuda, paciência, compreensão, amor e companheirismo.

Aos meus filhos, Sarah e Miguel, por serem inspiração para que eu siga progredindo e por todo amor, carinho, compreensão e paciência.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

## RESUMO

**Introdução:** Neoplasia endócrina múltipla tipo 1 (NEM1) é uma síndrome de herança autossômica dominante caracterizada pela mutação no *GENE MEN1* que codifica a proteína menin. Pesquisas recentes têm revelado a importância de outras características clínicas relacionadas à NEM1, dentre elas a presença de lesões cutâneas, como angiofibromas, lipomas e collagenomas. Nessas lesões ocorre perda completa do *GENE MEN 1*, porém não se sabe se há alteração na expressão da menin. A atuação da menin na tumorigênese varia na dependência do tipo celular. Sua ação como ativadora do receptor estrogênico  $\alpha$  (RE $\alpha$ ) foi descrita em tecido mamário promovendo proliferação celular ao reduzir a apoptose. A coativação do RE $\alpha$  pela menin em tecido mamário aumenta a expressão desse receptor estrogênico e em portadores de NEM1 com tumor de mama esse receptor encontra-se menos expresso, sendo a tumorigênese induzida por outra via. **Objetivo:** Identificar a prevalência de lesões cutâneas em portadores da NEM1 e sua associação com os principais tumores. Analisar e comparar a imunomarcagem da proteína menin e do RE $\alpha$  nas lesões encontradas e em pele normal. **Métodos:** Realizado exame dermatológico, preenchimento de questionário e biópsia cutânea em casos selecionados em pacientes com diagnóstico clínico de NEM1 e em seus familiares de primeiro grau assintomáticos e imunohistoquímica (IHQ) para a expressão da proteína menin e do RE $\alpha$  em 11 lesões (collagenomas e angiofibromas) e 16 amostras de pele normal de indivíduos saudáveis. **Resultados:** Foram avaliados 53 portadores de NEM-1, idade  $40,3 \pm 12$  (16-69 anos), sendo 35(66%) mulheres. Desses, 31(58%) tinham collagenomas, 6 (11%) angiofibromas e 5(9%) lipomas. Nos 14 familiares assintomáticos avaliados, 12(86%) eram mulheres com idade de  $22,5 \pm 11$  (11-48 anos). Apenas 2 (14%) apresentaram collagenomas. Não foi encontrada associação entre a presença de lesões cutâneas e a presença de tumor de hipófise, hiperparatireoidismo e tumor neuro-endócrino gastro-entero-pancreático ( $p=0,100$ ). A IHQ revelou redução de imunopositividade da menin ( $p<0,001$ ) e do RE $\alpha$  ( $p=0,038$ ) em collagenomas e angiofibroma em comparação com pele normal, porém sem correlação entre a expressão de menin e RE $\alpha$  nos dois grupos ( $p=0,600$  e  $p=0,800$  respectivamente). **Conclusão:** No nosso meio, a presença de collagenomas em região de tronco, em indivíduos jovens deve alertar para a possibilidade da NEM-1, inclusive pode ser a primeira manifestação da doença. A redução na expressão de menin pode estar implicada no desenvolvimento dessas lesões cutâneas. Porém, no tipo de lesão analisada, não foi possível estabelecer relação entre a expressão da menin e do RE $\alpha$ , que parece ocorrer por mecanismos diferentes dos já relatados em tecido mamário.

**Palavras-chave:** Neoplasia endócrina múltipla tipo 1. Lesões cutâneas. Menin.



## ABSTRACT

### EVALUATION OF DERMATOLOGICAL ALTERATIONS AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF ESTROGEN RECEPTOR $\alpha$ AND MENIN PROTEIN IN CUTANEOUS LESIONS OF PATIENTS WITH MULTIPLE ENDOCRINE NEOPLASIA TYPE 1.

**Introduction:** Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) is an autosomal dominant inherited syndrome characterized by the mutation in *MEN 1*, the gene which encodes menin protein. Recent studies have revealed the importance of other clinical features related to NEM1, including the presence of cutaneous lesions, some of which being more related to angiofibromas, lipomas and collagenomas. Complete loss of *MEN 1 GEN* occurs in these lesions; however, it is not known if there is alteration in the expression of menin. Menin acts on tumorigenesis in cell type dependence, its action as estrogen receptor  $\alpha$  (RE $\alpha$ ) was described in mammary tissue promoting cell proliferation by reducing apoptosis. The coactivation of RE $\alpha$  by menin in the mammary tissue increases expression of this estrogen receptor. In NEM1 patients with breast tumor, this receptor is less expressed, and tumorigenesis is induced by another pathway. **Objective:** To identify the prevalence of cutaneous lesions in patients with MEN-1 and their association with the main tumors. To analyze and to compare the immunolabeling of menin protein and RE $\alpha$  in the found lesions and in normal skin. **Method:** Dermatological examination, questionnaire filling and cutaneous biopsy were carried out in selected cases in patients with clinical diagnosis of MEN1 and in their asymptomatic first-degree as well as immunohistochemistry (IHC) for the expression of the menin protein and RE $\alpha$  in 11 lesions (collagenomas and angiofibromas) and in 16 normal skin samples from healthy individuals. **Results:** Evaluation of 53 patients with NEM-1, age  $40.3 \pm 12$ SD (16min-69max years), 35 (66%) women. Among them, 31 (58%) had collagenomas, 6 (11%) angiofibromas and 5 (9%) lipomas. In the 14 asymptomatic relatives, 12 (86%) were women aged  $22.5 \pm 11$  SD (11min-48max years). Only 2 (14%) had collagenomas. No association between the presence of cutaneous lesions and the presence of HT, hyperparathyroidism and TGEP ( $p = 0.100$ ) was found IHC revealed reduction in the immunopositivity of menin ( $p < 0.001$ ) and RE $\alpha$  ( $p = 0.038$ ) in collagenomas and angiofibroma compared to normal skin, but with no correlation between the expression of menin and RE $\alpha$  in both groups ( $p = 0.6$  and  $p = 0.8$  respectively). **Conclusion:** In our environment, presence of collagenomas in the trunk region in young individuals is an alert to the possibility of NEM-1. Reduction in menin expression may be implicated in the development of these cutaneous lesions. However, in the type of lesion analyzed, it was not

possible to establish a relationship between the expression of menin and of alpha receptor, which seems to occur by mechanisms different from those already reported in mammary tissue.

**Keywords:** Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 (MEN1). Cutaneous lesions. Menin.

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1	– Principais estudos de prevalência de lesões cutâneas em portadores de NEM1.....	18
Quadro 2	– Expressão de RE $\alpha$ e RE $\beta$ em lesões tumorais e em pele normal.....	23

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Proteínas que interagem com a menin e estrutura da menin para interação protéica seletiva.....	20
Figura 2 – Interação do complexo protéico menin e RE $\alpha$ no câncer de mama.....	22
Figura 3 – Metodologia para análise imunohistoquímica.....	30
Figura 4 – Colagenoma em paciente com NEM1: lesão cutânea e histopatológico.....	38
Figura 5 – Angiofibroma em paciente com NEM1: lesão cutânea e histopatológico.....	39
Figura 6 – Fotomicrografia de pele mostrando imunomarcção para RE $\alpha$ na derme superficial em colagenoma de portador de NEM1 e em pele normal de abdômen de doador sem a doença.....	40
Figura 7 – Fotomicrografia de pele mostrando imunomarcção para menin na derme superficial em colagenoma de portador de NEM1 e em pele normal de abdômen de doador sem a doença.....	42

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Comparação do percentual de imunopositividade de RE $\alpha$  em lesões cutâneas de portadores de NEM1 e pele normal de doadores saudáveis..... 41
- Gráfico 2 – Comparação do percentual de imunopositividade da proteína menin em lesões cutâneas de portadores de NEM1 e pele normal de doadores saudáveis..... 42
- Gráfico 3 – Correlação entre o percentual de imunopositividade de menin e RE $\alpha$  em lesões de angiofibroma e collagenoma..... 43
- Gráfico 4 – Correlação entre o percentual de imunopositividade de menin e RE $\alpha$  em pele normal..... 43

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Lesões dermatológicas encontradas em portadores de NEM 1 avaliados.....	32
Tabela 2 – Tumores associados em portadores de NEM 1 avaliados.....	33
Tabela 3 – Características gerais e distribuição das lesões endócrinas e cutâneas nos pacientes com NEM1 avaliados.....	33
Tabela 4 – Características gerais e distribuição das lesões em parentes assintomáticos de portadores de NEM1.....	36
Tabela 5 – Distribuição dos portadores de NEM1 por famílias e lesões cutâneas encontradas.....	37
Tabela 6 – Características gerais e distribuição das lesões em famílias de portadores de NEM1.....	63

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AP-1	Apoproteína 1
HE	Hematoxilina e Eosina
HPP	Hiperparatireoidismo
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídio
NEM1	Neoplasia Endócrina Tipo 1
NPDM	Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos
RE $\alpha$	Receptor Estrogênico $\alpha$
Re $\beta$	Receptor Estrogênico $\beta$
TGEP	Tumor Gastroenteropancreático
TH	Tumor Hipofisário
TNE	Tumor Neuroendócrino
UFC	Universidade Federal do Ceará

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
%	Porcentagem
®	Marca Registrada



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>26</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>27</b>
<b>3.1</b>	<b>Desenho do estudo.....</b>	<b>27</b>
<b>3.2</b>	<b>Amostra.....</b>	<b>27</b>
<b>3.3</b>	<b>Aspectos éticos.....</b>	<b>27</b>
<b>3.4</b>	<b>Coleta de dados clínicos e epidemiológicos.....</b>	<b>27</b>
<b>3.5</b>	<b>Biópsias de lesões cutâneas.....</b>	<b>28</b>
<b>3.6</b>	<b>Análise histológica.....</b>	<b>28</b>
<b>3.7</b>	<b>Análise por imunohistoquímica.....</b>	<b>28</b>
<b>3.8</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>30</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>32</b>
<b>4.1</b>	<b>Análise clínica e epidemiológica.....</b>	<b>32</b>
<b>4.2</b>	<b>Análise histológica.....</b>	<b>38</b>
<b>4.3</b>	<b>Análise imunohistoquímica.....</b>	<b>39</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>49</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>50</b>
	<b>APÊNDICE A.....</b>	<b>57</b>
	<b>APÊNDICE B.....</b>	<b>60</b>
	<b>APÊNDICE C.....</b>	<b>62</b>
	<b>ANEXO.....</b>	<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A neoplasia endócrina múltipla tipo 1 (NEM1) é uma síndrome tumoral rara de herança autossômica dominante, que se caracteriza pelo surgimento de tumores na paratireóide, tecido endócrino entero-pancreático e hipófise anterior (Metz *et al.*, 1994). Vários outros tipos tumorais endócrinos e não endócrinos tem sido relatados nessa doença, como tumores gástricos, broncopulmonares, carcinóides tímicos, tumores adrenais não funcionantes e tumores dérmicos (Brandi *et al.*, 2001).

Embora a maioria seja de herança familiar, pode ocorrer de forma esporádica em menos de 10% dos casos. A prevalência estimada da doença é de 1:30000, sendo a incidência igual entre os sexos e sem predileção racial (Falchetti, 2017).

A principal mutação que caracteriza NEM 1 ocorre no gene supressor tumoral MEN 1, que se localiza no braço longo do cromossomo 11 (Larsson *et al.*, 1988). A penetrância da doença é alta, com mais de 95% dos portadores da mutação apresentando alterações laboratoriais (Machens *et al.*, 2007). As mutações e deleções analisadas em tumores neuro-endócrinos associados a NEM1 revelam duas alterações genéticas: uma mutação germinativa do gene supressor tumoral *MEN1* e uma mutação somática do alelo selvagem, o que resulta na perda da heterozigotidade e desenvolvimento de tumores (Pannett, Thanker, 2001). O *GENE MEN1* foi identificado e clonado em 1997 (Balong *et al.*, 2006) e mais de 1300 mutações, das quais, aproximadamente 85% germinativas e 15% somáticas, foram identificadas desde então (Falchetti, 2017). Esse gene codifica a proteína menin, importante no processo de regulação da transcrição, proliferação e estabilidade do genoma (Brandi *et al.*, 2001; Thanker, 2000). A inativação da menin promove replicação celular, hiperplasia tissular e tumorigênese. Até o momento nenhuma relação entre fenótipo e genótipo da doença foi observada, havendo considerável variedade fenotípica nos tipos tumorais, mesmo entre membros da mesma família (Trump *et al.*, 1996; Falchetti, 2017).

O hiperparatireoidismo é a expressão mais frequente e mais precoce da doença, sendo observado em aproximadamente 100% dos pacientes em torno dos 50 anos (Brandi *et al.*, 2001), embora NEM1 seja causa de apenas 2 a 4% dos casos de hiperparatireoidismo primário. Geralmente, o diagnóstico de hiperparatireoidismo em portadores de NEM1 é 20 anos mais cedo que em casos esporádicos, pelo rastreamento de familiares de portadores, ainda na fase assintomática. O hiperparatireoidismo pode provocar nefrolitíase, doença óssea (osteoporose) e raramente calcificações metastáticas (pequenas pápulas ou nódulos subcutâneos na superfície de grandes articulações, geralmente associadas a prurido)

(Fulheihan *et al.*, 2006).

A prevalência de tumores entero-pancreáticos em portadores de NEM1 varia de 30-75%, sendo de 80% em séries de necropsias (Brandi *et al.*, 2001). O diagnóstico ocorre (por volta da quarta década de vida, sendo metástases desses tumores a causa mais importante de mortalidade relatada em NEM1 (Conemans *et al.*, 2017). Os tumores podem ter atividade hormonal (funcionantes) ou podem ser não funcionantes. Entre os funcionantes mais frequentes estão gastrinomas e insulinomas. Manifestações dermatológicas de tumores neuroendócrinos entero-pancreáticos associados à NEM1, incluem o eritema necrolítico migratório como parte da síndrome do glucagonoma e flushing durante os paroxismos da Síndrome de Verner- Morriison (Guimarães, 2007).

Os tumores hipofisários são descritos em torno de 44% dos portadores da doença, sendo um terço desses tumores microadenomas (Brandi *et al.*, 2001). São diagnosticados em torno da quarta década de vida e em 15% dos pacientes são a primeira manifestação de NEM1. Em sua maioria são tumores benignos, mas podem causar sintomas decorrentes do tamanho, tipo e secreção hormonal (Dekkers *et al.*, 2007). Os adenomas hipofisários predominam em mulheres e aproximadamente 60% secretam prolactina. Nos pacientes com NEM1, esses tumores são considerados mais agressivos e muitas vezes pouco responsivos ao tratamento clínico (especialmente prolactinomas), necessitando de cirurgia precocemente (Thakker *et al.*, 2012).

O diagnóstico da síndrome é baseado em critérios clínicos, pela presença de dois ou mais dos tumores endócrinos citados (TH, HPP, TGEP) citados; critério familiar, pela presença de apenas um tumor associado à NEM1, em caso de familiar de primeiro grau de portador da doença; ou critério genético, pela presença da mutação germinativa no *GENE MEN1*. Pacientes portadores de NEM1 não tratados têm uma redução na expectativa de vida, com probabilidade de 50% de morte antes dos 50 anos, sendo a causa de morte de 50-70% dos doentes processo tumoral maligno ou sequelas da doença (Thankker, 2000), daí a importância do diagnóstico precoce e seguimento multidisciplinar.

