



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE PÚBLICA

**Hipopituitarismo causado por mutações no *PROP1*:
Variabilidade fenotípica, importância diagnóstica e
terapêutica**

Thiago de Almeida Pequeno

Dissertação apresentada à
Universidade Estadual da Paraíba – UEPB,
em cumprimento dos requisitos necessários
para a obtenção do título de Mestre em
Saúde Pública, Área de Concentração
Epidemiologia.

Orientador (a): Profa. Dra. Silvana Cristina
dos Santos

Campina Grande

2016

**Hipopituitarismo causado por mutações no *PROP1*:
Variabilidade fenotípica, importância diagnóstica e
terapêutica**

Thiago de Almeida Pequeno

**Dissertação apresentada à
Universidade Estadual da Paraíba – UEPB,
em cumprimento dos requisitos necessários
para a obtenção do título de Mestre em
Saúde Pública, Área de Concentração
Epidemiologia.**

**Orientador (a): Profa. Dra. Silvana Cristina
dos Santos**

Campina Grande

2016

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

P425h Pequeno, Thiago de Almeida.

Hipopituitarismo causado por mutações no PROP1
[manuscrito] : variabilidade fenotípica, importância diagnóstica e
terapêutica / Thiago de Almeida Pequeno. - 2016.
66 p. : il. color.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Universidade
Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa,
2016.

"Orientação: Profa. Dra. Silvana Cristina dos Santos, Pró-
Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa".

1. Endogamia. 2. Genética. 3. Hipopituitarismo. 4. PROP1.
I. Título

21. ed. CDD 616.4

FOLHA DE APROVAÇÃO

Thiago de Almeida Pequeno

Título: Hipopituitarismo causado por mutações no *PROPI*: Variabilidade fenotípica, importância diagnóstica e terapêutica.


Orientador (a): Dra. Silvana Cristina dos Santos

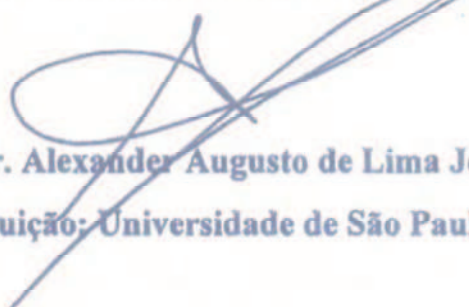
**Dissertação apresentada à
Universidade Estadual da Paraíba –
UEPB, em cumprimento dos
requisitos necessários para a obtenção
do título de Mestre em Saúde Pública,
Área de Concentração Epidemiologia.**

Aprovado em: 26/09/2016

Banca Examinadora


Prof. Dra. Silvana Cristina dos Santos
Instituição: Universidade Estadual da Paraíba


Prof. Dr. Mathias Weller
Instituição: Universidade Estadual da Paraíba


Prof. Dr. Alexander Augusto de Lima Jorge
Instituição: Universidade de São Paulo

Dr. Alexander A. L. Jorge
Responsável
Unidade de Endocrinologia Genética
Clínica Médica LIM-25 / HCFMUSP
CRM 80218

***Aos meus pais, pelo apoio irrestrito e a minha
namorada Aline Castro, pela paciência
diária.***

AGRADECIMENTOS

Agradeço à **Prof^a Dra. Silvana Cristina dos Santos** pela oferta de tantas experiências engrandecedoras durante o período do mestrado, o que certamente contribuiu para meu aprimoramento pessoal e como médico, além de despertar em mim interesse pela pesquisa e docência. A cordialidade e forma de condução dos trabalhos foram marcas indeléveis, aliadas à segurança e disponibilidade, presentes em todas as etapas desta trajetória.

À **Dra. Thalita Figueiredo Cunha** pelos ensinamentos técnico-científicos que muito me ajudaram até aqui e que farei uso em novos projetos, como também pelo apoio em todos os momentos de dificuldade da pós-graduação.

Ao **Prof^o Dr. Mathias Weller**, pelas instruções metodológicas fundamentais para elaboração dos estudos.

