



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

LUÍS GALANTE SANTIAGO

ADENOMAS HIPOFISÁRIOS HEREDITÁRIOS: ASPETOS GENÉTICOS E CLÍNICOS

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE ENDOCRINOLOGIA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROF.^a DOUTORA MARIA LEONOR VIEGAS GOMES**

SETEMBRO/2012

Adenomas hipofisários hereditários: aspetos clínicos e genéticos

Artigo de Revisão

Por:

Luís Galante Santiago

Aluno do 6º ano do MIM da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Orientadora:

Maria Leonor Viegas Gomes

Professora Auxiliar Convidada da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra
(Regente da Valência de Endocrinologia da Unidade Curricular de Patologia Médica II)

Assistente Hospitalar Graduada de Endocrinologia dos Hospitais da Universidade de
Coimbra, CHUC- EPE

Endereço:

luis_sem_acento@hotmail.com

Setembro de 2012

Trabalho final do Estágio Programado e Orientado do sexto ano do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Coimbra, realizado sob orientação da Prof.^a Doutora Maria Leonor Viegas Gomes, professora auxiliar convidada da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra e assistente graduada de Endocrinologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra, CHUC-EPE.

ÍNDICE

Agradecimentos	v
Resumo	vi
Palavras-chave	vii
Abstract	viii
Keywords	ix
Glossário de abreviaturas	x
Introdução	1
Objetivos	5
Metodologia	6
Desenvolvimento	7
<i>Neoplasia endócrina múltipla tipo 1</i>	7
<i>Características clínicas da MEN-1</i>	8
<i>Características clínicas dos TH associados a MEN-1</i>	8
<i>Características moleculares da MEN-1</i>	10
<i>MEN-1 esporádicos com mutações no gene MEN1</i>	12
<i>MEN-1 sem mutações no gene MEN1</i>	12
<i>Tumores esporádicos (incluindo TH) não associados à MEN-1 com mutações no gene MEN1</i>	13
<i>Tumores familiares não associados à MEN-1 com mutações no gene MEN1</i>	13
<i>Correlação genótipo-fenótipo</i>	14
<i>Mecanismo de ação da proteína menin</i>	14
<i>Modelos animais de génese tumoral hipofisária na MEN-1</i>	16
<i>Investigação clínica da MEN-1</i>	16
<i>Neoplasia Múltipla Endócrina tipo 4</i>	19
<i>Características genéticas e clínicas da MEN-4 em humanos</i>	19
<i>Novas investigações em MEN-4</i>	20
<i>Mecanismo de ação do p27^{kip1}</i>	20
<i>Investigação clínica da MEN-4</i>	20
<i>Complexo de Carney</i>	22
<i>Características clínicas do CC</i>	22
<i>Características genéticas do CC</i>	23
<i>Mecanismo de ação do produto do gene PRKARIA</i>	23

<i>Modelos animais para estudo do CC</i>	24
<i>Investigação clínica do CC</i>	24
<i>Adenomas hipofisários familiares isolados</i>	26
<i>Características clínicas dos FIPA</i>	26
<i>Características genéticas dos FIPA - Mutações AIP</i>	28
<i>Características clínicas dos FIPA com mutações AIP</i>	30
<i>Mutações AIP em TH esporádicos</i>	31
<i>Da mutação AIP aos FIPA</i>	31
<i>Modelos animais para estudo dos FIPA</i>	34
<i>Investigação clínica dos FIPA</i>	35
<i>Conclusões</i>	36
<i>Referências</i>	39

AGRADECIMENTOS

Este trabalho final do 6º ano médico com vista à atribuição do grau de mestre pela Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra é o culminar de um objetivo académico.

Estou especialmente agradecido à Prof.^a Doutora Leonor Gomes, pelos seus conselhos e recomendações transmitidas durante a sua elaboração. Agradeço pela disponibilidade que sempre me dispensou e pela preocupação em assegurar o carácter científico do trabalho.

Agradeço à minha família, por me inculir os melhores sentimentos que existem: a paz, o amor, o carinho, a compreensão e o respeito. Obrigado por estarem sempre ao meu lado.

Estou ainda em dívida para com muitas pessoas e amigos pela sua ajuda e paciência. Por isso, quero dedicar também este trabalho a todos aqueles que partilharam comigo todo este percurso académico.

RESUMO

Introdução. *O conhecimento da genética e da biologia molecular tem evoluído de forma surpreendente nos últimos anos, condicionando importantes alterações na abordagem a doenças hereditárias, como por exemplo os tumores hipofisários hereditários. Os tumores hipofisários representam um dos tumores intracranianos mais frequentes com séries radiológicas e de autópsia recentes que apontam para uma prevalência de 10 a 25% da população. A maioria corresponde a achados incidentais sem tradução clínica. Contudo, podem conduzir a uma morbilidade significativa ao apresentarem-se clinicamente por disfunção hormonal e/ou efeito de massa.*

Objetivos. *Na revisão proposta descreve-se o conhecimento atual das características clínicas e moleculares das síndromes que envolvem tumores hipofisários hereditários.*

Métodos. *Esta revisão assenta numa seleção de artigos pesquisados através da base de dados da PubMed da Medline usando as palavras: “tumores hipofisários familiares”, MEN-1”, “MEN-4”, “Complexo de Carney” e “FIPA”.*

Resultados. *A maioria dos tumores hipofisários surge de forma esporádica, benigna e em adultos, porém apenas uma minoria (5%) faz parte de síndromes endócrinas genéticas como a neoplasia endócrina múltipla tipo 1 (MEN-1), o complexo de Carney, a MEN-4 e os adenomas hipofisários familiares isolados (FIPA). A etiopatogenia dos tumores esporádicos ainda é pouco conhecida, contudo foram feitos avanços significativos no conhecimento das formas hereditárias. A MEN-1 e o Complexo de Carney são conhecidos há várias décadas e apresentam mutações nos genes MEN1 e PRKARIA ou alterações no locus 2p16, respetivamente. Mutações no gene CDKN1B foram encontradas na extremamente rara MEN-4. Estes três genes estão associados a patologias extra-hipofisárias que podem ajudar na identificação destas síndromes. Por sua vez, cerca de 15 a 25% dos doentes com FIPA,*

particularmente famílias com adenomas secretores de GH, apresentam alterações genéticas no gene AIP, localizado no cromossoma 11q13. Os tumores familiares parecem não só diferir dos esporádicos na patogénese, mas também na apresentação clínica e comportamento biológico. Há evidência de que na MEN-1 e FIPA, são mais agressivos, de maior volume e afetam idades jovens, justificando-se assim a importância de um diagnóstico precoce e tratamento individualizado.

Conclusão. *Apesar de raras, as síndromes tumorais hipofisárias hereditárias oferecem uma oportunidade única para compreender a patofisiologia dos processos de génese tumoral hipofisária. O conhecimento das características destas síndromes hereditárias possibilita uma abordagem específica com diagnóstico familiar precoce, melhor investigação clínica e tratamento apropriado diferente dos tumores esporádicos.*

PALAVRAS-CHAVE

Tumor hipofisário hereditário · Neoplasia Endócrina Múltipla tipo 1 · Complexo de Carney · Neoplasia Endócrina Múltipla tipo 4 · Adenomas hipofisários familiares isolados · Genes *MEN1, CDKN1B, PRKARIA, AIP*

ABSTRACT

Introduction. *The knowledge of genetics and molecular biology has evolved so surprisingly in recent years, leading to important changes in the approach to hereditary diseases, for example the familial pituitary tumors. Pituitary tumors are one of the most frequent intracranial tumors and data derived from autopsy and radiological series suggest prevalence close to 10-25% of the general population. However they can still result in significant morbidity because of hormone overproduction and/or tumor mass effects, including hypopituitarism.*

Objective. *This review summarizes the current knowledge on the clinical and molecular characteristics of familial pituitary tumor syndromes.*

Methods. *This review is based on a search through the PubMed database with use of the following words: “familial pituitary tumor”, “MEN-1”, “MEN-4”, “Carney’s Complex” and “FIPA”.*

Results. *The vast majority of pituitary tumors are benign, occur sporadically and affect adults, but only about 5% of all arise in a familial setting such as Multiple Endocrine Neoplasia type 1 (MEN-1), Carney’s Complex, MEN-4 and Familial Isolated Pituitary Adenomas (FIPA). The etiology of sporadic tumor is still poorly understood, however advances have been made in our understanding of familial syndromes. MEN-1 and Carney’s Complex have been known for decades and show mutations in MEN1 and PRKARIA genes or changes in a locus at 2p16, respectively. These genes are associated with a variety of extrapituitary pathologies, which aid identification of these syndromes. By contrast, almost 15-25% of FIPA patients, particularly somatotropinomas families, present with mutations of the AIP gene in a locus at 11q13. Familial tumors appear to be different not only in etiology but also in clinical presentation and biological behavior. Data suggests that MEN-1 and*

FIPA are more aggressive, larger in size and affect younger age, therefore justifying the importance of early diagnosis and individualized management of affected patients.

***Conclusion.** Although rare, familial pituitary tumors present an opportunity to understand the pathophysiology of pituitary tumorigenesis. The knowledge of their characteristics enables specific approach with early familiar diagnosis, better clinical management and directed treatment.*

KEYWORDS

Familial pituitary tumor · Multiple Endocrine Neoplasia type 1 · Carney's Complex · Multiple Endocrine Neoplasia type 4 · Familial Isolated Pituitary Adenomas · *MEN1*, *CDKN1B*, *PRKARIA*, *AIP* genes

GLOSSÁRIO DE ABREVIATURAS

- ACTH: corticotrofina
- ADN: ácido desoxirribonucleico
- AHR: *aryl-hydrocarbon receptor*
- AIP: *aryl-hydrocarbon receptor interacting protein*
- AMPC: adenosina monofosfato cíclico
- AP-1: *activating protein-1*
- ARNm: ácido ribonucleico mensageiro
- ARNT: *aryl-hydrocarbon receptor nuclear translocator*
- ASK: *activator of S-phase kinase*
- BMP-2: *bone morphogenetic protein 2*
- BMP-4: *bone morphogenetic protein 4*
- CC: complexo de Carney
- CDKN1B: gene *cyclin-dependent kinase inhibitor 1B*
- CHES1: *checkpoint suppressor 1*
- CREB: *cAMP response element binding protein*
- DAPK1: *death-associated protein kinase 1*
- EBNA-3: *EBV-determined nuclear antigen 3*
- EGFR: *epidermal growth factor receptor*
- ER α : *nuclear receptor for estrogen α*
- ERX: elemento de resposta xenobiótica
- FGFR4: *fibroblast growth factor receptor 4*
- FIPA: adenomas hipofisários familiares isolados
- FoxN3: *forkhead box N3*
- FSH: hormona estimulante folicular
- G α : subunidade α da proteína G

GADD45: *growth arrest and DNA-damage-inducible*

GFAP: *glial fibrillary acidic protein*

GH: hormona de crescimento

GHRH: *growth-hormone-releasing hormone*

GNAS: *guanine nucleotide binding protein, alpha stimulating*

HBVX: *X protein of the hepatitis B virus*

HDAC: *histone deacetylase*

H-RAS: *v-Ha-ras Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog*

HSP90: *heat shock protein 90*

HSC70: *heat-shock cognate 70*

IFS: somatotrofinomas isolados familiares

IGF-1: *insulin-like growth factor 1*

K-RAS: *v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*

LH: hormona luteinizante

LOH: perda de heterozigotia

MEN-1: neoplasia endócrina múltipla tipo 1

MEN-2: neoplasia endócrina múltipla tipo 2

MEN-4: neoplasia endócrina múltipla tipo 4

NF: não funcionantes

NFkB: *nuclear factor kappa B*

NME1: *protein expressed in nonmetastatic cells*

NMHC II-A: *nonmuscle myosin II-A heavy chain*

N-RAS: *neuroblastoma RAS viral (v-ras) oncogene homolog*

PCR: reação em cadeia da polimerase

PDE: *phosphodiesterase*

pem: *mouse placental embryonic*

PKA: proteína cinase A

PKC: *paroxysmal kinesigenic choreoathetosis*

PLAGL1: *pleiomorphic adenoma gene-like 1*

PPAR α : *peroxisome proliferator-activated receptor α*

PPNAD: hipertrofia primária nodular pigmentada suprarrenal

PRKAR1A: *gene type 1 A regulatory subunit of protein kinase A*

PRL: prolactina

PTTG: *pituitary tumour transforming gene*

Rb: *retinoblastoma*

RET: *rearranged during transfection*

RPA2: *replication protein A2*

Runx2: *runt-related transcription factor 2*

SLN: sinal de localização nuclear

SFRP: *secreted frizzled-related protein*

TH: tumores hipofisários

TNNI3K: *cardiac troponin I-interacting kinase*

TOMM20: *translocase of the outer membrane of mitochondria 20*

TPR: *tetratricopeptide repeat*

TR β 1: *thyroid hormone receptors β 1*

TSH: hormona estimulante da tiróide

XAP2: *hepatitis B virus X-associated protein 2*

WIF: WNT inhibitory factor

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem-se assistido a um grande desenvolvimento da biologia celular e molecular, imunohistoquímica e imagiologia com implicações importantes em todas as áreas do conhecimento científico e também na medicina, desde a abordagem diagnóstica de doenças hereditárias ou associadas a alterações genéticas ou moleculares específicas, passando pela decisão terapêutica e prognóstico. A área da endocrinologia não é exceção e, nomeadamente os tumores hipofisários (TH) hereditários são um dos exemplos em que os avanços nas áreas referidas permitiram o início da compreensão da história natural, identificação de doenças em idades jovens, identificação de portadores sem manifestação da doença e o diagnóstico e intervenção precoces a nível individual, familiar e da população em geral.

Os TH representam cerca de 10% a 25% dos tumores intracranianos primários e são o segundo tipo histológico mais frequente na faixa etária dos 20 aos 34 anos (Scheithauer BW *et al*, 2006). Em geral, estes tumores são benignos e clinicamente assintomáticos, o que justificou valores discrepantes de prevalência. Durante anos foram considerados uma entidade rara, baseado em estudos clínicos que apresentavam uma baixa prevalência de 1:3571-1:5263 (Clayton RN *et al*, 1999). Recentemente, contudo, séries epidemiológicas realizadas na província de Liège (Bélgica) e, mais tarde confirmadas em Banbury (Reino Unido), sugerem que os TH clinicamente sintomáticos apresentam uma prevalência de 1:1000 (Daly AF *et al*, 2006; Fernandez A, 2010), enquanto séries de autópsia e radiológicas demonstram que os incidentalomas hipofisários ocorrem frequentemente (14,4% e 22,5%, respetivamente), podendo estar presentes em uma em cada 6 pessoas (Essat S *et al*, 2004). Os TH clinicamente sintomáticos são, assim, 3 a 5 vezes mais frequentes do que anteriormente expectado (Daly AF *et al*, 2006), o que revela a importância da investigação nesta área e da compreensão dos mecanismos da patogénese, apresentação clínica e comportamento biológico.