Desde 1997, vários estudos têm descrito a presença de lesões cutâneas em portadores de NEM1 (quadro 1), dentre elas: angiofibromas, colagenomas, lipomas, manchas café com leite, hipopigmentação em confete e pápulas gengivais (Schaffer *et al.*, 2005).

**Quadro 1.** Principais estudos de prevalência de lesões cutâneas em portadores de NEM1.

	Vidal <i>et al.</i> , 2008 n = 9	Asgharian <i>et al.</i> ,2004 n =48	Darling <i>et al.</i> , 1997 n = 32	Sakurai <i>et al.</i> , 2000 n = 27
Angiofibroma	22%	64%	88%	43%
Colagenoma	0%	62%	72%	-
Lipoma	33,3%	17%	34%	-
Melanoma	11,1%	4%	-	-
Hipomelanoses	-	-	-	-
Outras lesões	55,5%	-	-	-

Fonte : Próprio autor

Assim como nos tumores classicamente associados a NEM1(adenomas de paratireóide, tumor de hipófise, TNE de pâncreas), em lipomas, colagenomas e angiofibromas foi demonstrada a perda da heterozigosidade na população de células tumorais, o que possivelmente altera a expressão da *menin* nessas lesões. Em outras lesões cutâneas de portadores da doença, como nevos melanocíticos e acrocordons não foi observada deleção do alelo selvagem do *GENE MEN1*, bem como em fibroblastos de pele normal e em tumores tireoidianos (Luzi *et al.*, 2010; Rusconi *et al.*, 2011; Dong *et al.*, 1997; Pack *et al.*, 1998).

Em alguns estudos, angiofibromas são as lesões mais frequentes, observados em 88% dos pacientes seguidos de colagenomas e lipomas, observados em 72% e 34% respectivamente (Darling *et al.*,1998). Asgharian *et al.* avaliaram a presença de angiofibromas e colagenomas em portadores de NEM1 como critério diagnóstico para a doença. Nesse estudo, a presença de angiofibromas e colagenomas apresentou sensibilidade de 50-65% e especificidade de 92-100% para NEM1, equiparando-se ao que se observa com hiperparatireoidismo e gastrinoma, podendo ser de grande utilidade para o diagnóstico clínico da doença.

Angiofibromas faciais eram considerados patognomônicos de esclerose tuberosa ocorrendo em 90%dos pacientes a partir da adolescência, no entanto, tem sido descritos em pacientes com outras doenças, como NEM1, nesse caso sendo menos numerosos, menores, aparecendo mais tardiamente e se localizando com frequência na borda do lábio superior (Sakurai *et al.*,2000; Darling *et al.*,1988). Em estudo realizado por Votmeyer *et al.*, foi

demonstrado que em angiofibromas de portadores de NEM1 as células neoplásicas (nas quais há perda de heterozigidade) encontram-se predominantemente em região perivascular da derme.

Colagenomas são nevos de tecido conectivo com predomínio de colágeno que podem ser hereditários ou adquiridos. Entre as formas hereditárias destacamos a placa de Shagreen na esclerose tuberosa e a síndrome do colagenoma cutâneo familiar, de herança autossômica dominante e caracterizada pelo surgimento de colagenomas em tronco e braços e acometimento cardiovascular associado. As formas adquiridas são colagenomas esporádicos e colagenoma eruptivo, que se manifestam com surgimento de múltiplas pápulas assintomáticas em tronco (Boent *et al.*, 2004; Ju *et al.*, 2011). Os colagenomas associados a NEM1 apresentam-se como pápulas firmes de 2 a 10 mm de diâmetro, cor da pele e são vistos em aproximadamente 62-72% dos pacientes. Localizam-se predominantemente no tronco superior e pescoço e costumam ser múltiplos (mais de 3) (Perez *et al.*, 2015). Colagenomas também podem ser observados em outras doenças raras como síndrome de Birt-Hogg-Dubé, síndrome de Buschke Ollendorf, síndrome de Cowden e síndrome de Down (Xia *et al.*, 2007). Embora possam ser vistos em outras patologias, pacientes com colagenomas e alterações endócrinas devem ser avaliados para NEM1, aumentando a chance do diagnóstico precoce.

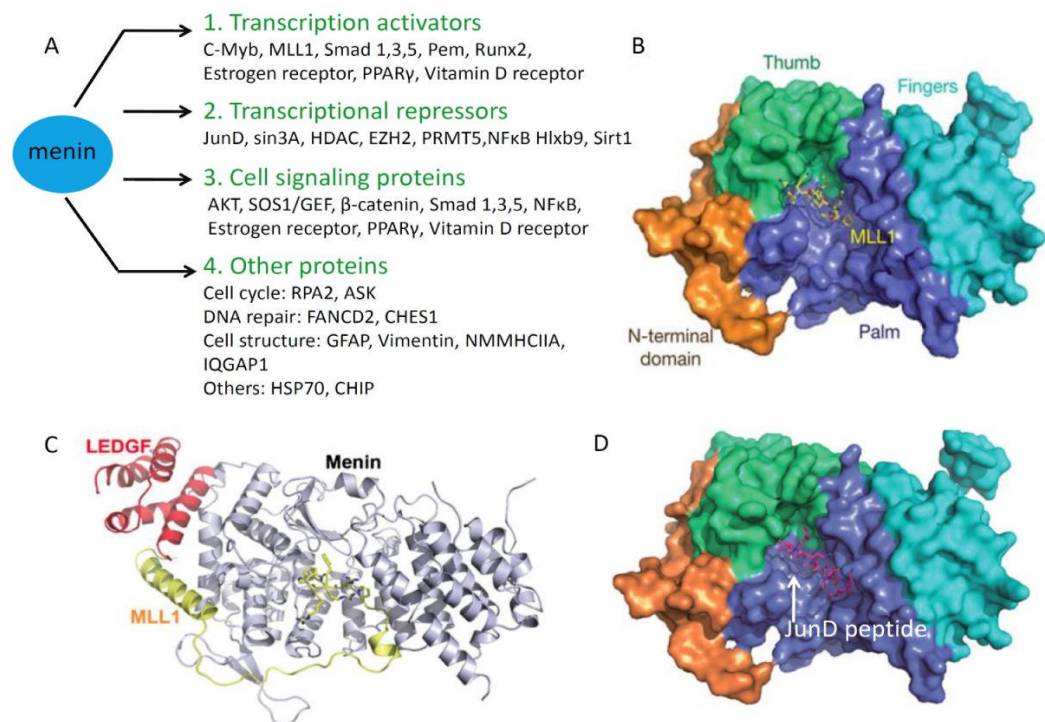
Lipomas são observados em aproximadamente 30% dos pacientes portadores de NEM1, em geral são múltiplos e subcutâneos, embora raramente possam ser viscerais (Marine *et al.*, 2006). Localizam-se preferencialmente nas costas, pescoço, abdômen e braços, são assintomáticos e quando removidos raramente recidivam. Estudos *in vitro* demonstraram que a deficiência da menin pode induzir hipertrofia das células do tecido adiposo (Parekh *et al.*, 2015). A proteína menin é um importante fator na adipogênese mediada pelo PPAR gama e a perda da sua função pode contribuir para o surgimento de lipomas nos pacientes portadores de NEM1 (Dreijink *et al.*, 2009).

A menin é codificada pelo *GENE MEN1* e é uma proteína eminentemente nuclear, embora possa ser detectada no citoplasma e em membranas celulares. Localiza-se na região C-terminal e pode interagir diretamente com o DNA (La *et al.*, 2006). Apesar de ser difusamente expressa, a intensidade de sua expressão varia em diferentes tecidos (Schenepp *et al.*, 2006).

Ao longo dos anos, múltiplas interações protéicas da menin tem sido relatadas (Matkar *et al.*, 2013). De acordo com Matkar, as interações da menin com outras proteínas podem ser classificadas em quatro categorias, baseadas no contexto celular: ativadores de transcrição, repressoras da transcrição, proteínas de sinalização celular e outros parceiros de

interação que tem diversas funções na regulação do reparo do DNA e na integridade estrutural das células. A proteína menin interage com fatores de transcrição, como a proteína 1 ativada-AP-1, JunD, NF- $\kappa$ B,  $\beta$ -catenina e receptores estrogênicos  $\alpha$  (Hughes *et al.*, 2004, Agarwal *et al.*, 1999, Dreijerink *et al.*, 2006). Pode ainda se ligar a proteínas do citoesqueleto como a vimetina e mediadores de células sinalizadoras citoplasmáticas, como a Akt1/proteínaquinase B (PKB) (Wuescher *et al.*, 2011, Wang *et al.*, 2011). Além disso, tem sido demonstrado que menin atua na proliferação celular, apoptose e integridade genômica (Kim *et al.*, 1999, Busyngna *et al.*, 2004). O complexo protéico menin/KMT2A interage com RE $\alpha$ , coativando a transcrição mediada pelo receptor estrogênico.

**Figura 1.** Proteínas que interagem com a menin e estrutura da menin para interação protéica seletiva.



(A) Quatro tipos de interação protéica com a menin baseada em suas funções celulares: ativadores da transcrição, repressores da transcrição, proteínas de sinalização celular e outras proteínas. (B) Representação do complexo menin com MLL1.MBM. (C) Estrutura ternária do complexo menin com MLL1MBM-LBM e LEDGFIBM. (D) Estrutura cristalizada da menin em complexo com JunD.(B–D).

Fonte: (Matkar *et al.*, 2013)

Pelo menos dois mecanismos têm sido propostos para justificar a tumorigênese na NEM1. Um seria que a inativação da menin levaria JunD a promover o crescimento tumoral (Agarwal *et al.*, 2003). O segundo seria que a perda da regulação da menin dos genes supressores tumorais p 18 e p 27 levaria ao desenvolvimento de tumores (Milne *et al.*, 2005).

A versatilidade das funções da proteína menin em diferentes tecidos pode ajudar a compreender a seletividade para determinados tecidos na NEM1 e a variabilidade da expressão fenotípica mesmo entre familiares (Falchetti *et al.*, 2017).

Estudos em tecidos endócrinos mostraram que a expressão da menin tem papel importante no desenvolvimento de alterações na paratireoide e adrenais, mas parece ser de pouca importância em tumores de tireóide (Bhuiyan *et al.*, 2000). Lodewijk *et al.*, 2015 demonstraram que não há diferença na prevalência de tumores tireoidianos entre portadores de NEM1 e não portadores da doença e que a expressão da menin em tecido tumoral tireoidiano de portadores da doença não se encontra reduzida, diferente do que ocorre em tumores associados à doença.

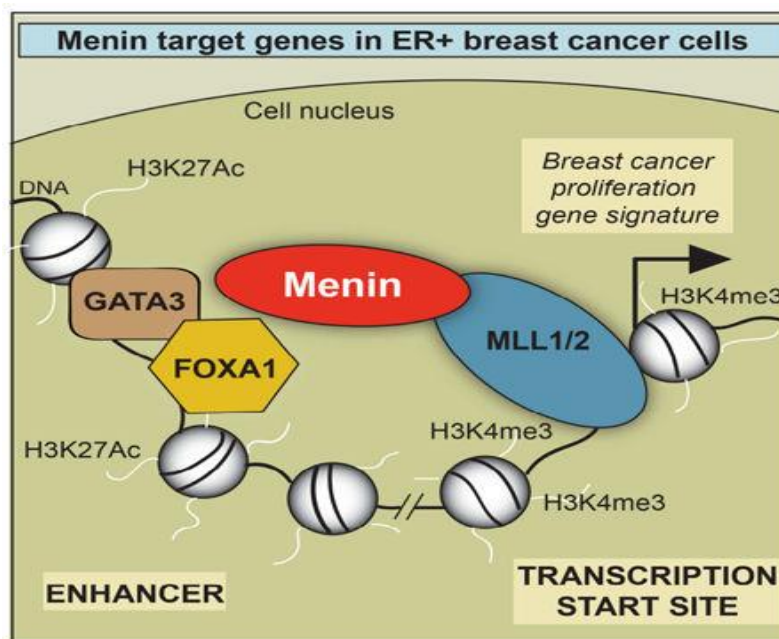
A ação da menin pode ser heterogênea no processo de tumorigênese, funcionando como supressor em órgãos endócrinos, mas podendo atuar como promotor tumoral em células mielóides (Balogh *et al.*, 2006). No melanoma cutâneo também é observada ação da menin como supressora de fenótipos agressivos por diversas vias de sinalização (Gao *et al.*, 2010).

Dreijerink *et al* demonstraram que menin é fundamental para a ativação hormonal via RE $\alpha$ , o que pode ser importante no estudo da etiologia e das manifestações clínicas da NEM1. O fator transcricional menin interage fisicamente com o receptor estrogênico RE $\alpha$ , levando a um aumento da transcrição estrógeno dependente, revelando a menin como um coativador estrogênico direto (Himachi *et al.*, 2010). Menin atua como um regulador do RE $\alpha$  e sua inativação leva a suspensão da transcrição mediada por esse receptor (Dreijerink *et al.*, 2006). Estudos mostram que tumores de mama positivos para menin tem prognóstico pior que tumores negativos, com resposta pior a tratamento anti-estrogênico (Himachi *et al.*, 2009).

O papel da menin do câncer de mama tem sido alvo de muitos estudos. Mulheres portadoras de NEM1 tem um risco aumentado de desenvolver câncer de mama e em idade mais precoce, e já foi observado que tumores mamários nesses pacientes apresentam perda completa do *GENE MEN1* (Dreijerink *et al.*, 2014). Menin parece exercer função antiproliferativa em células progenitoras luminais mamárias, sendo o tumor do tipo luminal, cujo prognóstico é mais favorável, o mais observado nas portadoras de NEM1. A maioria desses tumores expressa RE $\alpha$  e progesterona e a ação supressora da menin em células progenitoras luminais basais independe de RE $\alpha$  (Dreijerink *et al.*, 2017). Em contraste com essa informação, em tumores de mama esporádicos, o *GENE MEN 1* parece estimular a proliferação tumoral. A expressão de menin tem sido associada a resistência à terapêutica hormonal nesses tumores e sua interação com RE $\alpha$ , como coativador, é observada em

aproximadamente 70% dos tumores de mama esporádicos (Imachi *et al.*, 2010). Ação proliferativa similar da menin tem sido demonstrada em receptores androgênicos no câncer de próstata (Malik *et al.*, 2015). RE $\alpha$  tem ainda efeito direto na produção de prolactina pela hipófise e encontra-se expresso em adenomas hipofisários (Drastikova *et al.*, 2016; Shupnink *et al.*, 1998).

**Figura 2.** Interação do complexo protéico menin e RE $\alpha$  no câncer de mama.



Fonte: (Dreijerink *et al.*, 2017)

A influência do estrogênio na regulação do crescimento, diferenciação e função dos órgãos reprodutivos, bem como do sistema cardiovascular e imune em mulheres e homens têm sido alvo de muitos estudos (Heldring *et al.*, 2007).

