

ISABELLA SANTIAGO DE MELO MIRANDA

DESCRIÇÃO CLÍNICA E MOLECULAR DE FAMÍLIAS COM NEOPLASIA ENDÓCRINA
MÚLTIPLA DO TIPO 1 ACOMPANHADAS NO AMBULATÓRIO DE ENDOCRINOLOGIA
DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA

Brasília
2021

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

ISABELLA SANTIAGO DE MELO MIRANDA

**DESCRIÇÃO CLÍNICA E MOLECULAR DE FAMÍLIAS COM NEOPLASIA
ENDÓCRINA MÚLTIPLA DO TIPO 1 ACOMPANHADAS NO AMBULATÓRIO DE
ENDOCRINOLOGIA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Orientadora: Prof. Dra. Luciana Ansaneli Naves

**Brasília
2021**

ISABELLA SANTIAGO DE MELO MIRANDA

**DESCRIÇÃO CLÍNICA E MOLECULAR DE FAMÍLIAS COM NEOPLASIA
ENDÓCRINA MÚLTIPLA DO TIPO 1 ACOMPANHADAS NO AMBULATÓRIO DE
ENDOCRINOLOGIA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Aprovada em 14 de dezembro de 2021

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Luciana Ansaneli Naves (presidente)

Universidade de Brasília - UnB

Prof. Dra. Adriana Lofrano Alves Porto

Universidade de Brasília - UnB

Prof. Dr. Marcio Garrison Dytz

Centro Universitário de Brasília - CEUB

Dra. Lara Benigno Porto Dantas

Secretaria do Estado de Saúde do Distrito Federal – SES/DF

AGRADECIMENTOS

À minha família pelo apoio incondicional em todos os momentos da minha vida, em especial à minha mãe Ailce, ao meu pai Márcio, ao meu irmão Márcio Felipe e ao meu esposo Rodolfo. Vocês são meu porto seguro!

À minha querida orientadora professora Dra. Luciana Naves pela confiança depositada em mim neste projeto, por ser este exemplo de profissional e mulher que tanto admiro. Foi um uma honra tê-la como minha professora e orientadora.

À Dra. Luciana Valadares pela enorme contribuição em várias etapas deste projeto, por sempre receber as minhas solicitações com paciência e generosidade.

Ao Dr. Gustavo Barra e ao Dr. Pedro Mesquita por todo o conhecimento que compartilharam comigo e pelo auxílio na realização e interpretação da análise molecular.

Ao Dr. Lucas Castro por realizar as ecografias de paratireoide e por todo cuidado que teve com os pacientes do projeto.

Aos residentes de Endocrinologia do HUB pelo envolvimento na coleta de dados durante o atendimento dos pacientes no ambulatório.

À Sandra, secretária do ambulatório de Endocrinologia do HUB, pelo auxílio com os prontuários físicos para coleta dos dados.

Aos meus queridos professores/mestres que contribuíram para minha formação, Dra. Luciana Naves, Dra. Neuza Faria, Dr. João Lindolfo Borges, Dra. Adriana Lofrano, Dr. Juliano Zakir, Dra. Lidiana Bandeira, Dr. Augusto César, Dr. Thomas Alves, Dra. Angélica Amato, Dra. Maria Isabel Jardim, Dr. Vainer Meneghetti, exemplos de sabedoria e generosidade.

Aos pacientes por compreenderem a importância do trabalho e por toda a colaboração, sem vocês esse projeto não seria possível. Espero poder retribuir o carinho e a confiança!

A Deus por todas as bênçãos e por colocar pessoas tão maravilhosas no meu caminho.

RESUMO

A Neoplasia Endócrina Múltipla tipo 1 (NEM-1) é uma síndrome autossômica dominante caracterizada por combinações variáveis de tumores endócrinos e não endócrinos. Por se tratar de uma doença rara e com uma variabilidade fenotípica, o diagnóstico é tardio na maior parte dos casos e esses pacientes podem já se apresentar com complicações decorrentes das neoplasias. Este estudo pretende ressaltar a importância em reconhecer as diversas manifestações clínicas, destacando algumas peculiaridades desses tumores no contexto da NEM-1 quando comparados aos casos esporádicos. Foram revisados 135 prontuários de pacientes com diagnóstico clínico de Tumores Neuroendócrinos com pelo menos dois familiares afetados do banco de dados do Ambulatório de Neuroendocrinologia do Hospital Universitário de Brasília (HUB) e um total de 11 pacientes com diagnóstico clínico de MEN-1 de quatro famílias foram selecionadas. A avaliação genética foi realizada por meio do sequenciamento de alto desempenho. Todos os pacientes apresentavam hiperparatireoidismo primário e a segunda manifestação mais comum foram os adenomas hipofisários. Um indivíduo apresentou lipossarcoma bem diferenciado, achado que não foi previamente descrito na literatura como parte da apresentação clínica da NEM-1. Foram encontradas três variantes previamente descritas no banco de dados e uma variante inédita no exon 2 que parece afetar a interação da proteína menin com a JunD. O estudo foi original e permitiu a caracterização genotípica e fenotípica de famílias com diagnóstico de NEM-1 acompanhadas no ambulatório de Endocrinologia do HUB.

Palavras-chave: Neoplasia Endócrina Múltipla do tipo 1; Hiperparatireoidismo primário; Adenoma hipofisário; Tumor gastroenteropancreático; menin; variantes; teste genético.

ABSTRACT

Multiple Endocrine Neoplasm type 1 (MEN-1) is an autosomal dominant syndrome characterized by variable combinations of endocrine and non-endocrine tumors. Because MEN-1 is a rare disease with a phenotypic variability, diagnosis is late in most cases and these patients may already present with complications resulting from these tumors. This study aims to emphasize the importance of recognizing the heterogeneous clinical manifestations, highlighting some peculiarities of these tumors in the context of MEN-1 when compared to sporadic cases. We reviewed 135 medical records of patients with a clinical diagnosis of Neuroendocrine Tumors with at least two affected family members from the database of the Neuroendocrinology Outpatient Clinic of the University Hospital of Brasília (HUB) and a total of 11 patients with clinical diagnosis of MEN-1 from four families were selected. Genetic testing was performed using High Throughput Sequencing (HTS). All patients had primary hyperparathyroidism and the second most common manifestation was pituitary adenomas. One individual had well-differentiated liposarcoma, a finding that has not been previously described in patients with MEN-1. Three variants previously described in the database and an unpublished variant in exon 2 that appears to affect the interaction of the protein menin with JunD were found. The study was original and allowed the genotypic and phenotypic characterization of families diagnosed with MEN-1 followed at the Endocrinology Outpatient Clinic of the HUB.

Keywords: Multiple Endocrine Neoplasm type 1; Primary hyperparathyroidism; Pituitary adenoma; Gastroenteropancreatic tumor; menin; variants; genetic test.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Histórico da pesquisa em NEM-1.....	19
Figura 2 – Representação esquemática do gene MEN1 e da proteína menin.....	32
Figura 3 – Modelo <i>second hit</i> proposto para a tumorigênese na NEM-1.....	33
Figura 4 – Interações e possíveis efeitos da proteína menin.....	34
Figura 5 – Fluxograma das etapas do estudo.....	45
Figura 6 – Heredograma F1.....	52
Figura 7 – Imunohistoquímica do gastrinoma do indivíduo I.1.....	53
Figura 8 – Campimetria visual do indivíduo II.1.....	55
Figura 9 – RM de sela túrcica com contraste do indivíduo II.1.....	56
Figura 10 – Cintilografia de paratireoides do indivíduo II.1.....	57
Figura 11 – USG da região infraclavicular direita do indivíduo II.1.....	57
Figura 12 – USG de paratireoides do indivíduo II.2.....	58
Figura 13 – RM de sela túrcica do indivíduo III.1.....	60
Figura 14 – Heredograma F2.....	61
Figura 15 – TC de abdome do indivíduo II.6.....	63
Figura 16 – USG de paratireoides do indivíduo II.6.....	64
Figura 17 – Cintilografia de paratireoides do indivíduo II.4.....	67
Figura 18 – RM de sela túrcica do indivíduo II.4.....	67
Figura 19 - USG de paratireoides do indivíduo III.1.....	69
Figura 20 – Heredograma F3.....	70
Figura 21 – RM de sela túrcica do indivíduo II.1.....	71
Figura 22 – Cintilografia de paratireoides do indivíduo II.1.....	72

Figura 23 – TC de abdome do indivíduo II.1.....	73
Figura 24 – Heredograma F4.....	74
Figura 25 – RM de sela túrcica do indivíduo II.2.....	77
Figura 26 – Anatomopatológico e imunohistoquímica do adenoma hipofisário do indivíduo II.2.....	77
Figura 27 – RM de encéfalo do indivíduo III.2.....	79
Figura 28 – Imunohistoquímica do tumor hipofisário do indivíduo III.2.....	80
Figura 29 – RM de sela túrcica do indivíduo III.2.....	81
Figura 30 – Distribuição das mutações germinativas no gene MEN1 identificadas nos indivíduos de cada família do estudo.....	82

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Características das principais neoplasias endócrinas múltiplas de herança autossômica dominante e seus respectivos genes.....	16
Quadro 2 – Prevalência dos tumores endócrinos e não endócrinos em indivíduos com NEM-1.....	18
Quadro 3 – Comparação das características clínicas entre os tumores esporádicos e os associados à NEM-1.....	20
Quadro 4 – Indicações de paratireoidectomia no hiperparatireoidismo primário/NEM-1.....	23
Quadro 5 – Rastreamento bioquímico e radiológico de tumores em indivíduos com NEM-1.....	31
Quadro 6 – Mutações germinativas na NEM-1.....	37
Quadro 7 – Indicações para avaliação genética do gene MEN1.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros clínicos, laboratoriais e de imagem iniciais dos indivíduos da Família 1.....	53
Tabela 2 – Parâmetros clínicos, laboratoriais e de imagem iniciais dos indivíduos da Família 2.....	62
Tabela 3 – Parâmetros clínicos, laboratoriais e de imagem iniciais dos indivíduos da Família 4.....	75
Tabela 4 – Resumo das características fenotípicas e genóticas dos 4 indivíduos submetidos ao teste genético.....	87

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH – Hormônio Adrenocorticotrófico
AD – Autossômica Dominante
AP-1 – Ativador da proteína 1
ASK – Ativador da fase-S quinase
Ca – Cálcio
CDKN1B – inibidor de quinase dependente de ciclina 1B
CMT – Carcinoma Medular de Tireoide
DXA – Densitometria óssea
EUS – Ultrassom Endoscópico
FIPA – Adenoma Hipofisário Familiar Isolado
FIHP – Hiperparatireoidismo Primário Familiar Isolado
GEP – Gastroenteropancreático
GH – Hormônio do crescimento
HPTP – Hiperparatireoidismo Primário
HTS - *High Throughput Sequencing*
IGF-1 – Fator de Crescimento Insulina-Símile – tipo 1
JNK – *c-Jun N-terminal Kinase*
LOH – Perda de heterozigose
MEN1 – Gene da menin
MLL – *Mixed Lineage Leukemia*
MLPA – Amplificação Multiplex de Sondas Dependente de Ligação
NEM – Neoplasia Endócrina Múltipla
NF-1 – Neurofibromatose do tipo 1
NF-kB – Fator nuclear kappa B
NLS – Sinal de localização Nuclear
PAAF – Punção Aspirativa por Agulha Fina
Pit-1 – Fator 1 de transcrição específico Hipofisário
PRL – Prolactina
PKAR1A – Subunidade reguladora tipo 1-alfa da proteína quinase A
PTH – Paratormônio
RET – Proto-oncogene receptor da tirosina quinase

RM – Ressonância Magnética
RPA – Proteína de replicação A
SF1 – Fator Esteroidogênico 1
SIADH – Secreção Inapropriada de Hormônio Anti-diurético
SNC – Sistema Nervosa Central
TBX19 – Fator de transcrição *T-Box* 19
TC – Tomografia Computadorizada
TFG – Taxa de Filtração Glomerular
TGF- β – Fator de crescimento transformador beta
TSH – Hormônio Tireoestimulante
UH – Unidades Hounsfield
USG – Ultrassonografia
VHL – Von Hippel-Lindau
VIP – Peptídeo Vasoativo Intestinal
ZES – Síndrome de Zollinger-Elisson

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 CONCEITOS GERAIS.....	15
1.1.1 Neoplasias Endócrinas Múltiplas	15
1.1.2 Neoplasia Endócrina Múltipla do tipo 1	15
1.1.2.1 Epidemiologia.....	17
1.1.2.2 Histórico.....	19
1.2 SÍNDROMES CLÍNICAS DA NEM1.....	20
1.2.1 Hiperparatireoidismo primário	21
1.2.1.1 Tratamento do Hiperparatireoidismo Primário...22	
1.2.1.1.1 <i>Tratamento cirúrgico</i>	22
1.2.1.1.2 <i>Tratamento farmacológico</i>	24
1.2.2 Tumores neuroendócrinos do trato	
gastroenteropancreático	25
1.2.2.1 Gastrinomas.....	25
1.2.2.2 Insulinomas.....	26
1.2.2.3 Outros tumores gastroenteropancreáticos.....	27
1.2.3 Tumores hipofisários	28
1.2.3.1 Prolactinomas.....	29
1.2.4 Outros tumores	29
1.2.4.1 Tumores adrenais.....	30
1.2.4.2 Tumores carcinoides.....	30
1.3 RASTREAMENTO DE TUMORES EM INDIVÍDUOS COM NEM-1..31	
1.4 ASPECTOS GENÉTICOS.....	32
1.4.1 Gene MEN1	32
1.4.2 Tumorigênese na NEM-1	33
1.4.3 Gene da menin e suas proteínas de interação	34
1.4.4 Mutações no gene MEN1	36
1.4.5 Envolvimento de outros genes na NEM-1	37
1.4.5.1 Gene CDKN1B.....	38
1.4.5.2 Gene AIP.....	39
1.4.6 Fatores epigenéticos	40
1.4.7 Rastreamento genético	40

2	JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO ESTUDO	42
3	OBJETIVOS	43
	3.1 OBJETIVO GERAL	43
	3.2 OBJETIVO SECUNDÁRIO	43
4	MATERIAL E MÉTODOS	44
	4.1 DESENHO DO ESTUDO	44
	4.2 SELEÇÃO DE PACIENTES	44
	4.2.1 Critérios de inclusão	44
	4.2.2 Critérios de exclusão	44
	4.3 PROCEDIMENTOS TÉCNICOS	46
	4.3.1 Avaliação Geral	46
	4.3.2 Avaliação Laboratorial	46
	4.3.2.1 Dosagem de 25 OH vitamina D	46
	4.3.2.2 Dosagem de PTH	46
	4.3.2.3 Dosagem do Cálcio	47
	4.3.2.4 Dosagem de IGF-1	47
	4.3.2.5 Dosagem de Prolactina	47
	4.3.2.6 Dosagem de Gastrina	47
	4.3.3 Avaliação Radiológica	48
	4.3.4 Avaliação Genética	48
	4.3.4.1 Extração de DNA	48
	4.3.4.2 Protocolo de sequenciamento genético	48
	4.3.4.2.1 <i>Preparação de biblioteca para</i>	
	<i>sequenciamento de nova geração</i>	49
	4.3.4.2.2 <i>Análise de genes associados a tumores</i>	
	<i>endócrinos</i>	49
	4.4 PROCEDIMENTOS ÉTICOS	50
5	RESULTADOS	51
	5.1 AMOSTRA DE PACIENTES	51
	5.1.1 Caracterização Fenotípica	51
	5.1.1.1 Família 1	51
	5.1.1.2 Família 2	61
	5.1.1.3 Família 3	70

5.1.1.4	Família 4.....	74
5.1.2	Caracterização Genotípica.....	82
5.1.2.1	Identificação das mutações no gene MEN1.....	82
5.1.2.2	Classificação das mutações encontradas.....	83
5.1.2.2.1	<i>Família 1.....</i>	<i>83</i>
5.1.2.2.2	<i>Família 2.....</i>	<i>84</i>
5.1.2.2.3	<i>Família 3.....</i>	<i>85</i>
5.1.2.2.4	<i>Família 4.....</i>	<i>86</i>
6	DISCUSSÃO.....	88
7	CONCLUSÕES.....	98
8	REFERÊNCIAS.....	99
	APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	126
	ANEXO A – CRITÉRIOS PARA CLASSIFICAÇÃO DE VARIANTES PATOGENICAS (ACGM).....	129
	ANEXO B – DOCUMENTO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA.....	130

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONCEITOS GERAIS

1.1.1 Neoplasias Endócrinas Múltiplas

As Neoplasias Endócrinas Múltiplas são síndromes complexas caracterizadas pela ocorrência de tumores envolvendo duas ou mais glândulas endócrinas em um único indivíduo (1). Existem quatro formas de Neoplasia Endócrinas Múltiplas (NEM), dos tipos 1, 2A, 2B e 4; e cada uma é determinada pela associação de tumores em glândulas endócrinas específicas (2). Todas elas podem ser herdadas com um padrão de herança autossômica dominante ou podem ocorrer de forma esporádica, ou seja, na ausência de história familiar (1,3).

Além das NEM do tipo 1 a 4, também há descrição de outras síndromes associadas a tumores endócrinos e não endócrinos de caráter autossômico dominante, como a síndrome de von Hippel-Lindau, o complexo de Carney, e a Neurofibromatose do tipo 1 (Quadro 1). Elas resultam de mutações em genes envolvidos na regulação do ciclo celular, podendo ser mutações germinativas que levam a inativação de genes de supressão tumoral ou ativação de proto-oncogenes (4,5).

1.1.2 Neoplasia Endócrinas Múltipla do tipo 1

A Neoplasia Endócrina Múltipla do tipo 1 (NEM-1; OMIM 131100) é uma síndrome familiar ou esporádica caracterizada, primariamente, pela ocorrência de tumores nas glândulas paratireoides, no trato gastroenteropancreático (GEP) e na hipófise (1,6,7). Outros tumores endócrinos e não endócrinos também podem ocorrer, como os adrenocorticais, carcinoides, angiofibromas, collagenomas, o câncer de mama, os leiomiomas e lipomas (Quadro 2) (8,9).

Quadro 1 – Características das principais neoplasias endócrinas múltiplas de herança autossômica dominante e seus respectivos genes

Síndrome	Principais manifestações clínicas	Gene
NEM-1	Hiperparatireoidismo primário Tumores enteropancreáticos Adenomas hipofisários	MEN1
NEM-2A	CMT Feocromocitoma Adenomas hipofisários	RET
NEM-2B	CMT Feocromocitoma Neuromas de mucosa Hábito marfanoide	RET
NEM-4	Hiperparatireoidismo primário Adenomas hipofisários Tumores adrenais e renais	CDKN1B
Síndrome de von Hippel-Lindau	Tumores enteropancreáticos Feocromocitoma Hemangioblastoma do SNC Angiomas de retina	VHL
Neurofibromatose do tipo 1	Hiperparatireoidismo primário Feocromocitoma CMT Neurofibroma cutâneo	NF-1
Complexo de Carney	Acromegalia Pigmentação cutânea Mixoma cardíaco Mixoma cutâneo Tumor de células de Sertoli Doença adrenocortical pigmentar nodular primária	PRKAR1A

NEM: Neoplasia Endócrinas Múltipla; MEN1: gene da menin; CMT: Carcinoma Medular de Tireoide; SNC: Sistema Nervoso Central; RET: proto-oncogene receptor tirosina quinase; CDKN1B: inibidor de quinase dependente de ciclina 1B; VHL: gene von hippel-lindau; NF-1: gene da proteína neurofibromina; PKAR1A: subunidade reguladora tipo 1-alfa da proteína quinase A. Adaptado de referência (1,4).

Geralmente a NEM-1 é familiar, apresentando padrão de herança autossômica dominante com elevado grau de penetrância, sendo que as manifestações clínicas e bioquímicas irão ocorrer em 80% e acima de 98%, respectivamente, até a quinta década de vida (1,6,10).

O diagnóstico da NEM-1 pode ser realizado de três maneiras: a) clínico, quando há pelo menos dois dos três principais tumores endócrinos associados (adenomas de paratireoides, tumores neuroendócrinos GEP e adenoma hipofisário); b) familiar, pelo menos um dos principais tumores endócrinos e um parente de primeiro grau com NEM-1 e; c) genético, por meio da identificação de mutação germinativa no gene MEN1 em um indivíduo que pode estar assintomático (1,8).

A maioria dos tumores endócrinos na NEM-1 são benignos e as manifestações clínicas são em decorrência da produção excessiva de hormônios ou por efeito de massa local. Entretanto, alguns tumores estão associados a um aumento no risco de malignidade, como os do trato gastroenteropancreático, os carcinoides brônquicos e os de timo, sendo responsáveis pela elevada morbimortalidade da doença (10,11).

1.1.2.1 Epidemiologia

Estima-se que a prevalência da NEM-1 seja de 1 em cada 30.000 indivíduos (6,12), podendo afetar qualquer faixa etária e sem predileção por gênero (1). A incidência varia de 1-18% em indivíduos com hiperparatireoidismo, 16-38% em indivíduos com gastrinomas e inferior a 3% em indivíduos com adenomas hipofisários (13).

No Brasil, a NEM-1 ainda é pouca estudada, portanto, é possível que a maioria dos pacientes com NEM-1 apresentem-se sintomáticos ao diagnóstico, que geralmente é tardio (14,15). Este atraso no diagnóstico pode resultar em uma maior morbimortalidade e, conseqüentemente em prognóstico desfavorável tanto para o caso-índice quanto para os seus parentes de primeiro grau (16).

Quadro 2 – Prevalência dos tumores endócrinos e não endócrinos em indivíduos com NEM-1

Tipo de tumor	Prevalência estimada
Endócrinos	
Paratireoide Adenoma/Hiperplasia	95%
Tumores GEP *	
Gastrinoma	40%
Insulinoma	10%
Não funcionantes	20%
Tumores hipofisários	
Prolactinoma	20%
Não funcionantes	10%
GH+PRL	10%
GH	5%
ACTH	2%
TSH	5%
Adrenal	
Não funcionantes	30%
Feocromocitoma	< 1%
Carcinoides *	
Brônquio	4%
Timo	2%
Não endócrinos	
Angiofibroma	85%
Colagenoma	70%
Lipoma	30%
Leiomioma	25%
Meningioma	5%

* tumores com potencial de malignidade significativo (> 20% dos casos). GEP: gastroenteropancreático; GH: Hormônio do crescimento; PRL: prolactina; ACTH: Hormônio Adrenocorticotrófico; TSH: Hormônio Tireoestimulante. Adaptado de referência (17).

1.1.2.2 Histórico

O primeiro caso foi descrito por Erdheim em 1903, com um relato da autópsia de um paciente que tinha as quatro paratireoides aumentadas e adenoma hipofisário (18). Underdahl e cols publicaram em 1953 a primeira série com 14 casos sobre pacientes com adenomas endócrinos múltiplos (10). Em 1954, Wermer descreveu a associação de tumores endócrinos com herança autossômica dominante, denominada Adenomatose Endócrina Múltipla, por esta razão, a NEM-1 também é conhecida como Síndrome de Wermer (19).

O fenótipo da NEM-1 foi caracterizado em 1960 após o desenvolvimento de radioimunoensaios para dosagem hormonal (10,20). Porém, foi apenas em 1997 que o gene da proteína menin foi descoberto e mapeado (Figura 1) (18,19).

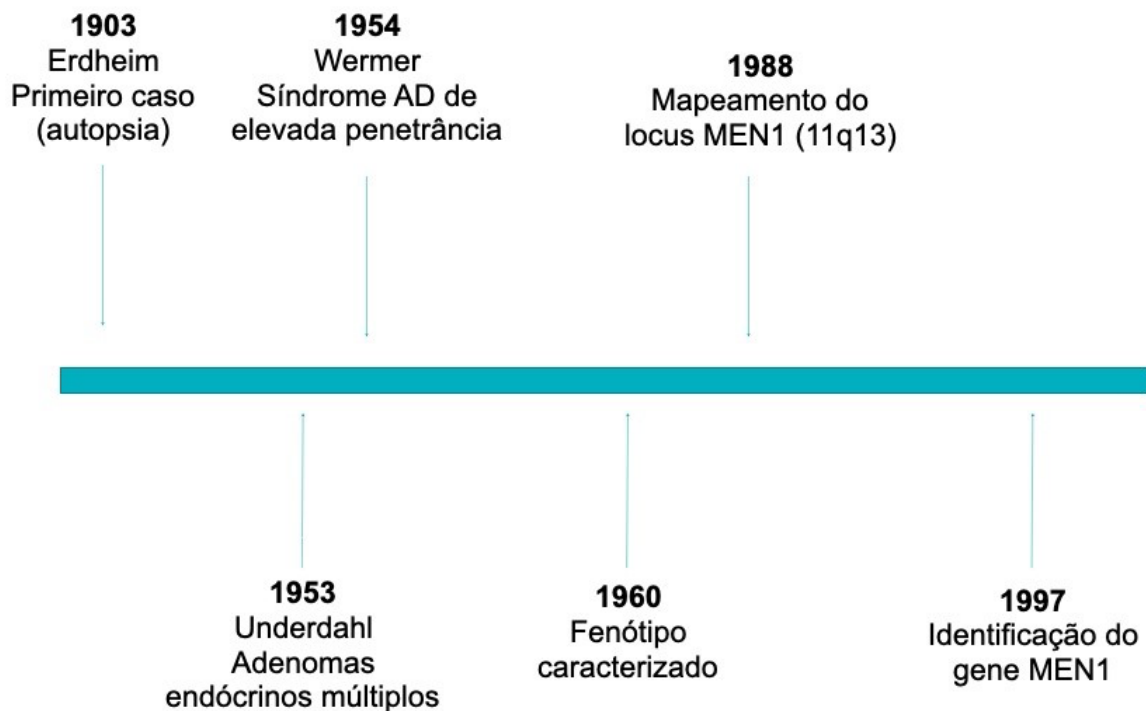


Figura 1 - Histórico da pesquisa em NEM-1. AD: Autossômica Dominante. Adaptado de referência (10).

1.2 SÍNDROMES CLÍNICAS DA NEM-1

As manifestações clínicas irão depender dos locais acometidos pelas neoplasias, bem como pela presença ou não de alterações clínicas em decorrência da hipersecreção hormonal (17). Os indivíduos com NEM-1 comumente apresentam múltiplos tumores em paratireoides, tumores neuroendócrinos GEP e adenomas em hipófise anterior, o que constitui a apresentação clínica “típica” da doença, sendo que outros tumores endócrinos e não endócrinos também podem ocorrer, conferindo uma variabilidade clínica importante nesses pacientes (1,10). Os tumores associados à NEM-1 são clinicamente distintos dos seus casos esporádicos em diversos aspectos (Quadro 3) (10).

Quadro 3 – Comparação das características clínicas entre os tumores esporádicos e os associados à NEM-1

Tumores	Esporádicos	NEM-1
HPTP	Sexta década de vida Adenoma único Feminino/Masculino 3:1 Sem recorrência após cirurgia	Terceira década de vida Múltiplos adenomas/hiperplasia Sem prevalência de gênero Recorrência/persistência após cirurgia Hipoparatireoidismo após cirurgia
Gastrinomas	Quinta década de vida Lesão única Local mais comum: pâncreas	Antes da quinta década de vida Múltiplas lesões Local mais comum: duodeno
Insulinomas	Quarta década de vida Lesão única Sem recorrência após cirurgia	Terceira década de vida Lesão única ou múltiplas lesões Recorrência após cirurgia
Adenomas hipofisários	Microadenomas Melhor resposta terapêutica	Macroadenomas Resistentes ao tratamento convencional

HPTP: Hiperparatireoidismo Primário. Adaptado de referência (10).

1.2.1 Hiperparatireoidismo primário

O hiperparatireoidismo primário (HPTP) é o componente mais comum da NEM-1 e ocorre em aproximadamente 95% dos pacientes (1), com penetrância de quase 100% até a quinta década de vida e pode ser a primeira manifestação em 75 a 90% dos casos (12,21). O diagnóstico é realizado por meio de níveis elevados de cálcio total corrigidos pelo valor da albumina associados a níveis elevados ou inapropriadamente normais de paratormônio (PTH) (1).

Existem algumas diferenças em relação às características do hiperparatireoidismo da NEM-1 e o esporádico. Aproximadamente 80% dos pacientes com a forma esporádica apresentam adenoma único de paratireoide e menos de 10% tem hiperplasia das 4 glândulas (22,23). Todavia, o acometimento de todas as paratireoides na NEM-1 é comum devido à hiperplasia ou a presença de múltiplos adenomas (10,13,24).

As manifestações clínicas variam desde de hipercalcemia assintomática, sintomas inespecíficos, como poliúria, polidipsia e constipação até nefrolitíase, perda de massa óssea e osteíte fibrosa cística (1,22). O carcinoma de paratireoide no contexto da NEM-1 é raro e ocorre com menor frequência em relação ao HPTP esporádico (1,10).

A forma esporádica geralmente se inicia na quinta década de vida com maior prevalência no sexo feminino (3:1), sendo que na NEM-1 a instalação da doença costuma ocorrer por volta da segunda década de vida, acometendo ambos os sexos de forma semelhante (1,25).

O início em idade precoce e a chance de recorrência após a cirurgia expõem cronicamente o paciente a hipercalcemia e reabsorção óssea, o que podem resultar em redução importante da massa óssea e, portanto, um maior risco de osteoporose e fraturas (16,26). Muitos desses indivíduos são acometidos antes mesmo de atingirem o pico de massa óssea.

1.2.1.1 Tratamento do Hiperparatireoidismo primário

1.2.1.1.1 *Tratamento cirúrgico*

A paratireoidectomia é o tratamento definitivo do HPTP, porém muitos aspectos ainda permanecem controversos em relação ao tipo de cirurgia (subtotal ou total), às indicações e ao momento ideal (fase precoce ou tardia da doença) para realização do procedimento cirúrgico (1). Em razão da possibilidade de envolvimento de todas as paratireoides, a cura com tratamento cirúrgico pode ser difícil de ser alcançada (1,24).

As indicações para a realização da cirurgia não são as mesmas que para os casos esporádicos. Recomenda-se que a paratireoidectomia seja reservada para casos sintomáticos e que os indivíduos assintomáticos sejam acompanhados periodicamente em um primeiro momento (Quadro 4) (27). O momento ideal para realização do procedimento deve levar em consideração a experiência do cirurgião de cabeça e pescoço, disponibilidade de calcitriol, acompanhamento bioquímico após a cirurgia e, claro, a preferência do paciente (1,28).

As modalidades cirúrgicas disponíveis são a paratireoidectomia subtotal (remoção de ≤ 3.5 glândulas) ou a paratireoidectomia total com autotransplante em antebraço não dominante (27). Entretanto, ainda permanece em debate qual das duas opções seria a mais adequada (1,28). A paratireoidectomia subtotal pode resultar em persistência ou recorrência da hipercalcemia nos próximos 10 anos após a cirurgia em aproximadamente 30 a 40% dos casos e em hipocalcemia em 10 a 30% dos pacientes (29,30). As taxas de hipoparatireoidismo são maiores na paratireoidectomia total, podendo ocorrer em até 67% dos casos (31,32).