Os TH são típicos dos adultos, com apenas 3,5-8,5% são diagnosticados antes dos 20 anos (Keil MF, 2008). Os tumores da hipófise apresentam a seguinte distribuição fenotípica: a maioria são prolactinomas (45%), seguido de tumores não funcionantes (25%), somatotrofinomas (18,5%), corticotrofinomas (10%), adenomas secretores de gonadotrofinas (1%) e adenomas secretores de TSH (0,5%) (**Figura 1**) (Guaraldi F *et al*, 2011). A doença de Cushing é o tipo mais frequente na infância e pré-adolescência, enquanto os prolactinomas predominam nos adultos e adolescentes (Keil MF *et al*, 2008).

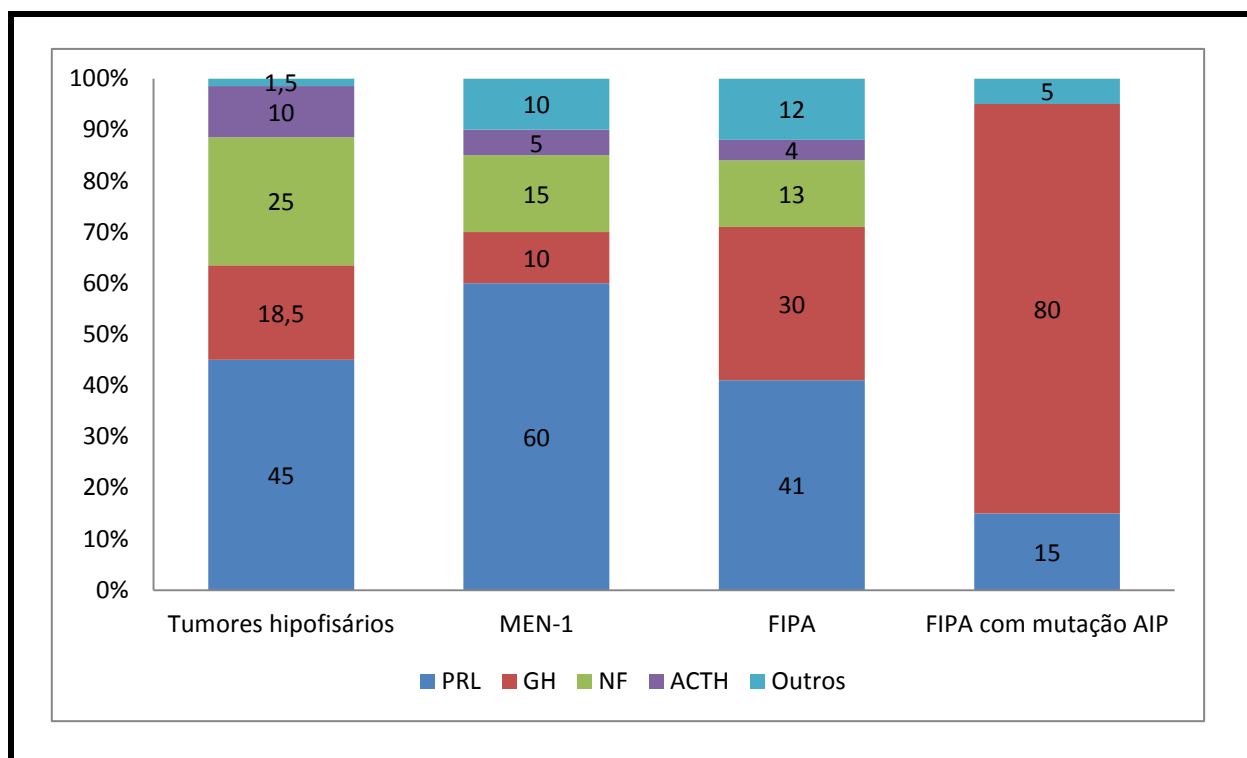


Figura 1. Comparação da prevalência dos fenótipos dos tumores hipofisários, MEN-1, FIPA e FIPA com mutações AIP.

Os TH raramente apresentam carácter maligno, no entanto, podem causar morbilidade significativa. Primeiro, dada a sua expansão na sela turca, podem conduzir a efeitos de massa (incluindo cefaleias, défices visuais e parésias de nervos cranianos); segundo, a proliferação de células funcionantes pode levar a síndromes endócrinas; terceiro, podem causar insuficiência hipofisária (hipopituitarismo parcial ou global); e quarto, o seu tratamento pode

exigir neurocirurgia, radioterapia e terapêutica médica crónica com as respetivas implicações (Scheithauer BW *et al*, 2006).

A etiopatogenia dos TH tem atraído atenção considerável dado que representam uma oportunidade de estudar os mecanismos genéticos e moleculares da génese tumoral, podendo servir de modelo para o estudo de carcinomas mais agressivos. Para além disso, a sua etiologia continua largamente desconhecida, apesar dos enormes avanços na caracterização das formas hereditárias (Dworakowaska D, 2009). É atualmente aceite que os TH têm origem monoclonal, surgindo da expansão clonal de uma única célula mutada. Contudo, a nível tecidual, a hipófise pode apresentar múltiplos tumores ou áreas hiperplásicas, cada uma com a sua linhagem genética (Herman V, 1990). O desenvolvimento dos TH tem sido associado com diversas mutações genéticas adquiridas ou hereditárias (**Tabela 1**) e com alterações na disponibilidade de fatores reguladores (fatores de crescimento autócrinos e parácrinos, hormonas hipotalâmicas e periféricas), incluindo mutações no oncogene *GNAS*, aumento de expressão de *PTTG*, alterações na regulação do ciclo celular e vias de sinalização intracelular e, raramente, mutações em oncogenes clássicos (Vandeva S, 2010; Dworakowaska D, 2009).

Apesar da maioria dos TH serem esporádicos, cerca de 4 a 5% ocorre em síndromes familiares (Daly AF *et al*, 2006; Keil MF *et al*, 2008; Tichomirowa MA, 2009). Até ao ano 2000, o gene supressor tumoral *MEN1* era o único locus associado a síndromes hereditárias, contudo a pesquisa feita nos últimos 12 anos permitiu estabelecer associações entre 3 novos genes: mutações do gene *CDKN1B* e *MEN 4*, do gene *PRKRIA* e Complexo de Carney e do gene *AIP* e uma minoria dos casos de FIPA. Estas anomalias são raramente encontradas nos tumores esporádicos (Poncin J *et al*, 1999), o que reforça as diferenças genéticas, clínicas e epidemiológicas entre os TH esporádicos e hereditários e justificam atitudes diagnósticas e terapêuticas individualizadas. Para estudar a influência das mutações destes genes na

patogénese tumoral faz-se uso de modelos animais transgénicos e do estudo das famílias afetadas.

Gene	Defeito genético
Oncogenes	
GNAS 1 (20q13.3)	Mutações esporádicas em TH-GH
Ciclina d1 (11q13)	Aumento da expressão em TH-GH e TH-NF
PTTG (5q35.1)	Aumento da expressão em TH invasivos
K-RAS (12p12.1), N-RAS (1p13.2) e H-RAS (11p15.5)	Mutações ativadoras em TH altamente invasivos
PKC (16p11.2)	Mutações pontuais em TH invasivos
Ptd-FGFR4 (5q35.1)	Iniciador alternativo da transcrição em TH-GH invasivos
Genes supressores tumorais	
AIP (11q13.3)	Mutações em algumas famílias FIPA e raramente em TH esporádicos
BMP-4 (14q22-q23)	Ação promotora em TH-PRL. Papel inibidor em TH-ACTH
p27^{kip-1} (CDKN1B) (12p13.1-p12)	Mutação da linha germinativa em MEN-4. Expressão reduzida em TH esporádicos, mas sem mutação somática
P16^{INK4A} (CDKN2A) (9p21)	Hipermetilação da região promotora em TH
GADD45gamma (9q22.1-q22.2)	Perda da heterozigotia em TH
MEG3a (14q32)	Hipermetilação da região promotora resulta na perda de expressão encontrada em TH-NF e TH-FSH/LH
MEN1 (11q13)	Perda de heterozigotia, mutações da linha germinativa e somáticas em MEN-1. Raramente perda de heterozigotia em TH esporádicos
p53 (17p13.1)	Aumento da expressão em TH. Mutações em carcinomas hipofisários
PKA (PRKAR1A) (17q23-q24)	Mutações no Complexo de Carney
Rb (13q14.2)	Perda de heterozigotia em TH
Inibidores da via Wnt (WIF, SFRP2, SFRP3 (FZDB), SFRP4)	Expressão reduzida e hipermetilação da região promotora de WIF em TH (especialmente TH-NF)
PLAGL1 (6q24-q25)	Aumento da expressão e hipermetilação da região promotora de TH (especialmente TH-NF)
DAPK1 (9q34.1)	Perda da expressão da cinase DAP em TH invasivos

TH-GH: tumores hipofisários secretores de GH; TH-PRL: tumores hipofisários secretores de prolactina; TH-NF: tumores hipofisários não funcionantes; TH-ACTH: tumores hipofisários secretores de ACTH; TH-FSH/LH: tumores hipofisários secretores de LH e FSH

Tabela 1. Genes envolvidos na formação de tumores hipofisários. Adaptado de Guaraldi F *et al*, 2011.

É de referir que, apesar de geneticamente bem determinado (mutação no oncogene *GNAS*), a síndrome de McCune-Albright não parece seguir uma tendência hereditária (Levine MA, 1999) e, por isso, não será desenvolvida nesta revisão.

OBJETIVOS

Na revisão proposta descreve-se o conhecimento atual dos TH hereditários, com ênfase nos aspetos clínicos e moleculares. Faz-se ainda uma abordagem do mecanismo de ação dos produtos dos genes envolvidos nas síndromes TH hereditários, da correlação genótipo-fenótipo e da investigação clínica.

METODOLOGIA

Para a revisão deste trabalho final com o tema “adenomas hipofisários hereditários” foi realizada uma pesquisa de artigos através das bases de dados da PubMed da Medline usando as palavras: “tumores hipofisários familiares”, MEN-1”, “MEN-4”, “Complexo de Carney” e “FIPA”. A pesquisa restringiu-se a artigos em inglês, francês e espanhol, publicados até Agosto de 2012. Os artigos foram selecionados manualmente de acordo com a sua pertinência em relação ao tema.

DESENVOLVIMENTO

NEOPLASIA ENDÓCRINA MÚLTIPLA TIPO 1 (MEN-1)

A neoplasia endócrina múltipla tipo 1 (MEN-1) foi a primeira síndrome tumoral hipofisária familiar a ser identificada e resulta de mutações no gene supressor tumoral *MEN1* (Chandrasekharappa *et al*, 1997). Scheithauer estimou que 2,7% dos TH se deviam a mutação do gene *MEN1* (Scheithauer *et al*, 1987). É uma síndrome neoplásica autossómica dominante rara com igual distribuição pelos dois sexos e com alta penetrância e expressividade clínica variável. Caracteriza-se pela presença de hiperplasia e neoplasia em pelo menos dois tecidos endócrinos diferentes clássicos (tumores da paratiróide, tumores enteropancreáticos e tumores da hipófise anterior) (Brandi ML *et al*, 2001; Lemos M & Thakker RV, 2008). Foram descritas duas formas clínicas: esporádicas e hereditárias/familiares. A forma hereditária é a mais frequente e exige a presença de um parente com pelo menos um dos três tumores endócrinos principais da MEN-1. A ausência de história familiar é sugestiva da forma esporádica (Lemos M & Thakker RV, 2008).

A MEN-1 é uma condição rara que afeta, aproximadamente, 1:30000 indivíduos. A sintomatologia geralmente inicia-se na segunda década de vida nos doentes portadores de mutação germinativa com desenvolvimento de tumores benignos, enquanto a partir da quarta década há um aumento significativo da ocorrência de tumores malignos. A doença pode afetar todas as faixas etárias com casos descritos desde os 5 aos 81 anos e com manifestações em 98% dos doentes com 50 anos (Thakker RV, 2010). As formas esporádicas dos tumores relacionados com esta síndrome são mais frequentes, sendo a incidência da MEN-1 em doentes com hiperparatiroidismo primário de 1 a 18%, de 16 a 38% em doentes com gastrinomas e menos de 3% em doentes com TH (Doherty G *et al*, 1998). Na ausência de tratamento os doentes com MEN-1 têm uma esperança de vida diminuída, com 50% de

mortalidade pelos 50 anos. A probabilidade de vir a falecer devido a uma sequela da doença é de 50% (Dean PG *et al*, 2000).

Características clínicas da MEN-1. Os tumores associados à MEN-1 são geralmente múltiplos e multicêntricos (Trouillas J *et al*, 2008). Combinações de mais de 20 tumores endócrinos e não endócrinos, benignos ou malignos, diferentes têm sido descritas. Os tumores da paratiróide são os mais comuns dos três componentes clássicos da MEN-1, com uma penetrância de praticamente 100% aos 50 anos e são a primeira manifestação em mais de 85% dos casos; os tumores enteropancreáticos, que compreendem gastrinomas (deste grupo os mais frequentes), insulinomas, PPomas, glucagonomas e VIPomas, desenvolvem-se em 30 a 75% dos casos e são a principal causa de mortalidade e morbidade; e os tumores da hipófise anterior em cerca de 65% dos doentes, apesar de vários estudos descreverem prevalências de apenas 30-40% (Vasilev V *et al*, 2011). Adicionalmente, alguns doentes podem apresentar ainda tumores endócrinos como tumores da zona cortical da suprarrenal, geralmente não funcionantes; tumores carcinóides, raros mas 90% são malignos; feocromocitomas e lesões não endócrinas como angiofibromas faciais, colagenomas e lipomas. A sintomatologia associada à MEN-1 é decorrente geralmente do excesso de secreção de produtos hormonalmente ativos e menos frequentemente da invasão dos tecidos locais pela massa tumoral ou metástases (Brandi ML *et al*, 2001).

Características clínicas dos TH associados a MEN-1. Enquanto o hiperparatiroidismo é geralmente a primeira manifestação da MEN-1, os tumores da hipófise são-no em menos de 15% dos casos (Verges B *et al*, 2002). A idade média de apresentação dos TH associados a MEN-1 varia de acordo com o fenótipo, com os prolactinomas a surgirem em média aos 34 anos e os adenomas não funcionantes aos 50 anos. Contudo, esta diferença pode resultar do facto dos adenomas funcionantes provocarem sintomatologia mais precocemente que os não

funcionantes. As mulheres com MEN-1 têm taxas mais elevadas de TH (50% versus 21%), sendo a razão desconhecida (Verges B *et al*, 2002).