O estrogênio se liga a dois receptores específicos, RE $\alpha$  e RE $\beta$  que são receptores intranucleares capazes de traduzir sinais extracelulares em respostas transcricionais (Levin, 2001). Tais receptores são sintetizados em diferentes tipos celulares oriundos de diferentes genes (ESR1 e ESR2, localizados nos cromossomos 6 e 14 respectivamente) (Greene *et al.*, 1984; Mosselman *et al.*, 1996). Já é sabido que o estradiol tem similar afinidade por ambos os receptores e que os efeitos endógenos da ligação a esses receptores dependem do ambiente celular e principalmente de proteínas co-ativadoras e co-supressoras (Belcher *et al.*, 2001; Meyers *et al.*, 2001; Nilsson *et al.*, 2011). Estudos demonstram a possibilidade de cooperação, sinergismo ou ação inibitória entre os dois receptores (Thorton, 2002).



Estrógeno e seus receptores estão envolvidos no desenvolvimento e disseminação de vários tumores malignos (quadro 2). A variação na proporção entre RE $\alpha$  e RE $\beta$  em tecidos tumorais corrobora com a idéia de que esses receptores têm diferentes funções na tumorigênese (Marzagalli *et al.*, 2016). Uma característica importante do RE $\beta$  é sua capacidade de modular a atividade biológica do RE $\alpha$  (Weihua *et al.*, 2000) além disso, RE $\beta$  está relacionado à atividade antiproliferativa, evidenciando sua função na supressão tumoral (Acconcia *et al.*, 2005).

**Quadro 2.** Expressão de RE $\alpha$  e RE $\beta$  em lesões tumorais e em pele normal.

	Receptor estrogênico $\alpha$	Receptor estrogênico $\beta$
Tumor de hipófise (Drastikova <i>et al.</i> , 2016)	+	+
TNE de pâncreas (Estrella <i>et al.</i> , 2014)	-	+
TNE de pulmão (Sica <i>et al.</i> , 2008)	+	+
Tumor de tireóide (Rajoria <i>et al.</i> , 2011)	+	+
Tumor de mama (Imachi <i>et al.</i> , 2011)	++	+
Melanoma (Schmidt <i>et al.</i> , 2006)	-	+
Tumor de pele não melanoma (Mancuso <i>et al.</i> , 2009)	+	+
Acrocórdons (Hassan <i>et al.</i> , 2013)	+	+
Pele normal (Kariya <i>et al.</i> , 2005)	++	+

Fonte: próprio autor.

RE $\alpha$  está predominantemente expresso em tecido mamário, útero, cervix, vagina, hipófise e diversos outros órgãos, como a tireóide, enquanto RE $\beta$  está expresso em ovários, próstata, baço, pulmões, hipotálamo e timo. A presença dos dois tipos de receptores estrogênicos na tireóide, como ocorre no tecido mamário, sugere que a alteração na proporção

desses receptores pode ter relação com fisiopatologia do câncer de tireóide (Rajoria *et al.*, 2011). A expressão de receptores estrogênicos  $\alpha$  e  $\beta$  em tumores neuroendócrino-pulmonares foi relatada em diversos estudos (Lodewijk *et al.*, 2015).

Receptores estrogênicos na pele tem sido alvo de muitos estudos, especialmente no processo de envelhecimento cutâneo, mas pouco se sabe a respeito do impacto desses receptores no aparecimento de lesões tumorais cutâneas.

Já é comprovada a ação dos estrógenos no processo de envelhecimento e cicatrização da pele. Em ambos os sexos, a expressão de RE $\beta$  diminui com a idade (Wilkinson *et al.*, 2017). Thornton, demonstrou por imunohistoquímica, que RE $\beta$  é o receptor de estrógeno predominante na epiderme humana na região da cabeça, com expressão mais evidente nas camadas basal e espinhosa. Outros estudos referem ser RE $\alpha$  o receptor estrogênico predominante na pele (Marzagalli *et al.*, 2016; Hassan *et al.*, 2013). RE $\beta$  e RE $\alpha$  estão co-expressos em fibroblastos de pele humana e possivelmente tem um papel importante na regulação da ação estrogênica cutânea (Haczynnski *et al.*, 2002).

A presença de receptores estrogênicos em alguns tumores cutâneos tem sido estudada, através de imunohistoquímica, com o objetivo de estabelecer uma associação entre a ação hormonal e malignidade cutânea. A expressão predominante de ER $\beta$  tem sido demonstrada em lesões cutâneas melanocíticas benignas e no melanoma cutâneo e tem sido associada a menor agressividade tumoral e ao melhor prognóstico de melanoma em mulheres (Marzagalli *et al.*, 2016).

A expressão significativa de receptores estrogênicos em acrocordons, em contraste com pele normal e perilesional, foi demonstrada por imunohistoquímica em estudo de Hassan *et al.* Kariya *et al.*, estudaram a expressão de RE $\alpha$ , ER $\beta$ , receptores androgênicos e de progesterona na pele normal e em tumores cutâneos apendiculares, e encontraram expressão importante de RE $\alpha$  em células basais de glândulas sebáceas (82,6%) e na epiderme (47,8%) em pele normal. A expressão do RE $\alpha$  na derme em pele normal foi evidenciada em estudo de Barkry *et al.*, onde a imunomarcagem foi considerada leve a moderada em células do endotélio vascular e em células do estroma.

Embora a prevalência de angiofibromas, lipomas e collagenomas em pacientes portadores de NEM 1 e sua importância como possível marcador precoce da doença tenham sido estudadas, há poucos dados dessa natureza no Brasil. Não foram encontrados estudos sobre a associação entre os tumores típicos de NEM1 e lesões cutâneas, nem descrição de estudo de perfil interfamiliar de lesões cutâneas nesses pacientes.

Apesar de a perda completa do *GENE MEN1* já ter sido demonstrada nas lesões

cutâneas classicamente associadas a NEM1, não foram encontradas na literatura informações acerca da expressão da menin nessas lesões.

A expressão de RE $\alpha$  em colagenomas e angiofibromas não foi avaliada até o momento. A relação entre menin e RE $\alpha$  em outros tecidos já foi demonstrada, porém não é sabido se essa associação se repete na pele.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

- Estabelecer a prevalência de lesões cutâneas em pacientes portadores de neoplasia endócrina tipo 1 e analisar por imunohistoquímica a expressão da proteína menin e do receptor de estrógeno  $\alpha$  nessas lesões.

### 2.2 Objetivos específicos

- Descrever as características semiológicas das lesões segundo localização, tipo.
- Descrever o perfil clinico-epidemiológico e as características semiológicas relacionadas aos pacientes como: sexo, ocupação, naturalidade e procedência, idade de aparecimento das lesões, presença de lesões semelhantes em parentes de primeiro grau.
- Pesquisar a associação entre a presença de lesões cutâneas e os principais tumores associados com a síndrome.
- Pesquisar a existência de um perfil interfamiliar para as lesões cutâneas encontradas.
- Detectar novos casos de NEM-1 através de exame dermatológico nos parentes dos casos índices, ainda assintomáticos.
- Avaliar a expressão da proteína menin em lesões cutâneas relacionadas a NEM 1 e em pele normal.
- Avaliar a expressão de receptores de estrógeno  $\alpha$  em lesões cutâneas relacionadas a NEM 1 e em pele normal.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Desenho do estudo**

Foi realizado um estudo transversal, observacional e descritivo no período de janeiro de 2016 a junho 2017 em pacientes portadores de neoplasia endócrina múltipla tipo 1 (NEM1) e familiares acompanhados no Ambulatório de Neuroendocrinologia do Serviço de Endocrinologia do Hospital Universitário Walter Cantídio, Fortaleza-CE.

#### **3.2 Aspectos éticos**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará sob o parecer nº 1.620.200. Após aplicação e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (apêndices A e B), todos os pacientes foram submetidos a um questionário (apêndice C) para a avaliação clínica e epidemiológica e as lesões cutâneas foram avaliadas pelo exame físico e anamnese dermatológica e por biópsia em alguns casos.

#### **3.3 Amostra**

Foram avaliados 53 pacientes portadores de NEM 1 e 14 familiares (pais, irmãos e filhos) assintomáticos. O diagnóstico clínico da NEM 1 foi estabelecido nos pacientes envolvidos na pesquisa através de 1 dos 2 critérios: ocorrência atual ou anterior de dois ou mais tumores dentre adenoma de paratireoide, adenoma de hipófise e tumor enteropancreático ou 1 ou mais tumores associados a NEM1 em um paciente com parente de primeiro grau com diagnóstico da doença (*Thakker et al., 2012*).

#### **3.4 Coleta de dados clínicos e epidemiológicos**

Após aplicação e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, todos os pacientes foram submetidos a um questionário para a avaliação clínica e epidemiológica (idade, sexo, procedência, ocupação, presença de HPP, TNE e TH, presença de lesões cutâneas, idade de aparecimento das lesões) e as lesões cutâneas foram avaliadas pelo exame físico e anamnese dermatológica e por biópsia em alguns casos.

O exame físico foi realizado com a inspeção visual da pele buscando encontrar lesões específicas. Para avaliação de forma sistemática, o paciente foi posicionado de pé, a seguir despido e inspecionadas as seguintes regiões: cabeça, tórax, abdome, região genital, membros superiores e membros inferiores. As lesões consideradas ao exame físico foram: angiofibromas, lipomas, colagenomas, nevos melanocíticos, acrocordons, ceratoses actínicas e dermatofibromas.

### **3.5 Biópsias de lesões cutâneas**

As biópsias de pele, nos casos selecionados, foram realizadas no Ambulatório do Serviço de Dermatologia do HUWC, com anestésico local (lidocaína 2%) por meio de agulha descartável, punch dermatológico número 4 e sutura com fio nylon e o material encaminhado acondicionado em frasco com formol a 10% para avaliação histopatológica e imunohistoquímica. Para controle de pele positivo da imunohistoquímica, voluntários saudáveis doaram pele normal de abdome que seria descartada por ocasião de cirurgia plástica estética, mediante assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo comitê de ética do HUWC.

### **3.6 Análise histológica**

Foram analisadas 11 amostras de lesões de pele biopsiadas de pacientes portadores de NEM 1 com diagnóstico clínico de colagenoma e angiofibroma e 16 amostras de pele normal de abdômen de doadores saudáveis. Os blocos doadores de pacientes foram inicialmente analisados por lâminas coradas pelo método Hematoxilina-Eosina (HE) para diagnóstico das lesões no Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFC, e posteriormente, reavaliados por outro patologista no Laboratório de Histopatologia do NPDM, onde se procedeu a realização da imunohistoquímica.

### **3.7 Análise por imunohistoquímica**

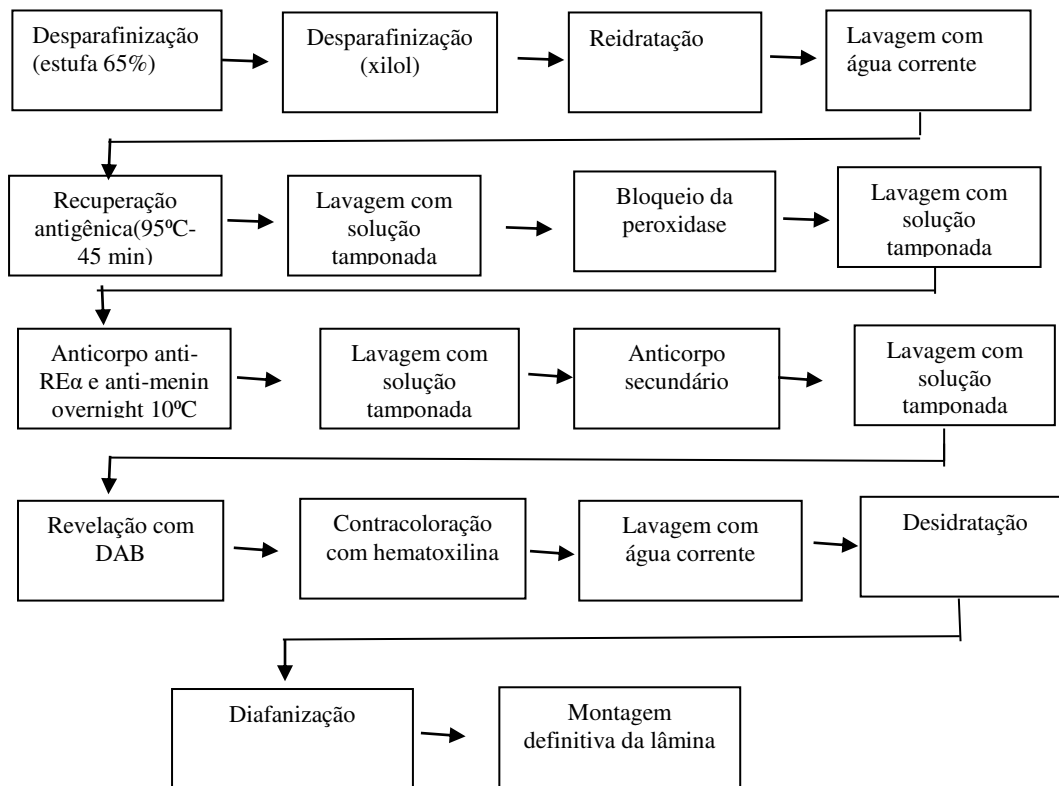
Para realização do procedimento de imunohistoquímica os blocos doadores foram analisados por lâminas coradas pelo método de Hematoxilina Eosina (HE), no intuito de delimitar melhor área representativa do material de cada lâmina.

Foram realizados cortes de 3 $\mu$ m em lâminas silanizadas, que foram colocadas por 1 hora em estufa a 65°C, posteriormente submetidas a 2 banhos de xilol de 5 minutos cada, seguidos de 3 banhos em solução de álcool absoluto a 90, 85 e 70% respectivamente de 3 minutos cada e após, lavagem por 3 minutos em água corrente.

Para recuperação antigênica, as lâminas foram colocadas em banho maria a 95°C por 45 minutos com TRIS EDTA pH 9 para as lâminas que receberiam o anticorpo menin e citrato de sódio pH 6 para as que receberiam o anticorpo para receptor estrogênico  $\alpha$ , conforme orientação do fabricante. Foram realizadas 2 lavagens no PBS cada uma de 5 minutos e o bloqueio da peroxidase foi feito com peróxido de hidrogênio a 3% por 30 minutos e após, 2 lavagens com PBS de 5 minutos cada um.

Em seguida, procedeu-se a colocação das lâminas na câmara úmida para aplicação dos anticorpos primários diluídos, anticorpo *Anti- MEN1(T594) antibody produced by rabbit Sigma®* para menin, cedido pelo Professor Dr. Delmar Muniz, na diluição de 1:100 e o anticorpo *Monoclonal Mouse anti-Human Estrogen Receptor  $\alpha$  Clone 1D5 Dako®* para receptor estrogênico  $\alpha$  na diluição 1:200 e em seguida incubação overnight em geladeira entre 5 a 10 °C por aproximadamente 12 horas. Após esse período, as lâminas foram deixadas em temperatura ambiente por 30 minutos e foram realizadas 2 lavagens com PBS de 5 minutos cada com posterior aplicação do anticorpo secundário *Dako® Envision Plus/HRP* por 45 minutos e após mais duas lavagens com PBS de 5 minutos cada. Em seguida, foi feita revelação por meio de incubação com cromógeno *Dako® DAB* por 10 minutos e depois lavagem com água destilada. Após, foi feita contra coloração com hematoxilina de Harris, durante 10 segundos, lavagem em água corrente, desidratação em álcool absoluto e passagens em xilol, para diafanização. Por último, foram realizadas as montagens das lâminas permanentes utilizando *Entrelan®* (Figura 3).