Usualmente, a timectomia está indicada durante a abordagem cirúrgica de escolha para o HPTP, principalmente por ser um procedimento profilático para tumores carcinoides e também pelo fato de o timo poder abrigar tecido paratireoidiano ectópico, o que poderia contribuir para a persistência ou recorrência do HPTP após a paratireoidectomia (28).

Quadro 4 – Indicações de paratireoidectomia no hiperparatireoidismo primário/NEM-1

Critérios para indicação cirúrgica
Hipercalcemia grave (Cálcio sérico \geq 12 mg/dL)
Nefrolitíase
Hipercalciúria (cálciúria > 400mg/24 horas)
TFG < 60ml/min
Redução da massa óssea na DXA ou fratura por fragilidade
Síndrome de Zollinger-Ellison sem controle adequado

HPTP: Hiperparatireoidismo Primário; TFG: Taxa de Filtração Glomerular; DXA: Densitometria mineral óssea. Adaptado de referência (10,17).

Os exames de imagem para avaliação pré-operatória (ex.: ultrassom ou cintilografia de paratireoides) apresentam benefício limitado pois todas as paratireoides podem estar comprometidas, portanto, os seus resultados não afetam a necessidade de exploração cirúrgica bilateral em todos os casos (1). Outrossim, esses exames também possuem valor limitado para identificar tecido paratireoidiano ectópico em aproximadamente 38% dos pacientes, podendo alterar a abordagem cirúrgica em apenas 7% dos casos (33).

A dosagem do PTH no intraoperatório parece ser útil na identificação de tecido paratireoidiano hiperfuncionante (34), sendo que uma redução \geq 75% no PTH parece estar associada a uma maior taxa de cura bioquímica (35).

1.2.1.1.2 *Tratamento Farmacológico*

O cloridrato de cinacalcet (Mimapara® Amgen Biotecnologia do Brasil) é um modulador alostérico que reduz diretamente os níveis de PTH por aumentar a sensibilidade do receptor ao cálcio extracelular. O receptor sensível ao cálcio da superfície celular da glândula paratireoide é o regulador mais importante da secreção de PTH. A administração desse agente calcimimético associa-se a uma redução dos níveis séricos de cálcio (24,36,37,38).

No Brasil, esse fármaco tem sido utilizado para o tratamento do hiperparatireoidismo secundário a doença renal crônica, do carcinoma de paratireoides e do hiperparatireoidismo primário em pacientes que não podem ser submetidos à cirurgia, sendo uma alternativa terapêutica para o controle da calcemia (24,36). O cloridrato de cinacalcet encontra-se disponível pela Farmácia de Alto Custo para as seguintes situações: distúrbios do metabolismo do fósforo (CID-10: E83.3), osteodistrofia renal (CID-10: N25.0) e doença renal em estágio final (CID-10: N18.0).

Esse medicamento pode ser um tratamento alternativo para os casos de HPTP associado à NEM-1 que não possuem critérios para realização da paratireoidectomia, naqueles que apresentaram recorrência após cirurgia ou ainda quando o procedimento cirúrgico não pode ser realizado, seja por comorbidades que aumentem o risco cirúrgico ou recusa do paciente (24,39). Um estudo longitudinal de intervenção com cinacalcet para 33 pacientes com NEM-1 acompanhados durante 12 meses que demonstrou uma redução significativa do calcemia e a medicação foi bem tolerada pela maioria dos pacientes (38).

1.2.2 Tumores neuroendócrinos do trato gastroenteropancreático

A incidência de tumores neuroendócrinos do trato GEP em indivíduos com NEM-1 pode variar de 30 a 80%, sendo geralmente a segunda manifestação mais comum (1,9,40). Esses tumores geralmente são múltiplos e podem secretar vários tipos de hormônios simultaneamente ou serem não funcionantes (40,41). Eles permanecem sendo a principal causa de morte prematura em pacientes com NEM-1 (40). Devido a sua variabilidade clínica e potencial de malignidade imprevisível, o diagnóstico e tratamento dos tumores GEP representam um verdadeiro desafio na prática clínica (42,43).

1.2.2.1 Gastrinomas

Os gastrinomas correspondem a mais de 50% de todos os tumores GEP em pacientes com NEM-1 (1) e aproximadamente 20% dos pacientes com gastrinomas terão o diagnóstico de NEM-1 (44,45,46). Usualmente, os gastrinomas no contexto da NEM-1 são lesões pequenas (<5mm de diâmetro), múltiplas, localizadas preferencialmente na submucosa do duodeno, o que dificulta o tratamento cirúrgico (44). Aproximadamente 50% apresentam metástases ao diagnóstico, sendo que pacientes com metástases hepáticas apresentam pior prognóstico (47).

A forma esporádica geralmente constitui-se de uma única lesão de crescimento lento, localizada em pâncreas ou duodeno, que surgem na primeira e segunda porções do duodeno, medindo < 1cm de diâmetro e frequentemente apresentam metástases para linfonodos regionais ao diagnóstico em 60 a 80% dos casos (44).

Os pacientes costumam apresentar a Síndrome de Zollinger-Ellison (ZES) composta por úlceras pépticas refratárias ao tratamento acompanhadas de dor abdominal, epigastria, náuseas, vômitos, diarreia e, menos frequentemente, perda ponderal (46,47). O diagnóstico é feito pela elevação dos níveis de gastrina sérica em jejum associada a um aumento da secreção de ácido gástrico basal (pH gástrico < 2) (48).

Os inibidores de bomba de prótons (ex.: omeprazol ou pantoprazol) são as medicações de escolha para controle dos sintomas. Alguns pacientes necessitam de tratamento adicional com antagonista do receptor de histamina H2 (ex.: ranitidina) (46). A ZES costuma se manifestar com maior frequência em pacientes com hiperparatireoidismo, portanto, manter a normocalcemia pode melhorar de forma significativa os sintomas e contribuir para redução da gastrinemia em 20% dos casos (49). O tratamento cirúrgico ainda é bastante controverso devido ao fato de os gastrinomas associados à NEM-1 se apresentarem como tumores pequenos e múltiplos e, na maioria das vezes, fica reservado para lesões > 2cm (50).

1.2.2.2 Insulinomas

Os insulinomas ocorrem em 10 a 30% dos pacientes com NEM-1 e geralmente são diagnosticados na terceira década de vida, uma década antes dos casos esporádicos (1). Podem ser a primeira manifestação da NEM-1 em 10% dos casos (25) e podem se apresentar como lesões únicas ou múltiplas de aproximadamente 1 a 4 cm de diâmetro e, na sua maioria, são benignos (51). No contexto da NEM-1, os insulinomas diferem-se dos esporádicos por ocorrerem mais precocemente e por apresentarem maiores taxas de recorrência (1,10).

O quadro clínico se caracteriza por hipoglicemias em jejum e que melhoram após administração de glicose. O diagnóstico é feito por meio do teste do jejum prolongado (72 horas de duração), com dosagem de glicemia, insulina, peptídeo C e pró-insulina (52). O tratamento clínico consiste em fracionar as refeições e o uso de diazóxido ou octreotide, com pouco sucesso terapêutico na maioria dos casos. A abordagem cirúrgica constitui o tratamento de escolha, que pode ser desde a enucleação da lesão até a pancreatectomia parcial ou total (1,25,52).

1.2.2.3 Outros tumores gastroenteropancreáticos

Além dos gastrinomas e insulinomas, outros tumores neuroendócrinos GEP podem ocorrer na NEM-1, como os glucagonomas (<3%); VIPomas e os tumores não funcionantes (25).

As manifestações clínicas características dos glucagonomas são rash cutâneo, perda ponderal e anemia, porém, usualmente os pacientes encontram-se assintomáticos. Ele é geralmente detectado durante rastreamento por imagem do abdome e sua principal localização é na cauda do pâncreas (1).

A identificação de tumores não funcionantes nesses pacientes vem aumentando nos últimos anos, provavelmente devido a melhora na sensibilidade dos métodos de diagnóstico por imagem (1,53). A ausência tanto de uma síndrome clínica quanto de anormalidades bioquímicas específicas pode acarretar no atraso do diagnóstico desse tipo de tumor, portanto, o rastreio por imagem de tumores neuroendócrinos GEP deve se iniciar aos 10 anos de idade (1).

O tamanho do tumor parece ser um fator preditivo de metástase hepática, porém não se sabe sobre outros fatores prognósticos relacionados (53). A pancreatoduodenectomia é recomendada para tumores não funcionantes com diâmetro acima de 2 cm localizados na cabeça do pâncreas, pelo seu maior risco de metástase hepática (54). Entretanto, ainda não há um consenso para o manejo desses tumores não funcionantes em pacientes com NEM-1(41).

1.2.3 Tumores hipofisários

Os adenomas hipofisários isolados são comuns, podendo alcançar uma prevalência de 14.4 a 22.5% por meio de avaliações realizadas com exames radiológicos e autópsias de forma incidental (55). Entretanto os casos familiares são relativamente raros, com uma prevalência de aproximadamente 3%. Os casos familiares podem estar associados a síndromes clássicas como a NEM-1 e o Complexo Carney, bem como no contexto de Adenoma Hipofisário Familiar Isolado (FIPA) (56).

A incidência de tumores hipofisários na NEM-1 pode variar de 15 a 50% em diferentes séries (1). Esses tumores apresentam uma chance duas vezes superior de serem macroadenomas em relação aos casos isolados (85% vs 42% respectivamente) e, portanto, os sinais e sintomas de compressão são mais comuns nesses indivíduos (57,58).

Aproximadamente um terço apresenta características invasivas ao anatomopatológico, tais como infiltração de tecidos adjacentes a hipófise e geralmente são pluri-hormonais. Apesar disto, os carcinomas hipofisários são tão incomuns quanto na doença esporádica (59).

O tratamento irá depender do tipo de tumor e tem como objetivos a redução do volume tumoral, normalização da hipersecreção hormonal e preservação da função hipofisária (60). O manejo consiste no uso de terapias similares às realizadas para os casos esporádicos, entretanto, indivíduos com NEM-1 apresentam tumores mais agressivos e menos responsivos tanto ao tratamento cirúrgico quanto ao farmacológico (58,61).

1.2.3.1 Prolactinomas

A maioria dos tumores hipofisários na NEM-1 são prolactinomas, correspondendo a 60% dos casos e menos de 25% são secretores de GH(57). Os adenomas hipofisários podem ser a primeira manifestação da NEM-1 em 15% dos casos e a média de idade ao diagnóstico é por volta dos 34 anos(56). Outrossim, as mulheres apresentam maior prevalência de tumores hipofisários em relação aos homens (50% vs 31% respectivamente)(1).

A cabergolina é um agonista seletivo do receptor de dopamina D2, sendo considerada terapia de primeira escolha para o tratamento dos prolactinomas (62,63). A maioria dos pacientes apresenta resposta ao tratamento, com regressão do volume tumoral e normalização dos níveis de prolactina, e os não respondedores são submetidos à cirurgia transesfenoidal (64).

1.2.4 Outros tumores

Além dos tumores classicamente retratados na NEM-1 (paratireoides, neuroendócrinos do trato gastroenteropancreático e hipófise), diversas neoplasias já foram descritas nesses pacientes, como: tumores carcinoides, adrenais, lipomas, neoplasia de tireoide, colagenomas e angiofibromas faciais (7,65). Esta ampla variabilidade de tumores e manifestações clínicas tornam a NEM-1 uma síndrome complexa.

1.2.4.1 Tumores adrenais

Os tumores adrenais na NEM-1 apresentam incidência que pode variar entre 20 a 55% (66). Os pacientes geralmente são assintomáticos, uma vez que a maioria dos tumores são não funcionantes. Quando essas lesões são funcionantes, as alterações bioquímicas mais encontradas são o hiperaldosteronismo primário e o hipercortisolismo, sendo rara a ocorrência de feocromocitoma (66,67,68).

As lesões adrenais encontradas durante o rastreamento têm uma maior chance de serem carcinomas quando comparadas aos incidentalomas sem o contexto da NEM-1 (69). O tratamento dos tumores funcionantes é similar aos casos esporádicos e ainda não há consenso em relação a abordagem terapêutica dos não funcionantes (cirurgia ou acompanhamento) (66,70).

1.2.4.2 Tumores carcinoides

Ocorrem em um pouco mais de 3% dos pacientes com NEM-1 e podem estar localizados nos brônquios, trato gastrointestinal, pâncreas ou timo (1) e a maioria são clinicamente silenciosos (71).

Os carcinomas de timo são mais prevalentes em homens, enquanto que os de brônquio são mais frequentes em mulheres (72,73). A presença de carcinoides de timo representa um elevado risco de morte, sendo uma das principais causas de morbimortalidade nos indivíduos com NEM-1 (73,74). A cirurgia é o tratamento de escolha, porém os carcinoides de timo apresentam uma elevada recorrência após a cirurgia (75).

1.3 RASTREAMENTO DE TUMORES EM INDIVÍDUOS COM NEM-1

O rastreio bioquímico e radiológico dos casos assintomáticos em parentes de primeiro grau de indivíduos com NEM-1 é recomendado devido ao benefício do diagnóstico e tratamento precoces, podendo reduzir a morbimortalidade. Esse rastreio inicia-se por volta dos 5 anos de idade em razão da elevada penetrância relacionada à idade e recomenda-se que seja feita anualmente (Quadro 5) (1).

Quadro 5 – Rastreio bioquímico e radiológico de tumores em indivíduos com NEM-1

Tumor	Idade de início	Avaliação bioquímica (anual)	Avaliação por imagem (intervalo)
Paratireoide	8 anos	PTH e Ca	Nenhum
Gastrinoma	20 anos	Gastrina (+/- pH gástrico)	Nenhum
Insulinoma	5 anos	Glicemia de jejum e insulina	Nenhum
Outros	< 10 anos	Cromogranina A, VIP e glucagon	RM, TC ou EUS (anualmente)
Hipófise	5 anos	PRL e IGF-1	RM (a cada 3 anos)
Adrenal	< 10 anos	Nenhum, exceto se clínica ou lesão > 1cm em exame de imagem	RM ou TC (anualmente)
Carcinoide (Brônquio/Timo)	15 anos	Nenhum	RM ou TC (a cada 1 – 2 anos)

PTH: Hormônio da Paratireoide; Ca: Cálcio sérico; PRL: Prolactina; VIP: Peptídeo Vasoativo Intestinal; IGF-1: Fator de Crescimento Insulina-Símile – tipo 1; RM: Ressonância Magnética; TC: Tomografia Computadorizada; EUS: Ultrassom endoscópico. Adaptado de referência (1).

1.4 ASPECTOS GENÉTICOS

1.4.1 Gene MEN1

Em 1998, Larsson e cols. mapearam a localização do gene MEN1 no braço longo do cromossomo 11, região 1, sub-região 13 (11q13) e também demonstraram a perda da heterozigose nesse locus, sugerindo que se tratava de um gene de supressão tumoral (76). Mas foi apenas em 1997, que dois consórcios independentes, um europeu (77) e outro americano (78), realizaram o sequenciamento desse gene. O gene MEN-1 é composto por 10 exons que codificam uma proteína de 610 aminoácidos chamada menin (Figura 2) (10,79,80).

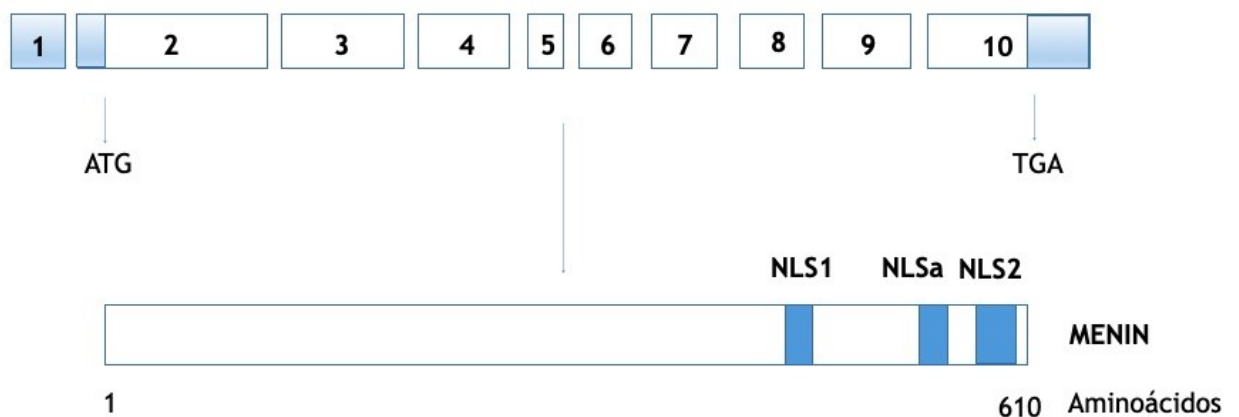


Figura 2 - Representação esquemática do gene MEN1 e da proteína menin. Os códons de início (ATG) no exon 2 e parada (TGA) no exon 10 estão identificados. A proteína menin apresenta 3 sinais de localização nuclear (NLS) nos códons 479-497 (NLS1), 546-572 (NLSa) e 588-608 (NLS2). Adaptado de referência (79).

1.4.1 Tumorigênese na NEM-1

O desenvolvimento de tumores na NEM-1 decorre de dois processos mutacionais. O primeiro ocorre por uma mutação germinativa e o segundo por uma mutação somática, ou seja, que acontece apenas em determinados tecidos (ex.: paratireoides, hipófise, pâncreas e duodeno). Há uma perda do alelo normal devido a uma mutação que surge ao longo da vida do indivíduo, este mecanismo é conhecido por perda da heterozigose (LOH). A LOH ou *second hit* resulta na ausência da proteína ou a presença de uma proteína truncada, sem ação biológica nesses tecidos (Figura 3) (80,81).

Nos casos familiares de NEM-1, os pacientes herdam a inativação de um dos alelos, portanto, basta apenas que uma mutação somática do alelo normal ocorra para o surgimento da tumorigênese. Entretanto, nos casos esporádicos há a necessidade que ocorra duas mutações somáticas do gene MEN1 de uma mesma célula para que aconteça o desenvolvimento de tumores nos determinados tecidos ou glândulas-alvo (4,81,82).

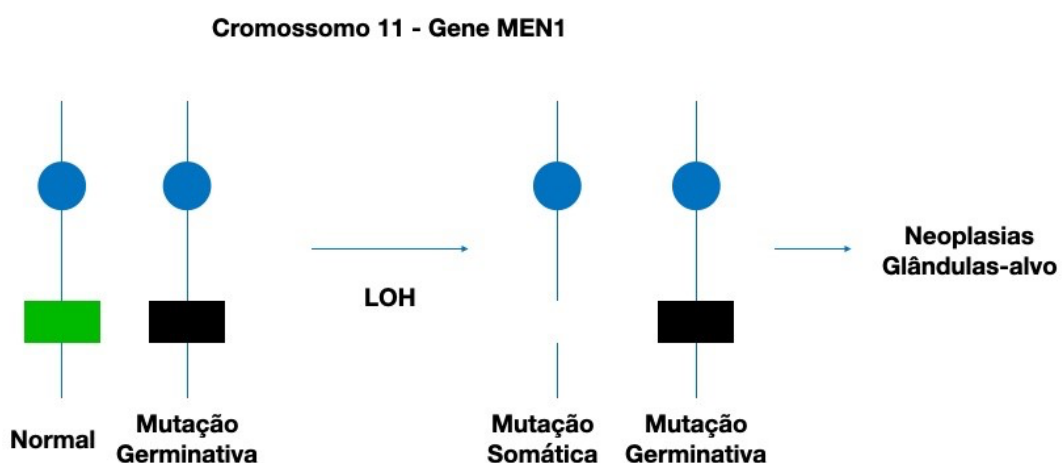


Figura 3 - Modelo *second hit* proposto para a tumorigênese na NEM-1. LOH: Perda da Heterozigose. Adaptado de referência (80,81).

1.4.2 Gene da Menin e suas proteínas de interação

Estudos demonstram que a menin é uma proteína localizada predominantemente no núcleo e apresenta três sinais de localização nuclear (NLS1, NLSa e NLS2), todos situados na porção C-terminal dessa proteína (Figura 2) (79,83,84). Essa localização nuclear sugere que a proteína menin possa ter um papel na regulação da replicação e transcrição do DNA, no ciclo celular e na manutenção da integridade do genoma (Figura 4) (83,84). Entretanto, quantidade menores dessa proteína também são detectáveis no citoplasma e até mesmo na membrana celular (85).

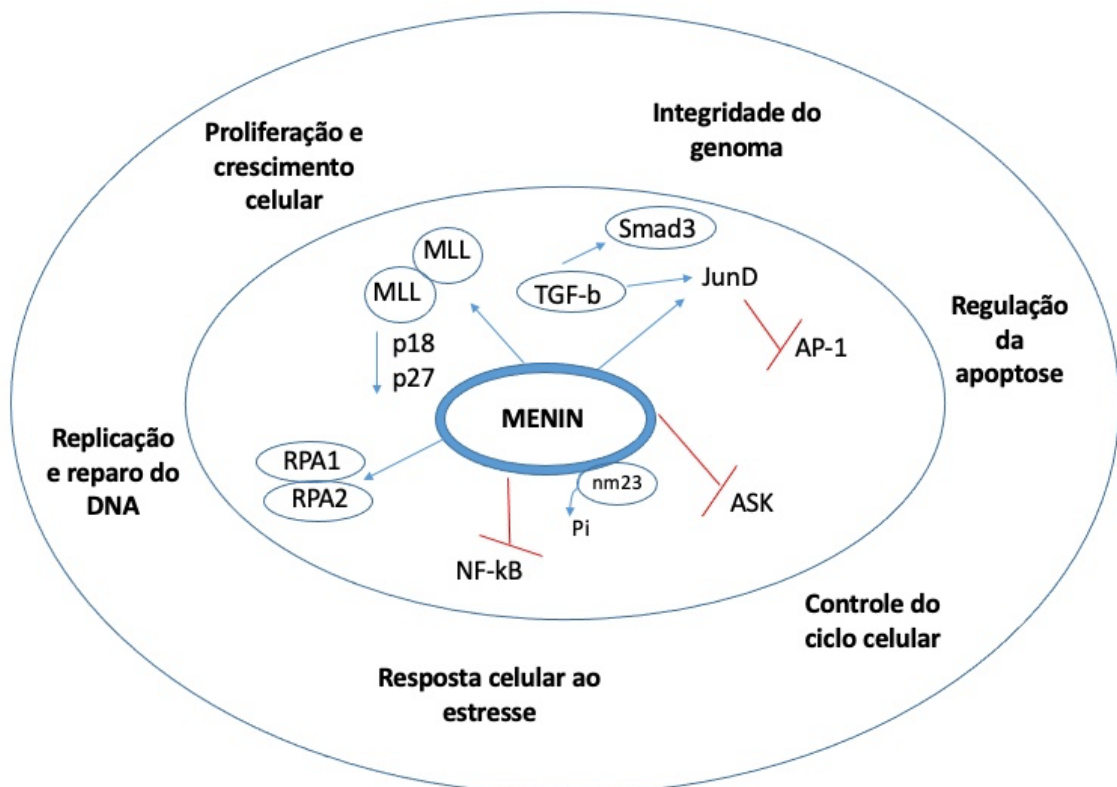


Figura 4 - Interações e possíveis efeitos da proteína menin. As setas azuis representam ativação e as vermelhas indicam inibição. Adaptado de referência (84).

Uma forma de interação importante da menin é por meio da ligação com JunD, um fator de transcrição ativador da proteína-1 (AP-1), bloqueando a atividade de transcrição. Acredita-se que a interação da menin reverta a ação mitogênica do fator de transcrição JunD, formando um complexo supressor de crescimento celular (84,85,86). Além disso, parece que a menin inibe a transcrição gênica mediada pela JunD por um mecanismo adicional que envolve a competição por um sítio de ligação. A JNK (*c-Jun N-terminal Kinase*) fosforila a JunD e, dessa forma, ativa expressão gênica mediada pela JunD. A ligação da menin a JunD bloqueia essa fosforilação pela JNK e se liga a região promotora do gene da gastrina, reprimindo a sua expressão (85,87).

Demonstrou-se que a proteína menin interage com o ativador da fase-S quinase (ASK), componente envolvido na divisão celular. O papel da ASK na proliferação celular *in vivo* parece ser dependente da proteína menin, pois a ASK induz a proliferação celular na ausência da menin (84). Outrossim há descrição de interação da menin com a segunda subunidade da proteína de replicação A (RPA), necessária para que ocorra a replicação e reparo do DNA. Além disso, a RPA parece estar envolvida tanto na regulação da apoptose quanto na expressão gênica (84,88).

A proteína menin também apresenta interação com três membros da família de fator nuclear kappa B (NF-kB), as proteínas NF-kB1 (p50), NF-kB2 (p52) e RelA (p65) (89). Estes fatores de transcrição são reguladores importantes da resposta celular ao estresse, modulando a expressão de diversos genes envolvidos na oncogene em vários órgãos (84). A menin age como repressor da transcrição mediada pela NF-kB, o que resulta em apoptose e retardo do crescimento celular (10).

O fator de crescimento transformador beta (TGF- β) atua como sinalizador citostático, limitando a progressão da fase G₁ e a proliferação celular (84). Ele ativa um complexo de receptores de membrana serina-treonina quinase que fosforila as proteínas Smad2 e Smad3 que se associam a Smad4. Esse complexo formado se transloca para o núcleo e regula a transcrição junto a fatores de transcrição ativadores ou repressores (90). O TGF- β aumenta a expressão da *menin*, por outro lado, uma redução na expressão da *menin* demonstrou ter influência na inibição da proliferação celular mediada pela TGF- β nas células endócrinas, especialmente na hipófise anterior e tecido paratireoidiano (84,91).

1.4.3 Mutações no gene MEN1

Mais de 1,300 mutações germinativas já foram descritas no gene MEN1. Aproximadamente 75% dessas mutações são inativadoras e estima-se que 10% sejam mutações *de novo*, podendo ser transmitidas para gerações futuras (79,92,93).

As mutações podem ocorrer em qualquer localização, portanto, é necessária a realização de um teste genético que avalie todo o gene. Além disso, parece não haver uma correlação entre a localização ou o tipo da mutação e as manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes. Portanto, a ausência de *hot spots* e a dissociação genótipo-fenótipo tornam a análise das mutações no diagnóstico da doença mais difícil (79,94,95).

Aproximadamente 70% das mutações resultam na perda da função da proteína *menin* por meio da geração de uma proteína truncada, como as inserções ou deleções em *frameshift* (40-45%), mutações *nonsense* (14-20%) e mutações nos sítios de *splicing* (~10%). Enquanto que uma pequena parcela ocorre por mutações *missense* (20-25%) (Quadro 6) (12,79,93).

Quadro 6 – Mutações germinativas na NEM-1

Tipo de mutação	Porcentagem
Frameshift	42
Missense	25.2
Nonsense	14
Splicing	10.5
Grandes deleções	2.5
Inserção/deleção in-frame	5.5

Adaptado de referência (12,93).

Sabe-se que aproximadamente 5-10% dos pacientes com manifestações clínicas da NEM-1 não apresentam mutação detectada no gene MEN1, chamados de fenocópias (96). Isso pode ser devido a presença de mutações não identificadas na região codificadora do gene, podendo estar em regiões não traduzidas (introns) ou pela falta de sensibilidade do teste genético utilizado (1,10). Grandes deleções ou rearranjos representam cerca de 1-3% das mutações no gene MEN1 e são difíceis de serem detectadas pelo método convencional de sequenciamento de Sanger. O sequenciamento de alto desempenho (*HTS*) ou o método de amplificação de sondas de ligação (*MLPA*) são testes capazes de identificar essas mutações (10,95).

1.4.4 Envolvimento de outros genes na NEM-1

Aproximadamente 5% dos casos de NEM-1 representam fenocópias nas quais ocorre uma mimetização das manifestações clínicas, porém as mutações ocorrem em outros genes que não o da proteína menin (97). Recentemente tem-se aventado que esses casos sem a identificação de mutações no gene MEN1 sejam ocasionados por mutações nos genes CKDN1B e AIP, por exemplo (96,98).

1.4.4.1 Gene CDKN1B

O envolvimento do gene CDKN1B, localizado no braço curto do cromossomo 12, região 1 subregião 3 (12p13), que codifica a proteína p27, tem sido associado a pacientes com fenótipo da NEM-1, sem mutação identificada no gene MEN1 (99,100).

A proteína p27, de localização nuclear, regula de forma negativa a progressão do ciclo celular por meio da inibição dos complexos de quinase ciclina-dependente (10). Aparentemente, o gene CDKN1B tem sua transcrição regulada pela menin, sugerindo que o gene MEN1 e a p27 possam ter uma via de tumorigênese em comum para neoplasias endócrinas (99,101).

Indivíduos com mutação na CDKN1B apresentam quadro clínico variável, podendo ter componentes tanto da NEM-1 quanto da NEM-2, tais como feocromocitoma, neoplasias de tireoide e paratireoide e adenomas hipofisários (10,100). Apesar de não ser possível estabelecer uma correlação genótipo-fenótipo evidente na NEM-1, alguns estudos demonstraram que polimorfismo V109G CDKN1B parece estar associado a um comportamento clínico mais agressivo dos tumores nesses pacientes (101,102).

Além disso, o envolvimento da proteína CDKN1B parece ter importância na patogênese de tumores hipofisários por meio da demonstração in vitro de menor afinidade da proteína p27 pelo Grb2, e apesar de rara, pode ter influência no comportamento biológico desses tumores (103).

1.4.4.2 Gene AIP

Recentemente, o gene AIP (*aryl hydrocarbon receptor interacting protein*) tem sido relacionado a descrição de casos de adenoma hipofisário familiar isolado (FIPA). Esse gene encontra-se localizado no braço longo do cromossomo 11, região 1, subregião 3.3 (11q13.3), distando 3 Mb do gene MEN1 (104,105).

O AIP interage no citoplasma com o AHR (receptor aril hidrocarbono), um fator de transcrição que regula a via de degradação de dioxinas (substâncias químicas que são poluentes ambientais) (106,107). Essas substâncias apresentam efeito carcinogênico que possivelmente ocorre pela ativação do AHR e o AIP atua modulando essa interação (108).

O acompanhamento clínico e a investigação molecular com avaliação da fisiopatologia dos tumores em pacientes com FIPA têm sido alvo de muitos estudos do no ambulatório de Endocrinologia do Hospital Universitário de Brasília, constituindo uma das mais fortes linhas de pesquisa da Universidade de Brasília. Diversas mutações inéditas no gene AIP já foram descritas neste grupo de pacientes (109,110,111).

Mutações germinativas nesse gene foram descritas em pacientes com FIPA, particularmente em tumores secretores de GH com relato de LOH nesses tumores, refletindo um provável papel de supressão tumoral do gene AIP (112,113). Há descrição de mutações no gene AIP em indivíduos com fenótipo da NEM-1 sem mutação identificada no gene MEN1, reforçando a importância da avaliação genética desse gene, principalmente em casos de tumores hipofisários familiares (114).