Os prolactinomas são os TH associados à MEN-1 mais comuns (60%); os adenomas secretores de GH representam 10%; os não funcionantes 15%; os secretores de ACTH 5%; e os secretores de TSH são raros (Verges B *et al*, 2002). Estas prevalências são ligeiramente diferentes dos doentes não-MEN1 (**Figura 1**). Comparado com os doentes que têm TH não associados à MEN-1, estes são mais frequentemente multicêntricos e pluri-hormonais, apresentando habitualmente co-secreção de GH e prolactina com uma associação incomum com LH, FSH ou ACTH (Trouillas J *et al*, 2008).

Até 85% dos TH associados à MEN-1 são macroadenomas (comparado com 42% nos casos esporádicos) (Verges B *et al*, 2002), contudo é de esperar que esta frequência diminua porque o rastreio e investigação de membros de famílias de alto risco permite um diagnóstico precoce. Como os tumores apresentam maiores dimensões no momento do diagnóstico, os sintomas relacionados com o efeito de massa são mais comuns em indivíduos com esta síndrome, bem como mais agressivos e mais invasivos radiológica e histologicamente (Trouillas J *et al*, 2008). Para além disso, apresentam maiores taxas de resistência aos agonistas da dopamina em comparação com os não associados à MEN-1, com apenas 44% a responder ao tratamento versus 90% nos casos esporádicos. Contudo, os carcinomas da hipófise são tão raros na MEN-1 como nos TH esporádicos (Verges B *et al*, 2002).

No diagnóstico diferencial de lesões hipofisárias relacionadas com MEN-1 é extremamente importante termos em atenção que estimulados pela produção ectópica de hormonas com origem em tumores carcinóides ou enteropancreáticos produtores de GHRH podem-se desenvolver hiperplasia ou adenomas hipofisários policlonais (Trouillas J *et al*, 2008). Nestes

casos, se a origem da hormona ectópica não for eliminada, corre-se o risco de atingir respostas fracas ao tratamento.

Características moleculares da MEN-1. O gene *MEN1* foi localizado em 1988 no cromossoma 11q13 por estudos genéticos de mapeamento que investigaram a perda de heterozigotia [referente à inativação somática de um gene supressor tumoral; do inglês Loss of Heterozygosity (LOH)] em tumores associados à MEN-1 (Larsson C *et al*, 1988). Os resultados destes estudos estão de acordo com a hipótese de Knudson para a génese tumoral e indicam que se trata de um gene supressor tumoral. De acordo com a hipótese de Knudson, o desenvolvimento de tumores ocorre numa sequência de dois eventos mutacionais, sendo que o primeiro evento se refere a uma mutação herdada (mutação germinativa), normalmente uma deleção ou mutação pontual. Assim, todas as células somáticas dos portadores possuem um alelo do gene inativo. O segundo evento mutacional corresponde a uma mutação somática a nível tecidual que na MEN-1 ocorre em mais de 90% dos casos por perda de heterozigotia, normalmente devido a grandes deleções que envolvem a região 11q13; contudo uma pequena mutação pontual ou deleção intragénica são mecanismos adicionais possíveis para a inativação do segundo alelo. Assim, os doentes acumulam uma mutação em cada alelo, com inativação completa do gene *MEN1* e consequente formação tumoral. Em contraste, a ocorrência esporádica dos mesmos tumores exige 2 mutações somáticas independentes no mesmo gene e na mesma célula (**Figura 2**) (Pannett AA & Thakker RV, 2001).

O gene *MEN1* compreende 10 exões que codificam a proteína *menin* com 610 aminoácidos. O gene tem uma complexa região reguladora a montante que regula a expressão da proteína *menin* (Chandrasekharappa SC, 1997). A proteína *menin* é expressada de forma ubiquitária e é predominantemente uma proteína nuclear em células em interfase, com importantes interações na transcrição de vários genes promotores endócrinos (Guru SC, 1998). De facto, a

expressão diferencial da *menin* em diferentes tecidos pode explicar em parte o facto das mutações no gene *MEN1* terem repercussão preferencialmente nas células do sistema endócrino, apesar de ser expressada numa variedade de células não-endócrinas (Tichomirowa MA *et al*, 2009; Taguchi R *et al*, 2011).

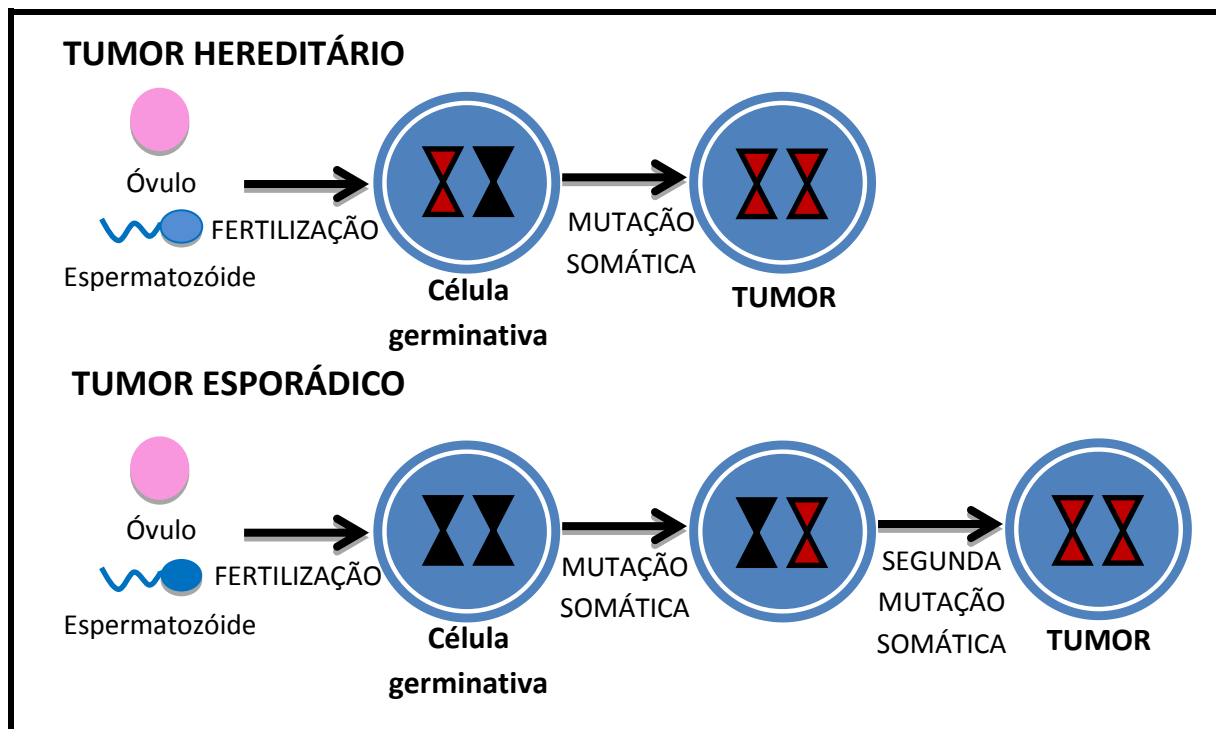


Figura 2. Hipótese de Knudson. São necessários dois eventos mutacionais num gene supressor tumoral para a génese tumoral. O cromossoma mutado é representado a vermelho. Adaptada de Ebrahimi SA *et al*, 1997.

Como já referido, o gene *MEN1* parece atuar como supressor tumoral, com uma imensidão de interações que ultrapassam o âmbito desta revisão. A *menin* interage com as regiões promotoras de centenas de genes, indicando que tem um papel regulador da transcrição, incluindo a expressão do próprio gene *MEN1* por retrocontrolo negativo.

Em 2008, Lemos e Thaker publicaram uma revisão na qual analisaram 1336 anormalidades genéticas no gene *MEN1* (1133 germinativas e 203 somáticas) e identificaram 565 mutações diferentes ao longo de todo gene, sem localizações/agrupamento preferenciais (Lemos M &

Thakker, 2008). Contudo, há evidência da existência de raros *hot-spots* mutacionais e de sequências do gene mais suscetíveis a mutações com inserção ou deleção (Basset JH *et al*, 1998). Aproximadamente 41% das mutações são *frameshift*, 23% mutações *nonsense*, 20% mutações *missense* e 9% mutações *splice-site*. Mais de 70% das mutações *MEN1* resultam, assim, na tradução de uma proteína truncada. A mutação mais comum é uma deleção de 4pb (c.249-252delGTCT) com uma frequência de 4,5% e resulta numa mutação *frameshift* no exão 2 (Lemos M & Thakker RV, 2008).

MEN-1 esporádicos com mutações no gene *MEN1*. A forma esporádica desenvolve-se em 8-14% dos doentes com MEN-1. Estudos genéticos confirmaram precisamente que mais de 10% das mutações ocorrem de novo e estas podem ser transmitidas às gerações futuras de forma autossómica dominante. Contudo, pode ser difícil a distinção entre as formas esporádicas e as familiares; em alguns casos a história familiar pode ser negativa dado que o parente com MEN-1 não está disponível para estudo ou pode ter falecido antes da sintomatologia se ter manifestado (Lemos M & Thakker RV, 2008).

MEN-1 sem mutações no gene *MEN1*. Cerca de 80-90% das famílias com MEN-1 possuem mutações no gene *MEN1*, contudo 10-20% com fenótipo MEN-1 não têm esta mutação e estes casos podem tanto ocorrer na forma esporádica como na familiar (Ellard S *et al*, 2005; Lemos M & Thakker RV, 2008). Há várias possibilidades que podem explicar a existência destes casos: os cerca de 5-10% dos doentes com MEN-1 que não têm mutações na região codificante do gene, sugerindo que podem ter mutações em regiões não transcritas, na região promotora ou ainda deleções de todo o gene não identificadas via PCR (Lemos M & Thakker RV, 2008); ou podem corresponder a ‘fenocópias’ da síndrome MEN-1 que podem mimetizar a sintomatologia da MEN-1 por ocorrência de um tumor endócrino esporádico numa família com MEN-1 ou a ocorrência de duas anormalidades endócrinas associadas a outras etiologias

(Burgess JR *et al*, 2000); ou ainda e, principalmente, devido à existência de outros genes como o recentemente descoberto *CDKN1B* que deu origem a uma nova entidade: a MEN-4 (Karhu A & Aaltonen LA, 2007). Surpreendentemente, mutações no gene *AIP* localizado também em 11q13 não foram detetadas em doentes com MEN-1 sem mutações no gene *MEN1*, estando sim associados a uma também nova entidade: os FIPA (Karhu A & Aaltonen LA, 2007).

Tumores esporádicos (incluindo TH) não associados à MEN-1 com mutações no gene *MEN1*. São encontradas mutações somáticas no gene *MEN1* em 30% dos tumores enteropancreáticos esporádicos e 20% dos tumores da paratiróide esporádicos, contudo, estas são extremamente raras em TH esporádicos não associados a MEN-1. A perda de heterozigotia em 11q13 foi descrita em 5-30% dos TH esporádicos, contudo, o gene *MEN1* não foi regulado negativamente (Boggild MD *et al*, 1994; Lemos M & Thakker RV, 2008). Theodoropoulou M verificou que a proteína *menin* é detetável em 67 dos 68 TH esporádicos não MEN-1 estudados. Assim, a inativação do gene supressor tumoral *MEN1* não parece ter um papel proeminente na génese dos TH esporádicos (Theodoropoulou M *et al*, 2004).

Tumores familiares não associados à MEN-1 com mutações no gene *MEN1*. As mutações *MEN1* raramente podem estar associadas unicamente a neoplasia limitada à hipófise sem que haja outros tumores típicos de MEN-1 associados. O mesmo pode ocorrer mais frequentemente com as glândulas paratiróides designando-se por hiperparatiroidismo isolado familiar. Nestes ocorrem mais frequentemente mutações *missense*, e menos frequentemente *nonsense* e *frameshift* (que resultam em proteínas truncadas) do que na MEN-1, o que pode explicar em parte o fenótipo moderado observado nesta doença. Contudo, a presença de mutações em famílias com hiperparatiroidismo isolado familiar semelhantes às que ocorrem na MEN-1 (incluindo mutações que conduzem à produção de proteínas truncadas), torna

difícil estabelecer uma correlação genótipo-fenótipo, sendo desconhecido a razão por que os restantes tumores associados à MEN-1 não se desenvolvem nestas famílias (Pannett AA, 2003).

Correlação genótipo-fenótipo. Em contraste com a MEN-2, não foi encontrada uma associação entre o local ou o tipo de mutações do gene *MEN1* (genótipo) e a idade de início ou a agressividade, bem como a presença ou ausência de outras neoplasias endócrinas (fenótipo). Um estudo francês com 170 famílias MEN-1 não relacionadas não encontrou uma forte correlação genótipo-fenótipo (Wautot V *et al*, 2002). Contudo, foram reconhecidas variantes da MEN-1 associadas a um aumento da frequência de prolactinomas e adenomas não funcionantes incluindo a *MEN1_{Burin}* (observada em mais de 100 famílias na península de Burin no Canadá) e a *MEN1_{Tasman1}* (Hao W *et al*, 2004; Burgess JR *et al*, 1996).

Os doentes com a variante *MEN1_{Burin}* têm uma elevada incidência de prolactinoma (50%) e hiperparatireoidismo primário (90%) e uma baixa incidência de gastrinoma (10%) (Hao W *et al*, 2004). A variante *MEN1_{Tasman1}* corresponde a uma família da Tasmânia, Austrália, com uma mutação c.446-3C>G no gene *MEN1*, associada a uma baixa penetrância de TH (20%), a uma elevada incidência de prolactinomas (76%) e à ausência de adenomas secretores de GH (Burgess JR *et al*, 1996).

Mecanismo de ação da proteína *menin*. A função da proteína *menin* ainda não foi completamente compreendida. Para além disso, permanece desconhecida a razão por que as mutações de gene *MEN1* estão apenas associadas a um padrão restrito de tumores endócrinos, apesar de este gene apresentar uma transcrição generalizada. A proteína *menin* tem três sinais de localização nuclear perto da região terminal C e é expressa de forma ubiquitária, com localização predominantemente nuclear em células em interfase. Como já referido, a maioria das mutações (nonsense e frameshift) traduz-se em proteínas truncadas, o que leva à perda de

pelo menos um destes três domínios e, por isso, afeta a localização celular da *menin* (Guru SC, 1998).

Vários papéis foram atribuídos à *menin*, devido à sua interação com proteínas envolvidas nos processos de regulação da transcrição génica, proliferação celular, apoptose, estabilidade do genoma e reparação do ADN. Estas proteínas incluem o AP-1, os fatores de transcrição JunD e C-Jun, membros da família NFkB, membros da família dos fatores de crescimento transformantes β (incluindo SMAD3), BMP2, Rhox5, FANCD2, RPA2, GFAP, vimentin, FoxN3 e NME1 (**Tabela 2**) (Lemos MC & Thakker, 2008; Yang Y & Hua X, 2007).