Os controles positivos foram processados junto com as amostras para assegurar resultados confiáveis na técnica do procedimento de imunohistoquímica. Conforme orientação do fabricante, foram utilizadas como controle positivo tecido de mama normal para receptor estrogênico  $\alpha$  e tecido hepático para a proteína menin.

**Figura 3.** Metodologia para análise imunohistoquímica

Fonte: Próprio autor

### 3.8 Análise estatística

O nível de significância estatística considerado para todas as análises foi  $p < 0,05$ . Os dados foram tabulados no Microsoft Excel e exportados para o software *GraphPad Prism 5.0* para Windows no qual foram feitas as análises com intervalo de confiança de 95%. As diferenças entre os grupos de variáveis categóricas não pareadas foram testadas pelo teste exato de Fisher.

Os preparos histológicos foram analisados em microscópio Leica DM 2000® com aumento de 400X pelo autor do trabalho e por patologista experiente que desconhecia os dados dos pacientes e fotografados pela câmera Leica DFC295®. O software ImageJ foi utilizado para contagem de células.

Foram contadas em cinco microcampos de cada amostra, considerando células perivasculares e células dérmicas, as células positivas e negativas para cálculo do percentual



de imunopositividade. Dois operadores independentes realizaram de forma cega essas contagens e a média do percentual de células positivas dos dois operadores foi considerada como unidade amostral. Foram expressas as médias e erro-padrão da soma dos cinco microcampos de cada amostra, as quais foram submetidas ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e comparadas pelo teste de Mann-Whitney (dados não paramétricos). Adicionalmente, a correlação não linear de Spearman foi realizada em cada grupo para verificar a associação entre os marcadores

## 4 RESULTADOS

### 4.1. Avaliação clínica e epidemiológica

Foram examinados 53 pacientes portadores de Neoplasia Endócrina Múltipla com idade média de 40,3 anos (DP±11,9) e 14 familiares de primeiro grau sem o diagnóstico da doença com idade média de 22,4(DP±10,7), sendo no total 44 (64,7%) mulheres e 23 (35,3%) homens.

Dos 53 pacientes portadores de NEM 1 avaliados, 45(85%) apresentavam uma ou mais lesões cutâneas ao exame clínico dermatológico, dos quais 31(58%) apresentavam colagenomas, 05 (9%) lipomas e 6 (11%) angiofibromas ao exame clínico dermatológico. Ceratoses actínicas foram vistas em 4 pacientes, dermatofibromas em 2 pacientes, nevo melanocíticos em 2 pacientes e acrocordons em 8 pacientes em portadores de NEM1 (Tabela 1).

**Tabela 1.** Lesões dermatológicas encontradas nos 53 portadores de NEM 1 avaliados.

Lesões Dermatológicas	Número de pacientes	Prevalência
Colagenomas	31	58%
Angiofibromas	6	11%
Lipomas	5	9%
Nevos melanocíticos	2	4%
Dermatofibromas	2	4%
Ceratoses actínicas	4	7%
Acrocórdons	8	15%

Em relação aos tumores relacionados à NEM 1, observamos 43(81%) casos de hiperparatireodismo, 35(66%) adenomas de hipófise, 26(49%) tumores enteropancreáticos e 1 paciente do sexo masculino recebeu o diagnóstico de timoma (Tabela 2).

**Tabela 2.** Tumores associados em portadores de NEM 1 avaliados.

<b>Tumores associados a NEM 1</b>	<b>Número de pacientes</b>	<b>Prevalência</b>
Hiperparatireoidismo	43	81%
Tumor de hipófise	35	66%
TNE gastroenteropancreático	26	49%
Tumor neuroendócrino tímico	1	2%

A Tabela 3 descreve as lesões cutâneas e endócrinas encontradas no presente estudo.

**Tabela 3.** Características gerais e distribuição das lesões endócrinas e cutâneas em pacientes com NEM 1 avaliados.

<b>Paciente</b>	<b>Idade na</b>		<b>Sexo</b>	<b>TH</b>	<b>HPP</b>	<b>TGEP</b>	<b>Lesões cutâneas</b>
	<b>avaliação em</b>	<b>anos</b>					
1	21	M	S	S	N	Nevo melanocítico	
2	65	M	CNF	S	Pâncreas NS	Colagenomas	
3	34	M	PRL	N	Pâncreas NS	Colagenomas e lipoma	
4	40	M	N	S	Gastrinoma	Colagenomas e angiofibroma	
5	31	M	CNF	S	N	Colagenomas e lipoma	
6	48	M	N	S	Pâncreas NS	Colagenoma e angiofibroma	
7	31	M	N	S	N/timoma	Colagenoma e angiofibroma	
8	62	M	N	S	Pâncreas NS	Nevo melanocítico	
9	56	F	N	S	Pâncreas NS	Colagenoma angiofibroma	
10	40	F	PRL	S	Pâncreas NS	Colagenoma, lipoma	
11	52	F	N	S	N	Ceratoses actínicas	
12	50	F	PRL	S	Pâncreas NS	Ceratoses actínicas	
13	54	F	PRL	N	Gastrinoma	Colagenomas	
14	34	F	PRL	S	N	Colagenomas	
15	33	F	PRL	S	Pâncreas NS	Colagenomas	
16	40	F	PRL	S	N	Dermatofibroma	
17	43	F	PRL	S	N	Colagenomas	
18	36	F	PRL	N	Insulinoma	Colagenomas	
19	36	F	PRL	S	Insulinoma	Colagenomas	

20	44	F	PRL	N	Gastrinoma	Colagenomas
21	53	F	CNF	S	Pâncreas NS	Colagenomas
22	28	F	PRL	S	Pâncreas NS	Colagenomas
23	32	F	PRL	N	S	Colagenomas
24	25	F	PRL	S	N	Colagenomas
25	41	F	PRL	S	Gástrico tipo II	Colagenomas
26	19	F	N	S	N	Colagenomas
27	62	F	PRL	S	N	Ceratoses actínicas
28	25	M	PRL	N	N	Angiofibroma
29	46	F	N	S	S	Ceratoses actínicas
30	69	M	N	S	N	Lipoma
31	40	F	PRL	S	N	Colagenomas
32	19	F	S	S	N	Dermatofibroma
33	36	M	N	S	N	Acrocordons
34	58	F	S	S	S	Colagenomas
35	31	M	S	N	N	Colagenomas e acrocordons
36	44	M	S	S	N	Acrocordons
37	36	F	S	N	N	Colagenomas, acrocordons
38	50	M	S	S	S	Colagenomas
39	31	M	S	N	N	Múltiplos lipomas, acrocordons
40	40	F	N	S	S	Colagenomas , acrocordons
41	16	M	N	S	N	Colagenomas, acrocordons
42	38	F	S	N	S	Colagenomas, angiofibroma
43	24	M	N	S	S	Acrocordons
44	43	F	N	S	S	Colagenomas
45	44	M	N	S	N	Colagenomas
46	41	M	S	S	S	N
47	38	M	S	S	S	N
48	47	F	S	S	N	N
49	54	M	N	S	N	N
50	28	F	S	S	N	N
51	39	F	N	S	N	N
52	28	M	N	S	N	N
53	42	F	S	S	N	N

TH: Tumor hipofisário; THCNF: Tumor hipofisário clinicamente não funcionante; PRL:prolactinoma; NS:não secretor; HPP: Hiperparatireodismo primário; TGEP: Tumor gastroenteropancreático; S: sim; N: não; M: masculino, F: feminino.

Comparando a presença de apenas uma lesão associada a síndrome com a presença de mais de uma lesão simultaneamente (colagenoma e lipoma ou colagenoma e angiofibroma) não foi demonstrada associação com a presença de hiperparatireoidismo, tumor de hipófise e tumor gastroenteropancreático ( $p=1, 0,2$  e  $0,8$  respectivamente).

Não foi encontrada associação entre a presença de angiofibroma, colagenoma e lipoma em portadores da doença e a presença de hiperparatireoidismo, tumor de hipófise e TNE gastroenteropancreático em comparação com portadores de NEM1 sem essas lesões ( $p=0,9, 0,08$  e  $0,1$  respectivamente).

Comparando a média de idade entre pacientes portadores de NEM1 com colagenomas com pacientes com outras lesões, não houve diferença significativa ( $p= 0,7$ ).

Dos 14 pacientes sem diagnóstico de NEM1, 50% (7) apresentavam alguma das lesões avaliadas no estudo ao exame dermatológico, sendo a maioria do sexo feminino (86%) (Tabela 4). Dos 7 pacientes sem diagnóstico clínico na avaliação e com lesões, foram evidenciados 1 paciente com colagenomas difusos, 1 com colagenomas e angiofibroma, 3 com nevos melanocíticos, 1 com ceratose actínica e 1 com acrocordons. Por ocasião do acompanhamento clínico desses pacientes, um familiar de 15 anos assintomático com lesões de colagenoma no abdome (paciente 2 da Tabela 4) foi posteriormente diagnosticado com a doença por ser parente de primeiro grau de um paciente acompanhado e apresentar tumor hipofisário e insulinoma. Os demais seguem em acompanhamento no serviço.

**Tabela 4.** Características gerais e distribuição das lesões em parentes assintomáticos de portadores de NEM1.

Paciente	Idade na avaliação em anos	Sexo	TH	HPP	TGEP	Lesões cutâneas	Parente com NEM 1
1	46	F	N	N	N	Colagenoma e angiofibroma	Mãe
2	15	F	N	N	N	Colagenomas	Pai
3	16	F	N	N	N	Nevo melanocítico	Mãe
4	11	F	N	N	N	Nevo melanocítico	Mãe
5	34	F	N	N	N	Ceratoses actínicas	Irmã
6	48	F	N	N	N	Acrocordons	Irmão
7	25	F	N	N	N	Nevos melanocíticos	Mãe
8	16	F	N	N	N	N	Mãe
9	15	F	N	N	N	N	Mãe
10	18	M	N	N	N	N	Pai
11	12	F	N	N	N	N	Mãe
12	24	F	N	N	N	N	Mãe
13	34	F	N	N	N	N	Irmãs
14	23	M	N	N	N	N	Mãe

TH: Tumor hipofisário; HPP: Hiperparatireodismo primário; TGEP: Tumor gastroenteropancreático; N: não, F: feminino; M: masculino.

Dos 45 portadores de NEM1 com lesões cutâneas acompanhados, 35 foram agrupados em 8 grupos familiares cujo número de componentes varia entre 2 a 7. Em uma família com 5 pacientes portadores de NEM1 todos os membros apresentaram colagenomas periumbilicais sem apresentar outras lesões cutâneas pesquisadas no estudo. Nas outras famílias a apresentação das lesões cutâneas foi heterogênea (Tabela 5).

**Tabela 5.** Distribuição de 35 dos 45 portadores de NEM 1 com lesões cutâneas por família.

Família	Número de pacientes	Colagenoma	Angiofibroma	Lipoma	Outras lesões
A	7	5	1	1	3
B	5	5	-	-	-
C	5	4	-	-	1
D	5	2	1	1	1
E	3	3	-	1	1
F	3	2	1	-	1
G	2	-	-	-	2
H	5	3	-	-	2

Em relação aos colagenomas, tratavam-se de lesões nodulares ou papulosas, normocrômicas, variando entre 0,2 e 1,2 cm de diâmetro (Figura 4A). Pacientes portadores de NEM1 apresentaram múltiplas lesões pelo corpo, predominando no tórax anterior e no abdome.

Os angiofibromas se apresentaram como pápulas cor da pele ou levemente eritematosas, principalmente na região centrofacial (Figura 5A), sendo uma lesão vista em cada paciente. Dos 6 pacientes com angiofibroma, 5 tinham também colagenomas.

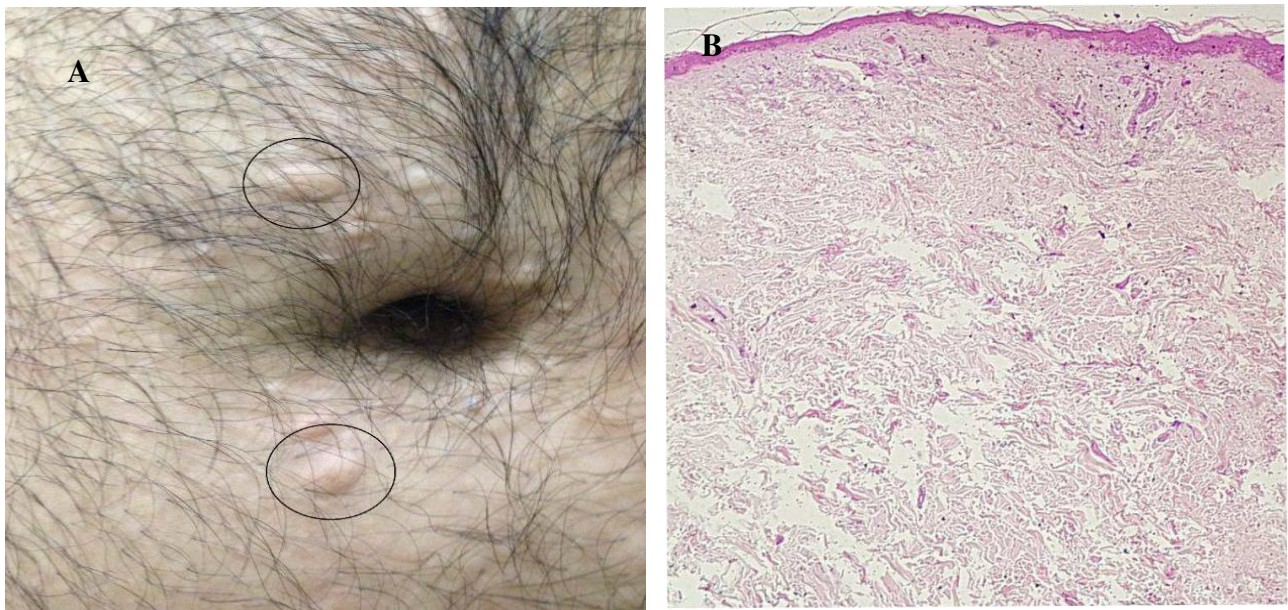
Em relação aos lipomas, as lesões se apresentaram como massas homogêneas, com bordas regulares, indolores, de consistência elástica, móveis à palpação, principalmente em tronco e membros. Dos 5 pacientes com lipoma, 3 tinham também colagenomas. Nenhum paciente apresentou simultaneamente lipomas, angiofibromas e colagenomas.

## 4.2. Análise histológica

Treze lesões sugestivas de collagenoma e as 03 lesões sugestivas de angiofibroma de portadores de NEM1 foram biopsiadas, sendo a suspeita clínica confirmada por histopatológico em 10 e 01 dos casos respectivamente (figuras 4B E 5B).

As 3 lesões cujo diagnóstico de collagenoma não foi confirmado pela avaliação histopatológica, foram diagnosticadas como, nevo epidérmico, dermatite crônica inespecífica e pólipos fibroepiteliais. As 2 duas lesões cujo diagnóstico clínico de angiofibroma não foi confirmado pela avaliação histopatológica foram diagnosticadas como pápula fibrosa nasal.