À **Prof^a Dra. Alana Abrantes Nogueira de Pontes**, por fazer parte de todos os degraus que avanço na minha carreira, pela amizade honrosa e por ser a médica que me inspira.

Ao **Prof^o Vladimir Gomes de Oliveira**, pela garantia de atendimento integral dos pacientes vindos de cidades distantes, o que ratifica sua maior vocação: produzir o bem.

Ao **Dr. Uirá Souto Melo**, pelo apoio indispensável nas análises genéticas da Universidade de São Paulo.

Ao **Me. Allysson Allan de Farias**, pela agilidade na garantia dos melhores artigos para o presente trabalho.

Ao **Núcleo de Estudos em Genética e Educação (NEGE)**, pela parceria exitosa e trabalho em equipe, harmonioso e engrandecedor.

À **Secretaria de Saúde de Brejo do Cruz**, pelo comportamento solícito e interessado no desenvolvimento da pesquisa e melhor tratamento dos pacientes da região.

Aos **Agentes Comunitários de Saúde**, pela viabilização das visitas domiciliares no intuito de garantir a avaliação médica completa dos afetados pelas mutações.

Às instituições **Universidade Estadual da Paraíba** e **Universidade de São Paulo (USP)**, pelo apoio à logística da pesquisa e oferta da triagem genética aos pacientes. Em particular, à equipe de Endocrinologia do Hospital das Clínicas de São Paulo pela cooperação intelectual na elaboração dos artigos científicos.

Ao **Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC)**, pela realização de exames hormonais imprescindíveis para definição das condutas médicas, e mais ainda por ser o berço da minha formação médica.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela bolsa concedida, a qual foi de grande utilidade para custear despesas e melhor desenvolver a presente dissertação.

“Se um único homem atingir a plenitude do amor, neutralizará o ódio de milhões”.

Mahatma Gandhi

RESUMO

Introdução: A Deficiência Múltipla de Hormônios Hipofisários (DMHH) caracteriza-se pela perda da ação de dois ou mais hormônios da pituitária. Mutações no gene *PROP1* (*Prophet of PIT1*) constituem a principal causa genética desses distúrbios. **Objetivos:** revisar a literatura para estabelecer relações genótipo-fenótipo e desenvolver estudo epidemiológico e clínico-genético de DMHH em populações da Paraíba, discutindo a questão do custo-efetividade do uso de técnicas de sequenciamento para diagnóstico. **Métodos:** com uso dos descritores “hypopituitarism”, “homeodomain proteins”, “genetics” e “hipopituitarismo”, “proteínas de homeodomínio”, “genética” e critérios de exclusão, foram selecionados 25 artigos para revisão sobre DMHH causadas por mutações no gene *PROP1* publicadas no PubMed, MedLine e Lilacs. No estudo transversal de base populacional, foram genotipados 24 pacientes de sete municípios da Paraíba. Os exons 1 a 3 do gene *PROP1*, compreendendo toda a região codificante, foram amplificados por PCR utilizando *primers* intrônicos e sequenciamentos pelo método de Sanger. Aqueles que tiveram as mutações confirmadas puderam realizar exames laboratoriais que avaliavam crescimento, função tireoidiana, desenvolvimento sexual e possível agravo adrenal. **Resultados:** A revisão da literatura permitiu estabelecer que, para as crianças com baixa estatura identificadas na avaliação na Atenção Básica, devem ser solicitados GH, IGF1 e hormônios tireoidianos. Confirmando-se danos na produção desses hormônios, é importante testar as alterações genéticas no gene *PROP1* para fins de estabelecer prognóstico, evitar cirurgias e exames de imagem desnecessários e oferecer aconselhamento genético para família. No estudo epidemiológico, foram identificados oito afetados, dentre os 24 indivíduos com baixa estatura genotipados, com a mutação c.301_302delAG no *PROP1*, evidenciando um cluster da doença no município de Brejo do Cruz (PB) já que todos os afetados eram aparentados e mantinham tradição de casamentos consanguíneos. **Conclusões:** Crianças com baixa estatura e danos em hormônios tiroideanos, GH, IGF1 devem realizar sequenciamento genético para avaliar mutações *PROP1* a fim de determinar etiologia da DMHH, especialmente na região do sertão paraibano.