Função	Molécula de interação	
Regulação da transcrição	JunD	
	NFkB (P50, P52, P65)	
	Pem	
	Sin3A	
	HDAC	
	Smad1, 3, 5	
	Runx2	
	Complexo com a metiltransferase	
	Era	
	CHES1	
	Divisão celular	NMHC II-A
		GFAP
		Vimentin
Estabilidade do genoma	RPA2	
	FANCD2	
Controlo do ciclo celular	nm23	
	ASK	

Tabela 2. Interações diretas da *menin* com proteínas e outras moléculas. Adaptada de Lemos MC & Thakker RV, 2008.

De destacar que sendo um componente do complexo com a metiltransferase, a proteína *menin* pode atuar como regular da transcrição e, por isso, regula a expressão de genes como o gene *Hox* e os genes que codificam os inibidores cinase dependentes da ciclina como p27^{kip1} e p18. Os efeitos da *menin* na regulação de p27^{kip1} e p18 são particularmente relevantes, dado que a perda destes inibidores em modelos animais e humanos resulta em tumores semelhantes à

MEN-1 (Taguchi R *et al*, 2011). Para além do seu papel como supressor, esta proteína inibe o crescimento celular em células *in vitro*. A proteína *menin* bloqueia a função das telomerasas através do bloqueio do próprio gene, verificando-se, assim, que a perda *menin* em fibroblastos humanos decorre na imortalização celular (Lin SY & Elledge SJ, 2003).

Modelos animais de génese tumoral hipofisária na MEN-1. Ratos *knockout* para a proteína *menin* têm sido desenvolvidos para o estudo da génese tumoral na MEN-1. Os ratos *knockout* homocigóticos para *Men1* (*Men1*^{-/-}) apresentam fenótipo embriológico letal. Já os heterocigóticos (*Men*^{+/-}) apresentam tumores hipofisários, insulinomas e tumores da paratiróide com características semelhantes às encontradas em doentes com MEN-1. Estes tumores são mais comuns em fêmeas, são imunohistoquimicamente positivos para a prolactina e GH e mais de 50% são carcinomas. A perda parcial ou completa do alelo selvagem ocorre na hipófise destes ratos heterocigóticos num processo semelhante ao dos doentes com MEN-1. Num modelo com genótipo *Men*^{+/-} restrito ao pâncreas e hipófise ocorreu desenvolvimento normal do rato, mas foram observados prolactinomas e hiperplasia das paratiróides (Tichomirowa MA, 2009).

Investigação clínica da MEN-1. A MEN-1 é uma doença rara, mas devido à sua transmissão autossómica dominante, a sua descoberta num doente tem implicações para outros membros familiares (os parentes em primeiro grau têm 50% de probabilidade de desenvolverem a doença). A investigação da MEN-1 envolve a deteção das neoplasias envolvidas e a averiguação da existência ou não de mutação genética, facilitada pela caracterização recente do gene *MEN1*.

A probabilidade de encontrar uma mutação no gene *MEN1* correlaciona-se com o número de tumores associados à MEN-1. Por exemplo, a probabilidade de encontrar uma mutação num doente que apresente os três tumores clássicos sem história familiar é de 69%; esta

probabilidade aumenta para 91% se a história familiar for positiva. Como já referido uma taxa muito baixa de mutações do gene *MEN1* foi encontrada em tumores hipofisários esporádicos (<5%), não se justificando a pesquisa nestes casos (Ellard S *et al*, 2005). Há recomendação para estudo da mutação no gene *MEN1* nos seguintes casos: doentes com mais de 2 tumores associados à MEN-1; indivíduos com parentes em 1º grau com mutação *MEN1*; doentes que apresentem tumores múltiplos da paratiróide antes dos 30 anos ou tumores neuro-endócrinos pancreáticos em qualquer idade (Brandi *et al*, 2001). A identificação de um indivíduo portador de uma mutação em princípio não conduz a uma atitude médica ou cirurgia, mas inicia-se precocemente um rastreio bioquímico e radiológico, enquanto se não for portador não se realiza mais investigação clínica (**Figura 3**) (Lemos MC & Thakker, 2008).

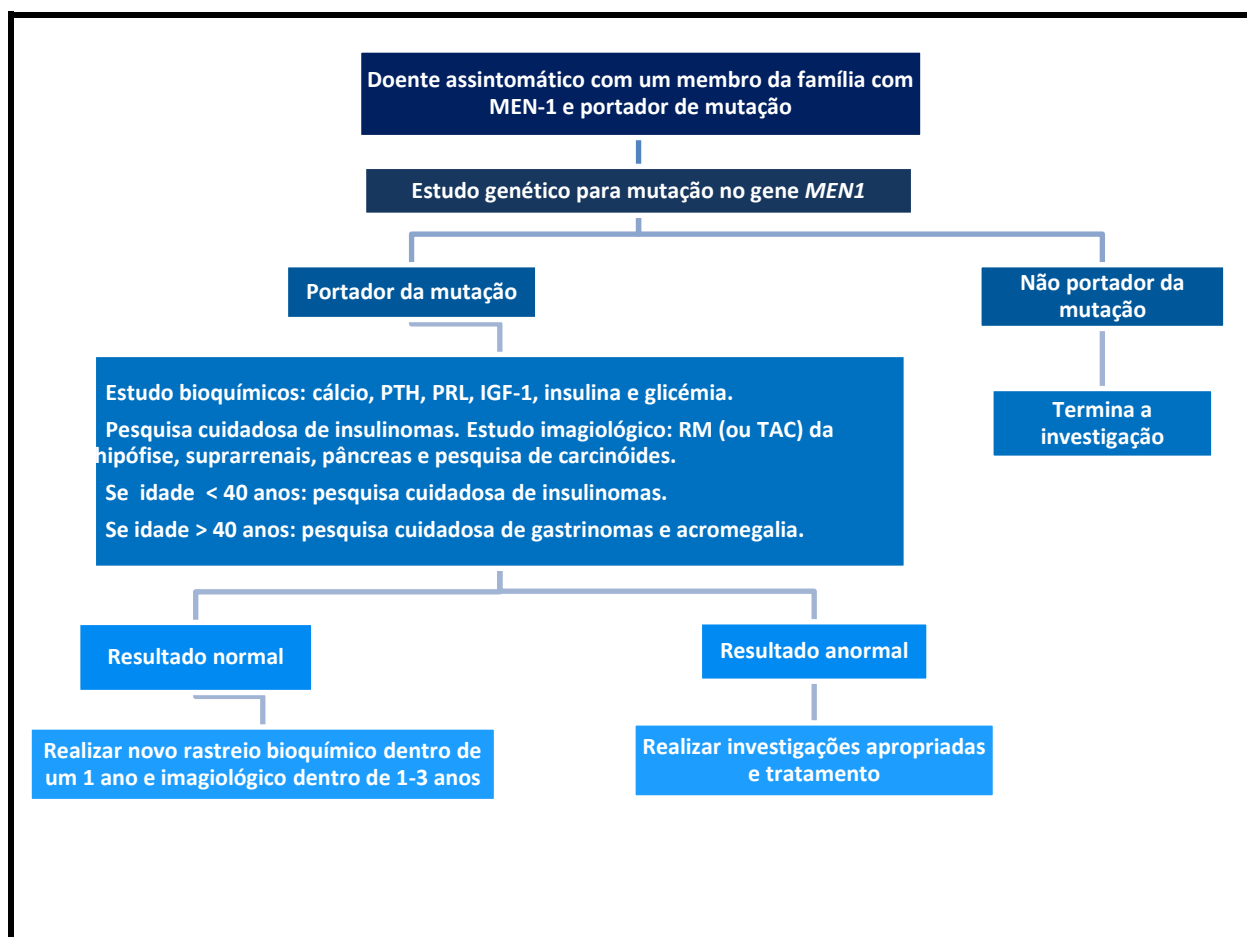


Figura 3. Investigação de um doente assintomático com um membro da família com MEN-1. Adaptada de Thakker RV, 2010.

A deteção dos tumores envolve estudo clínico, bioquímico e imagiológico e o seu reconhecimento deve ser o mais precoce possível mesmo em membros de família assintomáticos dado que o tratamento destas patologias reduz a mortalidade e morbilidade. As normas de orientação para a investigação da MEN-1 já foram desenvolvidas há mais de 10 anos (Brandi *et al*, 2001). O exame físico e história clínica devem ser direcionados para a presença de sinais e sintomas de hipercalcémia, nefrolitíase, úlceras pépticas, hipopituitarismo, galactorreia, amenorreia, acromegalia, doença de Cushing, distúrbios visuais, neuroglicopenia, lipomas subcutâneos, angiofibromas e colagenomas. Todos os adultos com mutações da linha germinativa do gene *MEN1* devem avaliar os níveis de cálcio, PTH, hormonas gastrointestinais (gastrina, insulina, glucagon, VIP e PP), glicémia, prolactina e IGF-1 anualmente. O estudo imagiológico é recomendado a cada 1-3 anos, incluindo estudo de carcinóides e uma ressonância magnética para estudo do pâncreas, suprarrenais e hipófise desde os 5 anos para crianças com história familiar positiva – corresponde à idade de apresentação mais precoce de um TH associado à MEN-1. A penetrância do gene *MEN1* é de cerca de 50% aos 20 anos e de mais de 95% aos 40 anos, o que demonstra a importância da continuação da investigação por toda a vida, mesmo que a clínica inicial seja negativa (Basset JH *et al*, 1998). No caso de ser negativo para mutação no gene *MEN1*, mas o doente apresentar fenótipo MEN-1, a procura de uma deleção parcial ou total do gene pode ser considerada, assim como a pesquisa de mutações no gene *CDNK1B*. O conhecimento das ‘fenócopias’ da MEN-1 deve também ser considerado, na medida em que não representam aumento do risco de desenvolvimento de outras patologias associadas à MEN-1 ou de transmissão à descendência, podendo, no entanto, ter uma forma distinta de patologia e orientação clínica (Thakker RV, 2010).

NEOPLASIA MÚLTIPLA ENDÓCRINA TIPO 4 (MEN-4)

Em aproximadamente 10-20% dos doentes com uma síndrome fenotipicamente à MEN-1 não são encontradas mutações no gene *MEN1*, sugerindo que existem genes ainda não descritos que estão implicados na formação de TH familiares (Ellard S *et al*, 2005; Lemos M & Thakker RV, 2008). Os estudos de Pellegata *et al* identificaram uma mutação homozigótica em *cdkn1b* no cromossoma 4 num rato MENX, que ocorre naturalmente em estirpes de ratos, com um fenótipo com características sobrepostas da MEN-1 e MEN-2 (carcinomas neuroendócrinos múltiplos incluindo feocromocitoma, carcinoma medular da tiróide, tumores da paratiróide, paragangliomas, cataratas, hiperplasia pancreática e TH) (Pellegata NS *et al*, 2006).

Características moleculares e clínicas da MEN-4 em humanos. Mais tarde, os mesmos autores encontraram mutações *nonsense* (Trp76X) no gene *CDKN1B* no cromossoma 12p13, que codifica a proteína p27^{kip1}, numa família alemã com história de acromegalia, hiperparatiroidismo primário, angiomiolipoma renal e carcinoma testicular e estudo genético negativo para MEN-1 (Pellegata NS *et al*, 2006). Após este estudo, uma segunda mutação (uma deleção de 19 pb no exão 1 que conduz a um codão *stop* prematuro) foi identificada numa doente holandesa com clínica de carcinoma cervical neuroendócrino de células pequenas, hiperparatiroidismo e síndrome de Cushing, igualmente com estudo negativo para MEN-1. Nos dois, o estudo imunohistoquímico para p27^{kip1} era negativo em tecidos do angiomiolipoma renal e carcinoma neuroendócrino cervical, respetivamente (Georgitsi M *et al*, 2007). Foi, assim, descrita uma nova entidade extremamente rara com fenótipo semelhante à MEN-1 e mutação no gene *CDKN1B* designada MEN-4. Até à data, estes dois casos de MEN-4 foram os únicos descritos em aproximadamente 140 doentes, contando por menos de

3% dos indivíduos com fenótipo semelhante à MEN-1 sem mutações no gene *MEN1* (Pellegata NS *et al*, 2006).

Novas investigações em MEN-4. Três novas mutações (P95S, 5'UTR-7G>C e stop>Q) foram encontradas em três famílias suspeitas de MEN-1 com alterações endócrinas sem TH. Num estudo de grandes dimensões, Agarwal descreveu raras mutações noutros genes *CDKI*, nomeadamente p15, p18 e p21 codificadas pelos genes *CDKN2B*, *CDKN2C* e *CDKN1A*, respetivamente (Agarwal *et al*, 2009). As mutações em *CDKN1B* não foram identificadas em TH esporádicos (Dahia PL *et al*, 1998), contudo vários destes tumores apresentam baixos níveis de p27^{kip1}, apesar da formação de ARNm estar preservada, sugerindo outros níveis de regulação desta proteína (Jin L *et al*, 1997).

Mecanismo de ação da p27^{kip1}. A proteína p27^{kip1}, uma proteína inibidora da cinase depende da ciclina, é um regulador negativo do ciclo celular e parece ser um alvo da proteína *menin* e, por isso, alterações das suas funções são provavelmente um mecanismo envolvido no desenvolvimento da MEN-4. Para além disso, a p27^{kip1} é alvo do *aryl hydrocarbon recetor* (AHR) (Milne TA *et al*, 2005). Em contraste com o rato MENX e as suas múltiplas neoplasias, um rato *knockout Cdkn1b* apenas apresenta formação de TH espontâneos no lobo intermédio. Um modelo animal alternativo foi criado, no qual foram efetuadas substituições de 4 aminoácidos na p27^{kip1}. Estas mutações resultam na perda de interações entre p27^{kip1} e ciclinas ou outras cinases dependentes da ciclina. Este rato (p27^{CK}) apresenta um fenótipo alargado com tumores e hiperplasia em múltiplos órgãos, incluindo hipófise, pulmão, retina, baço, ovário e suprarrenal (incluindo feocromocitoma) (Besson A *et al*, 2007).

Investigação clínica da MEN-4. Atendendo a que as mutações no gene *CDKN1B* são uma causa rara de TH familiares (até hoje só duas famílias foram identificadas) e enquanto não existem mais estudos disponíveis sobre a frequência desta mutação, os rastreios de rotina em

doentes com TH esporádicos ou familiares com ou sem características de MEN-1 (mesmo que com estudo genético negativo para o mutações no gene *MEN1*) não estão recomendados por rotina (Tichomirowa MA *et al*, 2009).