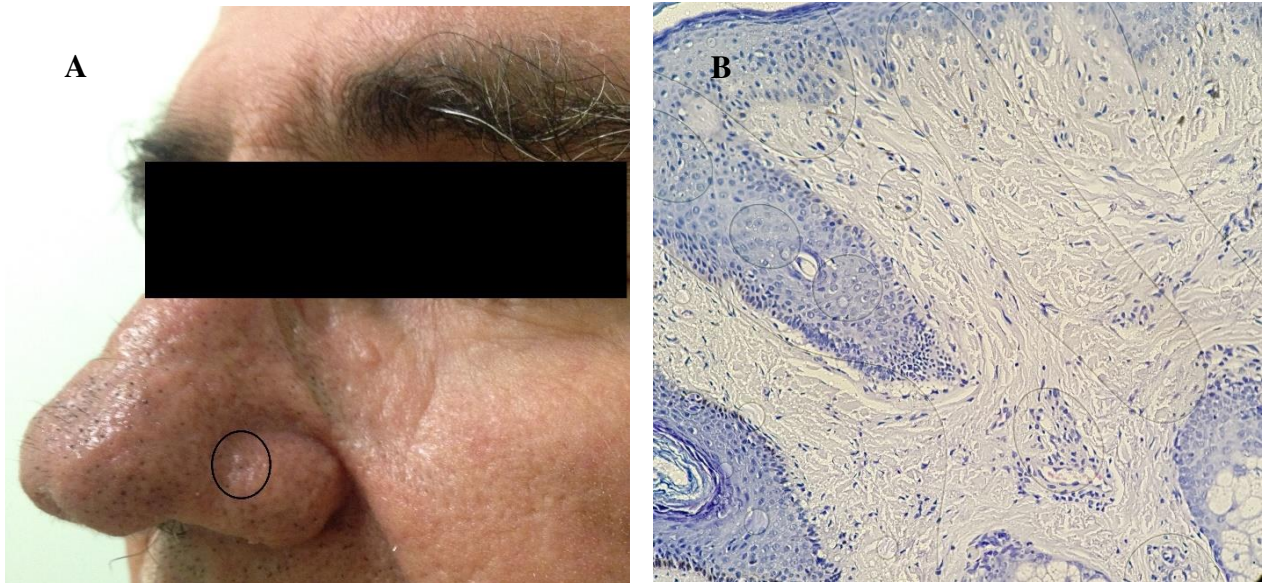
**Figura 4.** Collagenoma em paciente portador de NEM1: lesão cutânea e histopatológico.



A: Múltiplas pápulas endurecidas cor da pele em região periumbilical, B: Espessamento da derme devido ao aumento de fibras colágenas, que estão em parte fragmentadas. Sem evidências de tumores e de anexos cutâneos., aumento de 100X. Elaborado pelo autor.



**Figura 5.** Angiofibroma em paciente portador de NEM1: lesão cutânea e histopatológico.



A: Pápula cor da pele em asa nasal esquerda. B: Leve infiltrado linfocitário ao redor de vasos superficiais e discreta fibrose com fibroblastos de formato estrelado, aumento 100X. Elaborada pelo autor.

### 4.3. Análise imunohistoquímica

O material de 11 biópsias de lesões de colagenoma e angiofibroma e de 16 amostras de pele normal de doadores saudáveis foi submetido a procedimento de imunohistoquímica para pesquisa da expressão de receptor estrogênico  $\alpha$  e da proteína menin.

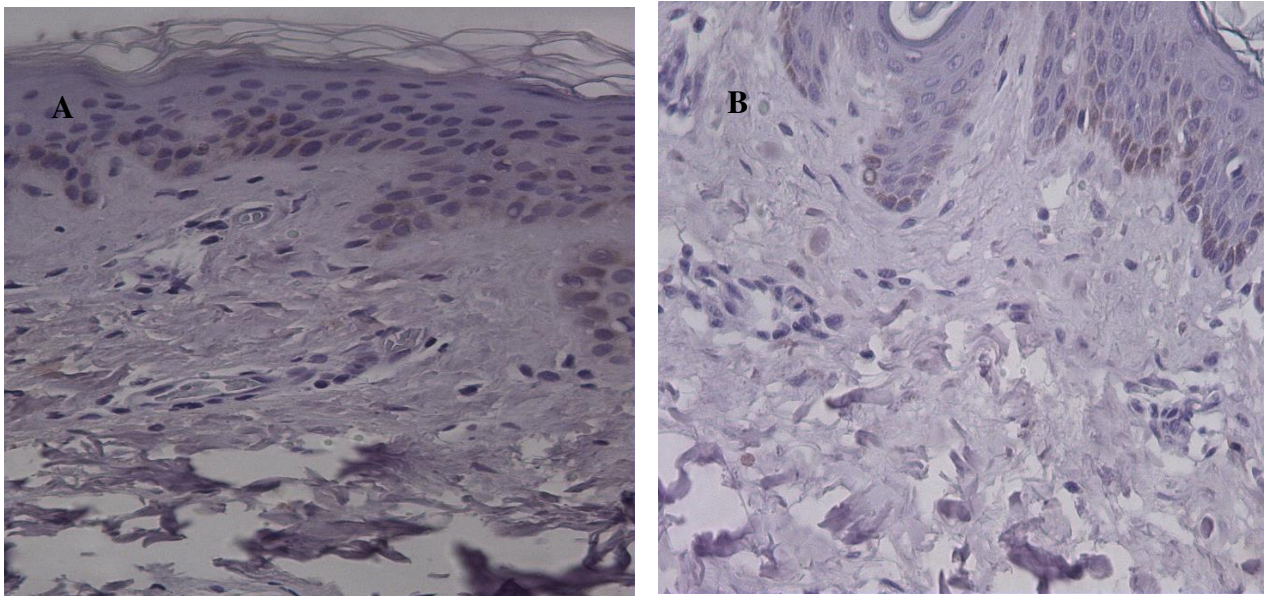
Por se tratar de lesões dérmicas, muito fibrosas e com pequeno número de células e células de pequeno tamanho não foi possível classificar a marcação celular em nuclear e citoplasmática.

Na análise da contagem de células em 5 campos, não foi encontrada diferença significativa nas médias do número de células marcadas para menin, nem nas médias do número de células marcadas para RE $\alpha$  nas lesões cutâneas estudadas ( $p=0,9$  e  $0,2$  respectivamente) nem em pele normal ( $p=1$  e  $0,9$  respectivamente).

A expressão de RE $\alpha$  nas lesões e em pele normal foi avaliada e foi observada marcação semelhante em epiderme, bem como em glândulas sebáceas em ambos os grupos.

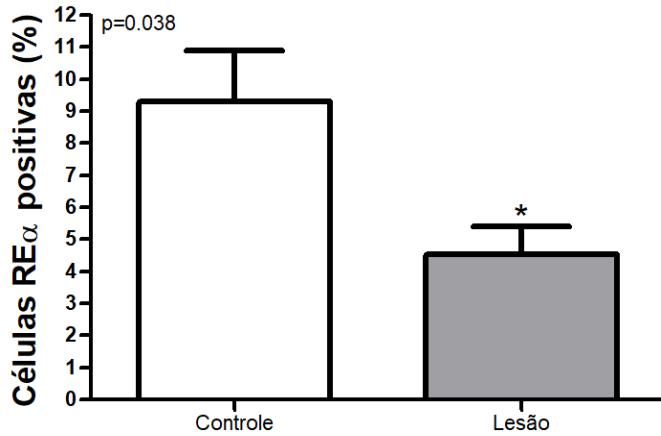
O percentual de imunopositividade para  $ER\alpha$  em células perivasculares da derme foi significativamente menor nas lesões de angiofibroma e colagenoma em comparação com pele normal ( $p=0,038$ ) (Figura 6/ Gráfico 1).

**Figura 6.** Fotomicrografia de pele mostrando imunomarcção para  $ER\alpha$  em derme superficial em colagenoma de portador de NEM1e em pele normal do abdomen de doador sem a doença.



A: Imunomarcção para  $ER\alpha$  em colagenoma de portador de NEM 1, B: Imunomarcção para  $ER\alpha$  em pele normal de doador saudável, aumento de 100X. Elaborado pelo autor.

**Gráfico 1.** Comparação do percentual de imunopositividade de RE $\alpha$  em lesões cutâneas de portadores de NEM1 e pele normal de doadores saudáveis.

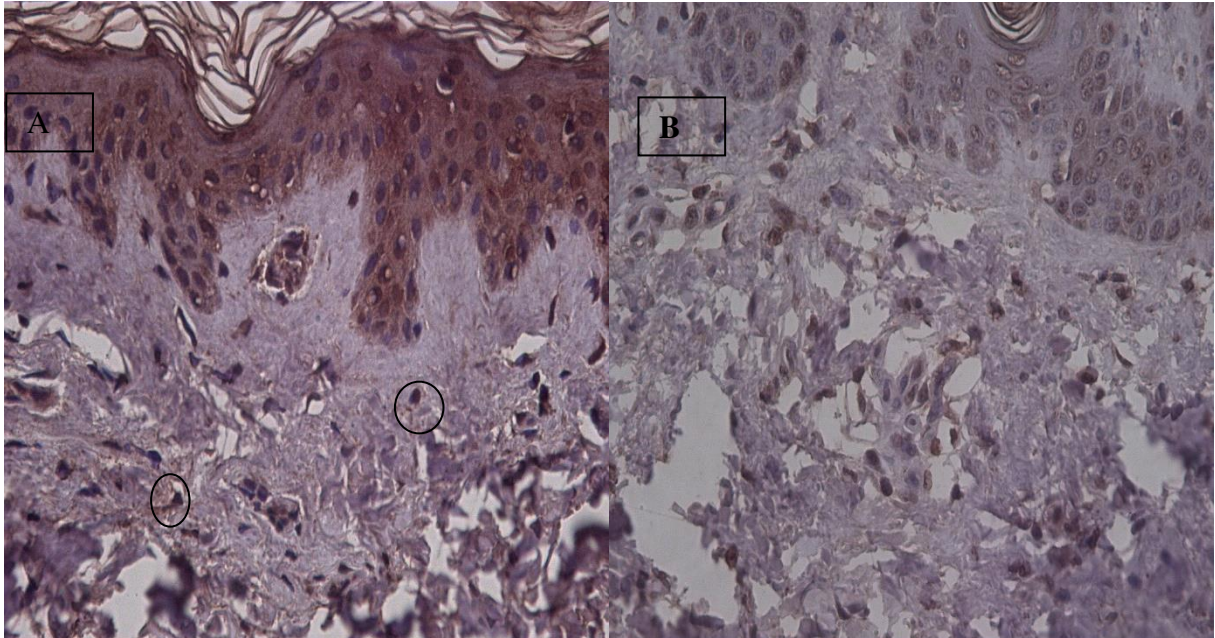


\* $p < 0,05$  lesão versus grupo controle; Teste de Mann-Whitney (Média $\pm$ EPM).

O percentual de imunopositividade para proteína menin em células perivasculares da derme mostrou-se significativamente menor nas lesões de angiofibroma e colagenoma comparando com pele normal ( $p < 0,001$ ) (Figura 7/Gráfico 2).

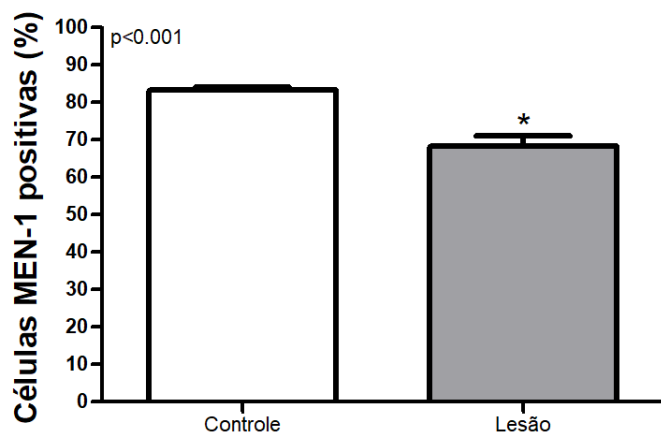


**Figura 7.** Fotomicrografia de pele mostrando imunomarcação para menin em derme superficial em collagenoma de portador de NEM1e em pele normal do abdomen de doador sem a doença.



A: Imunomarcação de menin em collagenoma em abdomen de portador de NEM 1, B: Imunomarcação de menin em pele normal de abdômen de doador saudável, aumento de 100X. Elaborado pelo autor.

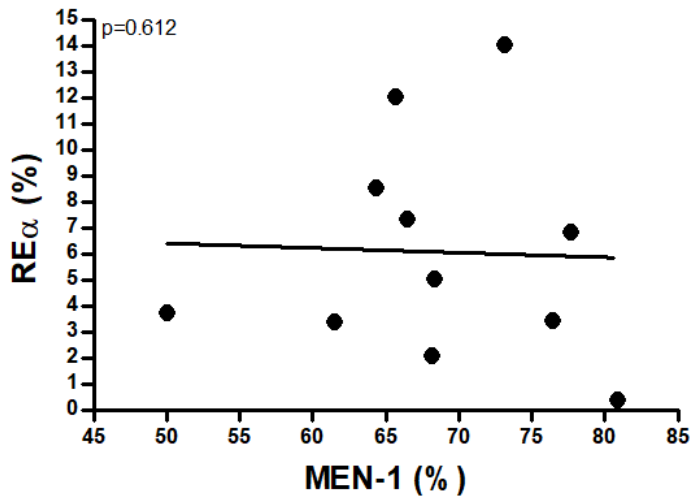
**Gráfico 2.** Comparação do percentual de imunopositividade da proteína menin em lesões cutâneas de portadores de NEM1 e em pele normal de doadores saudáveis.



\* $p < 0,05$  versus grupo controle; Teste de Mann-Whitney (Média $\pm$ EPM).

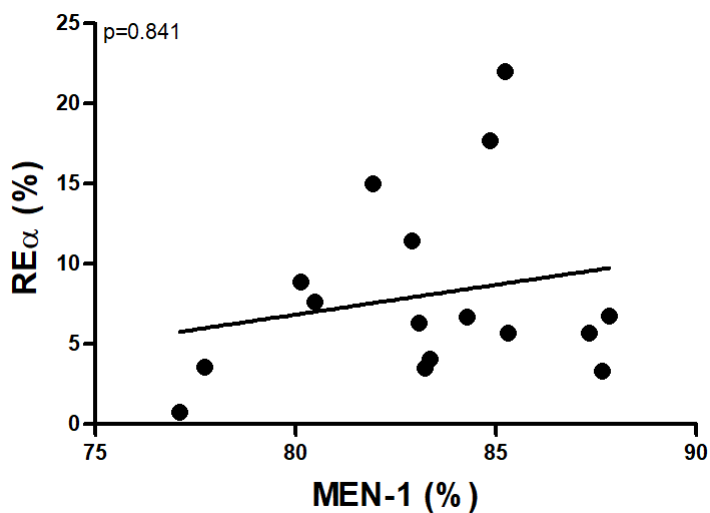
Não foi demonstrada correlação entre a expressão de menin e RE $\alpha$  no grupo lesões cutâneas (Gráfico 3) , nem no grupo de pele normal (Gráfico 4).

**Gráfico 3.** Correlação entre o percentual de imunopositividade de menin e RE $\alpha$  em lesões de angiofibroma e collagenoma.



\* $p < 0,05$  Correlação de Spearman.

**Gráfico 4.** Correlação entre o percentual de imunopositividade de menin e RE $\alpha$  em pele normal.



\* $p < 0,05$  Correlação de Spearman.

## 5 DISCUSSÃO

Estudos relacionados a NEM1 têm sido, na maior parte das vezes, direcionados a tumores endócrinos, no entanto pesquisas recentes têm revelado a importância de outras características clínicas relacionadas a essa síndrome. Lesões cutâneas nesse grupo de pacientes são descritas por diversos autores, sendo algumas relacionadas à síndrome como angiofibromas, lipomas e colagenomas, embora haja variação na frequência de tais lesões em diferentes estudos.