Palavras-chave: Endogamia; genética; hipopituitarismo; *PROP1*.

ABSTRACT

Introduction: Multiple pituitary hormone deficiency is characterized by the loss of two or more hormones of the pituitary action. Mutations in the gene *PROP1* (*Homeobox Protein Prophet of PIT-1*) are the main genetic cause of these disorders. **Objectives:** to review the literature setting for genotype-phenotype relationships and to perform an epidemiological and clinical-genetic study of DMHH in Paraiba populations, discussing the issue of cost-effectiveness of using DNA sequencing techniques for diagnosis. **Methods:** using the descriptors "hypopituitarism", "homeodomain proteins", "genetics" and "hypopituitarism", "proteins homeodomain", "genetic" in addition to exclusion criteria, we selected 25 articles for review about DMHH caused by mutations in *PROP1* gene published in PubMed, MedLine and Lilacs. In a cross-population-based study, 24 patients from seven communities of Paraiba were genotyped. Exons 1 to 3 of *PROP1* gene, comprising the entire coding region, were amplified by PCR using intronic primers and sequencing by the Sanger method. The patients who were homozygote for mutation in *PROP1* gene performed laboratory tests that assessed growth, thyroid function, sexual development and possible adrenal injury. **Results:** from data of literature, we verified that children, with short stature attended in primary care, should be investigated for GH, IGF1 and thyroid hormones levels. Confirming damage in producing of these hormones, it is important to test the genetic mutations in *PROP1* gene for the purpose of establishing prognosis, avoiding surgery and imaging tests, and offering genetic counseling for family. In an epidemiological study, eight affected were identified among the 24 individuals with low stature, who were genotyped, and all shared the c.301_302delAG mutation in *PROP1*, indicating a cluster of disease in the community of Brejo do Cruz (PB) since all affected were related and kept tradition of inbreeding. **Conclusions:** Children with short stature and damage in thyroid hormones, GH, IGF1 should be tested for *PROP1* mutations to determine the etiology of DMHH, especially in the backlands of Paraiba region.

Keywords: Inbreeding; genetic; hipopytuitarism; *PROP1*.

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	16
3. ARTIGO 1. HIPOPITUITARISMO CAUSADO POR MUTAÇÕES NO <i>PROP1</i> : AVALIAÇÃO ATUAL E PERSPECTIVA FUTURA.....	17
INTRODUÇÃO.....	20
MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
IMPLICAÇÕES.....	32
REFERÊNCIAS.....	34
4. ARTIGO 2. <i>CLUSTER</i> DE HIPOPITUITARISMO CAUSADO PELA MUTAÇÃO (c.301_302delAG) NO <i>PROP1</i> EM FAMÍLIA CONSANGUÍNEA DO NORDESTE BRASILEIRO.....	37
INTRODUÇÃO.....	40
MATERIAL E MÉTODOS.....	41
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
CONCLUSÃO.....	48
REFERÊNCIAS.....	48
5. ARTIGO 3 (ABSTRACT). <i>PROP1</i> SEQUENCING BY THE SANGER METHOD IS A COST-EFFECTIVE APPROACH OF MOLECULAR DIAGNOSIS IN PATIENTS WITH COMBINED PITUITARY HORMONE DEFICIENCY AND TOPIC POSTERIOR PITUITARY LOBE.....	51
APÊNDICES.....	54
ANEXOS.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização dos estudos analisados na revisão segundo ano de publicação, origem da população estudada (local), população amostrada (casuística), porcentagem de casos familiares (familiar) e mutações descritas (Artigo 1).....	24
Tabela 2 – Manifestações clínicas iniciais descritas na literatura analisada (Artigo 1).....	26
Tabela 3 – Relação entre a presença de mutações no gene <i>PROP1</i> e a deficiência de hormônios hipofisários, considerando o tamanho da amostra e a idade do diagnóstico (Artigo 1).....	28
Tabela 4 – Relação entre a presença de mutações no gene <i>PROP1</i> e os achados da RNM (Artigo 1).....	31
Tabela 1 – Descrição do município de origem, do resultado da triagem para mutação no gene <i>PROP1</i> e laços de consanguinidade entre seus genitores de 24 pacientes avaliados na Paraíba (Artigo 2).....	44
Tabela 2 – Perfis e resultados de dosagens hormonais de pacientes com mutações no gene <i>PROP1</i> confirmadas (Artigo 2).....	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma da pesquisa bibliográfica (Artigo 1).....	23
Figura 1 – Mapa do estado da Paraíba. Os municípios que participaram do estudo estão em cinza (Artigo 2).....	42
Figura 2 – Genealogia de uma família com vários afetados com hipopituitarismo associado à mutação no gene <i>PROP1</i> (Artigo 2)	45
Figura 3 – Registro fotográfico de pacientes com hipopituitarismo causado por mutações no gene <i>PROP1</i> identificados no município de Brejo do Cruz (PB) (Artigo 2).....	47