COMPLEXO DE CARNEY (CC)

O complexo de Carney (CC) foi descrito como síndrome endócrina múltipla hereditária nos anos 80. É uma doença autossómica dominante rara, caracterizada pela presença de mixomas, alterações da pigmentação cutânea (lentiginose), schwannomas e hiperatividade endócrina (Carney JA *et al*, 1985). Atualmente estão descritos 500 casos, em que 70% apresentam história familiar e 60% mutações no gene *type 1 A regulatory subunit of protein kinase A (PRKARIA)*, situado no locus 17q23-24.

Características clínicas do CC. As alterações endócrinas são observadas num terço dos doentes e compreendem maioritariamente a síndrome de Cushing ACTH-independente secundária à hipertrofia primária nodular pigmentada suprarrenal (PPNAD), mas também tumores testiculares (tumores de células de Leydig e calcificantes de células de Sertoli), tumores da tiróide e acromegalia devido a TH ou hiperplasia (Boikos S & Stratakis CA, 2007). Os doentes com CC apresentam tumores hipofisários em cerca de 10-12% dos casos e geralmente resultam em acromegalia, mas pelo menos uma família com prolactinomas foi descrita (Kirschner LS, 2010). Estes doentes exibem anomalias do eixo da GH, habitualmente com níveis assintomáticos, mas elevados de GH, IGF-1 e prolactina (cerca de 75% dos indivíduos), com uma minoria imunohistologicamente também positivos para TSH, LH e subunidade-alfa (Pack SD *et al*, 2000); contudo a acromegalia e a hiperprolactinémia sintomática, bem como a deteção de tumores por imagiologia são situações raras e observados em idades mais avançadas (depois dos 30 anos) (Watson JC *et al*, 2000). Este facto sugere que a acromegalia no CC desenvolve-se lentamente, começando com tecido aparentemente normal que sofre hiperplasia multifocal, terminando num adenoma secretor de GH/prolactina (Kirschner LS, 2010). Uma característica que distingue os TH relacionados com a acromegalia do CC é o carácter hiperplásico multifocal mal demarcado das células

somatotróficas, que inclui tecidos normais (não adenomatosos) no interior dos tumores (Pack SD *et al*, 2000; Kurtkaya-Yapicier O *et al*, 2002).

Características genéticas do CC. O gene *PRKARIA* é composto por 11 exões e, tal como a *menin*, atua como um gene supressor tumoral. A maioria das mutações são *nonsense*, *frameshift* e *splice-site* que resultam em haploinsuficiência por *nonsense-mediated mRNA decay* (Nadella KS *et al*, 2005). Um locus adicional no cromossoma 2p16 foi associado com o CC em alguns indivíduos, sendo ainda necessária caracterização genética da região para identificar o gene responsável. Existem suspeitas de que existem outros loci ainda não descobertos (Boikos S & Stratakis CA, 2007; Kirschner LS, 2010). A maioria dos casos apresenta um pai afetado o que sugere uma transmissão autossómica dominante. Como esta síndrome está frequentemente associada ao tumor calcificante de células de Sertoli, que pode afetar a fertilidade dos indivíduos, por vezes não se observa esta forma de transmissão (Premkumar A *et al*, 1997). Tal como na MEN-1, não foram encontradas correlações genótipo-fenótipo relevantes (Bertherat J *et al*, 2008). Nos TH esporádicos não foram encontradas mutações no gene *PRKARIA*, apesar de terem sido detetados níveis baixos de proteína PKA em adenomas não funcionantes (Montovani G *et al*, 2005).

Mecanismo de ação do produto do gene PRKARIA. A proteína cinase A (PKA produto do gene *PRKARIA*) é o principal mediador da sinalização pelo AMPc, sendo constituída por duas subunidades catalíticas e duas subunidades reguladoras. A sua ligação ao AMPc conduz à dissociação da subunidade catalítica e ativação enzimática, tendo um papel na regulação de vias envolvidas na proliferação celular, transcrição e apoptose. Na ausência de uma normal função da subunidade reguladora por mutações do *PRKARIA*, a subunidade catalítica torna-se ativa na ausência de AMPc, fosforilando CREB (*cAMP response element binding protein*) que atua como um fator de transcrição (**Figura 4**) (Bossis I & Stratakis CA, 2004).

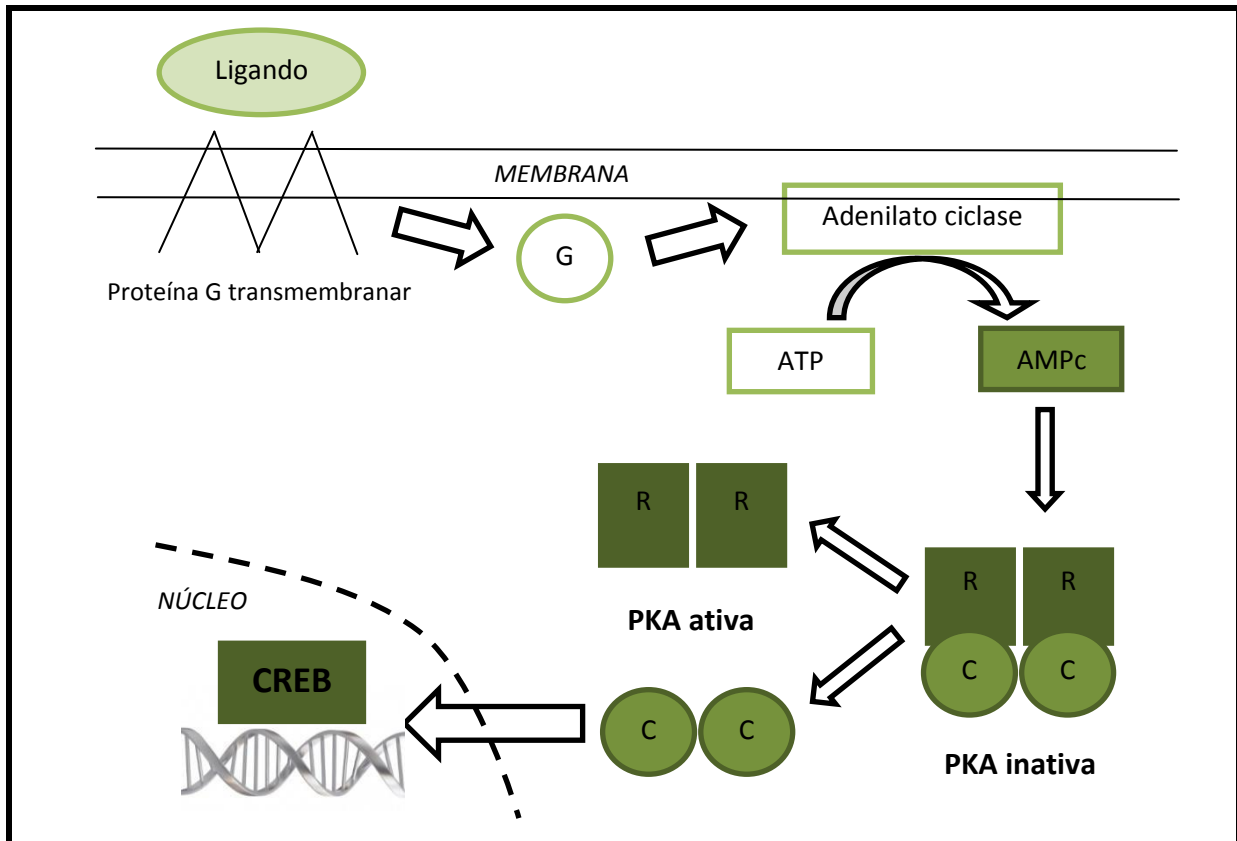


Figura 4. Mecanismo de ação da PKA. O ligando une-se à proteína G transmembranar ativando a proteína G (G). Esta interage com a adenilato ciclase e permite a acumulação de AMPc que entra em contacto com a PKA permitindo a ativação desta e libertação das subunidades catalíticas (C). Estas são capazes de fosforilar os resíduos de serina ou treonina na membrana, núcleo ou citoplasma. Um destes alvos é o CREB (*cAMP response element-binding*) situado no núcleo que permite a ativação da transcrição. Adaptada de Losada Grande EJ *et al*, 2011.

Modelos animais para estudo do CC. Em modelos animais, a homozigotia *PRKARIA*^{-/-} é letal durante o desenvolvimento embrionário e os heterozigóticos não apresentam características fenotípicas típicas do CC em humanos. Contudo, ratos *knockout* do gene *PRKARIA* em tecidos da hipófise são muito semelhantes ao fenótipo hipofisário do CC, com hiperatividade do eixo da GH e aumento da frequência de TH (Yin Z *et al*, 2008).

Investigação clínica do CC. Para fazer o diagnóstico de CC é necessário cumprir critérios clínicos e histológicos restritos, que foram revistos por Boikos & Stratakis. É necessário apresentar pelo menos duas ou mais características das seguintes: PPNAD, mixoma cardíaco,

mixoma cutâneo, lentiginose, tumor calcificante de células de Sertoli, quistos dos ovários, schwannomas, tumor da tiróide, acromegalia e osteocondromixoma. Caso possuam estes critérios devem ser propostos para sequenciamento de mutações da linha germinativa do gene *PRKARIA*; se esta for negativa pode ser considerado o estudo de grandes deleções ou duplicações do gene. Os portadores de mutação *PRKARIA* devem ser avaliados através de um estudo clínico, hormonal e imagiológico completo anualmente. Esta investigação é particularmente importante na medida em que podem existir patologias associadas que facilmente não são detetadas no rastreio inicial (por exemplo, mixomas cardíacos) (Boikos S & Stratakis CA, 2007). O tratamento dos TH no CC não difere substancialmente dos casos esporádicos. Contudo, ao contrário das restantes síndromes, os TH no CC desenvolvem-se lentamente (Tichomirowa MA *et al*, 2009).

ADENOMAS HIPOFISÁRIOS FAMILIARES ISOLADOS (FIPA)

No final do século XX eram pouco os casos descritos de TH hereditários não associados a síndromes endócrinas, a maioria relacionados com acromegalia (Verloes A *et al*, 1999). Os primeiros estudos sobre TH familiares, de todos os fenótipos, não-MEN1 e não-Complexo de Carney foram realizados em Liège (Bélgica) nos anos 90 e conduziram à identificação de uma nova entidade designada adenomas hipofisários familiares isolados (FIPA) (Valdes Socin H *et al*, 2001). Esta definição permitiu expandir a investigação internacional e, atualmente, estão identificadas mais de 200 famílias. Os FIPA são considerados atualmente responsáveis por 2-3% dos TH (Vasilev V *et al*, 2011).

Características clínicas dos FIPA. A síndrome FIPA é definida como a presença de dois ou mais familiares com qualquer fenótipo de TH na ausência de evidência clínica ou genética de MEN-1 ou Complexo de Carney (Valdes Socin H *et al*, 2001; Daly AF *et al*, 2006; Beckers A *et al*, 2007). Esta definição inclui a síndrome dos somatotrofinomas isolados familiares (IFS), definido como dois ou mais casos de acromegalia numa família na ausência de MEN-1 e Complexo de Carney (Gadelha MR *et al*, 1999). Contudo, é importante referir que os FIPA não estão limitados fenotipicamente à acromegalia como inicialmente esperado. A análise genealógica sugere que os FIPA apresentam transmissão autossómica dominante com penetrância incompleta (Igreja S *et al*, 2010) e uma prevalência ligeiramente superior nas mulheres. A maioria dos indivíduos afetados são familiares diretos (relações de 1º grau em 75% dos casos), apresentando penetrância tumoral aparentemente inferior à da MEN-1, correspondendo a cerca de 14% (Beckers A *et al*, 2007). A idade do diagnóstico dos FIPA é inferior à dos doentes com adenomas esporádicos, em média 4 anos. Os descendentes de famílias FIPA com múltiplas gerações afetadas são diagnosticadas consideravelmente mais cedo do que os seus pais/ avós (29 versus 50,5 anos). Este facto pode estar relacionado um

fenómeno de antecipação genética ou devido ao seu reconhecimento precoce por estarem mais atentos às manifestações clínicas (Beckers A *et al*, 2007).

Com base nos fenótipos das famílias com FIPA, estes podem ser divididos em dois subgrupos: homogéneos, quando todos os membros da família apresentam o mesmo fenótipo de adenoma; e heterogéneos, quando existem diferentes fenótipos de tumores dentro da mesma família. Apesar de todos os tipos de tumores poderem ser observados numa família heterogénea, normalmente existe pelo menos um prolactinoma ou somatotrofinoma num indivíduo. Em geral, os doentes com FIPA apresentam macroadenomas (63%) e não foram encontradas diferenças significativas na tendência para invadir estruturas vizinhas comparados com os adenomas esporádicos. Contudo em famílias heterogéneas encontraram-se taxas mais elevadas de macroadenomas com um comportamento mais agressivo e com maiores taxas de extensão supra-selar, que resulta de um aumento da taxa de adenomas não funcionantes e diminuição dos microprolactinomas quando comparado com as famílias homogéneas (Beckers A *et al*, 2007; Daly AF *et al*, 2007).

Os prolactinomas (41%) e os somatotrofinomas (30%) são os tipos mais frequentes, com prevalências diferentes quando comparada com a MEN-1 (nos FIPA há menos percentagem de prolactinomas e mais de somatotrofinomas – **Figura 1**). As características dos prolactinomas nos FIPA em termos de predisposição por género, idade de apresentação e proporção de microadenomas não apresentam diferenças significativas quando comparados com os esporádicos. Contudo, em famílias heterogéneas os prolactinomas apresentam carácter agressivo, com taxas elevadas de expansão extra-hipofisária. Os somatotrofinomas nos FIPA estão igualmente distribuídos entre famílias homogéneas e heterogéneas, mas geralmente apresentam-se como macroadenomas e, portanto, com carácter mais agressivo em famílias homogéneas (ao contrário dos restantes fenótipos). Caracterizam-se por causar gigantismo em

25% dos casos, por uma maior prevalência masculina e por afetar idades mais jovens (média de 25 anos), sendo em média diagnosticados 10 anos mais cedo do que os esporádicos (Daly AF *et al*, 2006). Em mais de metade das famílias, a doença não é transmitida às gerações seguintes provavelmente devido ao desenvolvimento do tumor em idades jovens e ao seu carácter agressivo que leva a uma perda da função gonadotrófica e do potencial de reprodução (Frohman LA *et al*, 2004). A acromegalia nos doentes com FIPA tem menor resposta aos análogos da somatostatina (Leontiou CA *et al*, 2007). Os adenomas não funcionantes (13%) estão predominantemente associados a famílias heterogéneas e caracterizam-se por ser diagnosticados 8 anos mais cedo e ter evolução agressiva quando comparados com os esporádicos. Os somatomatotrofinomas, gonadotrofinomas, corticotrofinomas e tirotrofinomas são raros, estando geralmente associados a outros fenótipos nas famílias heterogéneas, e correspondem a 7%, 4%, 4% e 1% dos FIPA, respetivamente (Igreja S *et al*, 2010; Beckers A *et al*, 2007).