Os achados dermatológicos aqui relatados, notadamente a presença de colagenomas múltiplos em 58% dos pacientes com diagnóstico clínico da doença, deve alertar a comunidade médica para a possibilidade de associação com NEM1, na qual podemos encontrar alta morbidade devido principalmente à presença de TNE gastroenteropancreáticos, quando diagnosticados tardiamente. Enquanto alguns estudos realizados nos Estados Unidos com pacientes portadores de NEM1 observaram colagenomas em 72%, angiofibromas em 88%, e lipomas em 34%(Asgaharian *et al.*, 2004; Hong-Xuan, 1999), outros pesquisadores encontraram menor prevalência de angiofibromas e colagenomas (angiofibromas em 22,2% e ausência de colagenomas) em portadores da síndrome (Vidal *et al.*, 2008). A neoplasia endócrina múltipla tipo 1 é caracterizada por grande heterogeneidade de manifestações clínicas e, até o momento, não foi estabelecida nenhuma relação entre genótipo e fenótipo o que pode então justificar essa diferença em diferentes grupos populacionais (Brandi *et al.*, 2001; Kouvaraki *et al.*, 2002; Cebrian *et al.*, 2003).

Em um estudo realizado por Darling *et al* foram analisadas lesões cutâneas em 32 pacientes com NEM1, 29 dos pacientes apresentaram angiofibromas, 1 paciente apresentou apenas colagenomas e 2 pacientes não apresentaram lesões cutâneas associadas. As alterações glandulares mais encontradas foram hiperparatireodismo, Síndrome de Zollinger-Ellison e hiperprolactinemia respectivamente. No mesmo estudo citado acima, dos 7 pacientes que

apresentavam alterações em hipófise, pâncreas e paratireoide, 5 pacientes apresentavam angiofibromas, colagenomas e lipomas concomitantemente. Nenhum dos pacientes apresentou lipoma isoladamente.

No presente estudo as alterações endócrinas mais encontradas foram hiperparatireodismo (81%), tumor hipofisário (66%) e tumor de pâncreas não secretor (49%), respectivamente, diferindo do estudo acima e associação entre as lesões cutâneas, quanto à presença e ao número, e os tipos tumorais típicos da síndrome não foi demonstrada.

Nenhum dos pacientes estudados apresentou colagenomas, angiofibromas e lipomas simultaneamente e apenas um paciente apresentou lipoma como lesão de pele isoladamente.

Segundo alguns autores, a combinação de múltiplos angiofibromas e pelo menos 1 colagenoma tem alta sensibilidade (75%) e especificidade (95%) para o diagnóstico de NEM1 (Asgharian *et al.*, 2004), sendo assim a avaliação cutânea importante nesses pacientes. No Brasil pouco se sabe quanto à prevalência de lesões cutâneas em pacientes com NEM1 e por isso o real significado de colagenomas e angiofibromas no diagnóstico da síndrome nessa população permanece incerto.

A distribuição de colagenomas, angiofibromas e lipomas nos pacientes com NEM1 não varia significativamente entre os sexos (Asgharian *et al.*, 2004/Trouillas *et al.*, 2008) mas no presente estudo, a prevalência de colagenomas foi maior em mulheres e a prevalência de angiofibromas e lipomas foi maior em homens. Houve também um predomínio de mulheres avaliadas, fato que pode ser justificado por se tratar de uma coorte acompanhada em centro de referência para doenças hipofisárias, com predomínio de prolactinomas.

Caracteristicamente, os angiofibromas na NEM1 são pápulas múltiplas, com poucos milímetros de tamanho, cor da pele ou eritematosos localizados principalmente na região central da face (Xia *et al.*, 2007). Embora a combinação de angiofibromas e colagenomas

sejam sugestivas de NEM1, isoladamente não são patognomônicos dessa síndrome, pois outras doenças, como a esclerose tuberosa, síndrome de Birt-Hogg-Dube e síndrome de Cowden, podem se apresentar com essas lesões (Xia *et al.*,2007; Schaffer *et al.*, 2005). No presente estudo, as características dos colagenomas e sua distribuição foram compatíveis com a literatura (Asgharian *et al.*,2004; Darling *et al.*,1997), entretanto em relação aos angiofibromas o número de lesões foi comparativamente inferior. Sakurai *et al* também encontraram menor prevalência de angiofibromas em pacientes japoneses com NEM1 sem ter encontrado nenhuma justificativa para esse fato. Portanto levanta-se o questionamento se essas e outras populações tem características próprias ou se existe algum fator ambiental relacionado à baixa prevalência e diferença de distribuição de angiofibromas.

Lesões cutâneas amplamente relacionadas a outras síndromes hereditárias também já foram descritas na NEM1, como máculas hipocrômicas e fibromas periungueais solitários, ambos característicos da esclerose tuberosa e manchas café-au-lait, típicas na neurofibromatose (Darling *et al.*,1997). Entretanto, nenhuma dessas lesões foi encontrada nos pacientes avaliados por esse estudo.

Uma vez que a prevalência e as características de algumas manifestações cutâneas encontradas nesse estudo nos pacientes com NEM1 sejam diferentes em alguns aspectos de outros, novas pesquisas são necessárias para avaliar essa relação no Brasil para se entender melhor os motivos responsáveis por essas diferenças

A expressão de receptores estrogênicos na tumorigênese em diferentes tecidos, inclusive em tumores relacionados a NEM1, tem sido alvo de muitos estudos (Imachi *et al.*, 2011; Rajoria *et al.*, 2011). Entretanto, não há registros acerca de sua expressão em lesões de pele em pacientes com diagnóstico clínico de NEM1. Como já foi descrita a ação da proteína *menin* como coativador  $RE\alpha$  em tecido mamário (Dreijerink *et al.*, 2017) e a ação do  $RE\alpha$  como indutor tumoral (Weihua *et al.*, 2000), foi avaliada por imunohistoquímica a expressão



dessas duas proteínas em lesões de angiofibroma e colagenoma em portadores de NEM1.

Foi evidenciada redução na expressão de RE $\alpha$  nas lesões de colagenoma e angiofibroma. A coativação do RE $\alpha$  pela menin em tecido mamário aumenta a expressão desse receptor estrogênico e em portadores NEM1 com tumor de mama esse receptor encontra-se menos exposto, sendo a tumorigênese induzida por outra via (Dreijerink *et al.*, 2014). Nas lesões cutâneas estudadas observamos redução na expressão de menin e de RE $\alpha$ , porém não foi estabelecida correlação entre os dois, o que talvez possa ser explicado por um mecanismo de ação diferente do que ocorre em tecido mamário.

A expressão do RE $\alpha$  na derme se mostrou leve em ambos os grupos, assim como foi descrito em derme de pele normal de abdômen por Bakry *et al.* Kariya *et al.*, demonstraram por imunohistoquímica que a expressão desse receptor na pele é predominante na camada basal da epiderme, o que foi visto também no presente estudo.

Luzi avaliou a expressão da proteína menin e do RNAm do *GENE MEN1* em fibroblastos de pele normal de portadores de NEM 1 e de pacientes saudáveis através de cultura de células. Encontrou diminuição na expressão do RNAm em portadores de NEM1, mas não na expressão da menin comparando com os fibroblastos de doadores saudáveis. Demonstrou nesse estudo que menin possui um mecanismo compensatório autoregulatório para a perda do alelo através da up-regulation da expressão do alelo selvagem do *GENE MEN1* a nível pós-transcricional (Luzi *et al.*, 2010). Esse mecanismo compensatório justifica a presença de células com expressão inalterada da menin mesmo em tecido tumoral em portadores de NEM1. Embora a perda da heterozigozidade já tenha sido demonstrada em lipomas, angiofibromas e colagenomas, não há na literatura estudos relacionados à expressão da menin nessas lesões.

Nesse estudo foi demonstrado por imunohistoquímica redução da expressão da proteína menin em lesões de angiofibroma e colagenoma de portadores de NEM1, o que é

compatível com o achado descrito previamente de perda completa do *GENE MEN1* nessas lesões. Corbo *et al.*, demonstraram por imunohistoquímica uma redução da expressão da menin de 50% em portadores de NEM1 em tecido pancreático tumoral comparando com tecido pancreático normal (Corbo *et al.*,2010). Em tecido tireoidiano tumoral, onde não se observa a perda completa do gene MEN 1 em portadores de neoplasia endócrina múltipla tipo 1, um estudo avaliou por imunohistoquímica a expressão da menin e demonstrou que o seu grau de expressão é maior que em tecido tumoral de mama de portadores da doença (no qual ocorre perda completa do *GENE MEN1*) (Lodewinjk *et al.*, 2015).

Não foi possível demonstrar no presente estudo correlação entre a expressão da menin e de RE $\alpha$ , embora ambos estivessem reduzidos. Diferente do que foi demonstrado em tecido mamário, a redução na expressão da menin em angiofibroma e colagenoma parece não interferir na expressão de RE $\alpha$  nessas lesões. Novos estudos são necessários para estabelecer a via pela qual se dá a redução da expressão de RE $\alpha$  em angiofibromas e colagenomas.

## 5 CONCLUSÃO

O presente estudo evidenciou o predomínio de colagenomas dentre as lesões cutâneas encontradas em portadores de NEM1, com baixa frequência de angiofibromas. A presença de colagenomas em familiar assintomático de portador de NEM1 possibilitou o diagnóstico precoce da doença em um paciente até a conclusão do estudo. A presença de colagenomas deve alertar a comunidade médica quanto à possibilidade de NEM1. Não foi encontrada associação entre angiofibromas e colagenomas e os tipos tumorais clássicos da síndrome. Foi demonstrado que a expressão da proteína menin encontra-se reduzida em colagenomas e angiofibroma, bem como a expressão de RE $\alpha$ , no entanto não foi demonstrada correlação entre a expressão de menin e RE $\alpha$ . Outros estudos são necessários para descrever e esclarecer o mecanismo que leva à redução da expressão do RE $\alpha$  nessas lesões.

## REFERÊNCIAS

- ACCONCIA, F. et al. Survival versus apoptotic 17 $\beta$ -estradiol effect: Role of ER $\alpha$  and ER $\beta$  activated non-genomic signaling. **Journal of Cellular Physiology**, v.20, n.1, p.193-201, 2005.ISSN 1097-4652.
- AGARWAL, S. K. et al. Menin interacts with AP1 transcription factor JunD and repress JunD-activated transcription. **Cell**, v. 96, n.1, p. 143-152, 1999.
- AGARWAL, S. K. et al. Transcription factor JunD, deprived of menin, switches from growth suppressor to growth promoter. **Proc Natl Acad Sci, USA**, v. 100, p. 10770-10775, 2003.
- ASGHARIAN, B. et al. Cutaneous Tumors in Patients with Multiple Endocrine Neoplasm Type 1 (MEN1) and Gastrinomas: Prospective Study of Frequency and Development of Criteria with High Sensitivity and Specificity for MEN1. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 89, n. 11, p. 5328-5336, 2004.
- BALOGH, K. et al. Menin and its interacting proteins: elucidation of menin function. **TRENDS in Endocrinology and Metabolism**, v.17, n. 9, p. 357-363, 2006.
- BARKY, O. A. et al. Immunolocalization of Androgen Receptor and Estrogen Receptors in Skin Tags. **Ultrastructural Pathology**, v. 38, n. 5, p. 344-357, 2014.
- BELCHER, S. M; ZSARNOVSKY A. Estrogenic actions in the brain: estrogen, phytoestrogens, and rapid intracellular signaling mechanisms. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 14, p. 299-408, 2001.
- BHUIYAN, M. M. R. et al. Expression of menin in parathyroid tumors. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, n. 85, p. 2615-2619, 2000.
- BOENT, M. C. et al. Familial Cutaneous Collagenoma: a clinicopathological Study of Two New Cases. **Pediatric Dermatology**, v. 21, n. 1, p. 33-38, 2004.
- BRANDI, M. L. et al. Consensus-Guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 86, n. 12, p. 5658-5671, 2001.
- BURGUESS, J. R. et al. Prolactinomas in a large kindred with multiple endocrine neoplasia type 1: clinical features and inheritance pattern. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 81, n. 5, p. 1841-1845, 1996.
- BUSYGINA, V. et al. Hypermutability in a Drosophila model for multiple endocrine type 1. **Human Molecular Genetic**, v. 13, n. 20. P. 2399-2408, 2004.
- CHANG, K. C. et al. Estrogen receptor (is a novel therapeutic target for photoaging). **Molecular Pharmacology**, v. 77, p. 744-750, 2010.
- CEBRIAN, A. et al. Mutational and gross deletion study of the MEN1 gene and correlation with clinical features in Spanish patients. **Journal of Medical Genetic**, v. 31, p. 40-72, 2003.
- CONEMANS, E. R. et al. Prognostic factors for survival of Men 1 patients with

duodenopancreatic tumors metastatic to the liver: results from the Dmsg Study Group. **Endocrine Practice**, v. 23, p. 641-648, 2017.

CORBO, V. et al. MEN 1 in pancreatic endocrine tumors: analysis of gene and protein status in 169 sporadic neoplasms reveals alterations in the vast majority of cases. **Endocrine-Related Cancer**, v. 17, p. 771-783, 2010.

DARLING, T. N. et al. Multiple Facial Angiofibromas and Collagenomas in Patients with Multiple Endocrine Neoplasia Type 1. **Archives of Dermatology**, v. 133, p. 853-857, 1997.

DEKKERS, O. M. et al. Quality of life is decreased after treatment for nonfunctioning pituitary macroadenoma. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 91, p. 3364-3369, 2006.

DONG, Q. et al. Loss of Heterozygosity at 11q13: Analysis of Pituitary Tumors, Lung Carcinoids, Lipomas, and Other Uncommon Tumors in Subjects with Familial Multiple Endocrine Neoplasia Type 1. **Journal of Endocrinology and Metabolism**, v. 82, n. 5, p. 1416-1420, 1997.

DRATIKOVA, M. et al. Expression profiles of somatostatin, dopamine, and estrogen receptors in pituitary adenomas determined by means of synthetic multilocus calibrators. **Biomed Pap Med Fac University of Palaky Olomouc Czech Republic**, v. 160, n. 2, p. 238-243, 2016.

DREIJERINK, K. M. A. et al. Breast-Cancer Predisposition in Multiple Endocrine Neoplasia Type 1. **New England Journal of Medicine**, v. 371, n. 6, p. 583-584, 2014.

DREIJERINK, K. M. A. et al. Enhancer-mediated oncogenic function of the menin tumor suppressor in breast cancer. **Cell Rep**, v. 18, n. 10, p. 2359-2372, 2017.

DREIJERINK, K. M. A. et al. Menin Links Estrogen Receptor activation to Histone H3K4 Trimethylation. **American Association of Cancer Research**, v. 66, n. 9, p. 4929-4935, 2006.

DREIJERINK, K. M. A. et al. The Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 (MEN1) Tumor Suppressor Regulates Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$ -Dependent Adipocyte Differentiation. **Molecular and Cellular Biology**, v. 29, n. 18, p. 5060-5069, 2009.

ESTRELLA, J. S. et al. Expression of Estrogen-Induced Genes and Estrogen Receptor Beta in Pancreatic Neuroendocrine Tumors: Implications for Targeted Therapy. **Pancreas**, v. 47, n. 3, p. 996-1002, 2014.