1.4.5 Fatores Epigenéticos

A menin interage com complexos de proteínas associadas à cromatina e também atua na regulação de regiões não codificantes do RNA, portanto, participando nos mecanismos de controle epigenético (115).

Uma das possíveis hipóteses para ausência de correlação genótipo-fenótipo na NEM-1 pode envolver a presença de fatores epigenéticos na regulação da tumorigênese (116). Dentre esses fatores, alterações na expressão de microRNAs específicos têm sido demonstradas nos tecidos de tumores neuroendócrinos na NEM-1, incluindo paratireoides, hipófise e trato GEP (116). O miR-24-1 parece agir como um regulador negativo na expressão da menin nos adenomas de paratireoides de pacientes com NEM-1 sem LOH nos tecidos tumorais (117).

1.4.6 Rastreamento genético

O rastreio para mutações no gene MEN1 é útil na prática clínica pois pode confirmar o diagnóstico clínico; identificar membros da família que são assintomáticos possibilitando realizar um rastreio bioquímico e de imagem para a detecção dos tumores e; reconhecer indivíduos que não tenham mutação germinativa no gene MEN1, dessa forma, reduzindo a ansiedade desses pacientes em relação ao risco de desenvolver os tumores futuramente (1,8).

De acordo com o último consenso publicado sobre NEM-1 em 2012, a avaliação genética deve ser realizada em casos-índice; parentes de primeiro grau de um indivíduo com mutação no gene MEN1; ou pacientes com suspeita clínica para NEM-1, como por exemplo, indivíduos que apresentam hiperparatireoidismo primário com idade inferior a 30 anos (Quadro 7) (1,118).

Os pacientes com suspeita de NEM-1 devem ser referenciados a um serviço de genética médica e o aconselhamento genético deve ser oferecido antes de qualquer teste para avaliação de mutação (1).

Quadro 7 – Indicações para avaliação genética do gene MEN1

Caso-índice	<p>Diagnóstico clínico ou familiar da NEM-1</p> <p>Suspeito (múltiplos adenomas em paratireoides em qualquer idade; HPTP idade < 30 anos; HPTP recorrente; gastrinoma ou tumores neuroendócrinos GEP)</p> <p>Quadro clínico atípico (ex.: tumores de paratireoide e adrenal)</p>
Parente de primeiro grau de um paciente com mutação no gene MEN1	<p>Assintomático</p> <p>Parente de primeiro grau com NEM-1 familiar</p>

NEM-1: Neoplasia Endócrina Múltipla do tipo 1; HPTP: Hiperparatireoidismo Primário; GEP: Gastroenteropancreático. Adaptado de referência (1).

2. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO ESTUDO

A NEM-1 é uma síndrome genética caracterizada pela sua variabilidade clínica e complexidade no diagnóstico e tratamento, em razão disso, faz-se necessária a atuação de uma equipe multidisciplinar. Por se tratar de uma doença rara, o diagnóstico é tardio na maior parte dos casos e esses pacientes podem já se apresentar com complicações decorrentes das neoplasias, como fraturas, metástases hepáticas e efeitos de massa em consequência do crescimento desses tumores.

O atraso no diagnóstico do caso-índice acaba, conseqüentemente, afetando a identificação de parentes de primeiro grau, resultando em um aumento na morbimortalidade da doença e um pior prognóstico. Portanto, é importante reconhecer a grande variabilidade fenotípica encontrada nesses pacientes e realizar o rastreamento familiar.

Apesar não existir uma correlação genótipo-fenótipo bem estabelecida, o teste genético deve ser realizado para confirmar o diagnóstico clínico e identificar parentes de primeiro grau assintomáticos. A ausência de *hot spots* estabelece a necessidade de realizar o sequenciamento de todo o gene MEN1. A avaliação genética por meio do sequenciamento de alto desempenho (*HTS*) pode auxiliar na identificação de mutações em regiões promotoras ou intrônicas, além de ter um menor custo quando comparado ao método de Sanger.

Este estudo pretende ressaltar a importância em reconhecer as diversas manifestações clínicas que podem estar presentes em indivíduos com NEM-1 a fim de que o diagnóstico e o rastreamento familiar sejam prontamente realizados. Além disso, considerar a incorporação do *HTS* como uma ferramenta auxiliar na avaliação genética da NEM-1.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar as características clínicas e moleculares de indivíduos com diagnóstico de NEM-1.

3.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Descrever as características fenotípicas de indivíduos com diagnóstico clínico ou familiar de NEM-1.
- Identificar mutações germinativas no gene MEN1 nas famílias de indivíduos com diagnóstico de NEM-1.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo descritivo de série de casos com avaliação clínica e molecular de indivíduos com NEM-1 acompanhados no ambulatório de Neuroendocrinologia do Hospital Universitário de Brasília (HUB) (Figura 5).

4.2 SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES

A partir do banco de dados do Ambulatório de Neuroendocrinologia do Hospital Universitário de Brasília, 135 prontuários de indivíduos que apresentavam diagnóstico clínico de Tumores Neuroendócrinos com pelo menos dois familiares acometidos foram revisados. Um total de 11 participantes com diagnóstico clínico de NEM-1 de quatro famílias acompanhadas no ambulatório de Neuroendocrinologia do HUB foram selecionados.

4.2.1 Critérios de inclusão

- Indivíduos maiores de 18 anos com diagnóstico clínico de NEM-1, definido pela presença de pelo menos duas das três neoplasias clássicas (paratireoide, neuroendócrino do trato GEP ou hipófise) ou familiar, definido pela presença de pelo menos uma das três neoplasias clássicas e um parente de primeiro grau com diagnóstico de NEM-1.

4.2.2 Critérios de exclusão

- Não assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE);
- Indivíduos que se recusaram a coletar exames laboratoriais.

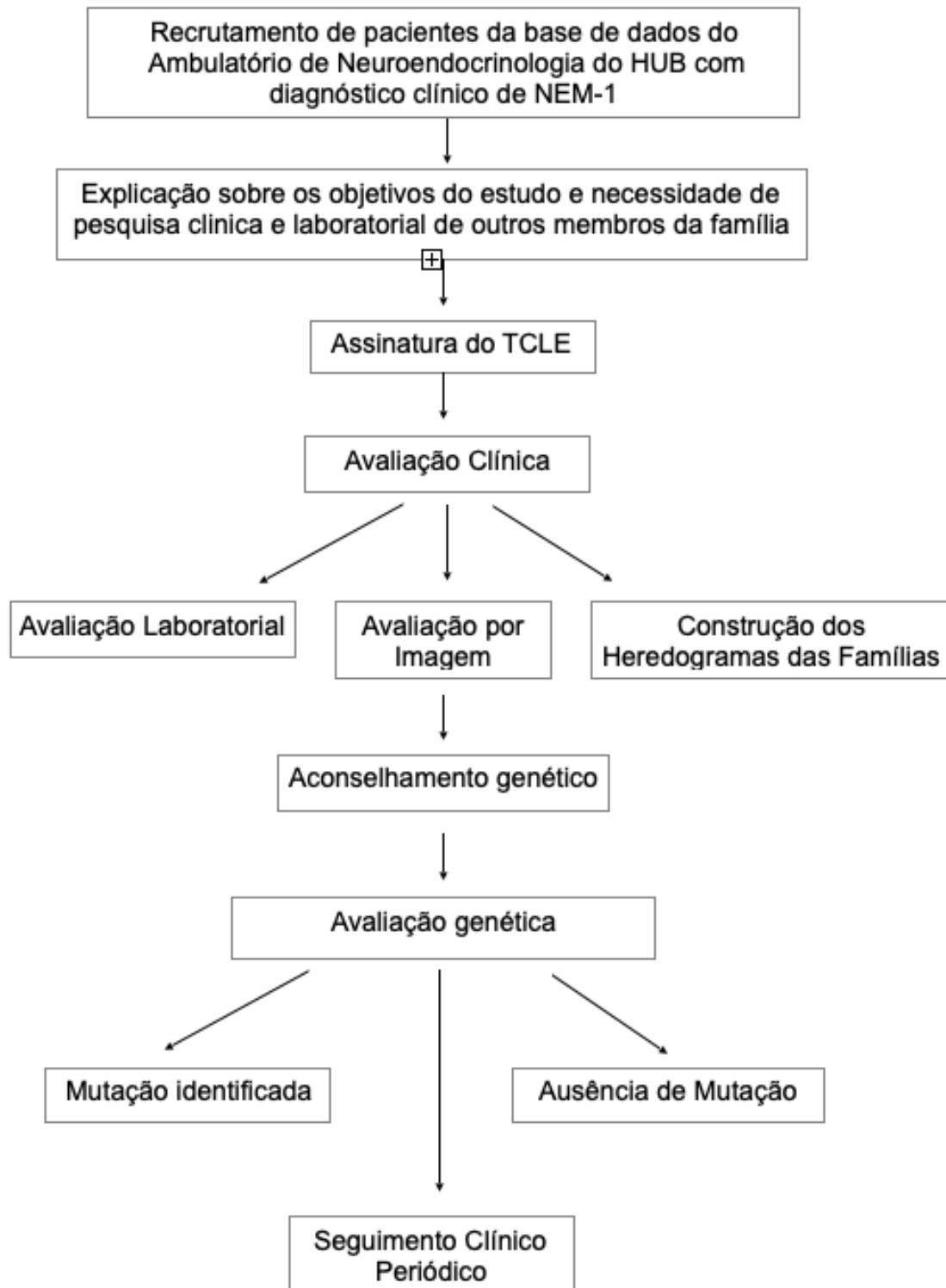


Figura 5 - Fluxograma das etapas do estudo. HUB: Hospital Universitário de Brasília; NEM-1: Neoplasia Endócrina Múltipla do tipo 1; TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

4.3 PROCEDIMENTOS TÉCNICOS

4.3.1 Avaliação geral

Dados como idade ao diagnóstico, gênero, modalidade e número de intervenções terapêuticas, resultados de exames laboratoriais e de imagem, bem como informações e eventos clínicos relevantes foram coletados e analisados por meio de consulta e revisão de prontuários do HUB.

4.3.2 Avaliação Laboratorial

Os participantes que não tinham exames laboratoriais completos foram encaminhados ao laboratório para a coleta de sangue para a análise bioquímica e hormonal. Foi realizada a venóclise, seguida pela coleta de sangue após 12 horas de jejum, com determinação das concentrações plasmáticas dos seguintes analitos:

4.3.2.1 Dosagem de 25 OH vitamina D

A concentração de vitamina D foi determinada através do Imunoensaio de quimioluminescência (CLIA) (Liaison). O ensaio tem limite de detecção de 4.0 pg/mL e linearidade de 150 pg/mL.

Valor de referência: 30 a 60 ng/mL

4.3.2.2 Dosagem de PTH

A determinação da concentração do PTH foi realizada por meio de eletroquimioluminescência.

Valor de referência: 15,0 a 65,0 pg/mL

4.3.2.3 Dosagem do Cálcio

A dosagem do cálcio foi realizada por meio do método O-Cresolftaleína complexona.

Valor de referência: 8,3 a 10,6 mg/dL

4.3.2.4 Dosagem de IGF-1

A determinação de IGF-1 foi realizada por método de imunométrico de quimioluminescência em fase sólida, com pré-tratamento da amostra para extração de ligação com proteínas (Immulite 2000). O valor de referência é ajustado para a idade. O coeficiente de variação interensaio < 5%. Os valores de IGF-1 podem ser expressos de forma absoluta ou como variação percentual em relação ao limite superior para a idade (%ULNV, normal \leq 100%).

4.3.2.5 Dosagem de Prolactina

A determinação da concentração da prolactina foi feita por método de quimioluminescência.

Valor de referência:

Mulheres não grávidas: 2,8 a 29,2 ng/mL

Homens: 2,1 a 17,7 ng/mL

4.3.2.6 Dosagem de Gastrina

A determinação da gastrina sérica foi realizada pelo método de quimioluminescência.

Valor de referência: 15 a 115 pg/mL

4.3.3 Avaliação radiológica

As informações sobre as características radiológicas dos tumores hipofisários por meio da ressonância magnética (RM) de sela túrcica, ultrassom (USG) de rins e vias urinárias para avaliação de nefrolitíase; bem como a avaliação das paratireoides por meio de USG e cintilografia e a avaliação da massa óssea por meio da absorciometria por raios-X com dupla energia (DXA) foram obtidas retrospectivamente por análise de prontuários e imagens arquivadas no Serviço de Radiologia e Medicina Nuclear do HUB.

4.3.4 Avaliação genética

Um indivíduo de cada família foi submetido ao teste genético utilizando um painel genômico para genes alvo por meio do sequenciamento de alto desempenho (*HTS*) após a assinatura do TCLE.

4.3.4.1 Extração de DNA

O DNA foi extraído de 200 μ L de sangue total no tubo EDTA usando QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemanha) de acordo com as instruções do fabricante e quantificado no sistema de fluorômetro Qubit 2.0 usando QubitTM 1X dsDNA HS (Life Technologies, Carlsbad, EUA).

4.3.4.2 Protocolo de sequenciamento genético

As amostras de DNA foram submetidas a um processo de sequenciamento emparelhado usando o sequenciador NextSeq 500 (Illumina, San Diego, EUA).

4.3.4.2.1 Preparação de biblioteca para sequenciamento de nova geração

Cada biblioteca de DNA foi preparada utilizando a preparação da Biblioteca Hiperplus KAPA (Roche, Basel, Suíça) e a região codificadora de aproximadamente 4.000 genes associados a doenças hereditárias e seus respectivos locais de splicing foram enriquecidos usando a escolha de ações SeqCap EZ - Painel de doenças herdadas (Roche, Basel, Suíça) e kit de preparação Seqcap EZ Hyper (Roche, Basel, Suíça). O tamanho e a qualidade das bibliotecas de DNA de pré-hibridização e pós-hibridização foram verificados no TapeStation (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA) e quantificados no Sistema de Fluorômetro Qubit 2.0 (Life Technologies, Carlsbad, EUA). O pool de bibliotecas de DNA foi submetido a um processo de sequenciamento emparelhado usando o sequenciador NextSeq 500 (Illumina, San Diego, EUA) usando o kit de saída midi NextSeq 500/550 V2 de 2 x 75 ciclos (Illumina, San Diego, EUA).

4.3.4.2.2 Análise de genes associados a tumores endócrinos

Após a demultiplexação usando o software de conversão bcl2fastq2 v2.20 (Base Space, Illumina, San Diego, EUA), os arquivos fastQ foram enviados para DRAGEN Germline 3.5.7 para mapeamento contra o genoma humano (hg19) e chamada de variantes. Arquivos Dragen VCF foram carregados para Varstation (www.varstation.com) para anotação e classificação de variantes. Vinte e dois genes associados à esferocitose hereditária (AIP, APC, CDC73, CDKN1B, DICER1, FH, MAX, MEN1, MET, NF1, PRKAR1A, PTEN, RET, SDHA, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, TMEM127, TP53, VHL, WRN) foram filtrados para análise. As variantes foram classificadas de acordo com as diretrizes do Colégio Americano de Genética e Genômica Médica (ACMG) [PMID 25741868].

4.4 PROCEDIMENTOS ÉTICOS

O estudo foi realizado de acordo com a declaração de Helsinki e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, sob o CAAE número 25846919.2.0000.5558.

5 RESULTADOS

5.1 AMOSTRA DE INDIVÍDUOS

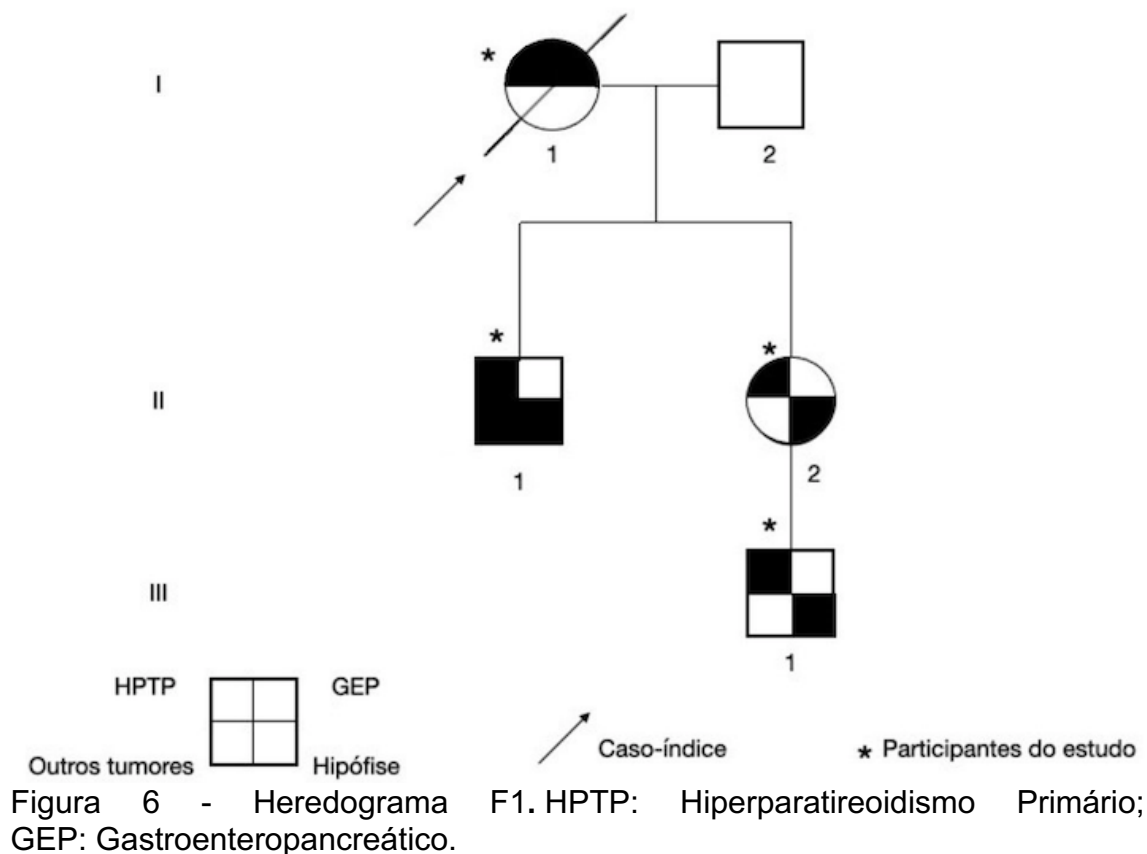
Foram avaliadas quatro famílias com diagnóstico clínico de NEM-1, acompanhadas no ambulatório de Neuroendocrinologia do Hospital Universitário de Brasília (HUB), resultando em um total de 11 indivíduos que participaram do estudo: seis do sexo feminino (55%) e cinco do sexo masculino (45%).

A média de idade ao diagnóstico dos casos-índices foi de 45 anos. Todos os indivíduos apresentaram Hiperparatireoidismo Primário (HPTP) e nove dos 11 participantes do estudo (81,8%) apresentaram tumores hipofisários. Apenas três indivíduos (27,3%) apresentaram tumores neuroendócrinos do trato gastroenteropancreático (GEP), sendo dois gastrinomas e um insulinoma. Três indivíduos (27,3%) apresentaram outros tumores endócrinos e não endócrinos associados a NEM-1.

5.1.1 Caracterização Fenotípica

5.1.1.2 Família 1

Na família 1 (F1), todos os quatro indivíduos rastreados apresentaram HPTP, $\frac{3}{4}$ dos casos com tumor hipofisário e tumor neuroendócrino do trato GEP em apenas um caso (Figura 6). As características da apresentação inicial de cada um dos quatro indivíduos dessa família estão resumidas na tabela 1.



Caso-índice (I.1)

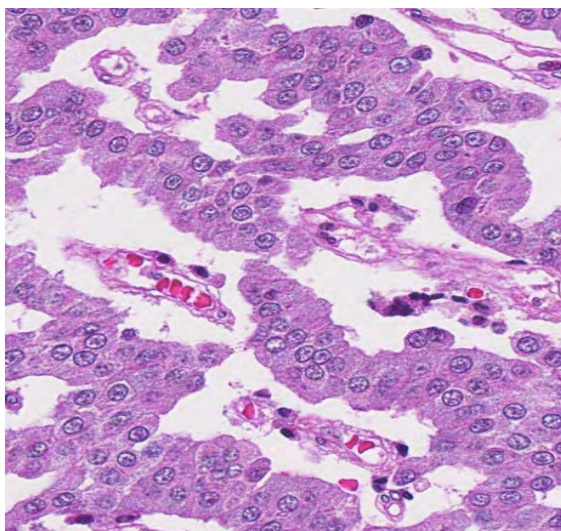
Indivíduo do sexo feminino, de 45 anos, apresentou diagnóstico de gastrinoma duodenal de evolução rápida com metástases a distância (Figura 7). A gastrina sérica ao diagnóstico era de 436 pg/mL (15 a 115 pg/mL). Ela também apresentava HPTP com calcemia de 10,5 mg/dL (8,4 a 10,1 mg/dL) e PTH de 128 pg/mL (15 a 65 pg/mL). Além disso, a concentração de prolactina estava elevada em 65mg/dL (2,8 a 29,2 ng/mL). Não foi possível realizar RM de sela na ocasião devido à rápida evolução do quadro o que a levou ao óbito.

Tabela 1 – Parâmetros clínicos, laboratoriais e de imagem iniciais dos indivíduos da Família 1

Parâmetros	I.1	II.1	II.2	III.1
Idade ao diagnóstico (anos)	45	24	28	19
HPTP	Sim	Sim	Sim	Sim
PTH (pg/mL)	128	82	125	101
Calcemia (mg/dl)	10.5	10.2	10.5	10.9
Tumor GEP	Sim	Não	Não	Não
Gastrina (pg/mL)	436	22.8	NA	17.9
Tumor hipofisário	NA	Sim	Sim	Sim
PRL (pg/mL)	65	1,634	308	16.8
IGF-1 (ng/mL)	128	66.8	NA	192
Diâmetro (mm)	NA	38x34x20	9.8x9.4x11	9.7x5.0x3.4
Outros tumores	Não	Lipomas Lipossarcoma	Não	Não

HPTP: Hiperparatireoidismo primário; GEP: gastroenteropancreático; PTH: paratormônio; PRL: prolactina; IGF-1: fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1; NA: não se aplica; NR: não realizado.

A



B

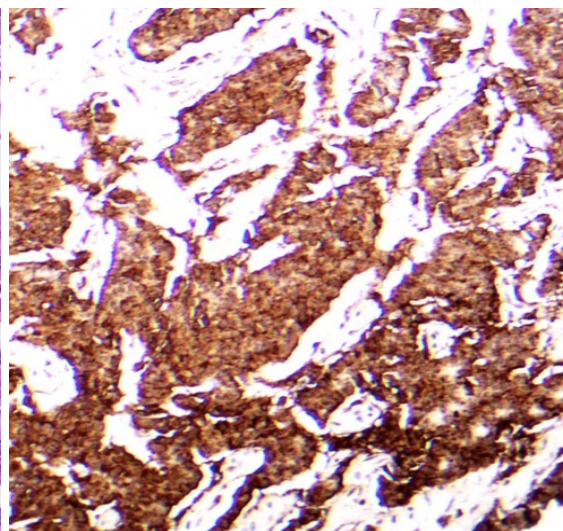


Figura 7 - Imunohistoquímica do gastrinoma do indivíduo I.1. Marcação positiva para gastrina (A) e cromogranina (B).

Caso II.1

No período de rastreamento familiar, o filho mais velho teve diagnóstico de macroprolactinoma e HPTP. Na ocasião, ele tinha 24 anos e apresentava queixa de alteração visual e cefaleia holocraniana de moderada intensidade há alguns meses.

A campimetria visual mostrou quadrantopsia temporal superior bilateral (Figura 8A) e a RM de sela túrcica evidenciava volumosa lesão isointensa em T1 e T2, medindo 38x34x20 mm com componente suprasselar, invasão de clivus e de seio cavernoso direito. A prolactina sérica era de 1634 ng/mL (2,8 a 29,2 ng/mL) e o IGF-1 de 66,8 ng/mL (57 a 241 ng/mL).

Foi iniciado tratamento farmacológico com cabergolina na dose semanal de 1mg, evoluindo com queda da concentração de prolactina e normalização com prolactinemia de 16 ng/mL (2,8 a 29,2 ng/mL) e redução do volume tumoral, após um ano de tratamento.

Entretanto, o adenoma evoluiu com crescimento progressivo mesmo após 6 anos de tratamento contínuo com cabergolina na dose de 3,5 mg/semana. A lesão apresentava extensão suprasselar associada a compressão de nervo óptico à direita (Figura 9A) e a concentração de prolactina diluída era de 47 ng/mL.

Ele evoluiu com quadro de cefaleia e alteração do campo visual com maior comprometimento em olho direito e preservação do olho esquerdo (Figura 8B), com diagnóstico de apoplexia hipofisária. A ressonância magnética de sela túrcica demonstrou a presença de macroadenoma com compressão do quiasma óptico e degeneração hemorrágica (Figura 9B).

Foi submetido à cirurgia transesfenoidal e evoluiu no pós-operatório com hipopituitarismo, tendo os eixos tireotrófico e somatotrófico comprometidos com T4 livre de 0,76 ng/dL (0,74 a 1,72 ng/dL) e IGF-1 de 54 ng/mL (57 a 241 ng/mL). Atualmente encontra-se em uso de levotiroxina 100mcg ao dia e segue sem comprometimento dos eixos gonadotrófico e corticotrófico.

A RM de sela túrcica, realizada após aproximadamente 5 meses do procedimento cirúrgico, mostrava um pequeno remanescente à esquerda (Figura 9C) e a prolactina sérica era de 56 ng/mL (2,8 a 29,2 ng/mL).

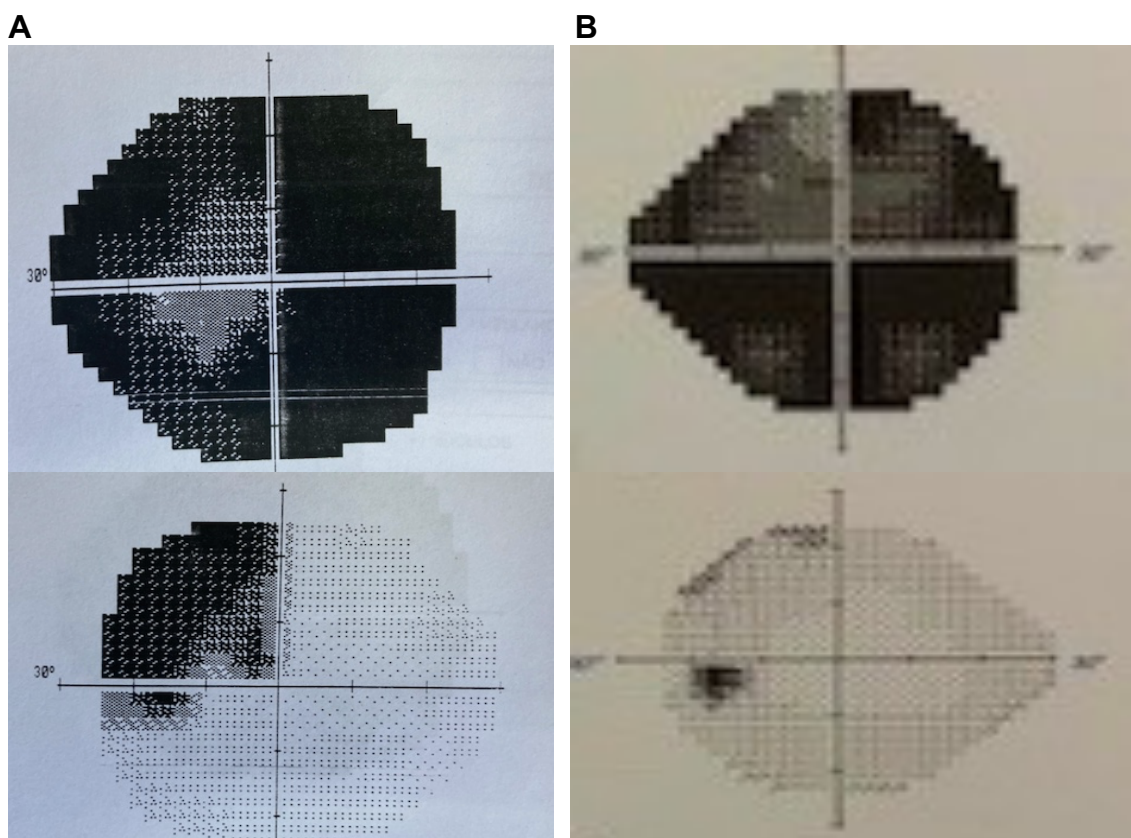


Figura 8 - Campimetria visual do indivíduo II.1. Ao diagnóstico, observa-se comprometimento importante de olho direito e quadrantopsia temporal superior e olho esquerdo (A). No período da apoplexia, nota-se comprometimento importante no campo visual total de olho direito, principalmente em campos inferiores e preservação do olho esquerdo (B).

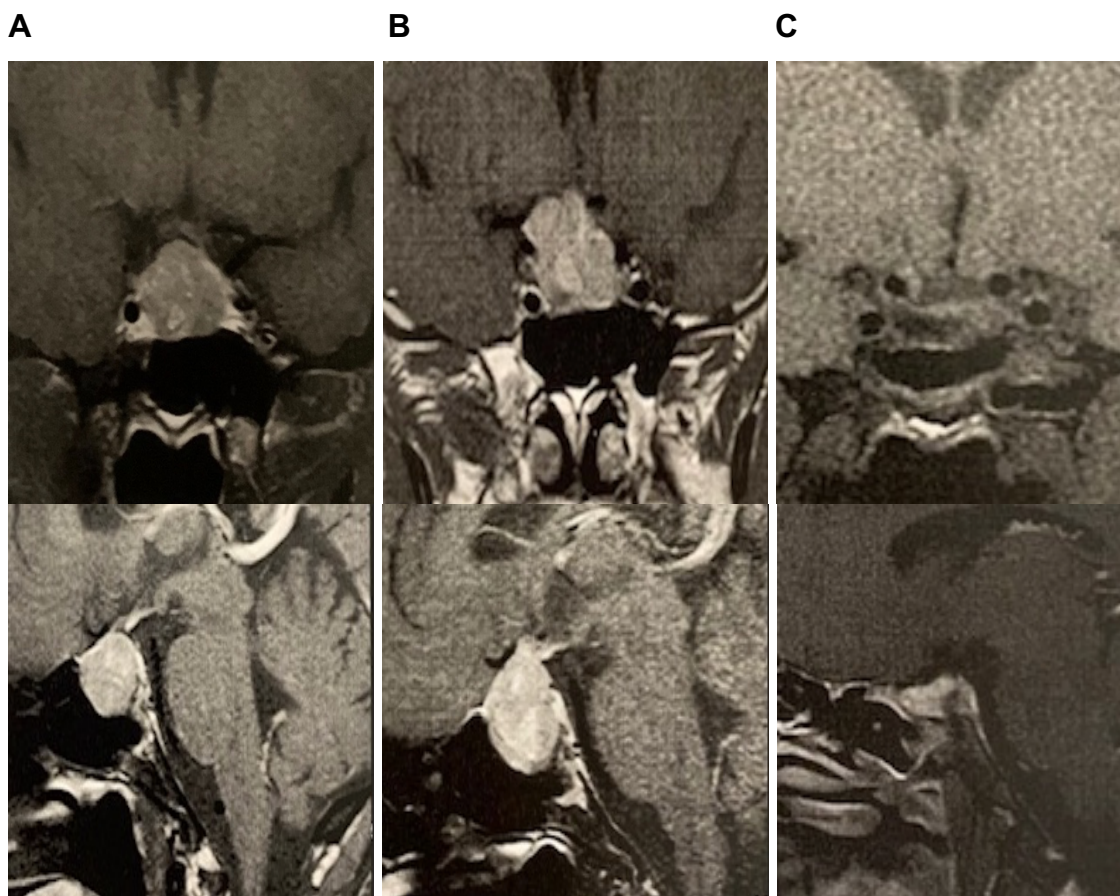


Figura 9 - RM de sela túrcica com contraste do indivíduo II.1. Imagem ponderada em T1 apresentando macroadenoma hipofisário de 24x19x18 mm (A) que evoluiu após 6 meses com degeneração hemorrágica e compressão do quiasma óptico (B). Após a cirurgia, nota-se pequeno remanescente na metade esquerda da adenohipófise (C).