Características moleculares dos FIPA - Mutações AIP. A primeira mutação relacionada com os FIPA foi identificada em 2006 no gene *AIP* (*aryl-hydrocarbon recetor interacting protein*), localizado no locus 11q13.3, numa família da Finlândia com baixa penetrância de acromegalia sem mutações no gene *MEN1* (Vierimaa O *et al*, 2006). Mais de 50 mutações diferentes (*missense*, *nonsense*, *frameshift* e deleções) na sequência do gene *AIP* foram posteriormente identificadas em famílias com FIPA por todo o mundo e ao longo de todo o gene (Ozfirat Z *et al*, 2010; Cazabat L *et al*, 2007). Contudo, apenas 15 a 25% das famílias FIPA e 40-50% dos doentes com acromegalia de famílias homogéneas possuem esta mutação (Beckers A *et al*, 2007; Vasilev V *et al*, 2011). Mesmo famílias com forte ocorrência de TH em vários elementos podem ser negativas para a mutação *AIP*, o que sugere a existência de outros genes envolvidos (Daly AF *et al*, 2007). A maioria das mutações (70%) são *missense* e afetam o terminal C e o domínio TPR (exemplo: R302X e R304O), o que suporta o seu papel

essencial na função do AIP e na interação com o AHR e a HSP90 (**Figura 5**) (Igreja S *et al*, 2010; Georgitsi M *et al*, 2008). As restantes mutações conduzem à produção de proteínas truncadas ou afetam *splice sites*. Foram descritas mutações nos codões R304, R271 e R81 em famílias independentes, indicando possíveis *hotspots*. Não foram observadas correlações genótipo-fenótipo em doentes com mutação do gene AIP (Daly AF *et al*, 2010).

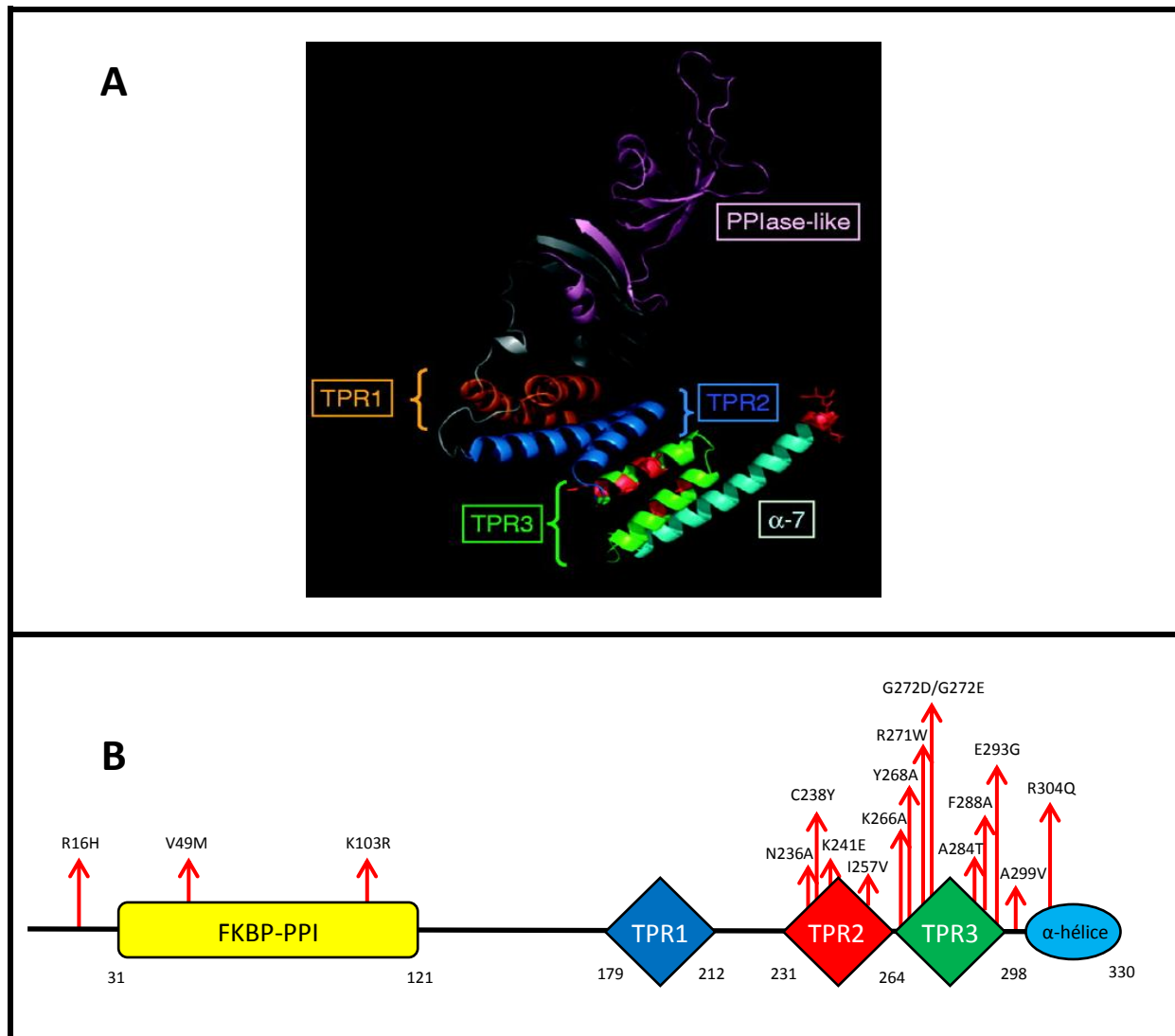


Figura 5. **A** - Estrutura tridimensional hipotética da proteína AIP mostrando as áreas mais afetadas por mutações: TPR e hélice- α (mutações mais comuns a vermelho) **B** – Estrutura esquemática da proteína AIP. AIP contém um domínio FKBP-PPI junto ao terminal N e uma parte terminal C que contém 3 domínios TPR. Tem ainda um terminal em hélice- α que é crucial na interação proteína-proteína. As mutações *missense* estão marcadas e verifica-se predominância nos domínios TPR especialmente o 3. Adaptada de Trivellin G *et al*, 2011.

A causa genética para os restantes casos de FIPA, particularmente nas famílias heterogéneas, é ainda desconhecida, mas vários outros loci, como 2p16, 3q28, 4q32, 8q12, 19q13 e 21q22 podem estar envolvidos no desenvolvimento desta síndrome. Por outro lado, nenhuma das mutações de vários oncogenes ou de genes supressores identificadas em TH esporádicos foram observados em indivíduos com FIPA (**Tabela 1**) (Beckers A *et al*, 2007; Vierimaa O *et al*, 2006). Novos estudos devem ser realizados no sentido de apurar causas desconhecidas.

Características clínicas dos FIPA com mutações AIP. Os doentes com TH relacionados com mutações no gene *AIP* apresentam características clínicas específicas que os permitem distinguir dos restantes doentes com TH. Em contraste com os FIPA, neste subgrupo o género masculino (63,6%) é predominante, sendo a razão desconhecida (Daly AF *et al*, 2010). Todos os fenótipos podem ocorrer associados a mutações *AIP*, contudo os somatotrofinomas são mais comuns, existindo em cerca de 80% dos doentes (com co-secreção de prolactina em mais de 50% destes) e prolactinomas em 15%, diferindo dos FIPA sem mutação *AIP* (**Figura 1**). Os TH familiares e também os esporádicos com mutações *AIP* são diagnosticados mais cedo (25 anos versus 38 anos) e são mais agressivos (de dimensões maiores e associados a níveis mais elevados de GH) do que os sem mutações *AIP*. Em mais de 50% dos casos apresentam macroadenomas invasivos e cerca de um terço dos doentes com somatotrofinomas apresenta gigantismo. A penetrância dos TH em famílias FIPA com mutações *AIP* permanece um mistério, com estudos variando de penetrância muito baixas a 66% (Vierimaa O *et al*, 2006; Leontiou CA *et al*, 2008).

O tratamento é também mais difícil de atingir, dado que os análogos da somatostatina são menos eficazes em diminuir os níveis de IGF-1 e GH e em induzir redução do volume tumoral. Daí que apresentem pior resposta terapêutica a longo prazo com maior frequência de recurso a cirurgia e radioterapia. Os doentes com prolactinomas e mutações *AIP* também

apresentam tumores maiores e mais invasivos do que os sem mutações, com 50% dos casos resistentes aos agonistas da dopamina (Leontiou CA *et al*, 2008; Daly AF *et al*, 2010).

Mutações AIP em TH esporádicos. Foram identificadas mutações AIP em TH esporádicos, mas esta situação aparenta ser rara. De facto, um dos primeiros estudos foi realizado por Gomes L *et al* e não foi encontrada qualquer mutação no gene AIP em 30 doentes jovens com acromegalia e TH esporádicos (Gomes L *et al*, 2007). Mais tarde, foram analisados mais de 1000 doentes com TH esporádicos e em menos de 2% foram identificadas mutações AIP. (Vierimaa O *et al*, 2006; Leontiou CA *et al*, 2008; Igreja S *et al*, 2010). Os indivíduos que com maior probabilidade apresentam esta mutação são aqueles com macroadenomas secretores de GH em idades jovens (principalmente crianças). Contudo, de acordo com Cazabat *et al*, aparentemente os doentes com acromegalia e mutação AIP esporádica têm pelo menos um familiar positivo, sugerindo que a mutação apresenta baixa penetrância ou que foi efetuado um estudo familiar incompleto (Cazabat L *et al*, 2007).

Da mutação AIP aos FIPA. O mecanismo pelo qual as mutações AIP dão origem aos TH nos FIPA e aparentemente em TH esporádicos permanece desconhecido. O gene AIP é considerado um gene supressor tumoral, dado que o aumento de expressão do gene AIP em culturas diminui a proliferação celular. De facto, a perda de heterozigotia é encontrada em tumores de doentes com FIPA, seguindo a hipótese de Knudson de que primeiro existe uma mutação hereditária de um alelo, ao qual numa segunda fase se irá adicionar uma mutação somática do outro alelo (Soares BS *et al*, 2005; Guaraldi F *et al*, 2011).

O gene AIP consiste em seis exões que codificam uma proteína com sequência altamente conservada entre espécies com 330 aminoácidos que é parte constituinte da via do *aryl-hydrocarbon recetor* (**Figura 6**). O AHR é um regulador da transcrição dependente de ligando que regula a resposta celular de vários eventos fisiológicos (componentes

xenobióticos como dioxinas, componentes endógenos como AMPc, resposta à hipoxia e função hormonal) (Carver LA & Bradfield CA, 1997). A interação entre a proteína AIP e o AHR ainda é tema de debate, mas estudos sugerem que a proteína AIP mantém a estabilidade do complexo protegendo o AHR da degradação pela via da ubiquitina e prevenindo a sua ação como fator de transcrição. De facto, baixos níveis de proteína AIP nos TH com mutações nesse gene estão associados à diminuição dos níveis nucleares de AHR sugerindo o seu envolvimento na génese tumoral hipofisária (Jaffrain-Rea ML *et al*, 2009).

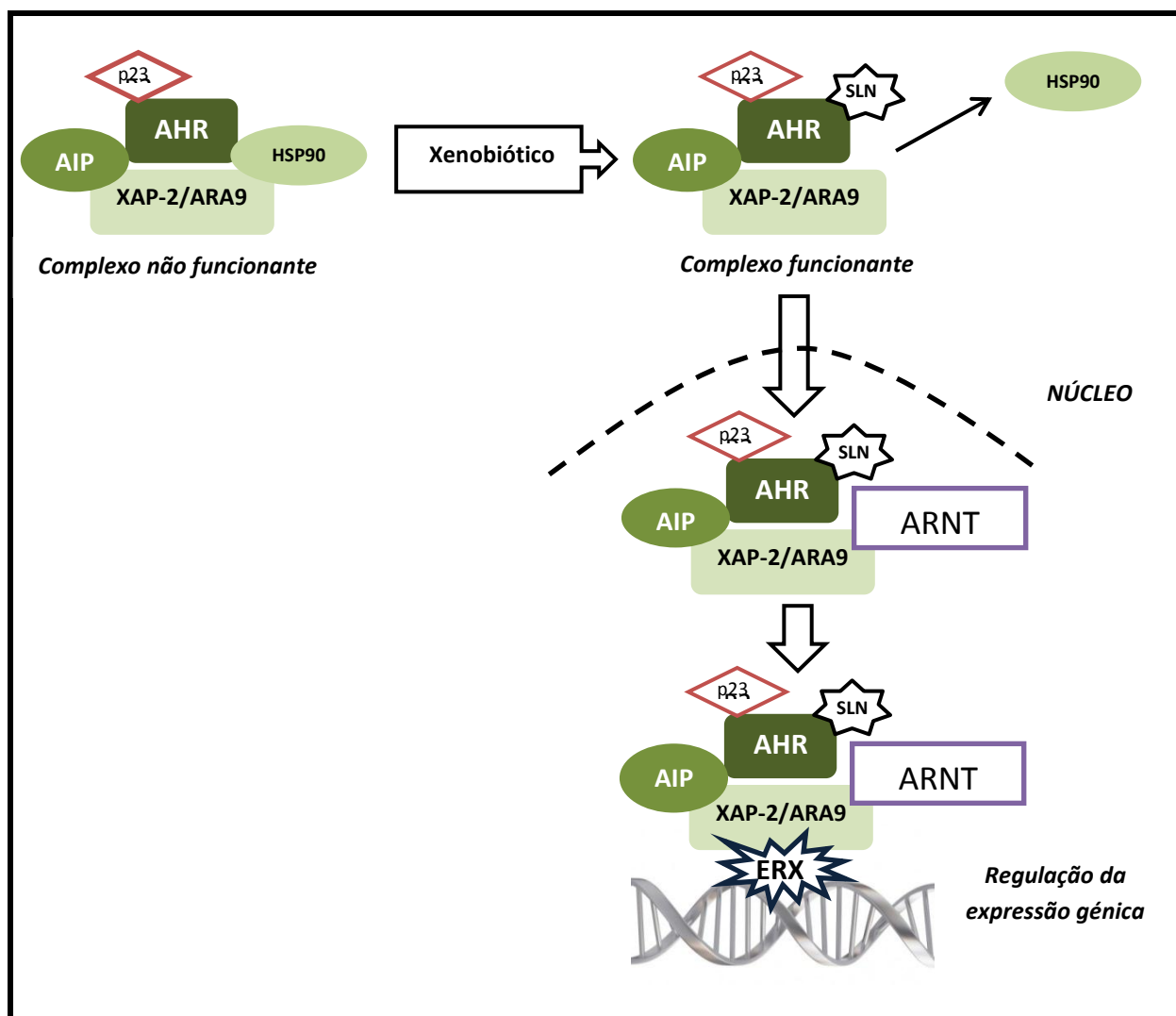


Figura 6. Via do *aryl hidrocarbon recetor* (AHR). Adaptada de Guaraldi F *et al*, 2011.