FALCHETTI, A. Genetics of Multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome: what's new and what's old (version 1; referees: 3 approved) **F1000Research**, v.6, n. 73, 2017.

FULEIHAN, G. E.; RUBEIZ, N. Dermatologic manifestations of parathyroid-related disorders. **Clinics in Dermatology**, n. 24, p. 281-288, 2006.

GAO, S. et al. Menin represses malignant phenotypes of melanoma through regulating multiple pathways. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 15, n.11, p. 2353-2363, 2011.

GREENE, G.L. et al. Immunochemical studies of estrogen receptors. **Journal of steroid biochemistry**, v. 20, n. 1, p. 51-56, 1984. ISSN 0022-4731.

GUIMARÃES, J. Neoplasias Endócrinas Multiplas. **Acta Med Port.**, n. 20, p. 65-72.

HACZYNSKI, J. et al. Human cultured skin fibroblasts express estrogen receptor alpha and beta. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 10, p. 149-153, 2002.

HASSAN, A. M. et al. Immunohistochemical study of estrogen and androgen receptors in skin tags. **Journal of Microscopy and Ultrastructure**, n. 1, p. 76-83, 2013.

HELDRING, N. et al. Estrogen receptors: how do they signal and what are their targets. **Physiological reviews**, v. 87, n. 3, p. 905-931, 2007. ISSN 0031-9333.

HUGHES, C. M. et al. Menin associates with a trithorax Family histone methyltransferase complex and with the hoxc8 locus. **Molecular Cell**, v. 13, n.4, p. 587-587, 2004.

IMACHI, H. et al. Menin, a product of the *MEN1* gene, binds to estrogen receptor to enhance its activity in breast cancer cells: possibility of a novel predictive factor for tamoxifen resistance. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 122, p. 395-407, 2009.

IMACHI, H. et al. Raloxifen inhibits menin-dependent estrogen receptor activation in breast cancer cells. **Journal Endocrinology. Investigation.**, v. 34, p. 813-815, 2011.

JU, Q. et al. Eruptive cutaneous collagenoma in a Chinese patient. **Journal of Dermatology**, n. 38, p. 399-401, 2011.

KARIYA, Y. et al. Sex Steroid Hormone Receptors in Human Skin Appendage and its Neoplasms. **Endocrine Journal**, n. 52, p. 317-325, 2005.

KIM, Y. S. et al. Stable overexpression of MEN 1 suppresses tumorigenicity of RAS. **Oncogene**, v. 18, n. 43, p. 5936-5942, 1999.

KOUVARAKI, M. A. et al. Genotype-phenotype analysis in Multiple Endocrine Neoplasia type 1. **Archives of Surgery**, v. 137, p. 641-647, 2002.

KUIPER, G. G., et al. Comparison of ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ . **Endocrinology**, v. 138, n. 3, p. 863-870, 1997. ISSN 0013-7227.

LA, P. et al. Tumor suppressor menin: the essential role of nuclear localization signal domains in coordinating gene expression. **Oncogene**, v. 25, p.3537-3546, 2006.

LARSSON, C. et al. Multiple endocrine neoplasia type 1 gene maps to chromosome 11 and is lost in insulinomas. **Nature**, v. 332, p. 85-87, 1988.

LEEUWAARDE, R. S. et al. The future: medical advances in MEN1 therapeutic approaches and management strategies. **Endocrine-Related Cancer**, v. 24, n. 10, p. 179-193, 2017.

- LEVIN, E. R. Invited Review: Cell localization, physiology, and nongenomic actions of estrogen receptors. **Journal of Applied Physiology**, v.91, n.4, p. 1860-1867, 2001. ISSN 8750-7587.
- LODEWIJK, L. et al. Thyroid incidentalomas in patients with multiple endocrine neoplasia type 1. **European Journal of Endocrinology**, v. 172, n. 4, p. 337-342, 2015.
- LUZI, E. et al. Ribozyme-mediated compensatory induction of menin-oncosuppressor function in primary fibroblasts from MEN1 patients. **Cancer Gene Therapy**, v. 17, p. 814-825, 2010.
- MACHENS, A. et al. Age-related penetrance of endocrine tumors in multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1): a multicenter study of 258 gene carriers. **Clinical Endocrinology**, v. 67, n. 4, p. 613-622, 2007.
- MALIK, R. et al. Targeting the MML complex in castration-resistant prostate cancer. **Nature medicine**, v. 21, p. 344-352, 2015.
- MANCUSO, M. et al. Modulation of basal and squamous cell carcinoma by endogenous estrogen in mouse models of skin cancer. **Carcinogenesis**, v. 30, n. 2, p. 340-347, 2009.
- MARINI, F. et al. Multiple Endocrine Neoplasia type 1. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v. 1, n. 38, p. 1750-1752, 2006.
- MARZAGALLI, M. et al. Estrogen Receptor  $\beta$  in Melanoma: From Molecular Insights to Potential Clinical Utility. **Frontiers in Endocrinology**, v. 7, n. 140, p. 1-15, 2016.
- MATKAR, S. et al. Menin: a scaffold protein that controls gene expression and cell signaling. **Trends Biochem Sci**, v. 38, n. 8, p. 394-402, 2013.
- METZ, D. C. et al. Multiple endocrine neoplasia type 1: Clinical features and management. **The Parathyroids**, p.591-646, 1994
- MEYERS, M. J. et al. Estrogen receptor-beta potency-selective ligands: structure-activity relationship studies of diarylpropionitriles and their acetylene and polar analogues. **Journal of Medical Chemistry**, v. 44, p. 4230-4251, 2001.
- MILNE, T. A. et al. Menin and MML cooperatively regulate expression of cyclin-dependent kinase inhibitors. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 102, p. 749-754, 2005.
- MOSSELMAN, S.; POLMAN, J.; DIJKEMA, R. ER $\beta$ : identification and characterization of a novel human estrogen receptor. **FEBS letters**, v. 392, n.1, p. 49-53, 1996. ISSN 0014-5793.
- NILSSON, S. et al. Development of subtype-selective oestrogen receptor-based therapeutics. **Nature revision of drug discovery**, n. 10, p. 778-792, 2011.
- NILSSON, S. et al. Mechanisms of estrogen action. **Physiological reviews**, v. 81, n.4, p. 1535-1565, 2001. ISSN 0031-9333.
- PACK, S. et al. Cutaneous Tumors in Patients with Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 Show Allelic Deletion of the MEN1 Gene. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 110, p. 438-440, 1998.

PANNETT, A. A. J.; THANKKER, R.V. Multiple endocrine neoplasia type 1. **Endocrine Related Câncer**, v. 6, p. 449-473, 1999.

PAREKH, V. I. et al. Consequence of Menin Deficiency in /mouse Adipocytes Derived by in Vitro Differentiation. **International Journal of Endocrinology**, 2015.

PEREZ, A. D. A. et al. Multiple cutaneous collagenomas in the setting of multiple endocrine neoplasia type 1. **Journal of Cutaneous Pathology**, v. 42, p. 791-795, 2015.

RAJORIA, S. et al. Estrogen activity as a preventive and therapeutic target in thyroid cancer. **Biomed pharmacother**, v. 66, 2012. Disponível em :<  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2011.11.010>>.

SAKURAI, A. et al. Frequency of Facial Angiofibromas in Japanese Patients with Multiple Endocrine Neoplasia Type 1. **Endocrine Journal**, v. 47, n. 5, p. 569-573, 2000.

SCHAFFER, J. V. et al. Multiple facial angiofibromas: a cutaneous manifestation of Birt-Hogg-Dubé syndrome. **Journal of American Academy of Dermatology**, v. 53, n. 2, p. 108-111, 2005.

SCHNEPP, R. W. et al. Mutation of suppressor gene Men 1 acutely enhances proliferation of pancreatic islet cells. **Cancer Research**, v. 66, p. 5707-5715, 2006.

SHUPNIK, M. A. et al. Selective expression. Of estrogen receptor alpha and beta isoforms in human pituitary tumors. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 83, p. 3965-3972, 1998.

SICA, G. et al. Immunohistochemical Expression of Estrogen and Progesterone Receptors in Primary Pulmonary Neuroendocrine Tumors. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v. 132, p.1889-1895, 2008.

THANKKER, R. V. Multiple endocrine neoplasia type 1. **Endocrinology and Metabolism clinical**, v. 29, n. 3, p. 541-561, 2000.

THANKKER, R. V. et al. Clinical Practice Guidelines for Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 (MEN1). **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, n. 97, p. 2290-3011, 2012.

THORNTON, M. J. et al. The distribution of estrogen receptor  $\beta$  is distinct for the estrogen receptor  $\alpha$  and the androgen receptor in human skin and pilosebaceous unit. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v. 8, p. 100-103, 2003.

THORNTON, M. J. et al. The biological actions of estrogen on skin. **Experimental Dermatology**, v. 11, p. 487-502, 2002.

TROUILLAS, J. et al. Pituitary tumors and hyperplasia in multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome (MEN1): A case-control study in a series of 77 patients versus 2509 non-MEN1 patients. **American Journal of Surgery and Pathology**, v. 32, n. 4, p. 534-543, 2008.

TRUMP, D. et al. Clinical studies of multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). **QJM**, v.



89, n. 9., p-653-659, 1996.

VIDAL, A. et al. Cutaneous lesions associated to multiple endocrine neoplasia syndrome type 1. **Journal of European Academy of Dermatology and Venerology**, v. 22, p. 835-838, 2008. ISSN 1468-3083.

VORTMEYER, A. O. et al. Perivascular Cell Harboring Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 Alterations Are Neoplastic Cells in Angiofibromas. **Cancer Research**, v. 59, n. 2, p. 274-278, 1999.

WANG, Y. et al. The tumor suppressor protein menin inhibits AKT activation by regulating its cellular localization. **Cancer Research**, v. 72, n. 2, p. 371-382, 2011.

WHEIHUA, Z. et al. Estrogen receptor (ER)  $\beta$ , a modulator of ER $\alpha$  in the uterus. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 11, p. 5936-5941, 2000. ISSN 0027-8424.

WILKINSON, H. N.; HARDMAN, M. J. The role of estrogen in cutaneous ageing and repair. **Maturitas**, v. 103, p. 60-64, 2017.

WUESCHER, L. et al. Insulin regulates menin expression, cytoplasmic localization, and interaction with FOXO1. **American Journal of Physiology and Endocrinology**, v. 301, n. 3, p. 474-483, 2011.

XIA, Y.; DARLING T. N. Rapidly growing collagenomas in multiple endocrine neoplasia type 1. **Journal of American Academy of Dermatology**, v. 57, n. 5, p. 877-880, 2007.

ZHOU, J. H., et al. Immunohistochemical Expression of Hormone Receptors in Melanoma of Pregnant Women, Non-pregnant Women and Men. **American Journal of Dermatopathology**, v. 36, n. 1, p. 74-79, 2014.

**APÊNDICE A- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE:**

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

Idade \_\_\_\_\_ Data de Nascimento \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Sexo ( ) M ( ) F

Naturalidade \_\_\_\_\_

Procedência \_\_\_\_\_

Endereço \_\_\_\_\_

Telefones: \_\_\_\_\_ Profissão \_\_\_\_\_ Cor \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Escolaridade \_\_\_\_\_

**DADOS SOBRE A PESQUISA:**

**Título:** AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DERMATOLÓGICAS E ESTUDO  
HIMUNOHISTOQUÍMICO DA PROTEÍNA MENIN EM PACIENTES PORTADORES DE  
NEOPLASIA ENDÓCRINA MÚLTIPLA TIPO –1

**Pesquisadores envolvidos**

Profa Dra Elisabete Amaral de Moraes

Profa Dra Ana Rosa Pinto Quidute

Prof Dr Wilson Accioly Filho

Prof Dr Carlos Henrique Alencar

Prof Dr Manoel Ricardo Alves Martins

Dra Kayline de Souza Pereira Araújo

Dra Eveline Gadelha Pereira Fontenelle

Dra Michele Renata de Sousa

Dra Karla Linhares

**Nós pesquisadores estamos realizando um estudo que tem por objetivos:**

Acompanhar regularmente os pacientes com diagnóstico de Neoplasia Endócrina Múltipla tipo 1 do Serviço de Endocrinologia e Diabetes do Hospital Universitário Walter Cantídio conforme protocolo de seguimento clínico proposto tendo como base as recomendações científicas atuais.

## **ESCLARECIMENTOS AO PACIENTE SOBRE A PESQUISA**

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa que tem como objetivo principal acompanhar a intervalos regulares todos os pacientes com diagnóstico de Neoplasia Endócrina Múltipla tipo 1 (NEM1) com a realização de exame clínico dermatológico.

Após ser esclarecido e caso concorde em participar, será preenchido durante consulta ambulatorial de rotina um protocolo com dados pessoais de identificação (nome completo, sexo, data de nascimento, endereço e estado civil), assim como dados relacionados à sua doença (presença de sinais e sintomas – o que você está sentindo e alterações relacionadas à sua doença; tempo de diagnóstico – há quanto tempo sua doença foi descoberta; relato de outras doenças endócrinas ou não-endócrinas das quais você é portador; resultados de exames laboratoriais e de imagem por você realizados; detalhamento de todos os medicamentos em uso, relato de tratamentos como cirurgias anteriores, quimioterapia, radioterapia ou outros; histórico de doenças em sua família). O exame físico será realizado conforme rotina e dados importantes poderão ser inseridos na pesquisa. A revisão do seu prontuário será realizada para fins do estudo.

Caso seja necessário, durante sua consulta com o médico dermatologista, o mesmo poderá solicitar a realização de uma biópsia de alguma lesão ou mancha que você apresente na sua pele.

Para isso, será realizada a retirada de pequeno fragmento da sua pele, no local determinado pelo médico. A coleta será realizada por profissional qualificado e todo material usado será descartável, será aplicado um anestésico no local para diminuir o desconforto.

O benefício de tal estudo encontra-se na realização do seu exame de pele, e diagnóstico de alguma lesão que necessite de tratamento e seguimento adequado. Os resultados desta pesquisa não mudarão o acompanhamento do seu caso. Entretanto, no futuro, este estudo poderá ajudar a melhorar o tratamento dos pacientes portadores de Neoplasia Endócrina Múltipla tipo 1.

Os dados coletados durante a pesquisa serão utilizados somente para fins deste estudo. Seus dados clínicos e resultados obtidos com este projeto serão publicados em revistas científicas e apresentados em congressos e reuniões científicas, sendo mantido sigilo quanto a sua identidade. A qualquer momento você poderá ter acesso aos resultados encontrados na pesquisa.

Suas dúvidas quanto a sua doença e a pesquisa serão respondidas. Caso você não queira participar ou queira desistir durante a pesquisa, não haverá nenhum problema e o seu acompanhamento e tratamento continuará da mesma forma, no nosso serviço, sem prejuízo ao seu cuidado. Você não terá nenhum gasto financeiro com essa pesquisa, tendo garantido o sigilo dos dados pessoais utilizados.

## **CONTATOS DOS RESPONSÁVEIS PELA PESQUISA**

- Dra. Kayline de Souza Pereira Araújo (Pesquisadora) CRM 8523/ Telefone: (85) 989008965.  
- Dr. Ana Rosa Pinto Quidute (Pesquisadora) CRM 7116- Universidade Federal do Ceará / Serviço de Endocrinologia e Diabetes do Hospital Universitário Walter Cantídio / Telefone: (85) 3366-8165.