No rastreamento bioquímico para o hiperparatireoidismo, apresentou calcemia de 10,2 mg/dL (8,4 a 10,1 mg/dL), PTH de 82 pg/mL (15 a 65 pg/mL) e 25OHD 30,7 ng/mL (30 a 60 ng/mL). A cintilografia de paratireoides mostrou captação em área focal localizada no polo inferior da tireoide à direita (Figura 10). A DXA de três sítios realizada no mesmo período mostrou baixa massa óssea apenas em terço distal do rádio esquerdo (Z-score de $-2,5$), estando a coluna lombar (Z-score de $-0,7$) e colo do fêmur (Z-score de $0,7$) normais. Além disso, foi realizada uma USG de rins e vias urinárias que mostrou nefrolitíase bilateral. Ele aguarda paratireoidectomia e última avaliação bioquímica apresenta calcemia de 10,4 mg/dL (8,4 a 10,1 mg/dL) e PTH de 92 pg/mL (15 a 65 pg/mL).

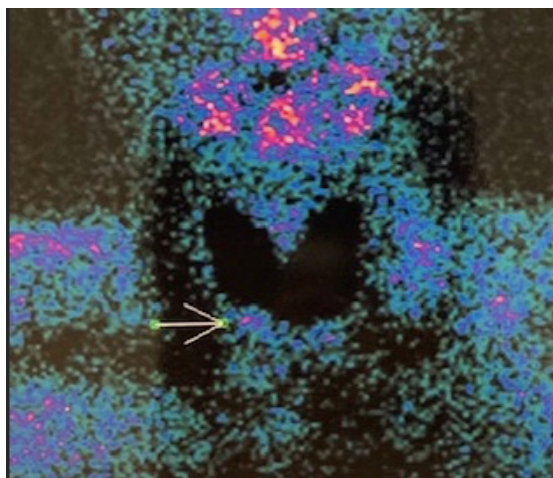


Figura 10 - Cintilografia de paratireoides do indivíduo II.1. Nota-se acúmulo na fase tardia do radiotraçador localizado no polo inferior do lobo direito da tireoide (seta branca).

O indivíduo apresenta concentrações de gastrina de 17,9 pg/mL (15 a 115 pg/mL) e RM de abdome com descrição de nódulos hepáticos hipervasculares medindo 8mm em segmentos II e VII, sugestivos de hemangiomas. Aos 38 anos foram observados tumorações em região de deltoide direito, tórax anterior à esquerda e região clavicular à direita (Figura 11). Devido ao crescimento progressivo no período, ele foi submetido à exérese dessas lesões e o anatomopatológico evidenciou lipossarcoma bem diferenciado em ombro direito e lipomas em regiões de tórax e clavicular à direita.



Figura 11 - USG da região infraclavicular direita do indivíduo II.1. Presença de lipoma medindo 37x21x35 mm.

Caso II.2

Indivíduo do sexo feminino que aos 28 anos teve diagnóstico de macroprolactinoma durante o rastreamento familiar, com prolactina de 308 ng/mL (2,8 a 29,2 ng/mL). A RM de sela mostrou um macroadenoma com dimensões de 9,8x9,4x11 mm e foi iniciado cabergolina na dose semanal de 1,5 mg. Entretanto, mantinha concentrações de prolactina ainda elevadas - 62,86 ng/mL (2,8 a 29,2 ng/mL). Na ocasião apresentava calcemia de 10,6 mg/dL (8,4 a 10,1 mg/dL), porém ela ficou um longo período sem acompanhamento ambulatorial. Retornou aos 39 anos, quando foi diagnosticada com HPTP com calcemia de 10,5 mg/dL (8,4 a 10,1 mg/dL) e PTH de 125 pg/mL (15 a 65 pg/mL). Foi possível visualizar as paratireoides direita e esquerda por meio do USG (Figura 12). A DXA mostrou massa óssea normal (L1-L4 com Z-score -1,6 e colo do fêmur com Z-score 0,0).

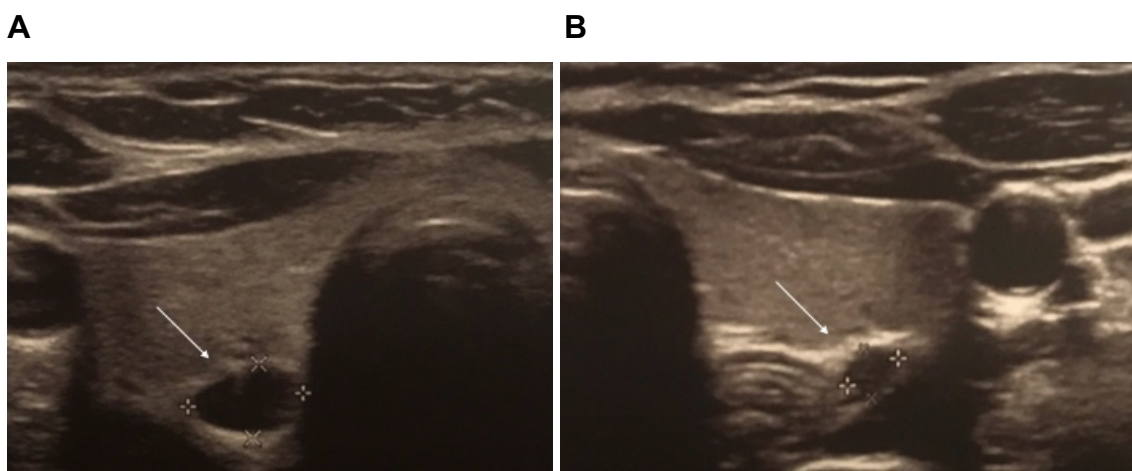


Figura 12 - USG de paratireoides do indivíduo II.2. Paratireoide direita medindo 0,72x0,48 mm (A) e paratireoide esquerda medindo 0,33x0,29 mm (B)

Caso III.1

Indivíduo do sexo masculino tinha 15 anos quando foi convocado para rastreamento clínico. Na ocasião estava assintomático e não apresentava alterações laboratoriais. Entretanto, aos 19 anos teve diagnóstico de HPTP com calcemia de 10,9 mg/dL (8,4 a 10,1 mg/dL) e PTH de 101 pg/mL (15 a 65 pg/mL) e 25OHD 22,73 ng/mL (30 a 60 ng/mL). A cintilografia de paratireoides mostrou captação no polo inferior do lobo esquerdo da tireoide e em área abaixo do lobo direito, podendo corresponder a tecido paratireoidiano ectópico. A DXA demonstrou baixa massa óssea (L1-L4 com Z-score -2,1 e colo do fêmur com Z-score -1,5).

A concentração plasmática de gastrina era de 17,9 pg/mL (15 a 115 pg/mL) e, como ele tinha queixa de epigastralgia, foi realizada uma endoscopia digestiva alta que mostrou lesão com umbicação central deprimida e bordos muito elevados medindo 3 cm em grande curvatura do antro. O laudo anatomopatológico descreveu hiperplasia foveolar importante e metaplasia intestinal extensa, mas sem evidências de displasia ou neoplasia.

A RM de sela, realizada no período do rastreamento, evidenciou um microadenoma na transição entre a adenohipófise e neurohipófise medindo 9,7x5x3,4 mm. Na ocasião, as concentrações de prolactina e IGF-1 eram respectivamente 16,6 ng/mL (2,8 a 29,2 ng/mL) e 260 ng/mL (246 a 504 ng/mL). A lesão mantém-se com dimensões estáveis de acordo com imagem realizada na última avaliação em 2020 (Figura 13) e a concentração de prolactina era de 16,8 ng/mL (2,8 a 29,2 ng/mL).

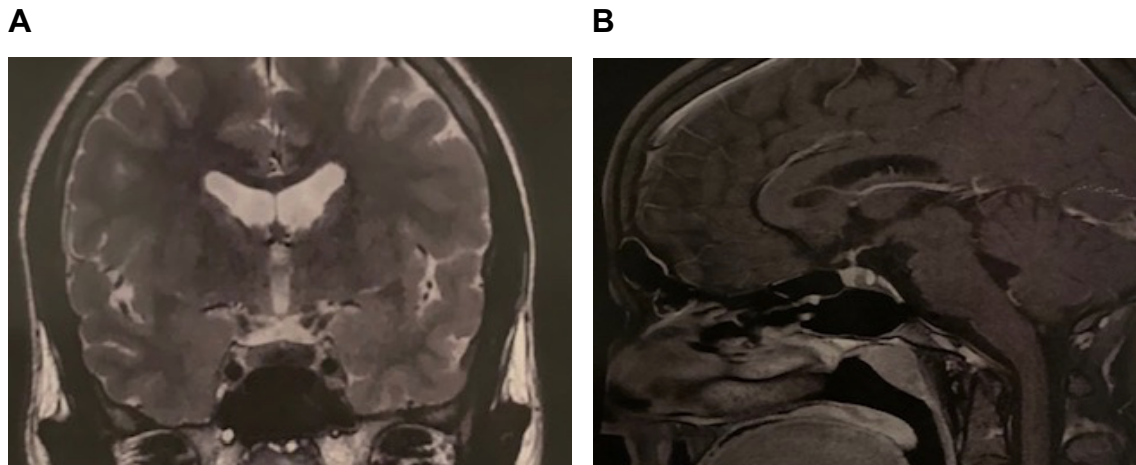


Figura 13 - RM de sela túrcica do indivíduo III.1. Imagem ponderada em T2 coronal (A) e ponderado em T1 sagital (B) com microadenoma medindo 9,7x5x3,4 mm.

5.1.1.2 Família 2

A família 2 (F2) é composta de 17 indivíduos dos quais 4 apresentaram fenótipo de NEM-1 até o momento. Todos apresentaram HPTP (100%) e $\frac{3}{4}$ dos casos apresentam tumores hipofisários. Apenas o caso-índice apresentava tumor do trato gastroenteropancreático e o caso II.4 apresentava tumor em adrenais (Figura 14).

As características da apresentação inicial de cada um dos quatro indivíduos dessa família estão resumidas na tabela 2.

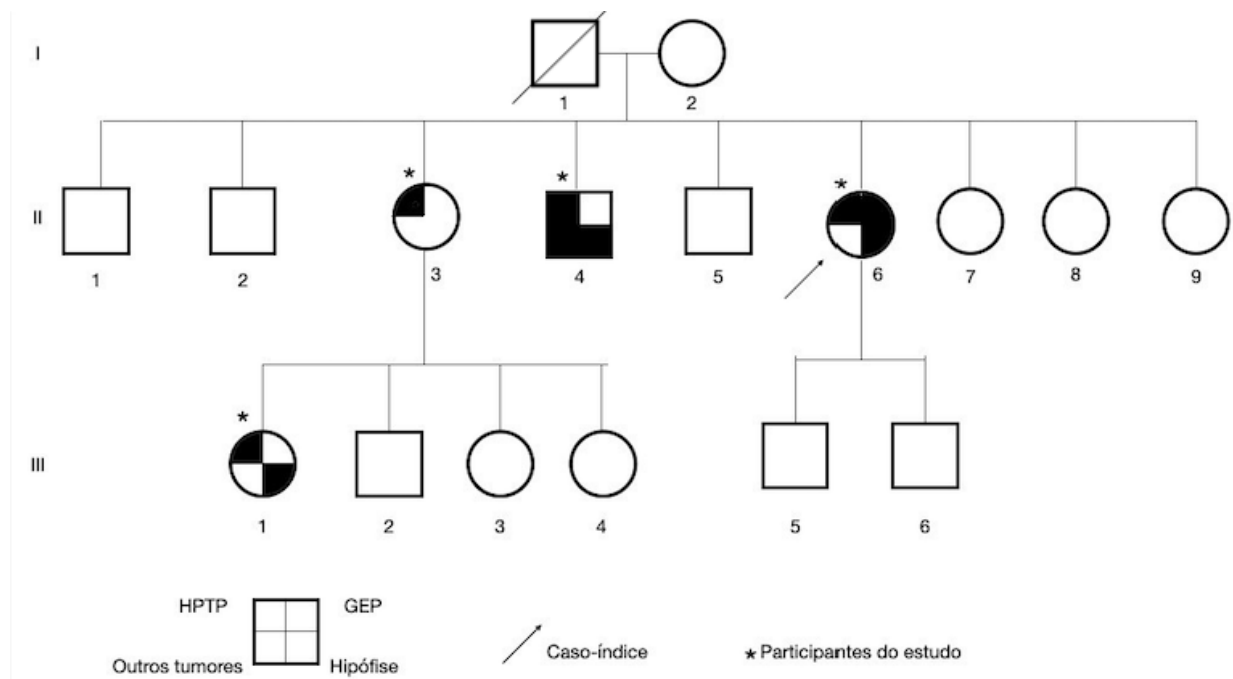


Figura 14 - Heredograma F2. HPTP: Hiperparatireoidismo Primário; GEP: Gastroenteropancreático.

Tabela 2 – Parâmetros clínicos, laboratoriais e de imagem iniciais dos indivíduos da Família 2

Parâmetros	II.6	II.3	II.4	III.1
Idade ao diagnóstico (anos)	43	49	46	26
HPTP	Sim	Sim	Sim	Sim
PTH (pg/mL)	447	145	107	346
Calcemia (mg/dl)	11.4	10.8	12.0	11.4
Tumor GEP	Sim	Não	Não	Não
Gastrina (pg/mL)	NR	NR	NR	NR
Tumor hipofisário	Sim	Não	Sim	Sim
PRL (pg/mL)	947	10.1	12.0	1,493
IGF-1 (ng/mL)	>1000	106	153	192
Diâmetro (mm)	24x25x15	NA	4x2	23x21x16
Outros tumores	Não	Não	Adenomas em adrenais	Não

HPTP: Hiperparatireoidismo primário; GEP: gastroenteropancreático; PTH: paratormônio; PRL: prolactina; IGF-1: fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1; NA: não se aplica; NR: Não realizado.

Caso-índice (II.6)

Indivíduo do sexo feminino, apresentava episódios recorrentes de hipoglicemia em jejum que se iniciaram aos 43 anos. Foi diagnosticada com diabetes mellitus tipo 2 há 10 anos e fazia uso de metformina e glibenclamida, que foram suspensos nos últimos dois anos. Além disso, tinha antecedente de amenorréia secundária desde os 32 anos, dislipidemia e doença renal crônica com história de nefrectomia esquerda há 10 anos, na qual ela não soube informar o motivo.

Durante investigação laboratorial, apresentou glicemia de jejum de 29 mg/dL (70 a 99 mg/dL), insulinemia de 39,18 mUI/mL (3,0 a 25 mUI/mL) e peptídeo C de 17,2 ng/mL (1,10 a 4,40 ng/mL). A Tomografia Computadorizada (TC) de abdome apresentava uma formação expansiva heterogênea localizada na cauda do pâncreas, medindo 12,6x11,3 cm (Figura 15). A pancreatectomia caudal foi realizada após uso de octreotida na dose mensal de 30mg por 3 meses e o anatomopatológico mostrou tumor neuroendócrino funcionante (insulinoma) com margens cirúrgicas livres. Após a cirurgia, foi iniciada insulinoterapia.

Aproximadamente um mês após o procedimento cirúrgico, ela foi encaminhada ao ambulatório para prosseguir investigação pois relatava aumento discreto da numeração do sapato e edema em dedos das mãos. A avaliação laboratorial mostrou IGF-1 > 1000 ng/mL (58,2 a 219 ng/mL), GH de 343 ng/mL (< 8 ng/mL) e prolactina de 947,5 ng/mL (5 a 25 ng/mL). A RM de sela túrcica evidenciou um macroadenoma hipofisário medindo 24x25x15 mm com invasão supraselar e íntimo contato com seios cavernosos bilateralmente.

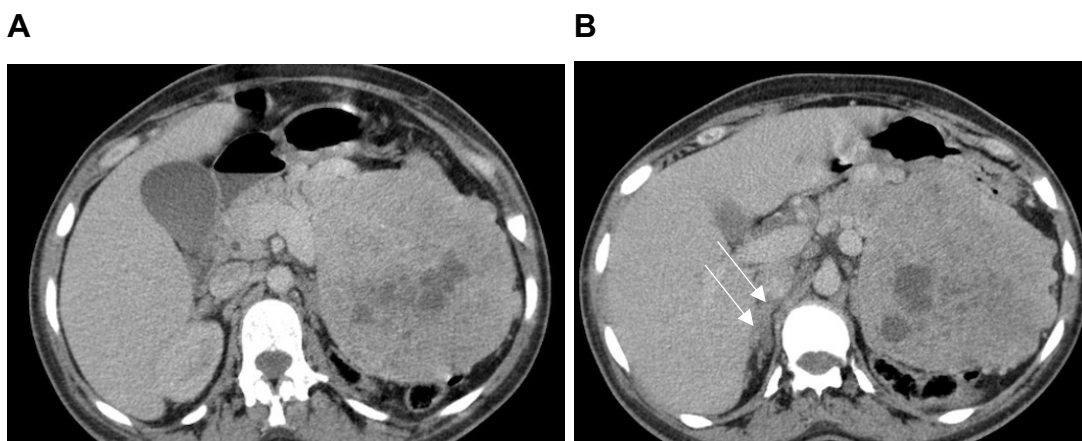


Figura 15 - TC de abdome do indivíduo II.6. Presença de volumosa massa heterogênea com áreas hipodensas de permeio em cauda do pâncreas (A e B). B: Nota-se ainda espessamento difuso nodulariforme das adrenais (setas brancas).

Ela foi submetida a cirurgia transesfenoidal e a imunohistoquímica (IHC) mostrou imunoreatividade para GH e prolactina. Evoluiu no pós-operatório com hipopituitarismo anterior, caracterizado por insuficiência adrenal e deficiências tireotrófica, lactotrófica, somatotrófica com concentrações plasmáticas de T4 livre 0,59 ng/dL (0,74 a 1,72 ng/dL), prolactina 1,6 ng/mL (5 a 25 ng/mL) e IGF-1 39 ng/mL (58,2 a 219 ng/mL). Atualmente em reposição com levotiroxina 88mcg ao dia e prednisona 5mg ao dia.

O HPTP foi diagnosticado na mesma época com calcemia de 11,4 mg/dL (8,4 a 10,1 mg/dL), PTH de 447 pg/mL (15 a 65 pg/mL) e 25OHD 25 ng/mL (30 a 60 ng/mL). O USG de paratireoides mostrou imagem hipoeecogênica de localização retrotireoidiana à esquerda (Figura 16), que foi submetida à punção aspirativa por agulha fina (PAAF) e a dosagem de PTH no aspirado era de 795,2 pg/mL. Também foi realizada cintilografia de paratireoides que mostrou retenção do radiotraçador em polo inferior do lobo esquerdo da tireoide, sem sinais de tecido paratireoidiano ectópico. A TC de abdome também evidenciou nefrolitíase bilateral.

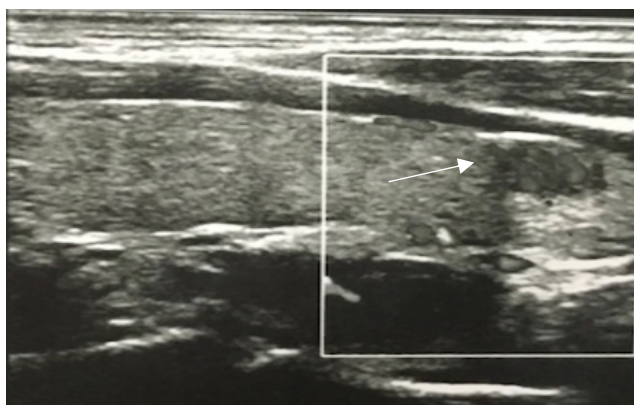


Figura 16 - USG de paratireoides do indivíduo II.6. Observa-se imagem hipoeecoaica medindo 14x15 mm de localização retrotireoidiana à esquerda (seta branca).

Caso II.3

Indivíduo do sexo feminino, 49 anos, apresentava antecedente de nefrolitíase. Durante o rastreamento familiar foi identificado HPTP com calcemia de 10,8 mg/dL (8,3 a 10,6 mg/dL), PTH de 145 pg/mL (15 a 65 pg/mL) e 25OHD 20,6 ng/mL (30 a 60 ng/mL). O USG de paratireoides identificou nódulo hipoecoico em terço inferior do lobo direito da tireoide, medindo 0,59x0,52x1,83 cm, que foi submetido à PAAF e dosagem de PTH no aspirado de 1.210 pg/mL. Aguarda paratireoidectomia.

A TC de abdome mostrou espessamento nodular na haste medial de adrenal esquerda medindo cerca de 1,0x0,9 cm, isoatenuante em relação a musculatura e presença de cálculos e cistos renais bilaterais. Além disso, a dosagem da prolactina era de 10,1 ng/mL (5 a 25 ng/mL) e do IGF-1 de 106 ng/mL (53,3 a 215 ng/mL).

Caso II.4

Indivíduo do sexo masculino, tinha 46 anos quando foi submetido ao rastreamento clínico familiar e apresentava antecedente de nefrolitíase de repetição e rins policísticos com rim direito excluído. A TC de abdome evidenciou nódulos em ambas adrenais de natureza indeterminada. Na adrenal direita, o nódulo tinha 4,5 cm com densidade de 44 Unidades Hounsfield (UH) e *washout* de 69% e outro nódulo na adrenal esquerda mediana medindo 1,9cm com densidade de 25UH e *washout* de 41%.

A investigação laboratorial demonstrou concentrações plasmáticas de metanefrinas 28,1 pg/mL (<65 pg/mL), normetanefrinas de 208 pg/mL (< 196 pg/mL) e metanefrinas na urina de 24 horas com metanefrina de 124 mcg/24h (< 320 mcg/24h) e normetanefrinas de 333 mcg/24h (< 390 mcg/24h). O cortisol pós 1 mg de dexametasona foi de 2,92 mcg/dL (<1,8 mcg/dL). Ele foi submetido a adrenalectomia e nefrectomia direita, evoluiu no pós-operatório com insuficiência adrenal, mantendo no momento reposição com prednisona 2,5mg ao dia.

Nesse período, a avaliação bioquímica de rastreio para HPTP mostrou calcemia de 12 mg/dL (8,3 a 10,4 mg/dL), PTH de 107 pg/mL (15 a 65 pg/mL) e 25OHD 44,6 ng/mL (30 a 60 ng/mL). O USG mostrou paratireoide inferior direita aumentada e a cintilografia de paratireoides mostrou área de retenção tardia no polo inferior direito da tireoide (Figura 17). Nesse período, apresentou quadro de sepse de foco urinário por uma pielonefrite secundária a litíase em rim único esquerdo. Durante internação foi submetido a passagem de cateter duplo J à esquerda com desobstrução ureteral. A paratireoidectomia subtotal foi realizada na mesma internação com retirada de paratireoides inferiores direita e esquerda e paratireoide superior direita. Um mês após a cirurgia, a calcemia era de 11,7 mg/dL (8,3 a 10,4 mg/dL) e o PTH de 87,31 pg/mL (15 a 65 pg/mL).

Além disso, durante o rastreamento também foi evidenciado microadenoma hipofisário de 4x2 mm (Figura 18) com prolactina de 12 ng/mL (5 a 25 ng/mL) e IGF-1 de 153 ng/mL (58,2 a 219 ng/mL).

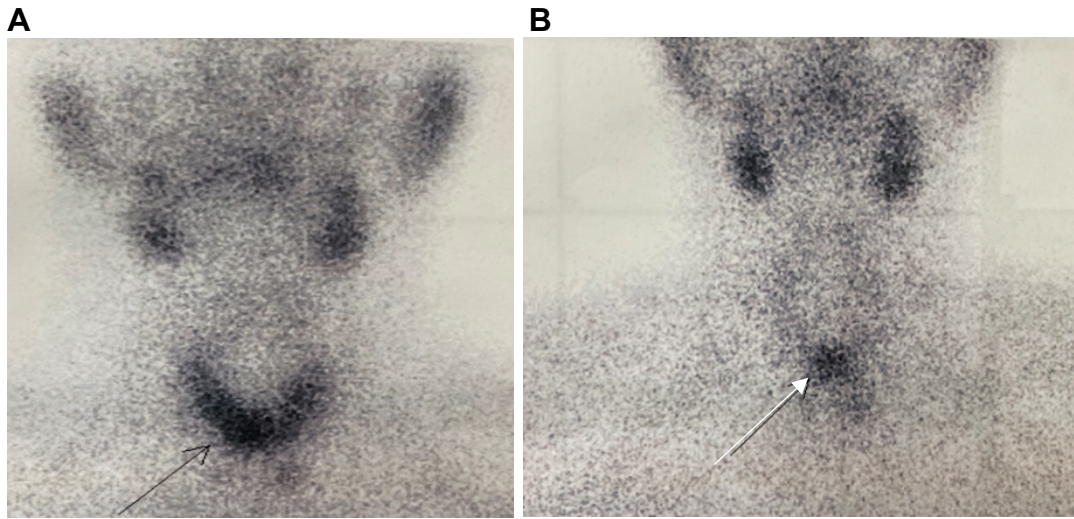


Figura 17 - Cintilografia de paratireoides do indivíduo II.4. Captação após 15 minutos (A) e após 2 horas (B) mostrando área de retenção tardia no polo inferior direito da tireoide (seta branca).

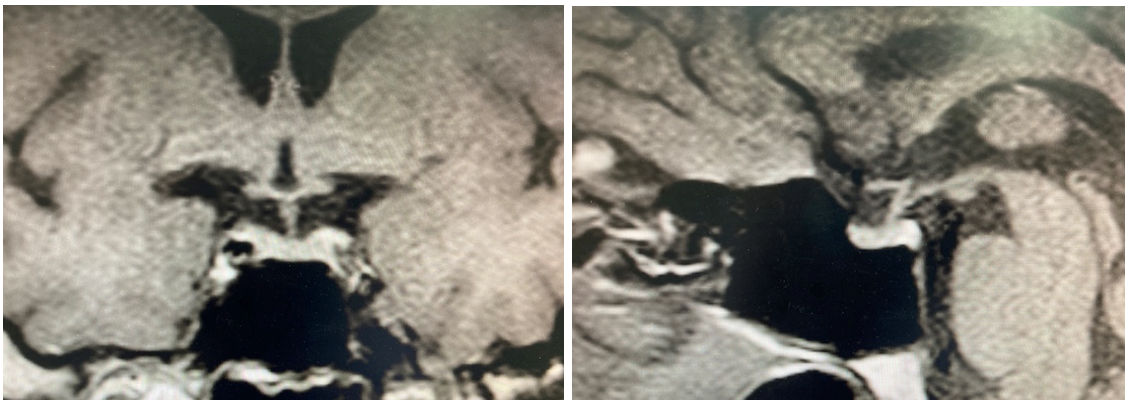


Figura 18 – RM de sela túrcica do indivíduo II.4 com microadenoma hipofisário.

Caso III.1

Indivíduo do sexo feminino, tinha 26 anos quando foi submetida ao rastreamento familiar e apresentava antecedente de amenorreia secundária desde os 18 anos de idade associada a galactorreia. A prolactina era de 700 ng/mL (5 a 25 ng/mL) e IGF1 de 133 ng/mL (83,6 a 259 ng/mL). Estava em uso de cabergolina na dose semanal de 1mg, porém ainda mantendo sintomas e com prolactina de 1.493 ng/mL (5 a 25 ng/mL). A RM de sela mostrou lesão expansiva com invasão de seio cavernoso bilateralmente, medindo 23x21x16 mm. A dose da cabergolina foi aumentada para 2mg por semana e a prolactina atual é de 49,35 ng/mL. A RM de sela, realizada após ajuste da dose de cabergolina, mostrou redução significativa da lesão hipofisária.

No mesmo período também foi feito diagnóstico de HPTP com calcemia de 11,4 mg/dL (8,3 a 10,4 mg/dL), PTH de 346 pg/mL (15 a 65 pg/mL) e 25OHD 16,4 ng/mL (30 a 60 ng/mL). O USG mostrou paratireoides inferiores direita e esquerda de dimensões aumentadas (Figura 19). O USG de rins e vias urinárias não visualizou cálculos e a DXA mostrou baixa massa óssea em terço distal do rádio esquerdo (Z-score de -3,5), com colo do fêmur (Z-score de -1,4) e coluna lombar (Z-score de -1,7) normais. Aguarda realização de paratireoidectomia.

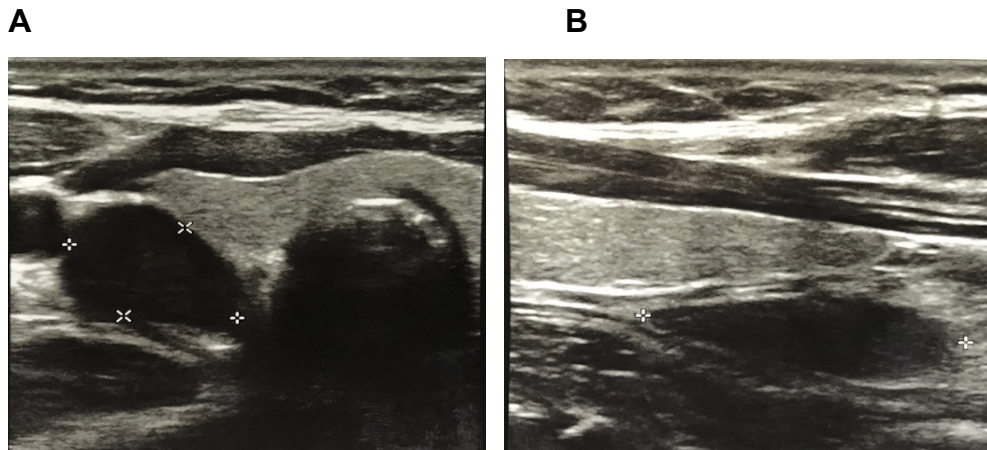


Figura 19 - USG de paratireoides da indivíduo III.1. Observa-se aumento das paratireoides em polo inferior do lobo direito, medindo 4,4 cm (A) e do lobo esquerdo, medindo 2,3 cm (B)

5.1.1.3 Família 3

Na família 3 (F3), apenas o caso-índice (II.1) realiza acompanhamento no HUB (Figura 20), sendo que os outros membros da família obtiveram diagnóstico e acompanhamento em outro serviço.