Na ausência do ligando, o AHR é inativo e localiza-se no citoplasma onde forma um complexo com as XAP2 ou ARA9, a AIP, a HSP90 e o co-chaperone p23. Após a ligação do ligando (xenobiótico), o AHR é ativado por uma alteração conformacional que expõe um sinal de localização nuclear. A HSP90 é libertada do complexo e o recetor dirige-se para o núcleo onde se liga com o *aryl-hidrocarbon recetor nuclear translocator* (ARNT). O heterodímero formado liga-se ao elemento de resposta xenobiótica (ERX) e regula a expressão génica de várias enzimas xenobióticas, tendo um papel na modulação dos seus efeitos tóxicos (**Figura 6**). A ativação do AHR por componentes xenobióticos conduz a vários efeitos tóxicos, incluindo carcinogénese, teratogenicidade e imunossupressão. O AHR está também envolvido em outras vias de sinalização, incluindo interações com a proteína Rb e p27^{kip1} (Kazlauskas A *et al*, 2002; Guaraldi F *et al*, 2011).

A proteína AIP apresenta dois domínios: o terminal N do domínio FKBP-PPI que contribui para a estabilidade do complexo AHR-HSP90-AIP e o domínio terminal C que contém três repetições de tetratricopeptídeos (TPR) e uma alfa-hélice (**Figura 5**) (Igreja S *et al*, 2010; Trivellin G *et al*, 2011). Como já referido, a maioria das mutações afeta o domínio TPR responsável por interações proteína-proteína. Este domínio preferencialmente liga-se ao AHR e à HSP90, mas também pode interagir com outras proteínas reguladoras, incluindo fosfodiesterases (subtipos PDE4A5 e PDE2A – envolvidas na regulação de cascatas que usam o AMPc como segundo mensageiro), *survivin* (um inibidor da apoptose) e *RET* (aumenta a degradação de *survivin* por interferir no complexo AIP-*survivin* e, consequentemente, conduz à apoptose), tendo provavelmente um papel na regulação do ciclo celular (Vargiolu M *et al*, 2009). Muitas outras interações estão descritas mas fogem ao âmbito desta revisão (**Figura 7**). Ainda está por esclarecer é se estas interações e os seus efeitos no ciclo celular são relevantes na génese tumoral hipofisária (Guaraldi F *et al*, 2011).

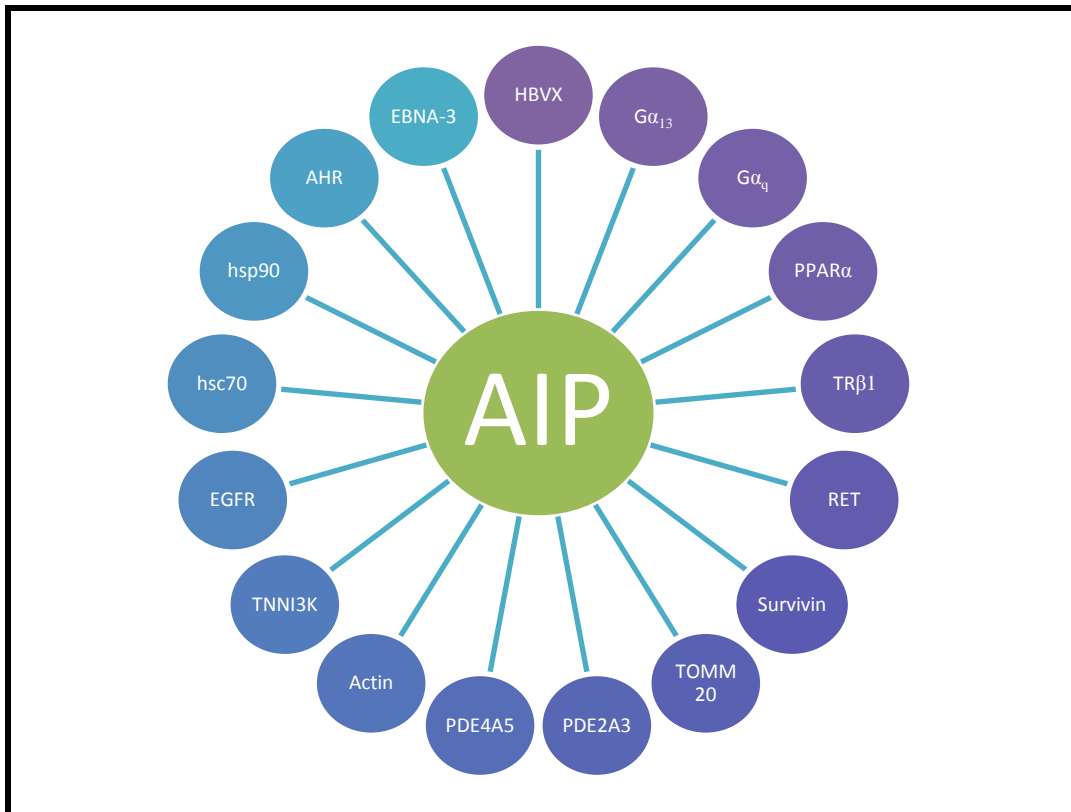


Figura 7. Interações da proteína AIP. Os círculos correspondem a proteínas e as linhas a interações físicas proteína-proteína. Adaptada de Trivellin G *et al*, 2011.

Modelos animais para estudo dos FIPA. Todas as mutações *AIP* hereditárias descritas até à data são heterozigóticas, sugerindo que a homozigotia não é compatível com a vida em humanos, como verificado recentemente num modelo animal do FIPA. De facto, ratos *knockout* com deleção homozigótica do gene *AIP* ($AIP^{-/-}$) morrem durante o desenvolvimento embrionário devido a anomalias cardiovasculares (defeitos do septo ventricular e edema pericardíaco), sugerindo que o gene *AIP* desempenha um papel no desenvolvimento cardiovascular mediado pelo AHR. Contudo, animais *knockout* heterozigóticos ($AIP^{+/-}$) desenvolvem um fenótipo semelhante aos FIPA humanos, com a maioria dos ratos a apresentar múltiplos somatotrofinomas agressivos em idades jovens. O modelo de ratos $AIP^{+/-}$ assemelha-se ao fenótipo humano dos TH hereditários (com exceção da penetrância quase completa nos ratos), sugerindo a presença de mecanismos moleculares semelhantes na génese tumoral hipofisária (Tichomirowa MA *et al*, 2009; Guaraldi F *et al*, 2011).

Investigação clínica dos FIPA. Inicialmente deve ser realizada uma história clínica completa para exclusão de qualquer patologia extra-hipofisária que possa estar na base de uma síndrome. Os estudos genéticos devem ser limitados a casos com alto índice de suspeição: famílias FIPA, TH em crianças e doentes jovens (antes dos 30 anos) com macroadenomas e somatotrofinomas ou prolactinomas, com vista a um diagnóstico precoce e a melhores resultados no tratamento (Korbonits M *et al*, 2012). A penetrância dos TH em doentes com mutações *AIP*, como referido, ainda está por determinar, na medida em que só recentemente foram identificadas como uma causa de FIPA. O estudo das mutações *AIP* nos restantes TH esporádicos não está recomendado dado a sua baixa prevalência. Apesar de não existir consenso, é benéfico que os doentes com mutação *AIP* realizem regularmente estudos hormonais (GH, IGF-1 e prolactina) e imagiológicos (ressonância magnética) de controlo desde crianças, pois têm sido observados macroadenomas em doentes com idades de 6 a 8 anos (Barlier A *et al*, 2007; Tichomirowa MA, 2009).

À semelhança do que acontece com os TH na MEN-1 e CC, as indicações e modalidades de tratamento dos FIPA não difere dos TH esporádicos (Tichomirowa MA, 2009). Contudo, diversos estudos mostram que os FIPA, especialmente com a mutação *AIP*, são mais resistentes ao tratamento farmacológico e cirúrgico. As características clínicas dos somatotrofinomas com mutação *AIP* (maior volume tumoral, maior secreção de GH e crescimento rápido) têm impacto na eficácia do tratamento, resultando em taxas baixas de remissão. O tratamento com análogos da somatostatina conduz significativamente a menores taxas de redução de GH e IGF-1 e diminuição do volume; assim como a cirurgia que apresenta taxas mais elevadas de reoperação (Daly AF *et al*, 2010).

CONCLUSÕES

As síndromes tumorais hipofisárias hereditárias representam uma pequena proporção de todos os TH, mas oferecem uma oportunidade única para estudar e compreender a patofisiologia dos processos de génese tumoral. Nos últimos anos, para além da MEN-1 e Complexo de Carney, foram adicionadas duas definições de síndromes: a MEN-4 e os FIPA, que enriqueceram ainda mais o conhecimento da patologia hipofisária. Os TH associados a MEN-1, Complexo de Carney e FIPA apresentam características mais agressivas, manifestam-se em idades mais jovens e respondem fracamente à terapêutica. Daí a importância de uma história familiar completa e um estudo clínico que permita identificar precocemente as características sugestivas de uma síndrome familiar, apesar da maioria dos TH ser esporádica. Os tumores da hipófise podem ser a primeira manifestação de uma destas síndromes, o que terá obviamente importantes implicações na pesquisa de patologia associada, nomeadamente tumores da paratiróide, tumores neuroendócrinos pancreáticos, mixomas cardíacos, lentiginose e schwannomas. A isto acrescenta-se a necessidade de um estudo genético dirigido não só ao doente, mas também à sua família, e a dificuldade de atingir uma boa resposta ao tratamento, diferindo nestas questões substancialmente dos TH esporádicos. A identificação de membros em elevado risco obriga a um rastreio regular clínico e bioquímico de prevenção, e por seu lado, a ausência de uma mutação exclui esse membro do rastreio.

Quatro genes estão, atualmente, implicados nos TH hereditários: *MEN1*, *CDKN1B*, *PRKARIA* e *AIP*, condicionando síndromes com características distintas (**Tabela 3**). No geral, representam genes de supressão tumoral e foram encontradas alterações na expressão de fatores de crescimento, regulação do ciclo celular e vias de transdução de sinal. A descoberta dos genes responsáveis por estas síndromes revolucionou não só a conduta médica destes doentes e seus familiares, mas também tem proporcionado conhecimentos básicos importantes para entender a função fisiológica destes genes. A importância da pesquisa

precoce de mutações nestes genes reside no facto de que o reconhecimento da mutação constitui atualmente a base para a intervenção nas famílias com síndromes tumorais hipofisários, em associação com os métodos bioquímicos e imagiológicos já anteriormente utilizados na prática clínica. A seleção dos doentes que merecem receber um rastreio genético pode ser extremamente difícil. Contudo, com a diminuição dos custos da sequenciação do ADN um maior número de indivíduos poderá ser estudado. Se os critérios de diagnóstico da MEN-1 e Complexo de Carney forem satisfeitos é recomendado um rastreio genético e uma monitorização clínica e bioquímica rigorosa. Nos casos de doentes com características MEN-1, mas estudo genético negativo para mutações no gene, atualmente, ainda não está recomendado o estudo de mutações *CDKN1B* dada a sua raridade. Apesar das mutações do gene *AIP* existirem em apenas 15-25% dos casos de FIPA, deve ser oferecido estudo genético a doentes com elevado índice de suspeição: famílias FIPA, TH em crianças e jovens (antes dos 30 anos) com macroadenomas e somatotrofinomas ou prolactinomas. No entanto, muito ainda está por fazer, dado que a baixa prevalência e a penetrância desconhecida das mutações *AIP* nos FIPA e a existência de indivíduos com fenótipo MEN-1 sem mutações *MEN1* sugerem a existência de outros genes implicados nestas síndromes. Relativamente ainda aos FIPA, com mutações no gene *AIP*, existe falta de conhecimento acerca da demografia, terapêutica e características clínicas, bem como uma definição clara das recomendações para rastreio e para seguimento a longo prazo.

São necessários novos estudos para fornecer mais informação acerca das bases moleculares e genéticas do desenvolvimento dos TH hereditários, nomeadamente a descoberta de novos genes e o esclarecimento dos mecanismos de ação dos já conhecidos, bem como novas abordagens de investigação clínica e terapêutica dirigida, tal como já ocorre na MEN-2 através de engenharia molecular.

Síndrome	Gene	Características clínicas	Fenótipo de TH	Prevalência de TH	Modelos animais
MEN-1	<i>MEN1</i> (11q13)	Tumores da paratiróide (≈100%); tumores enteropancreáticos (30-75%); TH (30-40%); raramente: tumores da zona cortical da suprarrenal, tumores carcinóides, feocromocitomas, angiofibromas faciais, collagenomas e lipomas	TH-PRL (60%); TH-NF (15%); TH-GH (10%); TH-ACTH (5%)	30-40%	Ratos knockout <i>Men1</i> ^{-/-} : fenótipo embriológico letal. Ratos <i>Men1</i> ^{+/-} : TH, insulinomas e tumores da paratiróide semelhantes aos MEN-1. Ratos <i>Men1</i> ^{-/-} restrito ao pâncreas e hipófise: prolactinomas e hiperplasia das paratiróides.
MEN-4	<i>CDKN1B</i> (12p13)	Apenas dois casos descritos com hiperparatiroidismo primário e TH (um TH-GH e outro TH-ACTH)			Ratos MENX: feocromocitoma, carcinoma medular da tiróide, tumores da paratiróide, paragangliomas, cataratas, hiperplasia pancreática e TH. Ratos knockout <i>Cdkn1b</i> : TH espontâneos no lobo intermédio. Ratos p27CK: tumores e hiperplasia em múltiplos órgãos, incluindo hipófise, retina, pulmão, baço, ovário e suprarrenal.
CC	<i>PRKARIA</i> (17q23-24)	Mixomas, alterações da pigmentação cutânea (lentiginose), schwannomas e hiperatividade endócrina (hipertrofia primária nodular pigmentada suprarrenal, tumores testiculares, tumores da tiróide e acromegalia devido a TH ou hiperplasia)	Sobretudo TH-GH	10-12%	Ratos <i>PRKARIA</i> ^{-/-} : fenótipo embriológico letal. Ratos <i>PRKARIA</i> ^{+/-} : sem características fenotípicas típicas do CC. Ratos knockout <i>PRKARIA</i> em tecidos da hipófise: muito semelhante ao fenótipo hipofisário do CC, com hiperatividade do eixo da GH e aumento da frequência de TH.
FIPA	<i>AIP</i> (11q13.3) em 15% a 25% das famílias FIPA e 40% a 50% dos doentes com acromegalia	TH	TH-GH (41%); TH-PRL (30%); TH-NF (13%); TH-ACTH (4%). Se mutação <i>AIP</i> : TH-GH (80%); TH-PRL (15%).	Por definição 100%	Ratos knockout <i>AIP</i> ^{-/-} : fenótipo embriológico letal devido a anomalias cardiovasculares. Ratos knockout <i>AIP</i> ^{+/-} : fenótipo semelhante aos FIPA humanos, especialmente TH-GH em idades jovens.