LISTA DE SIGLAS

ACS: Agentes Comunitários de Saúde

ACTH: Adrenocorticotrofina

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CE: Ceará

CEP: Código de Endereçamento Postal

cm: Centímetros

CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CONEP: Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

CRH: Hormônio Liberador de Corticotrofina

DATASUS: Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde do Brasil

DeCS: Descritores em Ciências da Saúde

DMHH: Deficiência Múltipla de Hormônios Hipofisários

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

ESF: Estratégia Saúde da Família

EUA: Estados Unidos da América

FAPESQ: Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba

FSH: Hormônio Folículo-estimulante

GH: Hormônio do Crescimento

GHRH: Hormônio Liberador do Hormônio de Crescimento

GLI2: *Zinc Finger Protein*

GnRH: Hormônio Liberador de Gonadotrofina

HCFMUSP: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

HESX1: *Homeobox Expressed in ES Cells 1*

HUAC: Hospital Universitário Alcides Carneiro

IGF1: Fator de Crescimento Semelhante à Insulina

IGF-BP3: Proteína Ligadora-3 do IGF

LH: Hormônio Luteinizante

LHX3: *LIM Homeobox 3*

LHX4: *LIM Homeobox 4*

Lilacs: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde

LIM/42: Laboratório de Hormônios e Genética Molecular

LSS: *Large-scale sequencing*

MedLine: *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*

MeSH: *Medical Subject Headings*

MLPA: *Multiplex-ligation-dependent probe amplification*

MPHD: *Multiple Pituitary Hormone Deficiency*

NCBI: *National Center for Biotechnology Information*

NEGE: Núcleo de Estudos em Genética e Educação

OMIM: *Online Mendelian Inheritance in Man*

OTX2: *Orthodenticle Homeobox 2*

PB: Paraíba

PCR: *Polymerase Chain Reaction*

Pit1: *Pituitary-specific Positive Transcription Factor 1*

POU1F1: *Pituitary-specific Positive Transcription Factor 1*

PPSUS: Programa Pesquisa para o Sistema Único de Saúde

PRL: Prolactina

PROP1: *Prophet of PIT1*

PROPESQ: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

PubMed: *US National Library of Medicine*

RNM: Ressonância Nuclear Magnética

SIAB: Sistema de Informação de Atenção Básica

SOX2: *Sex Determining Region Y-box 2*

SOX3: *Sex Determining Region Y-box 3*

SP: São Paulo

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

T4L: T4 Livre

TPP: *Topic posterior pituitary lobe*

TRH: Hormônio Liberador da Tireotrofina

TSH: Tireotrofina

TT: Testosterona Total

UEPB: Universidade Estadual da Paraíba

UFPB: Universidade Federal da Paraíba

WES: *Whole-exome sequencing*

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação é parte de um conjunto de pesquisas desenvolvido pelo Núcleo de Estudos em Genética e Educação (NEGE) da Universidade Estadual da Paraíba que têm por objetivo a descrição de doenças genéticas que afetam populações do Nordeste Brasileiro, as quais mantêm a tradição de casamentos consanguíneos. Essas pesquisas foram iniciadas há cerca de dez anos, com a descoberta de uma síndrome neurodegenerativa, a Síndrome Spoon, na pequena cidade de Serrinha dos Pintos, no alto oeste do Estado do Rio Grande do Norte. Desde então, tem sido realizada a busca ativa de indivíduos com essa síndrome. Ao todo, existem mais de 80 indivíduos já diagnosticados em mais de quinze municípios do sertão nordestino, sendo quatro deles da Paraíba. Esse projeto tem contado com apoio permanente do Centro de Estudos do Genoma Humano e Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo; e foi contemplado com financiamento em vários editais, como o PPSUS/CNPq/FAPESQ e PROPESQ/UEPB.