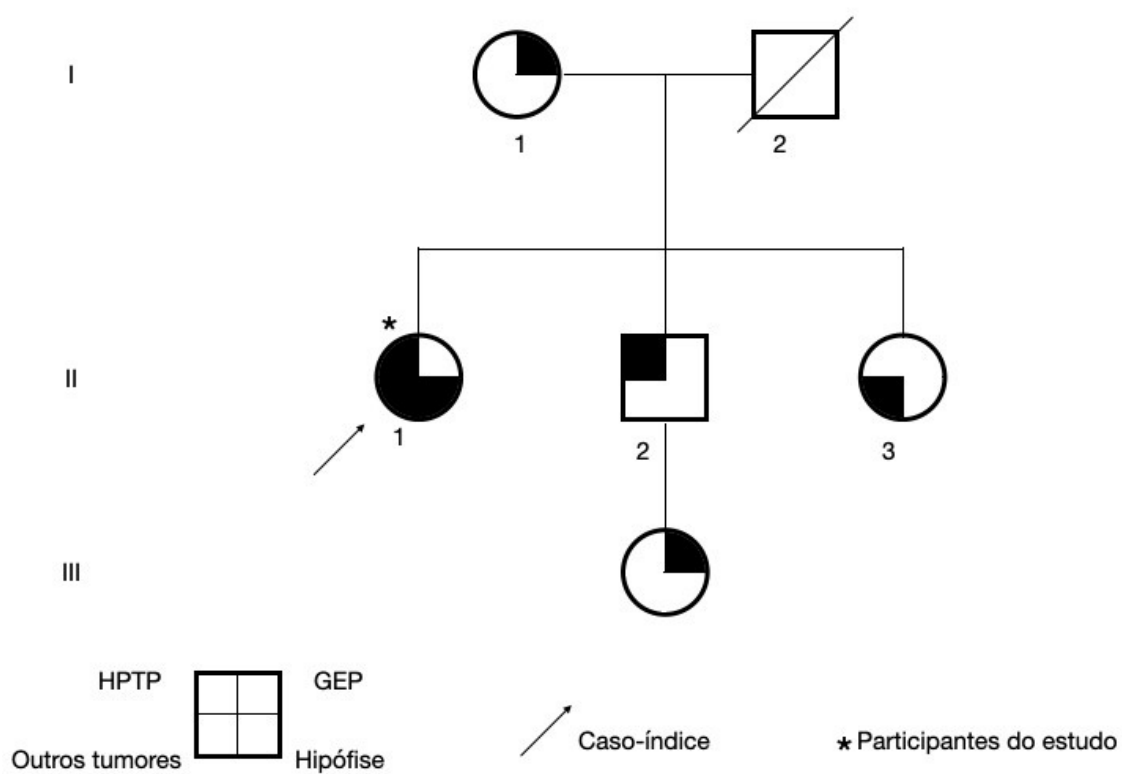


Figura 20 - Heredograma F3. HPTP: Hiperparatireoidismo Primário; GEP: Gastroenteropancreático.

Caso-índice (II.1)

Indivíduo do sexo feminino com história de amenorreia secundária desde os 15 anos associada a galactorreia e cefaleia intensa. Foi diagnosticada com macroprolactinoma aos 38 anos, apresentando prolactina de 453,95 ng/mL (5 a 25 ng/mL) e RM de sela com lesão de 20x18x18 mm com extensão supraselar e compressão do quiasma óptico. Iniciado tratamento com cabergolina, que chegou à dose máxima semanal de 3,5mg, porém as concentrações de prolactina e IGF-1 permaneceram elevadas, 106 ng/mL (5 a 25 ng/mL) e 415 ng/mL (101 a 267 ng/mL), respectivamente.

Ela evoluiu com hemianopsia bitemporal e foi submetida à cirurgia transesfenoidal aos 45 anos. No segundo dia de pós-operatório apresentou diabetes insipidus transitório e no sétimo dia evoluiu com secreção inapropriada de hormônio antidiurético (SIADH) que foi manejado com restrição hídrica. A IHC mostrou ser fortemente positivo para prolactina, ACTH e GH. Após a cirurgia as concentrações de prolactina eram de 20,8 ng/mL (5 a 25 ng/mL) e IGF-1 de 129 ng/mL (101 a 267 ng/mL). A RM de sela realizada 6 meses após cirurgia não mostrou recidiva do tumor (Figura 21).

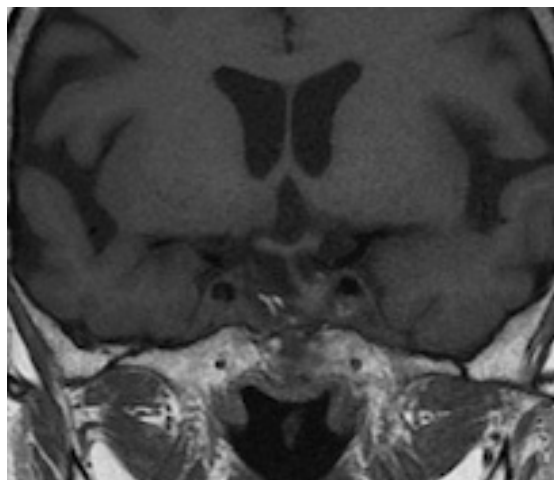


Figura 21 - RM de sela do indivíduo II.1. Imagem ponderada em T1 mostrando desvio de haste para a esquerda, sem sinais de recidiva.

O diagnóstico do HPTP foi feito em 2015 com calcemia de 10,6 mg/dL (8,3 a 10,4 mg/dL) e PTH de 134,3 pg/mL (15 a 65 pg/mL) e 25OHD de 35 ng/mL (30 a 60 ng/mL). Na ocasião apresentava baixa massa óssea em terço distal do rádio (Z-score de -2,3), mas com valores dentro da normalidade em L1-L4 (Z-score de -1,6) e em colo do fêmur (Z-score de -1,0). A cintilografia de paratireoides evidenciou captação tardia em terço médio do lobo esquerdo da tireoide (Figura 22) e USG de paratireoides descreveu imagem nodular medindo 13x4,6mm localizada posteriormente ao polo inferior do lobo esquerdo da tireoide. Além disso, apresentava nefrolitíase visualizada em TC de abdome. Ela foi submetida a paratireoidectomia parcial à esquerda ano passado e as concentrações após um ano da cirurgia mostraram PTH de 95,29 pg/mL (15 a 65 pg/mL) e cálcio sérico de 10,4 mg/dL (8,3 a 10,4 mg/dL).

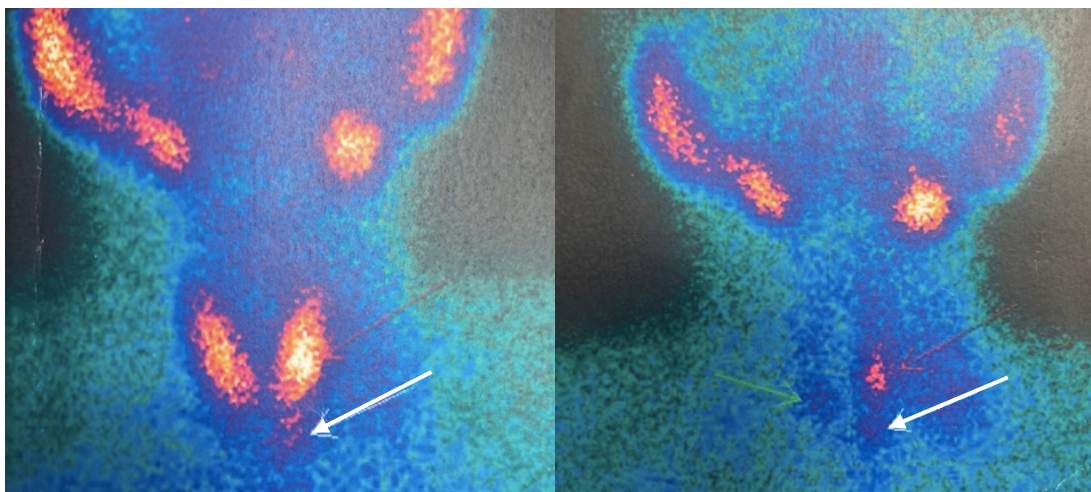


Figura 22 - Cintilografia de paratireoides do indivíduo II.1. Captação após 15 minutos (A) e após 2 horas (B) mostrando área de retenção precoce e tardia no polo inferior esquerdo da tireoide (setas brancas).

A TC de abdome realizada durante rastreamento mostrou nódulo na adrenal esquerda de 45x38x41 mm com densidade de - 4UH e *washout* relativo de 47%, sugestivo de angiomiolipoma (Figura 23). As metanefrinas urinárias eram de 272 mcg/24h (< 320 mcg/24h) e normetanefrinas urinárias de 382 mcg/24h (< 390 mcg/24h), o cortisol livre urinário de 19,9 mcg/24h (5 a 55 mcg/24h), aldosterona de 3,6 ng/dL (2,5 a 39,2 ng/dL) e atividade plasmática de renina de 1,8ng/mL/H (0,5 a 1,9 ng/mL/H).

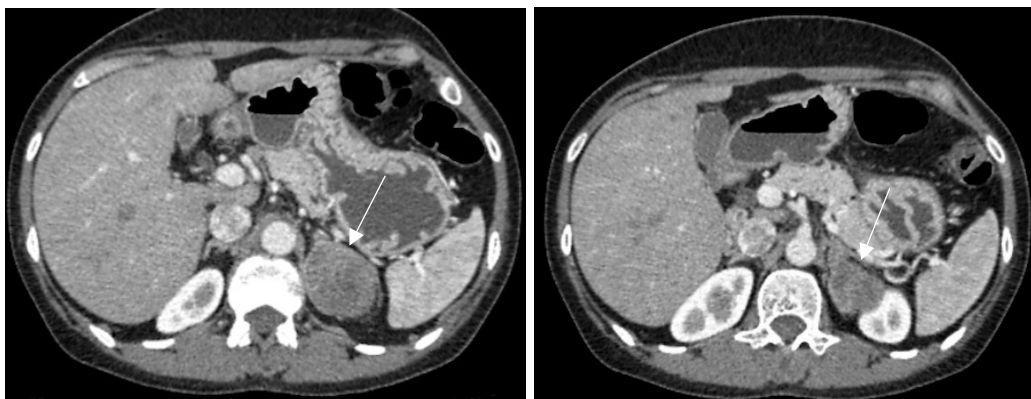


Figura 23 - TC de abdome do indivíduo II.1. Presença de nódulo em adrenal esquerda (seta branca).

5.1.1.4 Família 4

A família 4 (F4) é composta por 6 indivíduos, sendo que 2 apresentaram fenótipo de NEM-1, ambos com HPTP e tumor hipofisário (Figura 24). As características da apresentação inicial dos indivíduos dessa família, que participaram do estudo, estão resumidas na tabela 3.

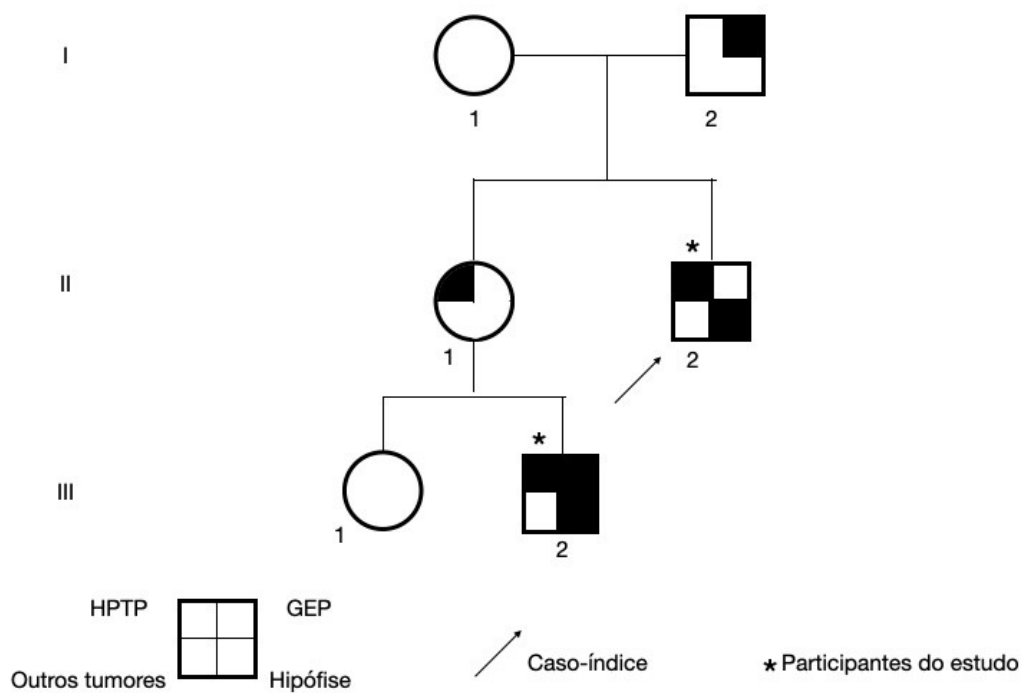


Figura 24 - Heredograma F4. HPTP: Hiperparatireoidismo Primário; GEP: Gastroenteropancreático.

Tabela 3 – Parâmetros clínicos, laboratoriais e de imagem iniciais dos indivíduos da Família 4

Parâmetros	II.2	III.2
Idade ao diagnóstico (anos)	55	29
HPTP	Sim	Sim
PTH (pg/mL)	408	210
Calcemia (mg/dl)	11.5	10.9
Tumor GEP	Não	Não
Gastrina (pg/mL)	NR	20.7
Tumor hipofisário	Sim	Sim
PRL (pg/mL)	10.47	23,730.0
IGF-1 (ng/mL)	68	397
Diâmetro (mm)	41 (maior diâmetro)	NA
Outros tumores	Não	Não

HPTP: Hiperparatireoidismo primário; GEP: gastroenteropancreático; PTH: paratormônio; PRL: prolactina; IGF-1: fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1; NA: não se aplica; NR: Não realizado.

Caso-índice (II.2)

Indivíduo com antecedente de HPTP diagnosticado aos 55 anos, submetido à retirada de tecido paratireoidiano ectópico localizado no mediastino em 2017. Porém, persistia com calcemia de 11,5 mg/dL (8,3 a 10,4 mg/dL), PTH de 408 pg/mL (15 a 65 pg/mL) e apresentava 25OHD de 12,56 ng/mL (30 a 60 ng/mL). Foi iniciada reposição com colecalciferol 2.000ui ao dia e nova dosagem de 25OHD foi de 26,7 ng/mL (30 a 60 ng/mL). A DXA mostrou osteoporose com T-score de -4.7 no terço distal do rádio e também apresentava nefrolitíase, visualizada em TC de abdome. Foi iniciado alendronato 70mg por semana e manutenção da reposição do colecalciferol. Aguarda nova abordagem cirúrgica.

No final de 2016 começou a apresentar comprometimento do campo visual bilateralmente, sendo piora à direita e a campimetria mostrou hemianopsia bitemporal. A RM de sela evidenciou adenoma hipofisário gigante medindo 41mm no maior eixo e extensão suprassellar mantendo contato com corpos mamilares. A prolactina era de 10,47 ng/mL (5 a 25 ng/mL) e o IGF-1 de 68 ng/mL (36 a 300 ng/mL). Na mesma ocasião também foi realizada a prolactina diluída 1/100 que foi de 57,94 ng/mL.

Ele foi submetido a cirurgia transesfenoidal em 2018, evoluindo com hipopituitarismo e comprometimento dos eixos tireotrófico com T4 livre de 0,7 ng/dL (0,74 a 1,72 ng/dL) e gonadotrófico com testosterona total de 45 ng/dL e 51,5 ng/dL (249 a 836 ng/dL), em uso de levotiroxina 100mcg ao dia e cipionato de testosterona 200mg a cada 21 dias. A nova imagem de sela túrcica após um ano da primeira cirurgia mostrou remanescente tumoral (Figura 25A) e como o tamanho estava estável em relação ao exame anterior, foi mantida inicialmente conduta conservadora.

Entretanto, evoluiu com diplopia e ptose palpebral à direita e nova RM de sela túrcica foi realizada após 5 meses mostrando crescimento tumoral com maior diâmetro de 49mm (Figura 25B). Portanto, foi submetido à nova intervenção cirúrgica para debulking tumoral em 2020 via transcraniana, apresentando no pós-operatório piora da ptose palpebral e estrabismo divergente à direita. O anatomopatológico e IHC foram compatíveis com diagnóstico de adenoma do tipo "*null cell*" com negatividade para fator esteroideogênico 1 (SF1), fator 1 de transcrição específico hipofisário (Pit-1) e fator de transcrição *T-Box 19* (TBX19) (Figura 26). A RM realizada 6 meses após a cirurgia mostrou persistência de volumoso adenoma e a última imagem, realizada este ano, com tamanho estável (Figura 25C), sendo mantido apenas acompanhamento clínico com níveis pós-cirurgia de prolactina 7,87 ng/mL (5 a 25 ng/mL), IGF-1 60,9 ng/mL (43 a 220 ng/mL), testosterona 404 ng/dL (249 a 836 ng/dL) e T4 livre de 1,02 ng/dL (0,74 a 1,72 ng/dL).

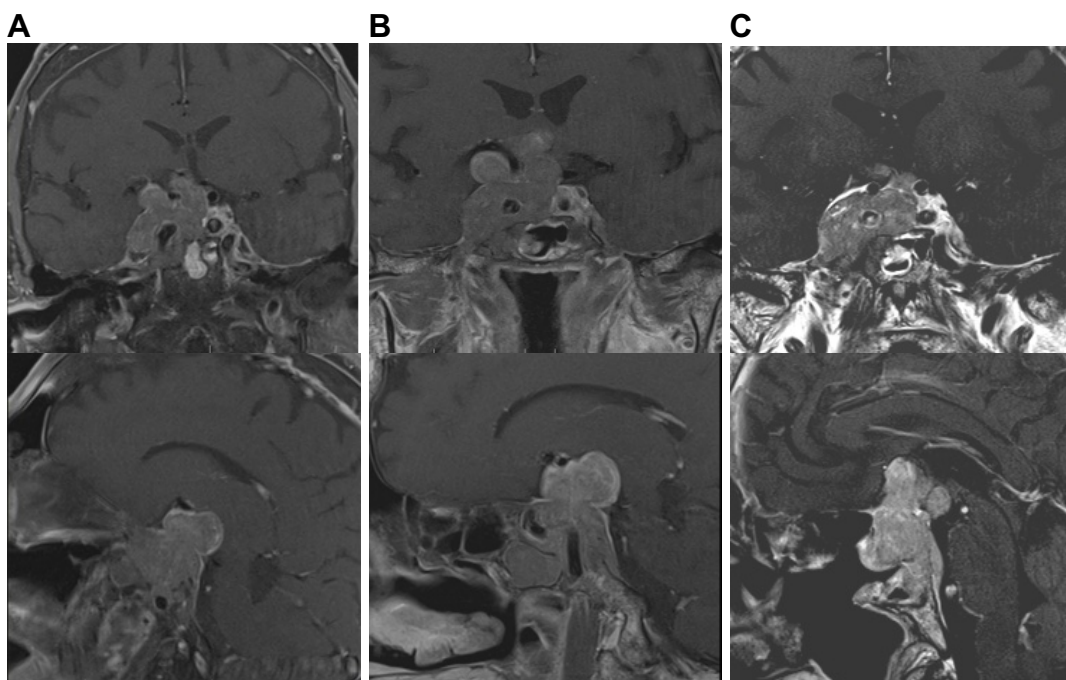


Figura 25 - RM de sela túrcica do indivíduo II.2. A imagem realizada 12 meses após craniotomia (A). Seguimento 6 meses após primeira imagem (B) mostrando crescimento principalmente na porção mais cefálica. Nova imagem 6 meses após debulking mostrando persistência do volumoso adenoma (C).

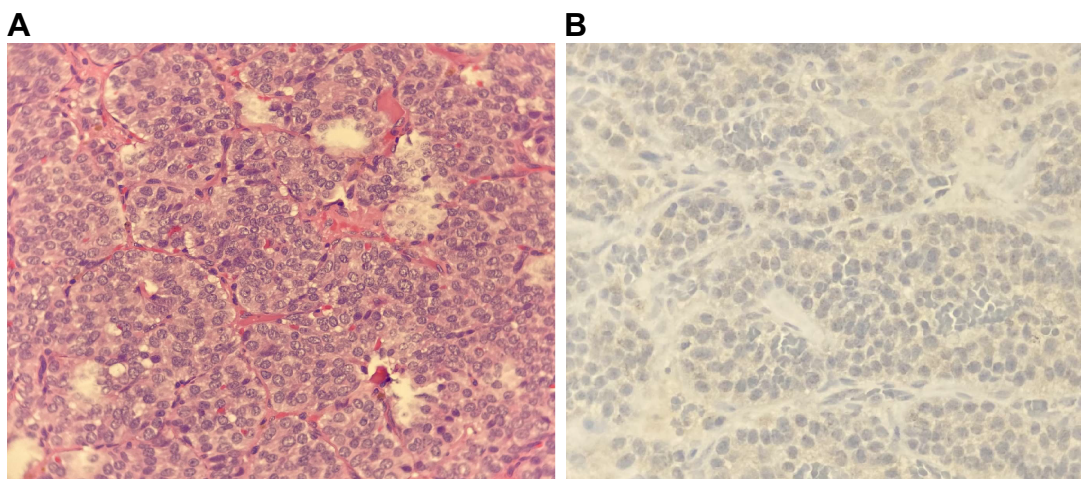


Figura 26 - Anatomopatológico do adenoma hipofisário do indivíduo II.2 compatível com adenoma "null cell" (A) e imunohistoquímica negativa para fatores de transcrição (SF-1, Pit-1 e TBX19) (B).

A TC de abdome realizada para rastreio de tumores do trato GEP mostrou pequeno nódulo hipervascular entre cabeça e corpo do pâncreas medindo 7mm e espessamento da adrenal direita.

Caso III.2

Indivíduo do sexo masculino, com antecedente de perda gradual da visão à direita evoluindo para amaurose associada à ptose palpebral ipsilateral com início em 2012. Evoluiu no período com hemiparesia esquerda, quando foi encaminhado para neurocirurgia com RM de encéfalo que mostrou volumoso adenoma hipofisário com extensão suprasselar, para fossa posterior e região frontoparietal direita (Figura 27). À admissão hospitalar apresentava sintomas de hipertensão intracraniana, sendo submetido à craniotomia aos 29 anos para debulking tumoral. A prolactina era de 23.730 ng/mL (5 a 25 ng/mL) e o IGF-1 de 397 ng/mL (< 259 ng/mL) na ocasião. No pós-operatório apresentou diabetes insipidus e foi constatado hipotireoidismo central com T4 livre de 0,5 ng/dL (0,7 a 1,76 ng/dL). Recebeu alta em uso de desmopressina (DDAVP) spray nasal, levotiroxina 100mcg ao dia e cabergolina 0,5mg por semana, com aumento gradativo até a dose semanal de 3,5mg.

Após a cirurgia, a prolactina era de 9,39 ng/mL (5 a 25 ng/mL) e o IGF-1 de 275ng/mL (< 259 ng/mL). Ele mantinha hipogonadismo com testosterona total de 179 ng/dL (249 a 836 ng/dL) mesmo após normalização da prolactina, portanto, foi iniciado cipionato de testosterona 200mg a cada 15 dias. A lesão mostrou marcação forte e difusa para prolactina e forte e focal para GH e ACTH (Figura 28). Apesar do indivíduo não apresentar clínica para síndrome de Cushing, como a imunohistoquímica mostrou marcação positiva para ACTH foi realizado rastreamento para hipercortisolismo com cortisol salivar noturno < 0,054 (< 0,20), cortisol pós 1mg de dexametasona de 11,5mcg/dL (< 1,5mcg/dL) e cortisol após 2mg de dexametasona < 1mcg/dL.

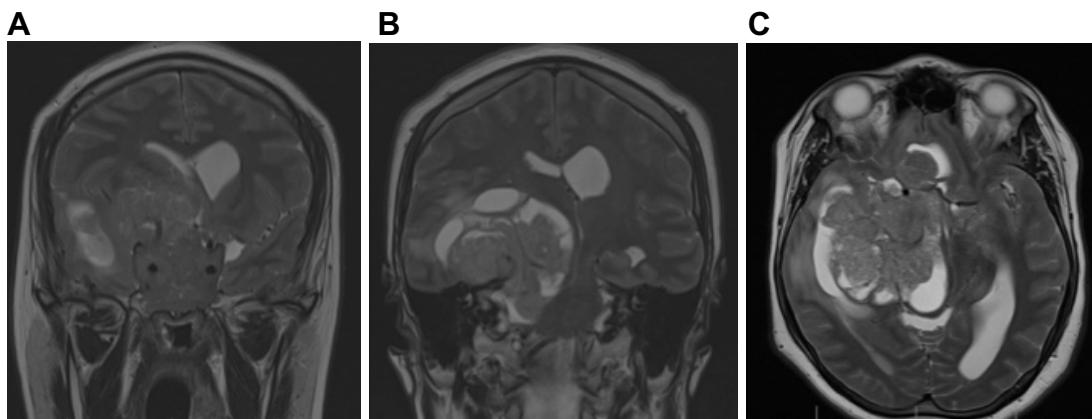


Figura 27 - RM de encéfalo do indivíduo III.2. As imagens mostram lesão expansiva com desvio de linha média e edema peritumoral.

A RM de sela feita um ano após a cirurgia mostrou redução considerável do tamanho tumoral apesar de ainda apresentar remanescente significativo (Figura 29A). Como estava clinicamente bem, com níveis de prolactina estáveis e se recusou a ser submetido a uma nova intervenção cirúrgica, optou-se por manter o tratamento com cabergolina e acompanhamento do volume tumoral semestralmente. A imagem subsequente, realizada após 6 meses mostrou uma pequena redução do remanescente tumoral em comparação ao anterior (Figura 29B).

Nesse período foi realizado rastreamento clínico e apresentou diagnóstico de HPTP com calcemia de 10,9 mg/dL (8,3 a 10,4 mg/dL), 25OHD 38 ng/mL (30 a 60 ng/mL) e PTH de 210pg/mL (15 a 65 pg/mL). A DXA mostrou densidade mineral óssea abaixo do esperado para faixa etária (L1-L4 com Z-score de -3,9 e colo do fêmur com Z-score de -2,7). Além disso, apresenta microcálculos em rim esquerdo que foram visualizados na TC de abdome.

Para rastreio de tumor neuroendócrino do trato GEP, foi realizada TC de abdome mostrou formações nodulares em cabeça e cauda do pâncreas, medindo 21x25 mm e 20x24 mm, respectivamente, e formação nodular sólida na parede posterior na terceira porção do duodeno medindo 13x20 mm. A gastrina sérica na ocasião era de 20,7 pg/mL (15 a 115 pg/mL).

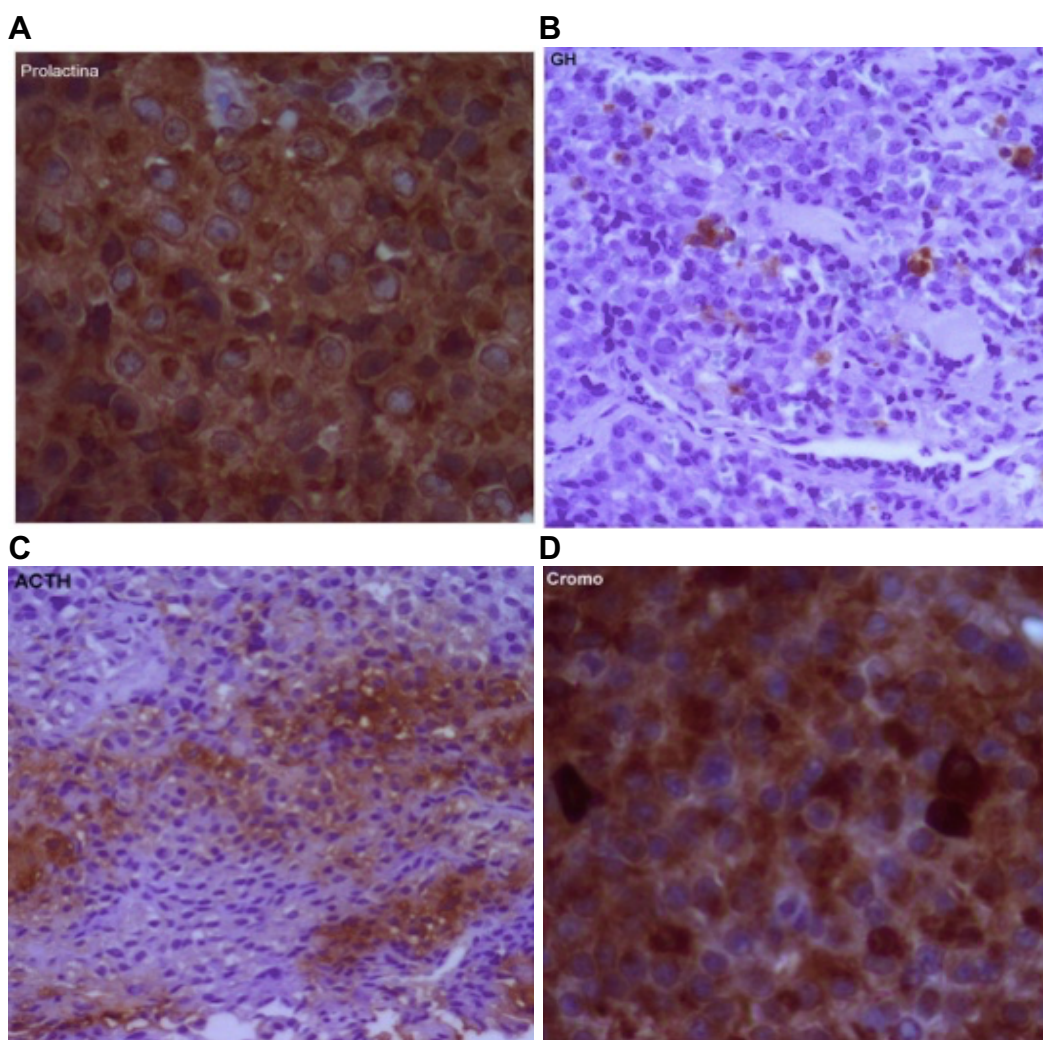


Figura 28 - Imunohistoquímica do tumor hipofisário do indivíduo III.2. A: marcação positiva difusa para prolactina. B e C: marcação positiva forte e focal para GH e ACTH, respectivamente. D: marcação forte e difusa para cromogranina A.