Tabela 3. Síndromes associadas a TH hereditários

REFERÊNCIAS

Agarwal SK, Mateo CM, Marx SJ (2009) Rare germline mutations in cyclin-dependent kinase inhibitor genes in MEN1 and related states. *J Clin Endocrinol Metab* 94:1826-1834

Barlier A, Vanbellinghen JF, Daly AF, et al (2007) Mutations in the aryl hydrocarbon receptor interacting protein gene are not highly prevalent among subjects with sporadic pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 92:1952-1955

Bassett JH, Forbes SA, Pannett AA, et al (1998) Characterization of mutations in patients with multiple endocrine neoplasia type 1. *American Journal of Human Genetics* 62:232–244

Beckers A, Daly AF (2007) The clinical, pathological, and genetic features of familial isolated pituitary adenomas. *Eur J Endocrinol* 157:371-382

Bertherat J, Horvath A, Groussin L, et al (2009) Mutations in regulatory subunit type 1A of cyclic adenosine 5'-monophosphate-dependent protein kinase (PRKAR1A): phenotype analysis in 353 patients and 80 different genotypes. *J Clin Endocrinol Metab* 94:2085-2091

Besson A, Hwang HC, Cicero S, et al (2007) Discovery of an oncogenic activity in p27Kip1 that causes stem cell expansion and a multiple tumor phenotype. *Genes Dev* 21:1731-1746

Boggild MD, Jenkinson S, Pistorello M, et al (1994) Molecular genetic studies of sporadic pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 78:387–392

Boikos SA, Stratakis CA (2007) Carney complex: the first 20 years. *Curr Opin Oncol* 19:24-29

Bossis I & Stratakis CA (2004) PRKAR1A: normal and abnormal functions. *Endocrinology* 145:5452-5458

Brandi ML, Gagel RF, Angeli A, et al (2001) Guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2. *J Clin Endocrinol Metab* 86:5658-5671

Burgess JR, Shepherd JJ, Parameswaran V, et al (1996) Spectrum of pituitary disease in multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN 1): clinical, biochemical, and radiological features of pituitary disease in a large MEN 1 kindred. *J Clin Endocrinol Metab* 81:2642-2646

Burgess JR, Nord B, David R, et al (2000) Phenotype and phenocopy: the relationship between genotype and clinical phenotype in a single large family with multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN 1). *Clin Endocrinol (Oxf)* 53:205–211

Carney JA, Hruska L, Beauchamp G, Gordon H (1985) Dominant inheritance of the complex of myxomas, spotty pigmentation and endocrine overactivity. *Mayo Clin Proc* 61:165–172

Carver LA, Bradfield CA (1997) Ligand-dependent interaction of the aryl hydrocarbon receptor with a novel immunophilin homolog in vivo. *J Biol Chem* 272:11452-11456

Chandrasekharappa SC, Guru SC, Manickam P, et al (1997) Positional cloning of the gene for multiple endocrine neoplasia-type 1. *Science* 276:404-407

Clayton RN (1999) Sporadic pituitary adenomas: from epidemiology to use of databases. *Baillière's Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 13: 451-460

Cazabat L, Libè R, Perlemoine K, et al (2007) Germline inactivating mutations of the aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene in a large cohort of sporadic acromegaly:

mutations are found in a subset of young patients with macroadenomas. *Eur J Endocrinol* 157:1-8

Dahia PL, Aguiar RC, Honegger J, et al (1998) Mutation and expression analysis of the p27/kip1 gene in corticotrophin-secreting tumours. *Oncogene* 16:69-76

Daly AF, Rixhon M, Adam C, et al (2006) High prevalence of pituitary adenomas: a cross-sectional study in the province of Liege, Belgium. *J Clin Endocrinol Metab* 91:4769-4775

Daly AF, Jaffrain-Rea ML, Ciccarelli A, et al (2006). Clinical characterization of familial isolated pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 91:3316-3323

Daly AF, Tichomirowa MA, Petrossians P, et al (2010) Clinical characteristics and therapeutic responses in patients with germ-line AIP mutations and pituitary adenomas: an international collaborative study. *J Clin Endocrinol Metab* 95:373-383

Dean PG, van Heerden JA, Farley DR, et al (2000) Are patients with multiple endocrine neoplasia type I prone to premature death?. *World Journal of Surgery* 24:1437-1441

Doherty G, Olson J, Frisella M, et al (1998) Lethality of multiple endocrine neoplasia type I. *World J Surg* 22:581-586

Dworakowska D, Grossman AB (2009) The pathophysiology of pituitary adenomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 23:525-541

Ebrahimi SA, Sawicki MP (1997) Tracking the MEN1 gene. *Am J Surg* 174:266-270

Ellard S, Hattersley AT, Brewer CM, Vaidya B (2005) Detection of an MEN1 gene mutation depends on clinical features and supports current referral criteria for diagnostic molecular genetic testing. *Clin Endocrinol (Oxf)* 62:169-175

Ezzat S, Asa SL, Couldwell WT, et al (2004) The prevalence of pituitary adenomas: a systematic review. *Cancer* 101:613-619

Fernandez A, Karavitaki N, Wass JÁ (2010) Prevalence of pituitary adenomas: a community-based, cross-sectional study in Banbury (Oxfordshire, UK). *Clin Endocrinol (Oxf)* 72:377-382

Frohman LA, Eguchi K (2004) Familial acromegaly. *Growth Horm IGF Res* 14 Suppl A:S90-6

Gadella MR, Prezant TR, Une KN, et al (1999) Loss of heterozygosity on chromosome 11q13 in two families with acromegaly/gigantism is independent of mutations of the multiple endocrine neoplasia type I gene. *J Clin Endocrinol Metab* 84:249-256

Georgitsi M, Raitila A, Karhu A, et al (2007) Germline CDKN1B/p27Kip1 mutation in multiple endocrine neoplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 92:3321-3325

Georgitsi M, Heliövaara E, Paschke R, et al (2008) Large genomic deletions in AIP in pituitary adenoma predisposition. *J Clin Endocrinol Metab* 93:4146-4151

Trivellin G, Korbonits M (2011) AIP and its interacting partners. *J Endocrinol* 210:137-155

Gomes L, Prazeres H, Paiva I, et al (2007) Absence of germline AIP mutations in early onset sporadic somatotropinomas. Abstract book ECE 2007

Guaraldi F, Salvatori R (2011) Familial Isolated Pituitary Adenomas: From genetics to therapy. *Clin Trans Sci* Volume 4:55-62

Guru SC, Goldsmith PK, Burns AL, et al (1998) Menin, the product of the MEN1 gene, is a nuclear protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:1630-1634

Hao W, Skarulis MC, Simonds WF, et al (2004) Multiple endocrine neoplasia type 1 variant with frequent prolactinoma and rare gastrinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 89:3776-3784

Herman V, Fagin J, Gonsky R, et al (1990) Clonal origin of pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 71:1427-1433

Igreja S, Chahal HS, King P, et al (2010) Characterization of aryl hydrocarbon receptor interacting protein (AIP) mutations in familial isolated pituitary adenoma families. *Human Mutation* 31:950–960

Jaffrain-Rea ML, Angelini M, Gargano D, et al (2009) Expression of aryl hydrocarbon receptor (AHR) and AHR-interacting protein in pituitary adenomas: pathological and clinical implications. *Endocr Relat Cancer* 16:1029-1043

Jin L, Qian X, Kulig E, et al (1997) Transforming growth factor-beta, transforming growth factor-beta receptor II, and p27Kip1 expression in nontumorous and neoplastic human pituitaries. *Am J Pathol* 151:509-519

Karhu A & Aaltonen LA (2007) Susceptibility to pituitary neoplasia related to MEN-1, CDKN1B and AIP mutations: an update. *Human Molecular Genetics* 16:R73–R79

Kazlauskas A, Poellinger L, Pongratz I (2002) Two distinct regions of the immunophilin-like protein XAP2 regulate dioxin receptor function and interaction with hsp90. *J Biol Chem* 277:11795-11801

Keil MF, Stratakis CA (2008) Pituitary tumors in childhood: update of diagnosis, treatment and molecular genetics. *Expert Rev Neurother* 8:563-574

Kirschner LS (2010) PRKAR1A and the evolution of pituitary tumors. *Mol Cell Endocrinol* 326:3-7

Korbonits M, Storr H, Kumar AV (2012) Familial pituitary adenomas - who should be tested for AIP mutations?. *Clin Endocrinol (Oxf)* 77:351-356

Larsson C, Skogseid B, Oberg K, et al (1988) Multiple endocrine neoplasia type 1 gene maps to chromosome 11 and is lost in insulinoma. *Nature* 332:85-87.

Kurtkaya-Yapicier O, Scheithauer BW, Carney JA, et al (2002) Pituitary adenoma in Carney complex: an immunohistochemical, ultrastructural, and immunoelectron microscopic study. *Ultra-struct Pathol* 26:345-353

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

Leontiou CA, Gueorguiev M, van der Spuy J, et al (2008) The role of the aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene in familial and sporadic pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 93:2390-2401

Levine MA (1999) Clinical implications of genetic defects in G proteins: oncogenic mutations in G alpha s as the molecular basis for the McCune-Albright syndrome. *Archives of Medical Research* 30:522-531

Lin SY, Elledge SJ (2003) Multiple tumor suppressor pathways negatively regulate telomerase. *Cell* 113:881-889

Losada Grande EJ, Al Kassam Martínez D, González Boillos M (2011) Carney complex. *Endocrinol Nutr* 58:308-314

Milne TA, Hughes CM, Lloyd R, et al (2005) Menin and MLL cooperatively regulate expression of cyclin-dependent kinase inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:749-754

Mantovani G, Bondioni S, Ferrero S, et al (2005) Effect of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate/protein kinase a pathway on markers of cell proliferation in nonfunctioning pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 90:6721–6724

Nadella KS, Kirschner LS (2005) Disruption of protein kinase a regulation causes immortalization and dysregulation of D-type cyclins. *Cancer Res* 65:10307-10315

Ozfirat Z, Korbonits M. AIP gene and familial isolated pituitary adenomas (2010) *Mol Cell Endocrinol* 326:71-79

Pack SD, Kirschner LS, Pak E, et al (2000) Genetic and histologic studies of somatomammotropic pituitary tumors in patients with the “complex of spotty skinpigmentation, myxomas, endocrine overactivity and schwannomas” (Carney complex). *J Clin Endocrinol Metab* 85:3860–3865

Pannett AA & Thakker RV (2001) Somatic mutations in MEN type 1 tumors, consistent with the Knudson“two-hit”hypothesis. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4371–4374

Pannett AA, Kennedy AM, Turner JJ, et al (2003) Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) germline mutations in familial isolated primary hyperparathyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 58:639-646

Pellegata NS, Quintanilla-Martinez L, Siggelkow H, et al (2006) Germ-line mutations in p27Kip1 cause a multiple endocrine neoplasia syndrome in rats and humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:15558-15563

Poncin J, Stevenaert A, Beckers A (1999) Somatic MEN1 gene mutation does not contribute significantly to sporadic pituitary tumorigen-esis. *Eur J Endocrinol* 140:573-576

Premkumar A, Stratakis CA, Shawker TH, et al (1997) Testicular ultrasound in Carney complex: report of three cases. *J Clin Ultrasound* 25:211-214.

Scheithauer BW, Laws EJ, Kovacs K, et al (1987) Pituitary adenomas of the multiple endocrine neoplasia type I syndrome. *Semin Diagn Pathol* 4:205–211

Scheithauer BW, Gaffey TA, Lloyd RV, et al (2006) Pathobiology of pituitary adenomas and carcinomas. *Neurosurgery* 59:341–353

Soares BS, Eguchi K, Frohman LA (2005) Tumor deletion mapping on chromosome 11q13 in eight families with isolated familial somatotropinoma and in 15 sporadic somatotropinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 90:6580-6587

Taguchi R, Yamada M, Horiguchi K, et al (2011) Haploinsufficient and predominant expression of multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1)-related genes, MLL, p27Kip1 and p18Ink4C in endocrine organs. *Biochem Biophys Res Commun* 415:378-383

Thakker RV (2010) Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 24:355-370.

Theodoropoulou M, Cavallari I, Barzon L, et al (2004) Differential expression of menin in sporadic pituitary adenomas. *Endocr Relat Cancer* 11:333–344

Tichomirowa MA, Daly AF, Beckers A (2009) Familial pituitary adenomas. *J Intern Med* 266:5–18

Trivellin, G, Korbonits, M (2011) AIP and its interacting partners *J Endocrinol* 210:137-155

Trouillas J, Labat-Moleur F, Sturm N, et al (2008) 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* 32:534-543

Vandeva S, Jaffrain-Rea ML, Daly AF, et al (2010) The genetics of pituitary adenomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 24:461-476

Vargiolu M, Fusco D, Kurelac I, et al (2009) The tyrosine kinase receptor RET interacts in vivo with aryl hydrocarbon receptor-interacting protein to alter survivin availability. *J Clin Endocrinol Metab* 94:2571-8

Vasilev V, Daly AF, Petrossians P, et al (2011) Familial pituitary tumor syndromes. *Endocr Pract* 17 Suppl 3:41-46.

Vergès B, Boureille F, Goudet P, et al (2002) Pituitary disease in MEN type 1 (MEN1): data from the France-Belgium MEN1 multicenter study. *J Clin Endocrinol Metab* 87:457-465.

Verloes A, Stevenaert A, Teh BT, et al (1999) Familial acromegaly: case report and review of the literature. *Pituitary* 1:273-277

Vierimaa O, Georgitsi M, Lehtonen R, et al (2006) Pituitary adenoma predisposition caused by germline mutations in the AIP gene. *Science* 312:1228–1230

Wautot V, Vercherat C, Lespinasse J, et al (2002) 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* 20:35-47.

Yang Y, Hua X (2007) In search of tumor suppressing functions of menin. *Mol Cell Endocrinol* 266:34-41

Yin Z, Williams-Simons L, Parlow AF, et al (2008) Pituitary-specific knockout of the Carney complex gene *Prkar1a* leads to pituitary tumorigenesis. *Mol Endocrinol* 22:380–387