Em 2012, durante ações de prospecção de doenças genéticas em seis municípios do sertão paraibano, foi identificada uma família com vários indivíduos apresentando quadro de baixa estatura e ausência de caracteres sexuais secundários. Após avaliação médica e triagem genética, a família foi diagnosticada com hipopituitarismo causado por uma mutação no gene *PROP1*. Essa família constitui um *cluster* de doença genética muito rara com poucos indivíduos diagnosticados no Brasil. Em virtude da possibilidade de se compreender a variedade fenotípica e estabelecer melhor as relações entre genótipo e fenótipo nesse agrupamento de pacientes, foi estabelecida uma parceria com um grupo do Hospital das Clínicas de São Paulo com expertise em Genética e Endocrinologia.

Em virtude da minha formação como médico endocrinologista, assumi a responsabilidade de dar continuidade a essa investigação, cujo objetivo foi realizar triagem genética para mutações no gene *PROP1* e avaliação hormonal em indivíduos com quadro de hipopituitarismo. Procuramos fazer o diagnóstico das diversas deficiências hipofisárias em cada paciente para orientar reposição hormonal específica; e buscar relações entre o genótipo e fenótipo de todos os afetados.

De início, fizemos uma revisão sistematizada da literatura para identificar possíveis lacunas a serem investigadas no futuro sobre o tema. Em um segundo momento, aprofundamos a investigação clínico-genética e epidemiológica na região onde foram identificados os primeiros pacientes. No segundo capítulo da dissertação, apresentamos a

descrição do *cluster* de Brejo do Cruz. Esses resultados também foram utilizados para compor um terceiro artigo em parceria com nossos colaboradores do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo.

Ao longo do mestrado, elaboramos três artigos que foram reproduzidos nesta dissertação. O primeiro é uma revisão da literatura, na qual foram incluídos todos os artigos publicados sobre o tema escritos em inglês, português e espanhol dos últimos 10 anos. Buscamos compilar o conhecimento e as informações existentes sobre o hipopituitarismo de etiologia genética, especificamente sobre as formas causadas por mutações no gene *PROP1*. A elaboração de revisões sistematizadas da literatura é um dos objetivos de formação do Programa em Pós-graduação em Saúde Pública da UEPB.

No segundo artigo empírico, realizamos a descrição epidemiológica, clínica e genética do *cluster* com oito pacientes identificado no estado da Paraíba. Embora não haja um achado novo em relação à genética, existe uma discussão importante que deve ser feita em relação à genética comunitária. Enquanto pesquisadores, estimulamos os pacientes a fazerem exames laboratoriais para quantificação de diferentes hormônios e oferecemos o atendimento e orientação para reposição hormonal.

Neste artigo, descrevemos a parceria colaborativa entre a universidade e serviço de saúde para oferecer, de fato, resposta mais ágil às necessidades de tratamento dos pacientes. O acesso aos serviços e medicações deve ser facilitado no sistema de saúde. Os resultados parciais que havíamos obtido até 2014 foram compilados em um resumo apresentado no XX Encontro de Genética do Nordeste, realizado em Campina Grande durante o período de 04 a 07 de novembro de 2014.

O terceiro artigo foi resultado de uma parceria com o Laboratório de Endocrinologia da Universidade de São Paulo (USP) que conduziu uma pesquisa sobre acesso aos testes moleculares, e os custos e benefícios para pacientes com hipopituitarismo. Os testes foram realizados no laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM/42 do Departamento de Endocrinologia do Desenvolvimento da Universidade de São Paulo. Contamos com a parceria de Dr. Alexander Augusto de Lima Jorge, Dra. Luciani Renata Silveira de Carvalho e do Residente de Clínica Médica João Luiz de Oliveira Madeira. Os resultados deste trabalho foram submetidos à publicação e não foram reproduzidos na íntegra nesta dissertação.