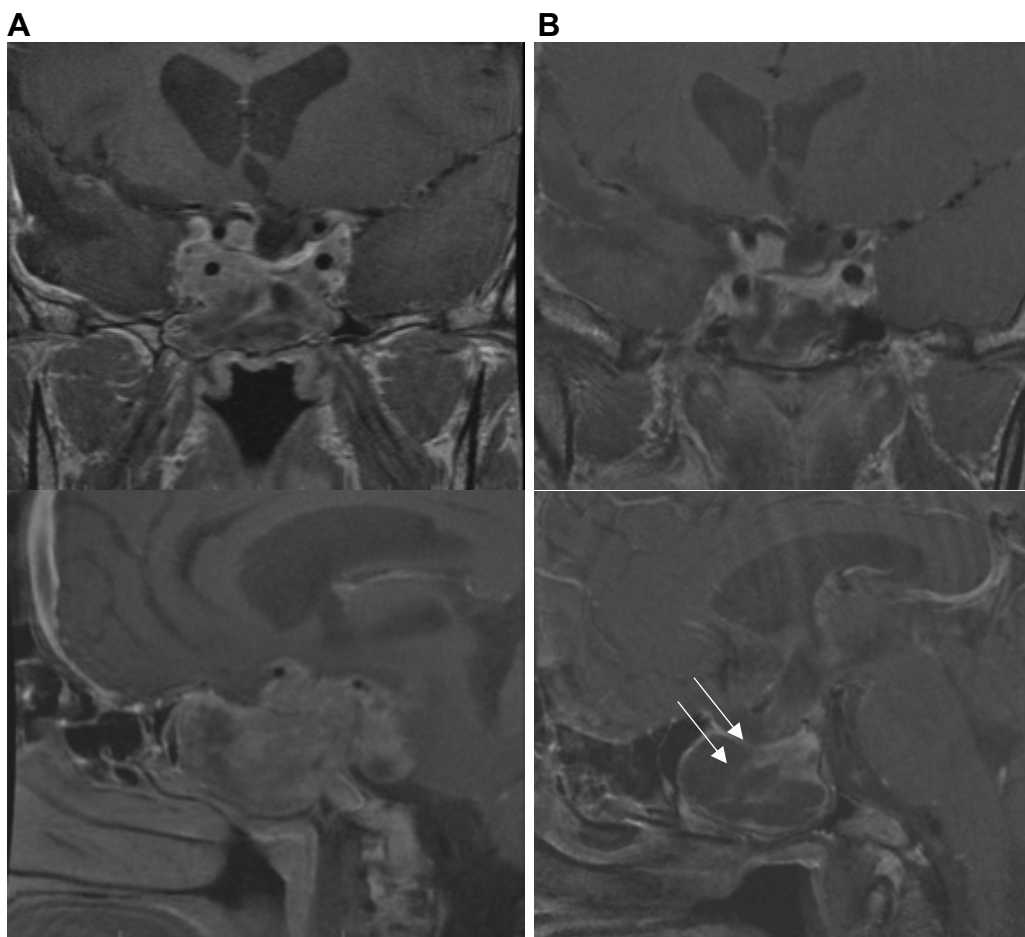


Figura 29 - RM de sela túrcica do indivíduo III.2. Imagem realizada 3 meses após procedimento cirúrgico ainda mostra remanescente tumoral significativo (A). A imagem realizada após 6 meses mostrou pequena redução em comparação à anterior (B), observando-se aumento das áreas com hiposinal T1, sugerindo provável necrose ou degeneração cística (setas brancas).

5.1.2 Caracterização Genotípica

5.1.2.1 Identificação das variantes no gene MEN1

Após a realização do sequenciamento de alto desempenho, foram identificadas variantes no gene MEN1 em todas as famílias. No indivíduo II.1 (F1) foi encontrada uma mutação *non sense* (c.76G>T) no exon 2, nos indivíduos II.6 (F2) e II.1 (F3) foram mutações *missense* (c.1036T>C no exon 7; c.124G>C no exon 2; respectivamente) e no indivíduo II.2 (F4) foi identificada uma mutação em sítio de *splicing* (c.669+1G>T), região intrônica 3+1 (Figura 30).

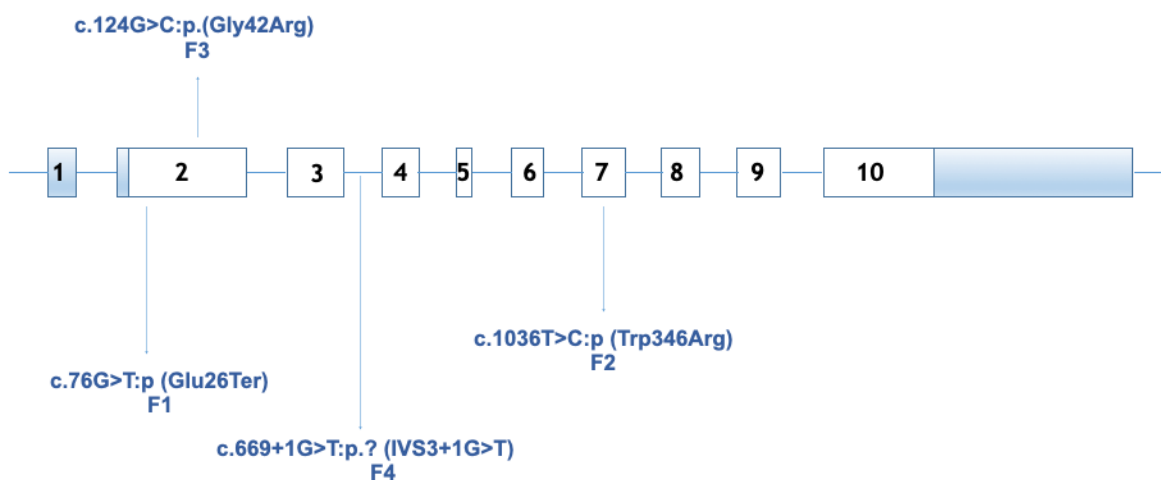


Figura 30 - Distribuição das mutações germinativas no gene MEN1 identificadas nos indivíduos de cada família do estudo.

5.1.2.2 Classificação das variantes encontradas

De acordo com os critérios do *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) (119) as variantes alélicas encontradas nos indivíduos II.1 (F1), II.6 (F2) e II.2 (F4) foram classificadas como patogênicas e a variante do indivíduo II.1 (F3) como provavelmente patogênica, sendo esta última considerada inédita (Tabela 4).

5.1.2.2.1 Família 1

A variante MEN1(NM_000244.3):c.76G>T (p.Glu26Ter), identificada na família 1, está ausente nos bancos de dados populacionais indicando que é rara (gnomAD 0,0%) e não é relatada no banco de dados ClinVar, atendendo o critério patogênico moderado PM2 das regras de classificação ACMG.

Trata-se de uma variante nula (*nonsense*) no exon 2 do gene MEN1 levando a uma troca de aminoácidos (GAG → TAG) que gera um “códon” de parada prematuro no mRNA MEN1, sendo este um mecanismo conhecido de perda de função e patogenicidade por originar uma proteína MEN1 truncada ou dirigir seu mRNA alterado para a degradação de mRNA mediada por mutações “nonsense”, atendendo o critério patogênico muito forte PVS1 das regras de classificação ACMG. Algoritmos de predição *in-silico* indicam que é uma mutação patogênica (BayesDel_addAF, DANN, EIGEN, FATHMM-MKL e MutationTaster), atendendo o critério patogênico de suporte PP3 das regras de classificação ACMG. Essa variante já foi identificada em indivíduos com neoplasia endócrina múltipla do tipo 1 (PMID: 16563611, 17953629), atendendo o critério patogênico forte PS4 das regras de classificação ACMG (usando os critérios PVS1+PS4+PM2+PP3) (119).

5.1.2.2.2 Família 2

A variante MEN1(NM_000244.3):c.1036T>C (p.Trp346Arg), identificada na família 2, está ausente nos bancos de dados populacionais indicando que é rara (gnomAD 0,0%), e não é relatada no banco de dados ClinVar, atendendo o critério patogênico moderado PM2 das regras de classificação ACMG.

Trata-se de uma variante *missense* no exon 7 do gene MEN1 que leva à troca do aminoácido triptofano por uma arginina no códon 346 do transcrito NM_000244.3. Segundo o GnomAD, o gene MEN1 tem baixa taxa de variantes “missense” benignas, atendendo o critério patogênico de suporte PP2 das regras de classificação ACMG. Uma variante no mesmo códon, mas em um nucleotídeo diferente e gerando a mesma troca de aminoácido foi anteriormente classificada como patogênica, atendendo o critério patogênico forte PS1 das regras de classificação ACMG. Além disso, o códon em questão se encontra em *hotspot* mutacional crítico e bem estabelecido, atendendo o critério patogênico moderado PM1 das regras de classificação ACMG. Algoritmos de predição *in-silico* indicam que é uma mutação patogênica (revel: 0,935), atendendo o critério patogênico de suporte PP3 das regras de classificação ACMG.

Outrossim, esta variante já foi descrita co-segregando com hiperparatireoidismo familiar isolado e presente em indivíduo com NEM-1 (PMID: 12112656, 12807514, 17853334, 24074368), atendendo o critério patogênico forte PS4 das regras de classificação ACMG (usando os critérios PS1+PS4+PM2+PM1+PP2+PP3) (119).

5.1.2.2.3 Família 3

A variante MEN1(NM_000244.3):c.124G>C p.(Gly42Arg), identificada na família 3, está ausente nos bancos de dados populacionais indicando que é rara (gnomAD 0,0%) e não é relatada no banco de dados ClinVar, atendendo o critério patogênico moderado PM2 das regras de classificação ACMG.

Trata-se de uma variante *missense* no exon 2 do gene MEN1 que leva à troca do aminoácido glicina por uma arginina no códon 124 do transcrito NM_000244.3. Segundo o GnomAD, o gene MEN1 tem baixa taxa de missense benigna, atendendo o critério patogênico de suporte PP2 das regras de classificação ACMG. Duas variantes no mesmo nucleotídeo, mas gerando trocas de aminoácidos diferentes foram anteriormente classificadas como patogênica (Gly42Asp) e provavelmente patogênica (Gly42Val) (atendendo o critério patogênico moderado PM5 das regras de classificação ACMG).

Além disso, o códon em questão se encontra em *hotspot* mutacional crítico e bem estabelecido, atendendo o critério patogênico moderado PM1 das regras de classificação ACMG. Algoritmos de predição *in-silico* indicam que é uma mutação patogênica (revel: 0,9539), atendendo o critério patogênico de suporte PP3 das regras de classificação ACMG (usando os critérios PM1+PM2+PM5+PP2+PP3) (119).

5.1.2.2.4 Família 4

A variante MEN1(NM_000244.3):c.669+1G>T, identificada na família 4, está ausente nos bancos de dados populacionais avaliados indicando que é rara (gnomAD 0,0%), atendendo o critério patogênico moderado PM2 das regras de classificação ACMG. Esta variante está depositada no ClinVar e os 3 submissores a classificam como patogênica, atendendo o critério patogênico de suporte PP5 das regras de classificação ACMG.

Trata-se de uma variante nula que ocorre em um sítio de “splicing” canônico, sendo este um mecanismo conhecido de perda de função e patogenicidade por causar um processamento anormal do mRNA do gene MEN1 ou dirigir esse mRNA alterado para a degradação de mRNA mediada por mutações “nonsense”, atendendo o critério patogênico muito forte PVS1 das regras de classificação ACMG. O gene MEN1 tem baixa taxa de variantes que causam perda de função benignas segundo o gnomAD, atendendo o critério patogênico de suporte PP2 das regras de classificação ACMG.

Esta variante foi observada em vários indivíduos e famílias afetadas com NEM-1 (PMID: 9709921, 15635078, 9064485, 9671073), atendendo o critério patogênico forte PS4 das regras de classificação ACMG (usando os critérios PVS1+PS4+PM2+PP2+PP5) (119).

Tabela 4 – Resumo das características fenotípicas e genótípicas dos quatro indivíduos submetidos ao teste genético

Indivíduo	Sexo	Tumor	Exon Intron	Mutação	Tipo	ACGM
II.1 (F1)	M	HPTP PROLAC LBD	2	76G>T p.Glu26Ter	<i>nonsense</i>	P
II.6 (F2)	F	HPTP ACRO INS	7	1036T>C p.Trp346Arg	<i>missense</i>	P
II.1 (F3)	F	HPTP PROLAC ADRENAL	2	124G>C p.Gly42Arg	<i>missense</i>	PP
II.2 (F4)	M	HPTP ACNF	3+1	669+1G>T p.?:	sítio de <i>splicing</i>	P

HPTP: Hiperparatireoidismo Primário; PROLAC: Prolactinoma; ACRO: Acromegalia; INS: Insulinoma; ACNF: Adenoma Clinicamente Não Funcionante; LBD: Lipossarcoma Bem Diferenciado. P: patogênica; PP: provavelmente patogênica. ACGM: *American College of Medical Genetics and Genomics*.

6 DISCUSSÃO

A NEM-1 é uma condição rara e caracterizada por combinações variáveis de mais de 20 tumores endócrinos e não endócrinos, sendo que os de paratireoides, do trato gastroenteropancreático e da hipófise são os mais característicos (9).

Os indivíduos com NEM-1 apresentam uma expectativa de vida reduzida quando comparados aos indivíduos com as formas esporádicas desses tumores (1). O prognóstico melhora consideravelmente quando esses tumores são identificados em estágios iniciais, ou seja, em indivíduos que estão assintomáticos (9). Nesse sentido, faz-se necessário uma equipe interdisciplinar que reconheça clinicamente a variabilidade fenotípica encontrada nesses indivíduos bem como a realização do rastreamento genético familiar. Assim, este estudo descreve as características clínicas e moleculares de quatro famílias com NEM-1 acompanhadas ambulatorialmente em um centro terciário no Distrito Federal.

A média de idade ao diagnóstico dos casos-índices do estudo foi de 45 anos. O atraso no diagnóstico da NEM-1 também tem sido observada em outros países e pode ocorrer tanto por uma demora em identificar o caso-índice quanto no tempo entre o diagnóstico do caso-índice e o rastreio familiar (120). Um estudo baseado na análise de banco de dados de indivíduos com NEM-1 no Japão mostrou que a média de idade ao diagnóstico ocorreu na quarta década de vida em 50% dos casos (121). Outro estudo, também baseado em banco de dados, verificou que a média de idade do diagnóstico na Itália também foi por volta da quarta década de vida (122).

Todos os participantes deste estudo apresentam HPTP (100%), porém, esta não foi a primeira manifestação da doença na maioria dos indivíduos. Sabe-se que o HPTP é o componente mais frequente da NEM-1, apresentando uma penetrância de quase 100% até a quinta década de vida (12).

Apesar de o HPTP ser a primeira manifestação em quase 90% dos casos (27,122), os tumores hipofisários foram a primeira manifestação mais comum, ocorrendo em 5 dos 11 indivíduos (45,5%). Acredita-se que isso tenha ocorrido pelo fato de os indivíduos serem acompanhados ou referenciados ao ambulatório de Neuroendocrinologia.

Cinco dos seis indivíduos com HPTP assintomático, que foram submetidos a densitometria, apresentavam baixa massa óssea ao diagnóstico, sendo que três (indivíduos III.1 das famílias 1 e 2 e indivíduo III.2 da família 4) tinham idade inferior a 30 anos. Estudos já demonstraram que mulheres com NEM-1 e idade entre 20 e 35 anos apresentam uma maior incidência de baixa massa óssea quando comparadas a população geral da mesma faixa etária (123,124,125). Um estudo conduzido no Brasil demonstrou o comprometimento da massa óssea em metade dos indivíduos com NEM-1 do grupo com idade inferior a 30 anos, apesar de ser mais frequente e grave no grupo de indivíduos com idade acima de 50 anos (126). Esse acometimento ósseo precoce, ocorrendo cerca de três décadas antes dos casos esporádicos, resulta na exposição prolongada e persistente a concentrações elevadas de PTH e pode afetar inclusive o pico de massa óssea e, conseqüentemente, aumentar o risco de fraturas nesses indivíduos (9). Até o momento, nenhum dos participantes deste estudo apresentou fraturas.

O HPTP esporádico acomete com maior frequência indivíduos do sexo feminino do que do sexo masculino (3:1), sendo que na NEM-1 o acometimento é similar em ambos os sexos (1,9). No presente estudo, todos os participantes tinham diagnóstico de HPTP, sendo que cinco eram do sexo masculino e seis do sexo feminino, mostrando que não houve diferença de prevalência entre os sexos. Outrossim, ao contrário do que ocorre nos casos esporádicos, as concentrações de PTH e cálcio séricos não parecem estar relacionadas com surgimento de nefrolitíase ou acometimento ósseo (125). Nove dos 11 participantes do estudo apresentavam nefrolitíase identificada na ultrassonografia de rins e vias urinárias ou TC de abdome e não houve relação deste achado com os valores de PTH ou calcemia.

Além do comprometimento ósseo precoce, outros fatores clínicos associados ao HPTP na NEM-1 podem piorar a perda de massa óssea nesses indivíduos como o hipogonadismo, a deficiência do hormônio de crescimento, o hipercortisolismo e os inibidores de bomba de próton utilizados para o tratamento clínico dos gastrinomas (124). Três dos cinco indivíduos do nosso estudo (III.1 da família 2, II.2 e III.2 da família 4), que apresentavam baixa massa óssea pela DXA, apresentavam diagnóstico de hipogonadismo secundário à hiperprolactinemia ou compressão tumoral do tecido hipofisário adjacente.

Ademais, alguns estudos recentes com modelos animais demonstraram o papel que o gene MEN1 tem na regulação da osteogênese e na manutenção da massa óssea (127,126). A regulação positiva da JunD em decorrência de uma proteína menin truncada pode alterar diretamente o metabolismo ósseo nos indivíduos com NEM-1 (129). A menin também parece estar envolvida na regulação das células tronco-mesenquimais com as linhagens osteogênicas e miogênicas por meio da via Smad3/TGF- β (128,130).

A desmineralização óssea que ocorre no HPTP esporádico é caracterizada classicamente por afetar mais o osso cortical do que o osso trabecular, quando se utiliza a DXA como método de avaliação (22,131). Acreditava-se que isso ocorria devido ao efeito anabólico do PTH sobre o osso trabecular e ao efeito catabólico no osso cortical (131). Entretanto, observa-se que o acometimento de massa óssea do HPTP na NEM-1 ocorre tanto do osso cortical quanto do trabecular (9,132). Neste estudo, todos os indivíduos apresentaram um maior comprometimento do rádio distal quando comparado aos sítios de coluna lombar e colo do fêmur. Porém, dois indivíduos do sexo masculino com idade inferior a 30 anos (III.1 da família 1 e III.2 da família 4) também apresentaram comprometimento importante da coluna lombar (Z-score de -2,1 e -3,9, respectivamente).

O acometimento das quatro glândulas é comum na NEM-1 e isso pode ocorrer devido à hiperplasia ou presença de múltiplos adenomas nas paratireoides (10). Sabe-se que a paratireoidectomia subtotal pode apresentar persistência ou recorrência da hipercalcemia em aproximadamente 30 a 40% dos casos após a cirurgia (1). O caso-índice (II.2) da família 4 e o indivíduo II.4 da família 2 apresentavam persistência do HPTP após a paratireoidectomia parcial

A segunda manifestação mais comum foram tumores hipofisários em nove dos 11 participantes do estudo (81,8%), sendo que o mais comum foram os macroadenomas, presentes em sete indivíduos (77,8%). Os macroadenomas são mais comuns nos indivíduos com NEM-1 e geralmente apresentam invasão de estruturas adjacentes quando comparados aos casos esporádicos (58,63,133).

Sobre os subtipos de tumores hipofisários, os prolactinomas foram os mais comuns, presentes em quatro indivíduos (44,4%), seguidos pelo adenoma clinicamente não funcionante (ACNF) em três indivíduos (33,3%). Estudos demonstram que os prolactinomas são os mais prevalentes no contexto da NEM-1 (~65%), seguidos pelo somatotropinoma, adenoma secretor de ACTH e o ACNF, respectivamente (134,135). Ressalta-se que o segundo subtipo mais comum encontrado no neste estudo foi o ACNF, o que também foi verificado em outro estudo realizado na China (136). Possivelmente isso ocorreu pelo fato desses indivíduos com ACNF terem sido submetidos ao rastreamento clínico, bioquímico e de imagem em estágios iniciais.

Observou-se que dois indivíduos apresentaram adenomas cossecretores (II.6 da família 2 e III.2 da família 4). Alguns estudos demonstraram que adenomas pluri-hormonais são mais frequentes no contexto da NEM-1 quando comparado aos adenomas hipofisários esporádicos. Associações incomuns podem ocorrer como a secreção de prolactina e ACTH (59,136), o que foi evidenciado em um dos indivíduos que apresentava imunohistoquímica com marcação positiva para prolactina, GH e ACTH (indivíduo III.2 da família 4).

Três indivíduos apresentaram macroprolactinomas que cresceram durante o acompanhamento, apesar da dose semanal de 3,5mg de cabergolina e, por isso, foram submetidos ao tratamento cirúrgico. Os macroprolactinomas são mais prevalentes na NEM-1 quando comparado aos casos isolados, além de serem mais resistentes ao tratamento com agonistas dopaminérgicos e, portanto, necessitam de abordagem cirúrgica para controle bioquímico e do volume tumoral (58,60,137,138).

Os tumores do trato GEP permanecem sendo a principal causa de mortalidade em indivíduos com NEM-1 (40) e necessitam de atenção para um diagnóstico precoce principalmente dos gastrinomas, que são responsáveis pela maioria dos óbitos (138). A presença de metástases ao diagnóstico pode ocorrer em quase metade dos casos, sendo outro fator de pior prognóstico (47,140). Três indivíduos apresentaram tumores do trato GEP, sendo dois gastrinomas e um insulinooma. O único participante deste estudo que faleceu foi o caso-índice (I.1) da família 1 que recebeu o diagnóstico de um gastrinoma com doença metastática de rápida evolução.

As lesões adrenais têm sido descritas em cerca de 36 a 73% dos indivíduos com NEM-1 (66,141). Geralmente são diagnosticadas como sendo incidentalomas durante o rastreamento radiológico e a maioria são não funcionantes (70). Dois indivíduos apresentavam comprometimento adrenal com lesões que tinham dimensões acima de 4 cm (II.4 da família 2 e II.1 da família 3). Estudos prévios mostraram que a maioria dessas lesões tem diâmetro inferior a 4 cm (66,67,142). Provavelmente os participantes deste estudo tiveram um diagnóstico mais tardio, podendo justificar este achado. O indivíduo II.4 apresentava lesão bilateral e hipercortisolismo subclínico e o indivíduo II.1 (família 3) apresentava lesão unilateral esquerda não funcionante.

Algumas lesões cutâneas são comuns na NEM-1, como os angiofibromas, colagenomas e lipomas (1,143). A incidência de lipomas pode variar de 5% a 34% (144) e podem apresentar localização atípica como em região intra-torácica (145). Os lipossarcomas bem diferenciados são neoplasias mesenquimais malignas que costumam acometer regiões proximais dos membros e o retroperitônio, ocorrendo com maior frequência entre a quinta e sétima décadas de vida (146). Além de lipomas em regiões torácica e clavicular à direita, o indivíduo II.1 da família 1 apresentou lipossarcoma bem diferenciado em ombro direito, uma associação que não foi previamente relatada em indivíduos com NEM-1. Amplificações envolvendo a região do cromossomo 12 (12q13-15) têm sido descritas nesses tumores por alguns autores, principalmente envolvendo os oncogenes MDM2 e CDK4 (146,147).

Até o momento, tem sido difícil encontrar uma correlação genótipo-fenótipo na NEM-1 mesmo em membros de uma mesma família que apresentem a mesma variante (12). Parece que as mutações desempenham um papel ainda incerto nas características clínicas da doença, como a idade do início, recorrência ou marcadores de agressividade (148,149). Ao se observar as manifestações clínicas dos 11 participantes deste estudo, percebe-se a heterogeneidade nos fenótipos apresentados entre membros da mesma família. Apesar disso, a avaliação genética dos indivíduos como NEM-1 reduz a morbimortalidade, pois permite que recebam o tratamento em estágios iniciais da doença (9,93). Ademais, permite identificar membros da família que estão assintomáticos e, dessa forma, possibilita a realização do rastreio bioquímico e de imagem periodicamente (1).

Desde a primeira descrição do gene MEN1, aproximadamente 1.698 mutações germinativas já foram descritas (96). A ausência de *hot spot* estabelece a necessidade de avaliar toda a região codificadora do gene MEN1. Apesar de existirem relatos de mutações ocorrerem com maior frequência nos exons 2, 9 e 10 (93,150).

Embora o último consenso publicado em 2012 (1) enfatize a importância da avaliação genética, não há uma padronização de qual teste realizar para rastreamento. Alguns estudos utilizaram o método de Sanger ou a amplificação multiplex de sondas dependente de ligação (MLPA) para rastreamento gênico (92,151,152).

Optou-se por realizar o sequenciamento de alto desempenho em paralelo na tentativa de identificar a causa genética da NEM-1 nos participantes deste estudo, pois esse método permite a avaliação de diversas regiões codificadoras bem como regiões regulatórias e intrônicas simultaneamente. Ademais, a obtenção das informações ocorre com uma maior velocidade e menor custo estimado quando comparado ao método de Sanger (153,154).

A maioria das mutações (80%) no gene MEN1 são em *frameshift* ou *nonsense*, resultando em uma proteína truncada, e uma pequena parcela (20%) são mutações *missense* (93). Neste estudo foram encontradas duas mutações *missense*, uma mutação *nonsense* e uma em sítio de *splicing*. Não foram identificadas mutações em *frameshift*, provavelmente por se tratar de um estudo com número pequeno de famílias.

A menin parece interagir com diversas proteínas que podem ter um papel como mediadoras nas vias de sinalização celular ou atuar como fatores de transcrição ativadores e repressores (85). A ligação da menin à JunD, um fator de transcrição da família AP1, bloqueia a fosforilação mediada pela JNK e, conseqüentemente, a transcrição do gene mediada pela JunD (87). A interação com a JunD ocorre em três domínios principais da menin que são os códons 1-40 (exon 2); 139-242 (exons 2 a 4) e; 323-428 (exons 7 a 9) (86,148). Portanto, várias mutações *missense* nessas regiões podem interferir na capacidade da menin de se ligar a JunD (86,155).

Na família 1 foi identificada uma variante *nonsense* no exon 2 (c.76G>T:p.Glu26Ter) que gera um *stop codon* precoce na transcrição e, conseqüentemente, produz uma proteína truncada, resultando em perda das sequências de localização nuclear (*NLS*) situadas na porção C-terminal da menin, NLS-1 (*codons* 479–497) e NLS-2 (*codons* 588–608). Além disso, há uma perda dos sítios de interação da menin com a proteína JunD, um membro da família de fatores de transcrição AP1 (ativador da proteína 1) (155). Ela foi inicialmente descrita em uma família dinamarquesa com HPTP e tumor carcinoide de duodeno (156). Há também descrição da mesma mutação em uma família da Hungria com dois indivíduos que apresentavam HPTP e prolactinoma (157), o mesmo fenótipo encontrado em dois indivíduos (II.1 e II.2) da família 1 deste estudo.

As mutações *missense* levam a uma rápida degradação da proteína menin pela via ubiquitina-proteossoma (158). A variante *missense* no exon 2 (c.124G>C:p.Gly42Arg) identificada na família 3, que não foi previamente relatada na literatura, parece afetar também o sítio de ligação da proteína menin com a JunD. Há descrições de mutações que ocorreram na mesma posição, porém com aminoácidos diferentes.

Em 1998, Basset e cols. (94) descreveram uma mutação na mesma região (p.Gly42Asp), trocando a glicina por ácido aspártico. Itoh e cols. (159) descreveram em uma jovem com HPTP associado a insulinoma e ACNF uma mutação *missense*, p.Gly42Val (c.125G>T), próxima a região na qual a mutação do participante deste estudo foi encontrada. Outrossim, essa mutação foi descrita em outro indivíduo jovem com HPTP e macroprolactinoma (160), com fenótipo semelhante ao do indivíduo III.1 da família 3.

A menin também interage com a Smad3, um dos elementos regulados pelo receptor que medeia o TGF- β (161). A ativação do receptor TGF- β estimula fatores de transcrição da família Smad, exercendo respostas transcricionais inibitórias de crescimento por meio da Smad2 e Smad3, que se associam ao mediador comum Smad4 após fosforilação desse receptor. O comprometimento da proteína menin bloqueia os efeitos de transcrição mediados pela Smad3 e TGF- β , podendo levar a um crescimento celular inadequado e a formação de neoplasias (84,161).

A variante encontrada na família 4 ocorre em sítio de “splicing” (c.669+1G>T.p?), alterando-o e gerando um *stop codon* precoce e já foi descrita em vários indivíduos com NEM-1. Ela foi inicialmente relatada em 1998 (162) em uma família da Austrália e, posteriormente, em 2007 numa família brasileira na qual o indivíduo apresentava HPTP, prolactinoma e gastrinoma (163), fenótipo semelhante ao encontrado no indivíduo III.2 da família estudada. Estudos funcionais utilizando linhagem de células linfoblastoides de um indivíduo com hiperparatireoidismo e gastrinoma foram realizados para avaliar as implicações fisiopatológicas dessa variante (91). Demonstrou-se que a menin mutante não foi capaz de se ligar a Smad3, resultando em um bloqueio na via de sinalização da TGF- β e, conseqüentemente, afetando as suas ações inibitórias no crescimento celular (91).

Na família 2 foi identificada variante *missense* no exon 7 (c.1036T>C:p.Trp346Arg), que foi previamente descrita em uma família com hiperparatireoidismo familiar isolado (FIHP) (164). Apesar do FIHP ser descrito como uma entidade genética distinta, acredita-se que também seja uma variante de outras síndromes neoplásicas familiares nas quais o HPTP é a principal manifestação clínica, como ocorre na NEM-1 (164). Esse fenótipo mais brando da NEM-1 caracterizado por FIHP foi descrito em algumas famílias e pode estar mais especificamente relacionado a mutações localizadas entre os exons 3 e 7 do gene da proteína menin (164,166). Embora de todos os indivíduos da família 2 que participaram do estudo apresentaram HPTP, também tinham outras neoplasias endócrinas que fazem parte do quadro clínico da NEM-1, como tumores hipofisários secretores de prolactina e GH, insulinoma e tumores adrenais.

A mutação Trp341Arg, encontra-se próxima à identificada no indivíduo deste estudo. Ela foi previamente descrita em 1998 e o indivíduo apresentava HPTP, tumor neuroendócrino pancreático e adrenal (150). Há também outro relato da mesma mutação em um caso esporádico no qual o indivíduo apresentava HPTP, tumor hipofisário secretor de GH e prolactina e carcinoma folicular de tireoide (167).

Nota-se a ausência de correlação genótipo-fenótipo, o que constitui um dos grandes desafios no manejo da NEM-1. Uma das hipóteses que justificam este comportamento é a de que as mutações germinativas podem afetar seletivamente a ligação da menin a suas proteínas de interação, resultando em fenótipos clínicos distintos (168).