Em caso de dúvida ou alguma consideração sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Ceará – Rua Coronel Nunes de Melo 1127, Rodolfo Teófilo; fone: 3366-8338 – E-mail: [comepe@ufc.br](mailto:comepe@ufc.br)

**CONSENTIMENTO APÓS ESCLARECIMENTO**

Declaro que li o termo de consentimento livre e esclarecido e fui esclarecido pelos pesquisadores, e que tive oportunidade de tirar minhas dúvidas quanto aos procedimentos e tudo que me foi explicado, e que concordo em participar da pesquisa conforme descrita acima.

---

Assinatura do paciente ou seu representante legal (se aplicável)

Data \_\_\_\_\_

---

Assinatura da testemunha (se aplicável)

Data \_\_\_\_\_

Nos casos de pacientes analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva e ou visual.

---

Assinatura do responsável pela aplicação do TCLE

Data \_\_\_\_\_

## APÊNDICE B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

### IDENTIFICAÇÃO DO VOLUNTÁRIO:

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

\_\_\_\_\_ Idade \_\_\_\_\_ Data de Nascimento \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Sexo ( ) M ( ) F

Naturalidade: \_\_\_\_\_

Procedência \_\_\_\_\_

Endereço \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Telefones: \_\_\_\_\_ Profissão \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Cor \_\_\_\_\_

Escolaridade \_\_\_\_\_

### DADOS SOBRE A PESQUISA:

**Título: Avaliação das alterações dermatológicas em pacientes portadores de neoplasia endócrina múltipla tipo-1**

#### Pesquisador Responsáveis:

- Karla Linhares Pinto, Residente de Dermatologia do HUWC-UFC. CRM 15402/Telefone (85) 997277151
- **Kayline de Souza Pereira Araújo, medica dermatologista, mestranda do departamento de fisiologia e farmacologia da UFC**

#### Os pesquisadores estão realizando um estudo que tem por objetivos:

Acompanhar regularmente os pacientes com diagnóstico de Neoplasia Endócrina Múltipla tipo 1 do Serviço de Endocrinologia e Diabetes do Hospital Universitário Walter Cantídio conforme protocolo de seguimento clínico proposto tendo como base as recomendações científicas atuais.

#### ESCLARECIMENTOS AO VOLUNTÁRIO SOBRE A PESQUISA

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa que tem como objetivo principal estudar lesões de pele em pacientes portadores de Neoplasia Endócrina Múltipla tipo 1 (NEM1).

Após ser esclarecido e caso concorde em participar, um fragmento de pele normal seu, que seria descartado por ocasião de cirurgia plástica eletiva, será

utilizado no estudo de lesões de pele de paciente portadores de NEM1.

O benefício de tal estudo encontra-se na possibilidade ajudar a melhorar o tratamento dos pacientes portadores de Neoplasia Endócrina Múltipla tipo 1.

Os dados coletados durante a pesquisa serão utilizados somente para fins deste estudo. Seus dados clínicos e resultados obtidos com este projeto serão publicados em revistas científicas e apresentados em congressos e reuniões científicas, sendo mantido sigilo quanto a sua identidade. A qualquer momento você poderá ter acesso aos resultados encontrados na pesquisa.

Caso você não queira participar ou queira desistir durante a pesquisa, não haverá nenhum problema. Você não terá nenhum gasto financeiro com essa pesquisa, tendo garantido o sigilo dos dados pessoais utilizados.

### **COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

Em caso de dúvida ou alguma consideração sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Ceará – Rua Capitão Francisco Pedro 1290 –Rodolfo Teófilo – 60430-370 – Fortaleza-CE. Fone: 3366-8613 – Fax: (85) 3281-4961 – E-mail: [cephuwc@huwc.ufc.br](mailto:cephuwc@huwc.ufc.br)

### **CONSENTIMENTO APÓS ESCLARECIMENTO**

Declaro que li o termo de consentimento livre e esclarecido e fui esclarecido pelos pesquisadores, e que tive oportunidade de tirar minhas dúvidas quanto aos procedimentos e tudo que me foi explicado, e que concordo em participar da pesquisa conforme descrita acima.

---

Assinatura do paciente ou seu representante legal (se aplicável)  
Data \_\_\_\_\_

---

Assinatura da testemunha (se aplicável)  
Data \_\_\_\_\_

Nos casos de pacientes analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva e ou visual.

---

Assinatura do responsável pela aplicação do TCLE  
Data \_\_\_\_\_

## APÊNDICE C- QUESTIONÁRIO PARA O PROJETO

Avaliação dermatológica em pacientes portadores de neoplasia endócrina múltipla

Ficha do paciente:

Nome:

Registro no HC:

Sexo: feminino  masculino  Endereço:

Telefone de contato:

Atividade profissional:

Exposição a agentes tóxicos (poluentes, derivados de gasolina, tintas, radiações, querosene, operadores de máquinas, borracheiros etc) no presente ou passado: SIM  NÃO

**Se sim, especificar:**

Diagnóstico de NEM-1

Caso índice (primeiro caso familiar acompanhado no serviço com diagnóstico de NEM-1)

Parente com manifestação (novo Nem-1)

Parente sem manifestação de NEM-1 (assintomático)

Se, Caso índice (primeiro caso familiar acompanhado no serviço) OU  Parente com manifestação (novo Nem-1)

**Especificar:**

Hiperpara  Tumor gastroenteropâncreatico  Tumor hipofisário

Outros tumores

Quais :

Questionário dirigido:

Já retirou lesão cutânea previamente a esta avaliação: sim  não

Idade na época:

Local da retirada:

Realizou biopsia:

Laudos da biopsia:

Conhece parentes com as mesmas lesões: sim  não

Avaliação dermatológica:

Idade na avaliação atual:

Quanto surgiram as lesões? idade na época:

Tipo de lesão cutânea:

Localização:

Diagnóstico dermatológico presumido pelo exame clínico:

Diagnóstico dermatológico definitivo após biopsia:

Outras lesões cutâneas não associadas a NEM-1:

Figura de localização das lesões

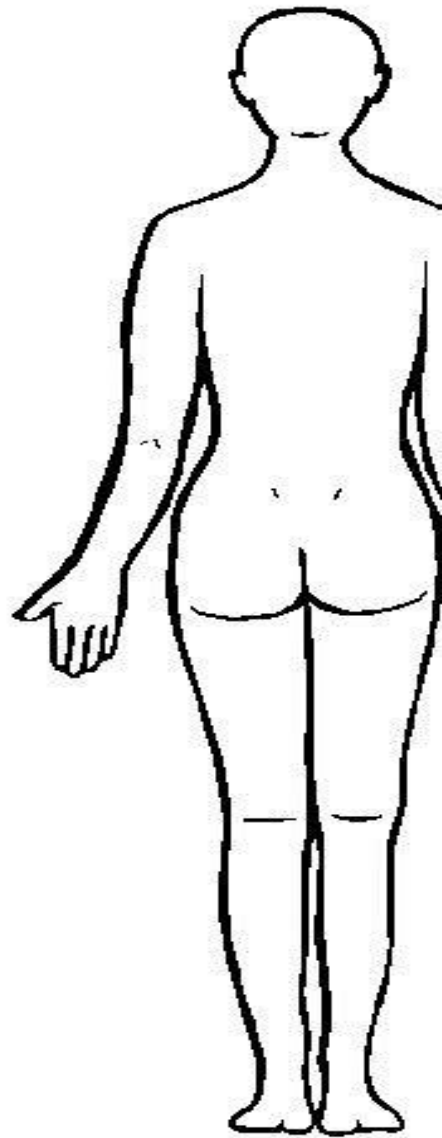
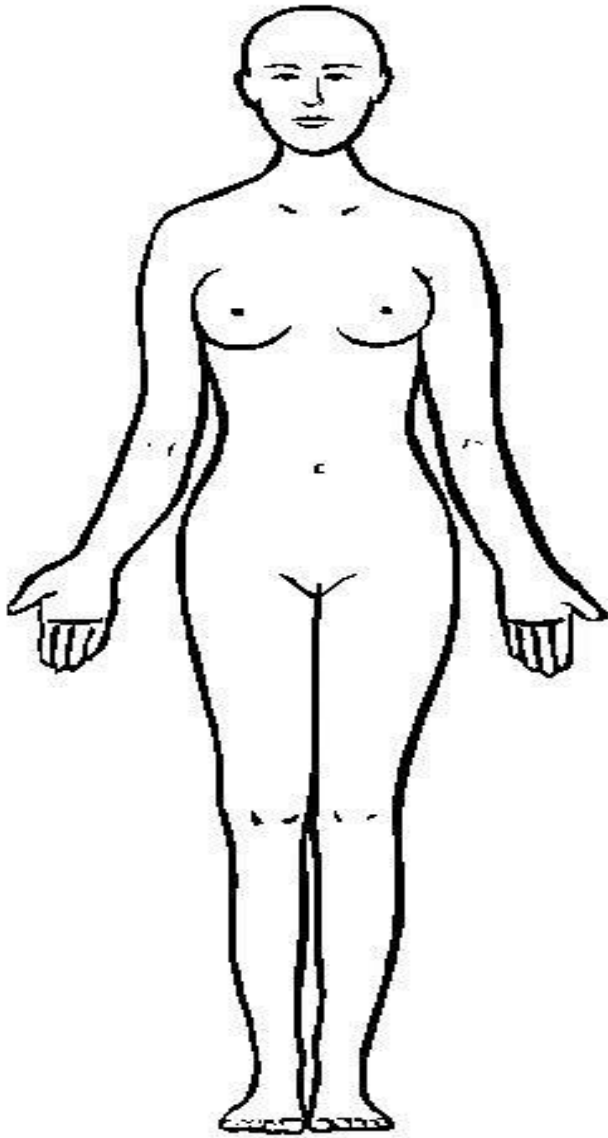




Tabela 6. Características gerais e distribuição das lesões em famílias de portadores de NEM1.

Família	Paciente	Idade na avaliação	Sexo	Tumores associados a NEM1			Lesão cutânea
				TH	HPP	TGEP	
A	1	21	M	CNF	S	N	Nevo melanocítico
A	7	31	M	N	S	N	Colagenoma e angiofibroma
A	9	56	F	N	S	Pâncreas NS	Colagenoma e angiofibroma
A	10	40	F	PRL	S	Pâncreas NS	Colagenoma e lipoma
A	29	46	F	N	S	S	Ceratoses actínicas
A	40	40	F	N	S	S	Colagenomas e acrocordons
A	44	43	F	N	S	S	Colagenoma
B	5	31	M	CNF	S	N	Colagenomas
B	17	43	F	PRL	S	N	Colagenomas
B	18	36	F	PRL	N	Insulinoma	Colagenomas
B	19	36	F	PRL	S	Insulinoma	Colagenomas
B	20	44	F	PRL	S	Gastrinoma	Colagenomas
C	24	25	F	PRL	S	N	Colagenomas
C	25	41	F	PRL	S	Gástrico tipo I	Colagenomas
C	26	19	F	N	S	N	Colagenomas
C	27	62	F	PRL	S	N	Ceratoses actínicas
C	34	58	F	PRL	S	S	Colagenomas
D	22	28	F	PRL	S	Pâncreas NS	Colagenomas
D	28	25		PRL	N	N	Angiofibroma
D	30	69	M	N	S	N	Lipoma
D	31	40	M	PRL	S	N	Colagenomas
D	32	19	F	PRL	S	N	Dermatofibroma
E	2	65	M	CNF	S	Pâncreas NS	Colagenoma
E	3	34	M	PRL	N	Pâncreas NS	Colagenoma e lipoma
E	35	31	M	PRL	N	N	Colagenoma e

F	4	40	M	N	S	Gastrinoma	acrocordons Colagenoma e angiofibroma
F	14	34	F	PRL	S	N	Colagenoma
F	36	44	M	PRL	S	N	Acrocordons
G	11	52	F	N	S	N	Ceratoses actínicas
G	12	50	F	PRL	S	Gastrinoma	Ceratoses actínicas
H	13	54	F	PRL	N	Gastrinoma	Colagenoma
H	16	40	F	PRL	S	N	Dermatofibroma
H	21	53	F	CNF	S	Pâncreas NS	Colagenoma
H	38	50	M	PRL	S	S	Colagenoma
H	33	36	M	N	S	N	Acrocordons

Contagem por campo de células imunomarcadas para menin em lesões cutâneas.

Número de valores	11	11	11	11	11
Mínimo	3,000	3,000	4,000	0,0	7,000
25% Percentil	13,00	9,000	13,00	14,00	11,00
Média	26,00	21,00	18,00	22,00	23,00
75% Percentil	34,00	32,00	41,00	27,00	29,00
Máximo	50,00	39,00	52,00	37,00	37,00
Média	25,36	19,91	23,09	20,27	22,09
Desvio padrão	14,07	12,58	15,30	10,85	10,27
Std. Error	4,241	3,793	4,613	3,270	3,097
IC 95% máximo	15,91	11,46	12,81	12,99	15,19
IC 95% mínimo	34,81	28,36	33,37	27,56	28,99

Contagem por campo de células imunomarcadas para RE $\alpha$  em lesões cutâneas.

Número de valores	11	11	11	11	11
Mínimo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
25% Percentil	1,000	0,0	0,0	0,0	1,000
Mediana	2,000	2,000	0,0	1,000	1,000
75% Percentil	3,000	3,000	1,000	2,000	2,000
Máximo	7,000	9,000	5,000	3,000	4,000
Média	2,091	2,091	0,8182	1,091	1,636
Desvio padrão	1,973	2,809	1,537	1,221	1,120
Std. Error	0,5947	0,8470	0,4635	0,3682	0,3377
IC 95% máximo	0,7658	0,2038	-0,2147	0,2706	0,8839
IC 95% mínimo	3,416	3,978	1,851	1,911	2,389

**Tabela 4.** Contagem por campo de células imunomarcadas para RE $\alpha$  em pele normal.

Número de valores	16	16	16	16	16
Mínimo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
25% Percentil	0,2500	0,0	0,0	1,000	1,000
Mediana	1,500	1,500	0,5000	2,000	2,000
75% Percentil	3,750	3,750	3,500	3,000	3,000
Máximo	6,000	8,000	7,000	6,000	7,000
Média	2,125	1,938	1,875	1,938	2,063
Desvio Padrão	1,996	2,294	2,500	1,611	1,769
Std. Error	0,4990	0,5735	0,6250	0,4028	0,4422
IC 95% mínimo	1,062	0,7151	0,5429	1,079	1,120
IC 95% máximo	3,188	3,160	3,207	2,796	3,005

Contagem por campo de células imunomarcadas para menin em pele normal.

Número de valores	16	16	16	16	16
Mínimo	23,00	40,00	40,00	26,00	23,00
25% Percentil	43,00	52,25	52,00	35,50	47,50
Mediana	60,00	62,50	60,50	65,00	60,00
75% Percentil	79,75	69,25	80,75	70,75	81,50
Máximo	121,0	90,00	93,00	89,00	114,0
Média	65,13	61,44	63,44	58,44	63,69
Desvio padrão	27,13	13,09	16,61	20,80	22,77
Std. Error	6,783	3,272	4,152	5,199	5,692
IC máximo 95%	50,67	54,46	54,59	47,36	51,56
IC mínimo 95%	79,58	68,41	72,29	69,52	75,82