Esta pesquisa contribuiu para identificação e caracterização epidemiológica e genética de um *cluster* da afecção, cujo diagnóstico precoce pode mitigar e prevenir danos secundários tratáveis com reposição hormonal. O governo brasileiro precisa estar preparado para custear as despesas com os hormônios que muitas vezes são elevadas e se estendem por longos

períodos da vida dos pacientes. Também ficou evidente a necessidade de uma abordagem multidisciplinar que garanta o aconselhamento genético, o que permitirá redução da prevalência do hipopituitarismo de causa genética.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi revisar a literatura para entender as relações genótipo-fenótipo da Deficiência Múltipla de Hormônios Hipofisários (DMHH) causada por mutações no gene *PROP1* e desenvolver estudo epidemiológico e clínico-genético em populações da Paraíba, discutindo a questão do custo-efetividade do uso de técnicas de sequenciamento para diagnóstico.

Objetivos específicos:

- Elaborar uma revisão da literatura sobre Deficiência Múltipla de Hormônios Hipofisários (DMHH) associada às mutações no *PROP1* no intuito de entender as relações genótipo-fenótipo e avaliar possíveis lacunas na literatura sobre essa temática.
- Realizar o estudo clínico, genético, hormonal e epidemiológico da prevalência de DMHH causada por mutações no gene *PROP1* em populações da Paraíba caracterizadas por elevadas taxas de endogamia.
- Comparar o custo-efetividade de sequenciamento do *PROP1*, *HESX1* e *LHX3* pelo método de Sanger e pelo sequenciamento em larga escala (LSS) para o diagnóstico molecular de pacientes com DMHH e neuro-hipófise tópica.

ARTIGO 1

Hipopituitarismo causado por mutações no *PROP1*: Avaliação atual e perspectiva futura

Hypopituitarism caused by mutations in *PROP1*: Current assessment and future perspective

Categoria: Revisão

Descritores: MeSH (“hypopituitarism”, “homeodomain proteins”, “genetics”) e DeCS (“hipopituitarismo”, “proteínas de homeodominio”, “genética”)

Área: Medicina e Saúde Coletiva

Thiago de Almeida Pequeno¹, Thalita Figueiredo Cunha¹, Mathias Weller¹, Silvana Santos¹

¹Núcleo de Estudos em Genética e Educação, Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, Campina Grande-PB, Brasil.

Endereço para correspondência:

Silvana Cristina dos Santos

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Avenida das Baraúnas 351 (CIAC – sala 329) – CAMPUS UNIVERSITÁRIO

CEP: 58109-753 – Campina Grande, PB – Brasil.

Email: silvanaipe@gmail.com

Título curto: Hipopituitarismo causado por mutações *PROP1*

Short Title: Hypopituitarism caused by *PROP1* mutations

Resumo

Introdução: Mutações no gene *PROP1* são a principal causa genética de hipopituitarismo, levando a deterioração da hipófise anterior. O objetivo do trabalho foi elaborar uma revisão sobre os dados clínicos, genéticos e epidemiológicos da literatura sobre Deficiência Múltipla de Hormônios Hipofisários (DMHH) associada às mutações no *PROP1*, no intuito de verificar o que ainda precisa ser esclarecido sobre o tema. **Materiais e Métodos:** Realizou-se uma revisão integrativa de obras publicadas em periódicos nacionais e internacionais entre 29 de Setembro e 28 de Dezembro de 2015 nas bases PubMed, MedLine e Lilacs. **Resultados e Discussão:** As principais manifestações clínicas iniciais encontradas nos pacientes avaliados foram criptorquidia, hiperbilirrubinemia e icterícia neonatal prolongada. As deficiências mais frequentes foram do hormônio de crescimento (GH) e de hormônio tireoidiano (próximo a 100%). A adenohipófise pode se revelar hiperplásica ou hipoplásica, dependendo da época em que é realizada a ressonância nuclear magnética (RNM). **Implicações:** Todas as crianças devem ter o acompanhamento regular do crescimento através da Caderneta de Saúde da Criança, pois caso seja verificada baixa estatura, devem ser solicitadas as dosagens dos hormônios GH, IGF1 e da tireóide. Confirmando-se os danos na produção desses hormônios, é indicado a genotipagem para mutações em gene *PROP1* para evitar cirurgias e exames de imagem de repetição. Esses pacientes necessitam da avaliação constante por parte do endocrinologista, sendo indicada a reposição hormonal no intuito de melhorar a qualidade de vida e até a sobrevida dos afetados.