O presente estudo apresenta limitações, pois avaliou-se um número pequeno de famílias e houve heterogeneidade na solicitação dos exames complementares realizados durante o rastreamento, pois muitos foram executados em serviços diferentes de radiologia e patologia. Entretanto, o estudo foi original e permitiu a caracterização genotípica e fenotípica de famílias com diagnóstico de NEM-1 no Distrito Federal, acompanhadas no ambulatório de Endocrinologia do HUB. Estudos multicêntricos e prospectivos são importantes para maior compreensão das características clínicas e moleculares dos indivíduos acompanhados nesta região a fim de melhorar a assistência em termos de diagnóstico, tratamento e acompanhamento.

7 CONCLUSÕES

Os onze indivíduos das quatro famílias com NEM-1 avaliadas no presente estudo ressaltam a variabilidade fenotípica encontrada nessa síndrome e a importância em reconhecer as manifestações clínicas e bioquímicas, bem como realizar o rastreio familiar.

A avaliação molecular demonstrou a presença de variantes alélicas no gene MEN1 em todas as famílias estudadas, sendo que uma nova variante foi encontrada, provavelmente envolvida no sítio de ligação da proteína menin com a JunD.

Embora não exista uma padronização em relação à qual teste deve-se utilizar para rastreio, a ausência de *hot spots* e a presença de mutações que ocorrem em sítio de *splicing* tornam o sequenciamento de alto desempenho em paralelo particularmente interessante para os casos-índices pois permite avaliar toda a região do gene MEN1.

REFERÊNCIAS

1. Thakker RV, Newey PJ, Walls GV, Bilezikian J, Dralle H, Ebeling PR, Melmed S, Sakurai A, Tonelli F, Brandi ML; Endocrine Society. Clinical practice guidelines for multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Sep; 97(9):2990-3011.
2. Frederiksen A, Rossing M, Hermann P, Ejlersted C, Thakker RV, Frost M. Clinical Features of Multiple Endocrine Neoplasia Type 4: Novel Pathogenic Variant and Review of Published Cases. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019 Sep; 104(9):3637-3646.
3. Khatami F, Tavangar SM. Multiple Endocrine Neoplasia Syndromes from Genetic and Epigenetic Perspectives. *Biomark Insights.* 2018 Jul 2; 13:1177271918785129.
4. Marx SJ. Molecular genetics of multiple endocrine neoplasia types 1 and 2. *Nat Rev Cancer.* 2005 May; 5(5):367-75. Erratum in: *Nat Rev Cancer.* 2005 Aug;5(8):663.
5. Bouys L, Bertherat J. MANAGEMENT OF ENDOCRINE DISEASE: Carney complex: clinical and genetic update 20 years after the identification of the CNC1 (PRKAR1A) gene. *Eur J Endocrinol.* 2021 Mar;184(3): R99-R109.
6. Marini F, Giusti F, Brandi ML. Multiple endocrine neoplasia type 1: extensive analysis of a large database of Florentine patients. *Orphanet J Rare Dis.* 2018 Nov 14;13(1):205.

7. Marx SJ. Recent Topics Around Multiple Endocrine Neoplasia Type 1. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018 Apr 1;103(4):1296-1301.
8. Kamilaris CDC, Stratakis CA. Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 (MEN1): An Update and the Significance of Early Genetic and Clinical Diagnosis. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019 Jun 11; 10:339.
9. Brandi ML, Agarwal SK, Perrier ND, Lines KE, Valk GD, Thakker RV. Multiple Endocrine Neoplasia Type 1: Latest Insights. *Endocr Rev.* 2021 Mar 15;42(2):133-170.
10. Marini F, Falchetti A, Luzi E, Tonelli F, Maria Luisa B. Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 (MEN1) Syndrome. 2008 Jul 18 [updated 2008 Aug 9]. In: Riegert-Johnson DL, Boardman LA, Hefferon T, Roberts M, editors. *Cancer Syndromes* [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2009–.
11. Manoharan J, Albers MB, Bartsch DK. The future: diagnostic and imaging advances in MEN1 therapeutic approaches and management strategies. *Endocr Relat Cancer.* 2017 Oct;24(10): T209-T225.
12. Agarwal SK. The future: genetics advances in MEN1 therapeutic approaches and management strategies. *Endocr Relat Cancer.* 2017 Oct;24(10): T119-T134.
13. Thakker RV. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2010 Jun;24(3):355-70.
14. Toledo RA, Lourenço DM Jr, Coutinho FL, Quedas E, Mackowiack I, Machado MC, Montenegro F, Cunha-Neto MB, Liberman B, Pereira MA, Correa PH, Toledo SP. Novel MEN1 germline mutations in Brazilian families with multiple endocrine neoplasia type 1. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007 Sep;67(3):377-84.

15. Lourenço DM Jr, Toledo RA, Mackowiak II, Coutinho FL, Cavalcanti MG, Correia-Deur JE, Montenegro F, Siqueira SA, Margarido LC, Machado MC, Toledo SP. Multiple endocrine neoplasia type 1 in Brazil: MEN1 founding mutation, clinical features, and bone mineral density profile. *Eur J Endocrinol*. 2008 Sep;159(3):259-74.
16. Pereira Brabo E, Barbosa Moraes A, Dos Santos Marijuan Cabezas BS, Vieira Neto L. Multiple endocrine neoplasia type 1 in patients with gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors: An opportunity for early diagnosis and appropriate management. *Mol Clin Oncol*. 2020 Sep;13(3):4.
17. Melmed S, Koenig R, Rosen C, Auchus R, Goldfine A. *Williams Textbook of Endocrinology* 14th ed. Elsevier; 2019.
18. Perrier ND. From Initial Description by Wermer to Present-Day MEN1: What have We Learned? *World J Surg*. 2018 Apr;42(4):1031-1035.
19. Hoff A, Hauache O. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN 1): clinical, biochemical and molecular diagnosis and treatment of the associated disturbances. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2005 Oct; 49 (5): 735-746.
20. Yalow RS. Radioimmunoassay: a probe for the fine structure of biologic systems. *Science*. 1978; 200:1236–1245.
21. Lourenço Jr. D, Coutinho F, Toledo R, Gonçalves T, Montenegro F. Biochemical, bone and renal patterns in hyperparathyroidism associated with multiple endocrine neoplasia type 1. *Clinics*. 2012 May; 67 (1): 99-108.
22. Insogna KL. Primary Hyperparathyroidism. *N Engl J Med*. 2018 Sep 13;379(11):1050-1059.
23. Mackenzie-Feder J, Sirrs S, Anderson D, Sharif J, Khan A. Primary hyperparathyroidism: an overview. *Int J Endocrinol*. 2011 Jun; 2011:251410.

24. Moyes VJ, Monson JP, Chew SL, Akker SA. Clinical Use of Cinacalcet in MEN1 Hyperparathyroidism. *Int J Endocrinol*. 2010 May; 2010:906163.
25. Brandi ML, Gagel RF, Angeli A, Bilezikian JP, Beck-Peccoz P, Bordi C, Conte-Devolx B, Falchetti A, Gheri RG, Libroia A, Lips CJ, Lombardi G, Mannelli M, Pacini F, Ponder BA, Raue F, Skogseid B, Tamburrano G, Thakker RV, Thompson NW, Tomassetti P, Tonelli F, Wells SA Jr, Marx SJ. Guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Dec;86(12):5658-71.
26. Lourenço DM Jr, Coutinho FL, Toledo RA, Montenegro FL, Correia-Deur JE, Toledo SP. Early-onset, progressive, frequent, extensive, and severe bone mineral and renal complications in multiple endocrine neoplasia type 1-associated primary hyperparathyroidism. *J Bone Miner Res*. 2010 Nov;25(11):2382-91.
27. Giusti F, Tonelli F, Brandi M. Primary hyperparathyroidism in multiple endocrine neoplasia type 1: when to perform surgery?. *Clinics*. 2012 May; 66(1): 141-144.
28. Tonelli F, Giudici F, Cavalli T, Brandi M. Surgical approach in patients with hyperparathyroidism in multiple endocrine neoplasia type 1: Total versus partial parathyroidectomy. *Clinics*. 2012 Apr; 67(1):155-60.
29. Lambert LA, Shapiro SE, Lee JE, et al. Surgical Treatment of Hyperparathyroidism in Patients With Multiple Endocrine Neoplasia Type 1. *Arch Surg*. 2005;140(4):374–382.
30. Waldmann J, López CL, Langer P, Rothmund M, Bartsch DK. Surgery for multiple endocrine neoplasia type 1-associated primary hyperparathyroidism. *Br J Surg*. 2010 Oct;97(10):1528-34.

31. Schreinemakers JM, Pieterman CR, Scholten A, Vriens MR, Valk GD, Rinkes IH. The optimal surgical treatment for primary hyperparathyroidism in MEN1 patients: a systematic review. *World J Surg.* 2011 Sep;35(9):1993-2005.
32. Elaraj DM, Skarulis MC, Libutti SK, Norton JA, Bartlett DL, Pingpank JF, Gibril F, Weinstein LS, Jensen RT, Marx SJ, Alexander HR. Results of initial operation for hyperparathyroidism in patients with multiple endocrine neoplasia type 1. *Surgery.* 2003 Dec;134(6):858-64; discussion 864-5.
33. Nilubol N, Weinstein L, Simonds WF, Jensen RT, Phan GQ, Hughes MS, Libutti SK, Marx S, Kebebew E. Preoperative localizing studies for initial parathyroidectomy in MEN1 syndrome: is there any benefit? *World J Surg.* 2012 Jun;36(6):1368-74.
34. Nilubol N, Weinstein LS, Simonds WF, Jensen RT, Marx SJ, Kebebew E. Limited Parathyroidectomy in Multiple Endocrine Neoplasia Type 1-Associated Primary Hyperparathyroidism: A Setup for Failure. *Ann Surg Oncol.* 2016 Feb;23(2):416-23.
35. Nilubol N, Weisbrod AB, Weinstein LS, Simonds WF, Jensen RT, Phan GQ, Hughes MS, Libutti SK, Marx S, Kebebew E. Utility of intraoperative parathyroid hormone monitoring in patients with multiple endocrine neoplasia type 1-associated primary hyperparathyroidism undergoing initial parathyroidectomy. *World J Surg.* 2013 Aug;37(8):1966-72.
36. Schwarz P, Body JJ, Cáp J, Hofbauer LC, Farouk M, Gessl A, Kuhn JM, Marcocci C, Mattin C, Muñoz Torres M, Payer J, Van De Ven A, Yavropoulou M, Selby P. The PRIMARA study: a prospective, descriptive, observational study to review cinacalcet use in patients with primary hyperparathyroidism in clinical practice. *Eur J Endocrinol.* 2014 Dec;171(6):727-35.

37. Peacock M, Bilezikian JP, Klassen PS, Guo MD, Turner SA, Shoback D. Cinacalcet hydrochloride maintains long-term normocalcemia in patients with primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Jan;90(1):135-41.
38. Giusti F, Cianferotti L, Gronchi G, Cioppi F, Masi L, Faggiano A, Colao A, Ferolla P, Brandi ML. Cinacalcet therapy in patients affected by primary hyperparathyroidism associated to Multiple Endocrine Neoplasia Syndrome type 1 (MEN1). *Endocrine.* 2016 Jun;52(3):495-506.
39. Filopanti M, Verga U, Ermetici F, Olgiati L, Eller-Vainicher C, Corbetta S, Persani L, Beck-Peccoz P, Spada A. MEN1-related hyperparathyroidism: response to cinacalcet and its relationship with the calcium-sensing receptor gene variant Arg990Gly. *Eur J Endocrinol.* 2012 Aug;167(2):157-64.
40. Kfir SK, Halperin R, Percik R, Uri I, Halpern N, Shlomai G, Laish I, Tirosh A, Tirosh A. Distinct Prognostic Factors in Sporadic and Multiple Endocrine Neoplasia Type 1-Related Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Horm Metab Res.* 2021 May;53(5):319-325.
41. Challis BG, Casey RT, Grossman A, Newell-Price J, Newey P, Thakker RV. What is the appropriate management of nonfunctioning pancreatic neuroendocrine tumours disclosed on screening in adult patients with multiple endocrine neoplasia type 1? *Clin Endocrinol (Oxf).* 2019 Dec;91(6):708-715.
42. Yates CJ, Newey PJ, Thakker RV. Challenges and controversies in management of pancreatic neuroendocrine tumours in patients with MEN1. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015 Nov;3(11):895-905.
43. Effraimidis G, Knigge U, Rossing M, Oturai P, Rasmussen ÅK, Feldt-Rasmussen U. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN-1) and neuroendocrine neoplasms (NENs). *Semin Cancer Biol.* 2021 Apr 24:S1044-579X (21)00112-7.

44. Anlauf M, Garbrecht N, Henopp T, Schmitt A, Schlenger R, Raffel A, Krausch M, Gimm O, Eisenberger CF, Knoefel WT, Dralle H, Komminoth P, Heitz PU, Perren A, Klöppel G. Sporadic versus hereditary gastrinomas of the duodenum and pancreas: distinct clinico-pathological and epidemiological features. *World J Gastroenterol*. 2006 Sep 14;12(34):5440-6.

45. Gibril F, Venzon DJ, Ojeaburu JV, Bashir S, Jensen RT. Prospective study of the natural history of gastrinoma in patients with MEN1: definition of an aggressive and a nonaggressive form. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Nov;86(11):5282-93.

46. Jensen RT, Ito T. Gastrinoma. 2020 Nov 21. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dhatariya K, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Hofland J, Kalra S, Kaltsas G, Koch C, Kopp P, Korbonits M, Kovacs CS, Kuohung W, Laferrère B, McGee EA, McLachlan R, Morley JE, New M, Purnell J, Sahay R, Singer F, Stratakis CA, Trencle DL, Wilson DP, editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc; 2000-.

47. Giusti F, Marini F, Brandi ML. Multiple Endocrine Neoplasia Type 1. 2005 Aug 31 [updated 2017 Dec 14]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Mirzaa G, Amemiya A, editors. *GeneReviews*[®][Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2021.

48. Vinik AI, Woltering EA, Warner RR, Caplin M, O'Dorisio TM, Wiseman GA, Coppola D, Go VL; North American Neuroendocrine Tumor Society (NANETS). NANETS consensus guidelines for the diagnosis of neuroendocrine tumor. *Pancreas*. 2010 Aug;39(6):713-34.

49. Gibril F, Schumann M, Pace A, Jensen RT. Multiple endocrine neoplasia type 1 and Zollinger-Ellison syndrome: a prospective study of 107 cases and comparison with 1009 cases from the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2004 Jan;83(1):43-83. Erratum in: *Medicine (Baltimore)*. 2004 May;83(3):175.

50. Albers MB, Manoharan J, Bartsch DK. Contemporary surgical management of the Zollinger-Ellison syndrome in multiple endocrine neoplasia type 1. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2019 Oct;33(5):101318.

51. Mignon M, Ruszniewski P, Podevin P, Sabbagh L, Cadiot G, Rigaud D, Bonfils S. Current approach to the management of gastrinoma and insulinoma in adults with multiple endocrine neoplasia type I. *World J Surg*. 1993 Jul-Aug;17(4):489-97.

52. Herder WW, Zandee WT, Hofland J. Insulinoma. 2020 Oct 25. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dhatariya K, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Hofland J, Kalra S, Kaltsas G, Koch C, Kopp P, Korbonits M, Kovacs CS, Kuohung W, Laferrère B, McGee EA, McLachlan R, Morley JE, New M, Purnell J, Sahay R, Singer F, Stratakis CA, Trencé DL, Wilson DP, editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000–.

53. Van Beek DJ, Nell S, Verkooijen HM, Borel Rinkes IHM, Valk GD; DutchMEN Study Group (DMSG), Vriens MR; International MEN1 Insulinoma Study Group; DutchMEN Surgery Study Group. Prognosis after surgery for multiple endocrine neoplasia type 1-related pancreatic neuroendocrine tumors: Functionality matters. *Surgery*. 2021 Apr;169(4):963-973.

54.Santucci N, Gaujoux S, Binquet C, Reichling C, Lifante JC, Carnaille B, Pattou F, Mirallié E, Facy O, Mathonnet M, Goudet P. Pancreatoduodenectomy for Neuroendocrine Tumors in Patients with Multiple Endocrine Neoplasia Type 1: An AFCE (Association Francophone de Chirurgie Endocrinienne) and GTE (Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines) Study. *World J Surg.* 2021 Jun;45(6):1794-1802.

55.Ezzat S, Asa SL, Couldwell WT, Barr CE, Dodge WE, Vance ML, McCutcheon IE. The prevalence of pituitary adenomas: a systematic review. *Cancer.* 2004 Aug 1;101(3):613-9.

56.Beckers A, Daly AF. The clinical, pathological, and genetic features of familial isolated pituitary adenomas. *Eur J Endocrinol.* 2007 Oct;157(4):371-82.

57.Elston MS, McDonald KL, Clifton-Bligh RJ, Robinson BG. Familial pituitary tumor syndromes. *Nat Rev Endocrinol.* 2009 Aug;5(8):453-61.

58.Cohen-Cohen S, Brown DA, Himes BT, Wheeler LP, Ruff MW, Major BT, Singh Ospina NM, Atkinson JLD, Meyer FB, Bancos I, Young WF, Van Gompel JJ. Pituitary adenomas in the setting of multiple endocrine neoplasia type 1: a single-institution experience. *J Neurosurg.* 2020 Apr 3;134(3):1132-1138.

59.Trouillas J, Labat-Moleur F, Sturm N, Kujas M, Heymann MF, Figarella-Branger D, Patey M, Mazucca M, Decullier E, Vergès B, Chabre O, Calender A; Groupe d'études des Tumeurs Endocrines. 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. *Am J Surg Pathol.* 2008 Apr;32(4):534-43.

60. Syro LV, Scheithauer BW, Kovacs K, Toledo RA, Londoño FJ, Ortiz LD, Rotondo F, Horvath E, Uribe H. Pituitary tumors in patients with MEN1 syndrome. *Clinics (Sao Paulo)*. 2012;67 Suppl 1(Suppl 1):43-8.
61. Vergès B, Boureille F, Goudet P, Murat A, Beckers A, Sassolas G, Cougard P, Chambe B, Montvernay C, Calender A. Pituitary disease in MEN type 1 (MEN1): data from the France-Belgium MEN1 multicenter study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Feb;87(2):457-65.
62. Molitch ME. Diagnosis and treatment of prolactinomas. *Adv Intern Med*. 1999;44:117-53.
63. Beckers A, Betea D, Valdes Socin H, Stevenaert A. The treatment of sporadic versus MEN1-related pituitary adenomas. *J Intern Med*. 2003 Jun;253(6):599-605.
64. Losa M, Mortini P, Barzaghi R, Gioia L, Giovanelli M. Surgical treatment of prolactin-secreting pituitary adenomas: Early results and long-term outcome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:3180-6.
65. Asgharian B, Turner ML, Gibril F, Entsuaah LK, Serrano J, Jensen RT. 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. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Nov;89(11):5328-36.
66. Gatta-Cherifi B, Chabre O, Murat A, Niccoli P, Cardot-Bauters C, Rohmer V, Young J, Delemer B, Du Boullay H, Verger MF, Kuhn JM, Sadoul JL, Ruzniewski P, Beckers A, Monsaingeon M, Baudin E, Goudet P, Tabarin A. Adrenal involvement in MEN1. Analysis of 715 cases from the Groupe d'etude des Tumeurs Endocrines database. *Eur J Endocrinol*. 2012 Feb;166(2):269-79.

67. Langer P, Cupisti K, Bartsch DK, Nies C, Goretzki PE, Rothmund M, Röher HD. Adrenal involvement in multiple endocrine neoplasia type 1. *World J Surg.* 2002 Aug;26(8):891-6.
68. Okada R, Shimura T, Tsukida S, Ando J, Kofunato Y, Momma T, Yashima R, Koyama Y, Suzuki S, Takenoshita S. Concomitant existence of pheochromocytoma in a patient with multiple endocrine neoplasia type 1. *Surg Case Rep.* 2016 Dec;2(1):84.
69. Kim SH, Park JH. ADRENAL INCIDENTALOMA, BREAST CANCER AND UNRECOGNIZED MULTIPLE ENDOCRINE NEOPLASIA TYPE 1. *Acta Endocrinol (Buchar).* 2019 Oct-Dec;15(4):513-517.
70. Ventura M, Melo M, Carrilho F. Outcome and long-term follow-up of adrenal lesions in multiple endocrine neoplasia type 1. *Arch Endocrinol Metab.* 2019 Sep 2;63(5):516-523.
71. Jun JE, Hwang YC, Ahn KJ, Chung HY, Jeong IK. A rare case of multiple endocrine neoplasia type 1 initially presenting as an asymptomatic, huge mediastinal mass: case report. *BMC Endocr Disord.* 2021 Feb 25;21(1):31.
72. Sachithanandan N, Harle RA, Burgess JR. Bronchopulmonary carcinoid in multiple endocrine neoplasia type 1. *Cancer.* 2005 Feb 1;103(3):509-15.
73. Li X, Li M, Shi T, Liu R, Ren D, Yang F, Wei S, Chen G, Chen J, Xu S. Clinical implication of *MEN1* mutation in surgically resected thymic carcinoid patients. *J Thorac Dis.* 2018 Feb;10(2):E125-E129. Erratum in: *J Thorac Dis.* 2021 Feb;13(2):1300-1301.

74. Goudet P, Murat A, Cardot-Bauters C, Emy P, Baudin E, du Boullay Choplin H, Chapuis Y, Kraimps JL, Sadoul JL, Tabarin A, Vergès B, Carnaille B, Niccoli-Sire P, Costa A, Calender A; GTE network (Groupe des Tumeurs Endocrines). Thymic neuroendocrine tumors in multiple endocrine neoplasia type 1: a comparative study on 21 cases among a series of 761 MEN1 from the GTE (Groupe des Tumeurs Endocrines). *World J Surg.* 2009 Jun;33(6):1197-207.

75. Ferolla P, Falchetti A, Filosso P, Tomassetti P, Tamburrano G, Avenia N, Daddi G, Puma F, Ribacchi R, Santeusano F, Angeletti G, Brandi ML. Thymic neuroendocrine carcinoma (carcinoid) in multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome: the Italian series. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 May;90(5):2603-9.

76. Larsson C, Skogseid B, Oberg K, Nakamura Y, Nordenskjöld M. Multiple endocrine neoplasia type 1 gene maps to chromosome 11 and is lost in insulinoma. *Nature.* 1988 Mar 3;332(6159):85-7.

77. Lemmens I, Van de Ven WJ, Kas K, Zhang CX, Giraud S, Wautot V et al. Identification of the multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) gene. The European Consortium on MEN1. *Hum Mol Genet.* 1997 Jul;6(7):1177-83.

78. Chandrasekharappa SC, Guru SC, Manickam P, Olufemi SE, Collins FS, Emmert-Buck MR et al. Positional cloning of the gene for multiple endocrine neoplasia-type 1. *Science.* 1997 Apr 18;276(5311):404-7.

79. Lemos MC, Thakker RV. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1): analysis of 1336 mutations reported in the first decade following identification of the gene. *Hum Mutat.* 2008 Jan;29(1):22-32.

80. Agarwal SK, Kester MB, Debelenko LV, Heppner C, Emmert-Buck MR, Skarulis MC, Doppman JL, Kim YS, Lubensky IA, Zhuang Z, Green JS, Guru SC, Manickam P, Olufemi SE, Liotta LA, Chandrasekharappa SC, Collins FS, Spiegel AM, Burns AL, Marx SJ. Germline mutations of the MEN1 gene in familial multiple endocrine neoplasia type 1 and related states. *Hum Mol Genet.* 1997 Jul;6(7):1169-75.

81. Knudson AG Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1971 Apr;68(4):820-3.

82. Pannett AA, Thakker RV. Somatic mutations in MEN type 1 tumors, consistent with the Knudson "two-hit" hypothesis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Sep;86(9):4371-4.

83. Guru SC, Agarwal SK, Manickam P, Olufemi SE, Crabtree JS, Weisemann JM et al. A transcript map for the 2.8-Mb region containing the multiple endocrine neoplasia type 1 locus. *Genome Res.* 1997 Jul;7(7):725-35.

84. Balogh K, Rácz K, Patócs A, Hunyady L. Menin and its interacting proteins: elucidation of menin function. *Trends Endocrinol Metab.* 2006 Nov;17(9):357-64.

85. Matkar S, Thiel A, Hua X. Menin: a scaffold protein that controls gene expression and cell signaling. *Trends Biochem Sci.* 2013 Aug;38(8):394-402.

86. Agarwal SK, Guru SC, Heppner C, Erdos MR, Collins RM, Park SY, Saggat S, Chandrasekharappa SC, Collins FS, Spiegel AM, Marx SJ, Burns AL. Menin interacts with the AP1 transcription factor JunD and represses JunD-activated transcription. *Cell.* 1999 Jan 8;96(1):143-52.

87. Huang J, Gurung B, Wan B, Matkar S, Veniaminova NA, Wan K, Merchant JL, Hua X, Lei M. The same pocket in menin binds both MLL and JUND but has opposite effects on transcription. *Nature*. 2012 Feb 12;482(7386):542-6.

88. Sukhodolets KE, Hickman AB, Agarwal SK, Sukhodolets MV, Obungu VH, Novotny EA, Crabtree JS, Chandrasekharappa SC, Collins FS, Spiegel AM, Burns AL, Marx SJ. The 32-kilodalton subunit of replication protein A interacts with menin, the product of the MEN1 tumor suppressor gene. *Mol Cell Biol*. 2003 Jan;23(2):493-509.

89. Heppner C, Bilimoria KY, Agarwal SK, Kester M, Whitty LJ, Guru SC, Chandrasekharappa SC, Collins FS, Spiegel AM, Marx SJ, Burns AL. The tumor suppressor protein menin interacts with NF-kappaB proteins and inhibits NF-kappaB-mediated transactivation. *Oncogene*. 2001 Aug 16;20(36):4917-25.

90. Massagué J, Gomis RR. The logic of TGFbeta signaling. *FEBS Lett*. 2006 May 22;580(12):2811-20.

91. Canaff L, Vanbellinthen JF, Kaji H, Goltzman D, Hendy GN. Impaired transforming growth factor- β (TGF- β) transcriptional activity and cell proliferation control of a menin in-frame deletion mutant associated with multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). *J Biol Chem*. 2012 Mar 9;287(11):8584-97.

92. Falchetti A. Genetics of multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome: what's new and what's old. *F1000Res*. 2017 Jan 24;6:F1000 Faculty Rev-73.

93. Concolino P, Costella A, Capoluongo E. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1): An update of 208 new germline variants reported in the last nine years. *Cancer Genet*. 2016 Jan-Feb;209(1-2):36-41.

94. Bassett JH, Forbes SA, Pannett AA, Lloyd SE, Christie PT, Wooding C, Harding B, Besser GM, Edwards CR, Monson JP, Sampson J, Wass JA, Wheeler MH, Thakker RV. Characterization of mutations in patients with multiple endocrine neoplasia type 1. *Am J Hum Genet.* 1998 Feb;62(2):232-44.

95. Falchetti A, Marini F, Luzi E, Giusti F, Cavalli L, Cavalli T, Brandi ML. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1): not only inherited endocrine tumors. *Genet Med.* 2009 Dec;11(12):825-35.

96. Mele C, Mencarelli M, Caputo M, Mai S, Pagano L, Aimaretti G, Scacchi M, Falchetti A, Marzullo P. Phenotypes Associated With MEN1 Syndrome: A Focus on Genotype-Phenotype Correlations. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020 Nov 18;11:591501.

97. Shyamasunder AH, Pai R, Ramamoorthy H, Sakhti D, Manipadam MT, Kapoor N, Paul TV, Jebasingh F, Thomas N, Abraham DT, Paul MJ, Chacko AG, Prabhu K, Rajaratnam S. Clinical Profile and Mutations Associated with Multiple Endocrine Neoplasia-Type1 (MEN1) and Their First-Degree Relatives at Risk of Developing MEN1: A Prospective Study. *Horm Metab Res.* 2021 Apr;53(4):245-256.

98. Kövesdi A, Tóth M, Butz H, Szücs N, Sárman B, Pusztai P, Tóke J, Reismann P, Fáklya M, Tóth G, Somogyi A, Borka K, Erdei A, Nagy EV, Deák V, Valkusz Z, Igaz P, Patócs A, Grolmusz VK. True MEN1 or phenocopy? Evidence for geno-phenotypic correlations in MEN1 syndrome. *Endocrine.* 2019 Aug;65(2):451-459.

99. Pellegata NS, Quintanilla-Martinez L, Siggelkow H, Samson E, Bink K, Höfler H, Fend F, Graw J, Atkinson MJ. Germ-line mutations in p27Kip1 cause a multiple endocrine neoplasia syndrome in rats and humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Oct 17;103(42):15558-63.

100. Agarwal SK, Mateo CM, Marx SJ. Rare germline mutations in cyclin-dependent kinase inhibitor genes in multiple endocrine neoplasia type 1 and related states. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 May;94(5):1826-34. Erratum in: *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Jul;94(7):2674.

101. Longuini VC, Lourenço DM Jr, Sekiya T, Meirelles O, Goncalves TD, Coutinho FL, Francisco G, Osaki LH, Chammas R, Alves VA, Siqueira SA, Schlesinger D, Naslavsky MS, Zatz M, Duarte YA, Lebrão ML, Gama P, Lee M, Molatore S, Pereira MA, Jallad RS, Bronstein MD, Cunha-Neto MB, Liberman B, Fragoso MC, Toledo SP, Pellegata NS, Toledo RA. Association between the p27 rs2066827 variant and tumor multiplicity in patients harboring MEN1 germline mutations. *Eur J Endocrinol*. 2014 Sep;171(3):335-42.

102. Circelli L, Ramundo V, Marotta V, Sciammarella C, Marciello F, Del Prete M, Sabatino L, Pasquali D, Izzo F, Scala S, Colao A, Faggiano A, Colantuoni V; Multidisciplinary Group for NeuroEndocrine Tumours of Naples. Prognostic role of the CDKN1B V109G polymorphism in multiple endocrine neoplasia type 1. *J Cell Mol Med*. 2015 Jul;19(7):1735-41.

103. Tichomirowa MA, Lee M, Barlier A, Daly AF, Marinoni I, Jaffrain-Rea ML, Naves LA et al. Cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (CDKN1B) gene variants in AIP mutation-negative familial isolated pituitary adenoma kindreds. *Endocr Relat Cancer*. 2012 May 3;19(3):233-41.

104. Daly AF, Jaffrain-Rea ML, Ciccarelli A, Valdes-Socin H, Rohmer V, Tamburrano G, Borson-Chazot C, Estour B, Ciccarelli E, Brue T, Ferolla P, Emy P, Colao A, De Menis E, Lecomte P, Penfornis F, Delemer B, Bertherat J, Wémeau JL, De Herder W, Archambeaud F, Stevenaert A, Calender A, Murat A, Cavagnini F, Beckers A. Clinical characterization of familial isolated pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Sep;91(9):3316-23.

105. Beckers A, Daly AF. The clinical, pathological, and genetic features of familial isolated pituitary adenomas. *Eur J Endocrinol.* 2007 Oct;157(4):371-82.

106. Beckers A, Aaltonen LA, Daly AF, Karhu A. Familial isolated pituitary adenomas (FIPA) and the pituitary adenoma predisposition due to mutations in the aryl hydrocarbon receptor interacting protein (AIP) gene. *Endocr Rev.* 2013 Apr;34(2):239-77.

107. Jaffrain-Rea ML, Angelini M, Gargano D, Tichomirowa MA, Daly AF, Vanbellinhen JF, D'Innocenzo E, Barlier A, Giangaspero F, Esposito V, Ventura L, Arcella A, Theodoropoulou M, Naves LA, Fajardo C, Zacharieva S, Rohmer V, Brue T, Gulino A, Cantore G, Alesse E, Beckers A. Expression of aryl hydrocarbon receptor (AHR) and AHR-interacting protein in pituitary adenomas: pathological and clinical implications. *Endocr Relat Cancer.* 2009 Sep;16(3):1029-43.

108. Karhu A, Aaltonen LA. Susceptibility to pituitary neoplasia related to MEN-1, CDKN1B and AIP mutations: an update. *Hum Mol Genet.* 2007 Apr 15;16 Spec No 1:R73-9.

109. Naves LA, Daly AF, Vanbellinhen JF, Casulari LA, Spilioti C, Magalhães AV, Azevedo MF, Giacomini LA, Nascimento PP, Nunes RO, Rosa JW, Jaffrain-Rea ML, Bours V, Beckers A. Variable pathological and clinical features of a large Brazilian family harboring a mutation in the aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene. *Eur J Endocrinol.* 2007 Oct;157(4):383-91.

110. Daly AF, Tichomirowa MA, Petrossians P, Heliövaara E, Jaffrain-Rea ML, Barlier A, Naves LA et al. Clinical characteristics and therapeutic responses in patients with germ-line AIP mutations and pituitary adenomas: an international collaborative study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Nov;95(11):E373-83.

111. Tichomirowa MA, Barlier A, Daly AF, Jaffrain-Rea ML, Ronchi C, Yaneva M, Urban JD, Petrossians P, Elenkova A, Tabarin A, Desailoud R, Maiter D, Schürmeyer T, Cozzi R, Theodoropoulou M, Sievers C, Bernabeu I, Naves LA et al. High prevalence of AIP gene mutations following focused screening in young patients with sporadic pituitary macroadenomas. *Eur J Endocrinol.* 2011 Oct;165(4):509-15.

112. Toledo RA, Lourenço DM Jr, Liberman B, Cunha-Neto MB, Cavalcanti MG, Moyses CB, Toledo SP, Dahia PL. Germline mutation in the aryl hydrocarbon receptor interacting protein gene in familial somatotropinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 May;92(5):1934-7. doi: 10.1210/jc.2006-2394.

113. Vierimaa O, Georgitsi M, Lehtonen R, Vahteristo P, Kokko A, Raitila A, Tuppurainen K, Ebeling TM, Salmela PI, Paschke R, Gündogdu S, De Menis E, Mäkinen MJ, Launonen V, Karhu A, Aaltonen LA. Pituitary adenoma predisposition caused by germline mutations in the AIP gene. *Science.* 2006 May 26;312(5777):1228-30.

114. Georgitsi M, Raitila A, Karhu A, van der Luijt RB, Aalfs CM, Sane T, Vierimaa O, Mäkinen MJ, Tuppurainen K, Paschke R, Gimm O, Koch CA, Gündogdu S, Lucassen A, Tischkowitz M, Izatt L, Aylwin S, Bano G, Hodgson S, De Menis E, Launonen V, Vahteristo P, Aaltonen LA. Germline CDKN1B/p27Kip1 mutation in multiple endocrine neoplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Aug;92(8):3321-5.
115. Iyer S, Agarwal SK. Epigenetic regulation in the tumorigenesis of MEN1-associated endocrine cell types. *J Mol Endocrinol.* 2018 Jul;61(1):R13-R24.
116. Donati S, Ciuffi S, Marini F, Palmmini G, Miglietta F, Aurilia C, Brandi ML. Multiple Endocrine Neoplasia Type 1: The Potential Role of microRNAs in the Management of the Syndrome. *Int J Mol Sci.* 2020 Oct 14;21(20):7592.
117. Luzi E, Ciuffi S, Marini F, Mavilia C, Galli G, Brandi ML. Analysis of differentially expressed microRNAs in MEN1 parathyroid adenomas. *Am J Transl Res.* 2017 Apr 15;9(4):1743-1753.
118. Newey PJ, Thakker RV. Role of multiple endocrine neoplasia type 1 mutational analysis in clinical practice. *Endocr Pract.* 2011 Jul-Aug;17 Suppl 3:8-17.
119. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015 May;17(5):405-24.

120. de Laat JM, van Leeuwaarde RS, Valk GD. The Importance of an Early and Accurate MEN1 Diagnosis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018 Sep 11;9:533.

121. Yamazaki M, Suzuki S, Kosugi S, Okamoto T, Uchino S, Miya A, Imai T, Kaji H, Komoto I, Miura D, Yamada M, Uruno T, Horiuchi K, Sato A, Miyauchi A, Imamura M, Sakurai A; MEN Consortium of Japan. Delay in the diagnosis of multiple endocrine neoplasia type 1: typical symptoms are frequently overlooked. *Endocr J*. 2012;59(9):797-807.

122. Marini F, Giusti F, Brandi ML. Multiple endocrine neoplasia type 1: extensive analysis of a large database of Florentine patients. *Orphanet J Rare Dis*. 2018 Nov 14;13(1):205.

123. Burgess JR, David R, Greenaway TM, Parameswaran V, Shepherd JJ. Osteoporosis in multiple endocrine neoplasia type 1: severity, clinical significance, relationship to primary hyperparathyroidism, and response to parathyroidectomy. *Arch Surg*. 1999 Oct;134(10):1119-23.

124. Kann PH, Bartsch D, Langer P, Waldmann J, Hadji P, Pfützner A, Klüsener J. Peripheral bone mineral density in correlation to disease-related predisposing conditions in patients with multiple endocrine neoplasia type 1. *J Endocrinol Invest*. 2012 Jun;35(6):573-9.

125. Eller-Vainicher C, Chiodini I, Battista C, Viti R, Mascia ML, Massironi S, Peracchi M, D'Agruma L, Minisola S, Corbetta S, Cole DE, Spada A, Scillitani A. Sporadic and MEN1-related primary hyperparathyroidism: differences in clinical expression and severity. *J Bone Miner Res*. 2009 Aug;24(8):1404-10.

126. Lourenço DM Jr, Coutinho FL, Toledo RA, Montenegro FL, Correia-Deur JE, Toledo SP. Early-onset, progressive, frequent, extensive, and severe bone mineral and renal complications in multiple endocrine neoplasia type 1-associated primary hyperparathyroidism. *J Bone Miner Res.* 2010 Nov;25(11):2382-91.

127. Kanazawa I, Canaff L, Abi Rafeh J, Angrula A, Li J, Riddle RC, Boraschi-Diaz I, Komarova SV, Clemens TL, Murshed M, Hendy GN. Osteoblast menin regulates bone mass in vivo. *J Biol Chem.* 2015 Feb 13;290(7):3910-24.

128. Aziz A, Miyake T, Engleka KA, Epstein JA, McDermott JC. Menin expression modulates mesenchymal cell commitment to the myogenic and osteogenic lineages. *Dev Biol.* 2009 Aug 1;332(1):116-30.

129. Maraghelli D, Giusti F, Marini F, Brandi ML. Bone tissue and mineral metabolism in hereditary endocrine tumors: clinical manifestations and genetic bases. *Orphanet J Rare Dis.* 2020 Apr 23;15(1):102.

130. Sowa H, Kaji H, Canaff L, Hendy GN, Tsukamoto T, Yamaguchi T, Miyazono K, Sugimoto T, Chihara K. Inactivation of menin, the product of the multiple endocrine neoplasia type 1 gene, inhibits the commitment of multipotential mesenchymal stem cells into the osteoblast lineage. *J Biol Chem.* 2003 Jun 6;278(23):21058-69.

131. Silva BC, Costa AG, Cusano NE, Kousteni S, Bilezikian JP. Catabolic and anabolic actions of parathyroid hormone on the skeleton. *J Endocrinol Invest.* 2011 Nov;34(10):801-10.

132. Hansen S, Hauge EM, Rasmussen L, Jensen JE, Brixen K. Parathyroidectomy improves bone geometry and microarchitecture in female patients with primary hyperparathyroidism: a one-year prospective controlled study using high-resolution peripheral quantitative computed tomography. *J Bone Miner Res*. 2012 May;27(5):1150-8.
133. Daly AF, Tichomirowa MA, Beckers A. The epidemiology and genetics of pituitary adenomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2009 Oct;23(5):543-54.
134. Al-Salameh A, Baudry C, Cohen R. Update on multiple endocrine neoplasia Type 1 and 2. *Presse Med*. 2018 Sep;47(9):722-731.
135. Giusti F, Cianferotti L, Boaretto F, Cetani F, Cioppi F, Colao A, et al. Multiple endocrine neoplasia syndrome type 1: institution, management, and data analysis of a nationwide multicenter patient database. *Endocrine*. 2017 Nov;58(2):349-359.
136. Wu Y, Gao L, Guo X, Wang Z, Lian W, Deng K, Lu L, Xing B, Zhu H. Pituitary adenomas in patients with multiple endocrine neoplasia type 1: a single-center experience in China. *Pituitary*. 2019 Apr;22(2):113-123.
137. Delemer B. MEN1 and pituitary adenomas. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2012 Apr;73(2):59-61.
138. Vergès B, Boureille F, Goudet P, Murat A, Beckers A, Sassolas G, Cougard P, Chambe B, Montvernay C, Calender A. Pituitary disease in MEN type 1 (MEN1): data from the France-Belgium MEN1 multicenter study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Feb;87(2):457-65.

139. Ito T, Igarashi H, Uehara H, Berna MJ, Jensen RT. Causes of death and prognostic factors in multiple endocrine neoplasia type 1: a prospective study: comparison of 106 MEN1/Zollinger-Ellison syndrome patients with 1613 literature MEN1 patients with or without pancreatic endocrine tumors. *Medicine (Baltimore)*. 2013 May;92(3):135-181.
140. Plöckinger U. Diagnosis and Treatment of Gastrinomas in Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 (MEN-1). *Cancers (Basel)*. 2012 Jan 20;4(1):39-54.
141. Barzon L, Pasquali C, Grigoletto C, Pedrazzoli S, Boscaro M, Fallo F. Multiple endocrine neoplasia type 1 and adrenal lesions. *J Urol*. 2001 Jul;166(1):24-7.
142. Waldmann J, Bartsch DK, Kann PH, Fendrich V, Rothmund M, Langer P. Adrenal involvement in multiple endocrine neoplasia type 1: results of 7 years prospective screening. *Langenbecks Arch Surg*. 2007 Jul;392(4):437-43.
143. Vidal A, Iglesias MJ, Fernández B, Fonseca E, Cordido F. Cutaneous lesions associated to multiple endocrine neoplasia syndrome type 1. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008 Jul;22(7):835-8.
144. Agarwal S, Monsaert RP. Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 and Lipomas. Clinical Review Article. *Hospital Physician*; May 2002. p. 51–4.
145. Sturiale A, Giudici F, Alemanno G, Cavalli T, Addasi R, Santomaggio C, Meoni G, Brandi ML, Tonelli F. Massive intrathoracic lipoma in men1 syndrome. *Int J Surg Case Rep*. 2015;6C:247-50.

146. Thway K. Well-differentiated liposarcoma and dedifferentiated liposarcoma: An updated review. *Semin Diagn Pathol.* 2019 Mar;36(2):112-121.
147. Lee ATJ, Thway K, Huang PH, Jones RL. Clinical and Molecular Spectrum of Liposarcoma. *J Clin Oncol.* 2018 Jan 10;36(2):151-159.
148. Wautot V, Vercherat C, Lespinasse J, Chambe B, Lenoir GM, Zhang CX, Porchet N, Cordier M, Bérout C, Calender A. Germline mutation profile of MEN1 in multiple endocrine neoplasia type 1: search for correlation between phenotype and the functional domains of the MEN1 protein. *Hum Mutat.* 2002 Jul;20(1):35-47.
149. Kouvaraki MA, Lee JE, Shapiro SE, Gagel RF, Sherman SI, Sellin RV, Cote GJ, Evans DB. Genotype-phenotype analysis in multiple endocrine neoplasia type 1. *Arch Surg.* 2002 Jun;137(6):641-7.
150. Giraud S, Zhang CX, Serova-Sinilnikova O, Wautot V, Salandre J, Buisson N et al. Germ-line mutation analysis in patients with multiple endocrine neoplasia type 1 and related disorders. *Am J Hum Genet.* 1998 Aug;63(2):455-67.
151. Tham E, Grandell U, Lindgren E, Toss G, Skogseid B, Nordenskjöld M. Clinical testing for mutations in the MEN1 gene in Sweden: a report on 200 unrelated cases. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Sep;92(9):3389-95.
152. Kong J, Wang O, Nie M, Shi J, Hu Y, Jiang Y et al. Clinical and Genetic Analysis of Multiple Endocrine Neoplasia Type 1-Related Primary Hyperparathyroidism in Chinese. *PLoS One.* 2016 Nov 15;11(11):e0166634.

153. Marini F, Giusti F, Brandi ML. Genetic test in multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome: An evolving story. *World J Exp Med.* 2015 May 20;5(2):124-9.

154. Carvalho RA, Urtremari B, Jorge AAL, Santana LS, Quedas EPS, Sekiya T, Longuini VC, Montenegro FLM, Lerario AM, Toledo SPA, Marx SJ, Toledo RA, Lourenço DM Jr. Germline mutation landscape of multiple endocrine neoplasia type 1 using full gene next-generation sequencing. *Eur J Endocrinol.* 2018 Dec 1;179(6):391-407.

155. Knapp JI, Heppner C, Hickman AB, Burns AL, Chandrasekharappa SC, Collins FS, Marx SJ, Spiegel AM, Agarwal SK. Identification and characterization of JunD missense mutants that lack menin binding. *Oncogene.* 2000 Sep 28;19(41):4706-12.

156. Jäger AC, Friis-Hansen L, Hansen TV, Eskildsen PC, Sølling K, Knigge U, Hansen CP, Andersen PH, Brixen K, Feldt-Rasmussen U, Kroustrup JP, Møllerup CL, Rehfeld JF, Blichert-Toft M, Nielsen FC. Characteristics of the Danish families with multiple endocrine neoplasia type 1. *Mol Cell Endocrinol.* 2006 Apr 25;249(1-2):123-32.

157. Balogh K, Hunyady L, Patocs A, Gergics P, Valkusz Z, Toth M, Racz K. MEN1 gene mutations in Hungarian patients with multiple endocrine neoplasia type 1. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007 Nov;67(5):727-34.

158. Yaguchi H, Ohkura N, Takahashi M, Nagamura Y, Kitabayashi I, Tsukada T. Menin missense mutants associated with multiple endocrine neoplasia type 1 are rapidly degraded via the ubiquitin-proteasome pathway. *Mol Cell Biol.* 2004 Aug;24(15):6569-80.

159. Itoh M, Saikawa Y. A novel *MEN1* mutation in a Japanese adolescent with multiple endocrine neoplasia type 1. *Clin Pediatr Endocrinol*. 2017 Jan;26(1):25-28.
160. Koehler VF, Jungheim K, Groß U, Iacovazzo D, Mann A, Korbonits M. Novel Germline p.Gly42Val *MEN1* Mutation in a Family with Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 - Excellent Response of Prolactinoma to Cabergoline. *Ann Clin Lab Sci*. 2017 Sep;47(5):606-610.
161. Kaji H, Canaff L, Lebrun JJ, Goltzman D, Hendy GN. Inactivation of menin, a Smad3-interacting protein, blocks transforming growth factor type beta signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Mar 27;98(7):3837-42.
162. Teh BT, Kytölä S, Farnebo F, Bergman L, Wong FK, Weber G, Hayward N, Larsson C, Skogseid B, Beckers A, et al. Mutation analysis of the *MEN1* gene in multiple endocrine neoplasia type 1, familial acromegaly and familial isolated hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998 Aug;83(8):2621-6.
163. Lourenço DM Jr, Toledo RA, Coutinho FL, Margarido LC, Siqueira SA, dos Santos MA, Montenegro FL, Machado MC, Toledo SP. The impact of clinical and genetic screenings on the management of the multiple endocrine neoplasia type 1. *Clinics (Sao Paulo)*. 2007 Aug;62(4):465-76.
164. Isakov O, Rinella ES, Olchovsky D, Shimon I, Ostrer H, Shomron N, Friedman E. Missense mutation in the *MEN1* gene discovered through whole exome sequencing co-segregates with familial hyperparathyroidism. *Genet Res (Camb)*. 2013 Aug;95(4):114-20.

165. Kassem M, Kruse TA, Wong FK, Larsson C, Teh BT. Familial isolated hyperparathyroidism as a variant of multiple endocrine neoplasia type 1 in a large Danish pedigree. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000 Jan;85(1):165-7.
166. Fujimori M, Shirahama S, Sakurai A, Hashizume K, Hama Y, Ito K, Shingu K, Kobayashi S, Amano J, Fukushima Y. Novel V184E MEN1 germline mutation in a Japanese kindred with familial hyperparathyroidism. *Am J Med Genet.* 1998 Nov 16;80(3):221-2.
167. Tso AW, Rong R, Lo CY, Tan KC, Tiu SC, Wat NM, Xu JY, Villablanca A, Larsson C, Teh BT, Lam KS. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1): genetic and clinical analysis in the Southern Chinese. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2003 Jul;59(1):129-35.
168. Lips CJ, Höppener JW. Ethics: Genetic testing for MEN1--whose responsibility? *Nat Rev Endocrinol.* 2012 Oct;8(10):575-6.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Serviço de Endocrinologia
 Área de Clínica Médica
 Faculdade de Medicina-UnB

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

Avaliação de Fatores Genéticos Relacionados a Adenomas Familiares

Nome da Instituição: UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Endereço: Campus Universitário Darcy Ribeiro, Faculdade de Medicina-Hospital Universitário de Brasília- Área de Endocrinologia

Nome da Instituição em colaboração: Domaine Universitaire du Sart-Tilman- Liège- Bélgica

Nome completo do paciente: _____

Número de Registro do paciente na Instituição: _____

Introdução

Você foi convidado (a) a participar de um estudo clínico. Este documento apresenta uma descrição do estudo e tem como objetivo ajudá-lo a decidir se você deseja ou não participar dele. Solicite que um membro da equipe e/ou o médico do estudo esclareça qualquer dúvida sobre qualquer ponto que não estiver claro neste documento. Não assine este documento a menos que você esteja satisfeito com as respostas às suas perguntas e que tenha decidido participar deste estudo.

Contatos para obtenção de informações

Os membros da equipe e/ou médico do estudo esclarecerão todas as suas dúvidas sobre esse estudo ou sobre a sua participação no mesmo. Você poderá fazer perguntas em qualquer momento durante a realização do estudo. Entre em contato com a equipe e/ou médico do estudo se você tiver qualquer dúvida durante o estudo.

- Médico responsável pelo estudo: Dr(a) LUCIANA ANSANELI NAVES
- Número do telefone: (61)9 9961-3027 Após o horário comercial: (61) 99961-3027

Informações sobre o estudo

Este estudo destina-se a investigar as alterações genéticas que possam interferir no desenvolvimento de Tumores Hipofisários, em membros da mesma família. Até o presente momento, dispomos apenas dos exames de sangue que permitem o diagnóstico da doença, todavia, quando esse problema é diagnosticado em vários membros da mesma família, ainda não estão bem definidos quais são os genes envolvidos no desenvolvimento da doença. Nesse estudo, haverá uma associação entre a Universidade de Brasília e o Laboratório Sabin, para tentar identificar a alteração genética que possa gerar acromegalia na sua família

Objetivos do estudo

Definir quais são os genes envolvidos no desenvolvimento de adenomas familiares
 Identificar as eventuais mutações nos genes candidatos
 Oferecer orientação genética e de rastreamento da doença nos indivíduos afetados

Quem pode Participar?

Pacientes portadores de Adenomas Hipofisários e seus familiares, desde que já existam 2 casos confirmados na família

Serviço de Endocrinologia
Área de Clínica Médica
Faculdade de Medicina-UnB

Exames do Estudo, Riscos e Desconfortos

- Serão colhidas amostras de sangue, com volume de cerca de 10 ml, para a realização de 2 tipos de exames:
- extração de DNA leucocitário para a identificação de mutações dos genes. Esse material será enviado para a Bélgica sob a responsabilidade do Professor Albert Beckers, da Universidade de Liège.
- A coleta de sangue, feita por uma agulha, pode provocar um pequeno hematoma (mancha roxa) no local.

Benefícios

Os exames aos quais você irá se submeter no estudo, poderão ajudar no diagnóstico precoce e orientação genética da sua família.

Confidencialidade dos Registros

A assinatura deste termo autoriza o acesso de seus dados aos profissionais citados acima, que manterão o sigilo e a confidencialidade de seus dados. Na análise dos resultados, você será identificado apenas por suas iniciais e por um número anônimo de. As informações que o identificam individualmente não serão divulgadas em nenhum relatório nem publicação resultantes deste estudo.

Custos da participação

Não se espera que você (e/ou seu convênio médico) pague por nenhum dos procedimentos, medicamentos em estudo ou exames que são exigidos como parte deste estudo. Você continuará sendo responsável pelos custos de seu tratamento médico habitual, inclusive pelos procedimentos e exames que não fizerem parte do estudo..

Obtendo Informações Adicionais

O Comitê de Ética em Pesquisa, que tem a responsabilidade de avaliar todas as solicitações de realização de pesquisas clínicas com voluntários, analisou e aprovou este estudo para ser conduzido nesta Instituição. Se você tiver dúvidas ou perguntas sobre os seus direitos, você poderá ligar no telefone (61)999613027, cujo responsável é o Prof. Dr(a).:LUCIANA ANSANELI NAVES

Base da Participação

Sua participação neste estudo é voluntária. Você pode optar por não participar ou pode deixar de participar a qualquer momento sem qualquer penalidade ou perda de benefícios. Será solicitado que você assine um documento explicando que foi informado (a) sobre estes problemas.

TERMO DE PARTICIPAÇÃO E ASSINATURAS

Eu li as informações acima deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Eu entendi os propósitos do estudo, bem com os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Eu tive a oportunidade de fazer perguntas e todas elas me foram respondidas de forma satisfatória. Eu entendo que a participação neste estudo é voluntária, que posso recusá-lo ou deixá-lo a qualquer momento, sem que este fato possa afetar meus futuros cuidados médicos.

Ao assinar este termo eu forneço meu consentimento livre e esclarecido para participar deste estudo.

**Serviço de Endocrinologia
Área de Clínica Médica
Faculdade de Medicina-UnB**

Eu autorizo o(a) médico(a) do estudo a coletar e processar meus dados, incluindo informações sobre minha saúde. Entendo que minhas informações possam ser enviadas para outros países do mundo e se eu optar por desistir do estudo, concordo que as informações colhidas até o momento da minha desistência possam continuar sendo processadas.

Eu receberei uma cópia assinada e datada deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Eu não estou desistindo de nenhum de meus direitos legais pela assinatura deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Eu, abaixo assinado, expliquei integralmente os detalhes relevantes deste estudo para o paciente acima citado.

_____ Data ____/____/____

Nome e Assinatura da pessoa aplicando o termo
(Se diferente do Investigador)

_____ Data ____/____/____
Nome e Assinatura do paciente ou representante legal

_____ Data ____/____/____
Nome e Assinatura da Testemunha (Se Aplicável)

Eu, abaixo assinado, expliquei integralmente os detalhes relevantes deste estudo para a paciente acima indicada e fornecerei a este paciente uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado e datado.

_____ Data ____/____/____
Nome e Assinatura do Investigador

ANEXO A – CRITÉRIOS PARA CLASSIFICAÇÃO DE VARIANTES PATOGÊNICAS (ACGM)

Critério patogênico	Categoria
<i>Very strong</i>	PVS1: variante nula (<i>nonsense, frameshift, canônica +/- 1 ou 2</i> sítios de <i>splice</i> , codon de iniciação) em um gene no qual a perda de função é um mecanismo conhecido da doença
<i>Strong</i>	<p>PS1: mesma mudança de aminoácido de uma variante patogênica previamente estabelecida, independentemente da mudança de nucleotídeo.</p> <p>PS2: de novo em um paciente com a doença e sem história familiar</p> <p>PS3: estudos <i>in vitro</i> ou funcionais <i>in vivo</i> que confirmem um efeito prejudicial no gene ou na sua proteína</p> <p>PS4: a prevalência da variante em indivíduos afetados é significativamente aumentada em comparação à prevalência em controles</p>
<i>Moderate</i>	<p>PM1: localizado em um <i>hot spot</i> mutacional ou domínio funcional crítico e bem estabelecido</p> <p>PM2: ausente nos controles</p>
<i>Supporting</i>	<p>PP1: co-segregação com doença em vários membros da família afetados em um gene sabidamente conhecido por causar a doença</p> <p>PP2: Variante <i>missense</i> em um gene que em que esse tipo de variante é um mecanismo comum de doença</p> <p>PP3: múltiplas linhas de evidência computacional suportam um efeito deletério sobre o gene ou sua proteína</p> <p>PP4: o fenótipo do paciente ou história familiar é altamente específico para uma doença com uma única etiologia genética</p> <p>PP5: fonte confiável relata recentemente a variante como patogênica, mas a evidência não está disponível para o laboratório realizar uma avaliação independente</p>

Adaptado de referência (119).

ANEXO 2 – DOCUMENTO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA

UNB - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE BRÁSÍLIA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do uso do Cinacalcet para controle do hiperparatireoidismo primário em indivíduos com Neoplasia Endócrina Múltipla do Tipo 1

Pesquisador: Isabella Santiago de Melo Miranda

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 25846919.2.0000.5558

Instituição Proponente: EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS HOSPITALARES - EBSERH

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.739.108

Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa apresentado para obtenção de título de mestrado.

Trata-se de um estudo prospectivo, não-randomizado e sem grupo controle.

Os pacientes serão selecionados conforme critérios de inclusão e exclusão. Dados clínicos relevantes serão coletados dos prontuários. O estudo será conduzido no Serviço de Neuroendocrinologia do Hospital Universitário de Brasília. A coleta e seleção dos dados pertinentes serão realizadas no período de abril de 2020 a julho de 2020.

Pacientes serão submetidos a coletas de sangue para avaliação de exames bioquímicos antes e durante o uso da medicação para avaliar resposta terapêutica, por um período de 2 meses.

Critério de Inclusão:

Pacientes com diagnóstico confirmado de hiperparatireoidismo primário no contexto sintomático da NEM-1, em seguimento ambulatorial periódico de no mínimo 2 anos e que apresentaram os seguintes critérios: Idade maior que 18 anos; Cálcio sérico entre 10,2 e 11,9; 25-OH Vitamina D em concentrações > 20; PTH > 80; Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Critério de Exclusão:

Pacientes com cálcio sérico > 12; Não concordância ou assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

UNB - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA



Continuação do Parecer: 3.739.108

Hipótese:

Uso do cloridrato de cinacalcet como terapia alternativa para controle da calcemia em pacientes com hiperparatireoidismo primário no contexto de Neoplasia Endócrina Múltipla do Tipo 1.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o benefício terapêutico agudo do Cloridrato de Cinacalcet em pacientes portadores hiperparatireoidismo leve a moderado como componente da NEM-1.

Objetivo Secundário:

Avaliar o comportamento bioquímico do cálcio com o tempo de uso e dose utilizada do Cinacalcet. Avaliar a relação entre a calcemia e as concentrações plasmáticas de PTH.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O cinacalcet é geralmente uma medicação bem tolerada, porém, durante o seu uso, o paciente pode apresentar eventos adversos. Os mais comuns são náuseas e vômitos (>10%), que tendem a ser brandos e melhoram com o tempo. Os menos comuns são diarreia, dor abdominal, prisão de ventre, reações de hipersensibilidade, problemas na pele, dores musculares, diminuição ou falta de apetite, convulsões, tonturas, dormências, dor de cabeça, pressão baixa, infecção respiratória, falta de ar, tosse, agravamento da insuficiência cardíaca, diminuição do cálcio e aumento do potássio no sangue (1 a 10%).

Benefícios:

A possibilidade de padronizar a medicação como uma terapia alternativa à paratireoidectomia para o controle da hipercalcemia em pacientes com hiperparatireoidismo primário no contexto de Neoplasia Endócrina Múltipla do tipo 1.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto de pesquisa está delineado considerando os aspectos éticos vigentes. Entretanto, a minimização dos riscos relacionados a execução da pesquisa não foram explicitados no projeto na íntegra, apenas no termo de consentimento livre e esclarecido.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A pesquisadora apresentou todos os termos necessários a apreciação ética.

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

**UNB - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA**



Continuação do Parecer: 3.739.108

Recomendações:

Recomendo atualizar o projeto na íntegra com as informações do TCLE no que concerne a minimização dos riscos relacionados a execução da pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise do colegiado em reunião ordinária dia 27/11/2019 o parecer foi pela Aprovado do projeto com as recomendações elencadas acima.

Considerações Finais a critério do CEP:

Após análise do colegiado em reunião ordinária dia 27/11/2019 o parecer foi pela Aprovado do projeto com as recomendações elencadas acima.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1433020.pdf	18/11/2019 19:34:33		Aceito
Outros	CVisabella.pdf	18/11/2019 19:33:53	Isabella Santiago de Melo Miranda	Aceito
Outros	CurriculoLuciana.pdf	18/11/2019 19:26:32	Isabella Santiago de Melo Miranda	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLErevisado.docx	18/11/2019 19:18:49	Isabella Santiago de Melo Miranda	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Preprojeto.docx	18/11/2019 19:18:27	Isabella Santiago de Melo Miranda	Aceito
Outros	Termoresponsabilidade.pdf	18/11/2019 19:16:42	Isabella Santiago de Melo Miranda	Aceito
Outros	Termo.pdf	18/11/2019 19:15:55	Isabella Santiago de Melo Miranda	Aceito
Outros	Termocienciaparticipacao.pdf	18/11/2019 19:13:48	Isabella Santiago de Melo Miranda	Aceito
Outros	Termocoparticipacao.pdf	18/11/2019 19:12:45	Isabella Santiago de Melo Miranda	Aceito
Outros	Termoconcordancia.pdf	18/11/2019 19:11:32	Isabella Santiago de Melo Miranda	Aceito
Orçamento	planilha.pdf	18/11/2019 19:09:55	Isabella Santiago de Melo Miranda	Aceito
Outros	carta.pdf	18/11/2019 19:09:04	Isabella Santiago de Melo Miranda	Aceito
Folha de Rosto	Folharosto.pdf	18/11/2019	Isabella Santiago de	Aceito

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

UNB - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA



Continuação do Parecer: 3.739.108

Folha de Rosto	Folharosto.pdf	19:08:00	Melo Miranda	Aceito
----------------	----------------	----------	--------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BRASILIA, 02 de Dezembro de 2019

Assinado por:
Antônio Carlos Rodrigues da Cunha
(Coordenador(a))

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br