Descritores: Hipopituitarismo; proteínas de homeodomínio; genética.

Abstract

Introduction: Mutations in *PROP1* gene are the major genetic cause of hypopituitarism, leading to deterioration of the anterior pituitary. The aim of the study was to develop a review of clinical and epidemiological evidences in the literature on Multiple Pituitary Hormone Deficiency (MPHD) associated with mutations in *PROP1*, in order to verify what still needs to be clarified on the topic. **Materials and Methods:** We conducted an integrative review of published articles in national and international journals between September 29 and December 28, 2015 in PubMed, Medline and Lilacs. **Results and Discussion:** The main initial clinical manifestations found were testicular retention, increased bilirubin and prolonged neonatal jaundice. The most common deficiencies were of growth hormone (GH) and thyroid hormone (almost 100%). The adenohypophysis may prove hyperplastic or hypoplastic depending on the time when the magnetic resonance imaging (MRI) is performed. **Implications:** All children should have regular monitoring of growth through Passbook of the Child, and if short stature is verified, must be ordered GH, IGF1 and thyroid hormones to avoid surgery and repetitive imaging tests. Confirming the damage these hormonal productions, consider testing the genetic alterations. Patients with *PROP1* mutations and consequent DMHH require constant evaluation by the endocrinologist throughout their lives, in order to avoid hormonal deficiencies that impair the quality of life and even survival of the affected.

Keywords: Hypopituitarism; homeodomain proteins; genetics.

Introdução

A Deficiência Múltipla de Hormônios Hipofisários (DMHH) revela-se pelo dano na ação de dois ou mais hormônios sintetizados na hipófise. A glândula hipofisária é formada durante a embriogênese pela integração de células provindas do ectoderma oral e neural, dando origem à adenohipófise e a neuro-hipófise, respectivamente. A partir de uma linhagem celular, formam-se cinco diferentes tipos celulares, sendo cada um deles caracterizado pela secreção de hormônios que regulam processos biológicos importantes. Sendo assim, são formados os corticotrofos, responsáveis pela secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH); gonadotrofos, responsáveis pela secreção dos hormônios luteinizante (LH) e folículo-estimulante (FSH); somatotrofos, responsáveis pela secreção do hormônio do crescimento (GH); lactotrofos, responsáveis pela secreção da prolactina (PRL), e tireotrofos, que são responsáveis pela secreção do hormônio tireoestimulante (TSH). Estima-se que a prevalência de DMHH, em populações europeias, seja de 30 a 45,5 afetados por 100.000 habitantes ⁽¹⁾.

A progressão e a proliferação dos cinco diferentes tipos celulares da hipófise requerem a ação de genes da classe *homeobox*, como o *LHX3*, *LHX4*, *HESX1*, *POU1F1* (*Pit1*) e *PROP1* que representam a família de genes caracterizados pelo homeodomínio, uma sequência evolutivamente conservada de 60 aminoácidos. O homeodomínio é um sítio de ligação com capacidade de ativar e reprimir a transcrição de outros genes relacionados ao desenvolvimento. O gene *PROP1* (*Prophet of Pit1*) é expresso no início do desenvolvimento hipofisário e codifica um fator de transcrição do tipo *paired-like homeodomain*, transcrito especificamente em células embrionárias da hipófise, que é necessário para ativar a expressão do gene *POU1F1* (*Pituitary-specific Positive Transcription Factor 1*) em seres humanos, homólogo ao gene *Pit1* de murinos. O fator de transcrição *PROP1* está associado à regulação da expressão de *POU1F1*, responsável pela diferenciação de somatotrofos (GH), lactotrofos (PRL) e tireotrofos (TSH), e também atua na diferenciação de gonadotrofos (FSH e LH) ⁽¹⁾.

A história das pesquisas sobre o gene *PROP1* começou há 20 anos com o modelo animal descrito por Sornson and cols. (1996). Neste primeiro trabalho, foram utilizados camundongos anões Ames, dos quais foi isolado um gene mutado por clonagem posicional responsável pela produção de um fator de transcrição de homeodomínio designado como *PROP1* (*Prophet of Pit1*). Foi verificado que havia uma falha na capacidade de ligação do fator de transcrição codificado pelo *PROP1* ao DNA, e isto resultava, em camundongo Ames,

em quantidades baixas do transcrito do gene *PROP1* e da proteína codificada pelo gene Pit1. Os resultados sugeriram que havia uma cascata de reguladores específicos de tecido responsáveis pela diferenciação das linhagens celulares específicas da organogênese pituitária ⁽²⁾. Isto permitiu melhor conhecimento sobre a ontogênese hipofisária e a compreensão sobre como o *PROP1* participa das fases de diferenciação das células hipofisárias.

Em seres humanos, o gene *PROP1* está localizado no cromossomo 5 (5q.35) e consiste em três éxons os quais codificam uma proteína de 226 aminoácidos, que é um fator de transcrição cujo homeodomínio inclui os resíduos 69 a 128 ⁽³⁾. Os primeiros casos de DMHH associados às mutações *PROP1* foram descritos por Wu and cols. (1998) ⁽⁴⁾, e nele foram descritas três mutações em quatro famílias. A mutação c.358C>T (R120C) foi encontrada em três afetados, enquanto a mutação 301_302delAG foi detectada em seis pacientes, e em uma família foi encontrada a mutação em heterozigose composta c.349T>A/c.301_302delAG em um paciente. No referido trabalho, os pacientes apresentaram deficiência nos hormônios hipofisários avaliados (GH, TSH, FSH, LH, PRL); entretanto, dos dez afetados avaliados, apenas três pacientes foram testados para o eixo hipófise-adrenal, e em nenhum deles foi identificada a deficiência de ACTH. Atualmente, as mutações no gene *PROP1* são a principal causa genética associada ao hipopituitarismo ⁽⁴⁾. O padrão de herança de DMHH causada pelas mutações descritas no gene *PROP1* é autossômico recessivo, por essa razão, os casos familiares são muito mais comuns, especialmente quando há casamentos consanguíneos ⁽⁵⁾.

O objetivo deste trabalho foi elaborar uma revisão da literatura que aborde os dados clínicos e epidemiológicos sobre DMHH associada às mutações no *PROP1* nos últimos 10 anos, no intuito de entender as relações genótipo-fenótipo, avaliar as lacunas e questões em aberto sobre o tema. As perguntas que nortearam a produção desta revisão foram as seguintes: Quais mutações atuais são conhecidas hoje no gene *PROP1*? Mutações idênticas causam variação no fenótipo dos afetados? É possível, a partir do que já é conhecido, estabelecer generalizações novas a respeito das relações genótipo-fenótipo em afetados e heterozigotos?

Materiais e Métodos

Este trabalho consistiu em uma revisão integrativa sobre DMHH associada às mutações no gene *PROP1*, cuja busca foi feita nas bases de dados *US National Library of Medicine* (PubMed), *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (MedLine) e *Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde* (Lilacs), durante o período de 29 de Setembro e 28 de Dezembro de 2015. Os descritores em inglês foram selecionados no *Medical Subject Headings* (MeSH) e em português nos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), sendo escolhidos “hypopituitarism”, “homeodomain proteins”, “genetics” no MeSH e “hipopituitarismo”, “proteínas de homeodomínio”, “genética” no DeCS. Os referidos descritores foram então cruzados utilizando conectivo “AND”. O termo “*PROP1*” não foi utilizado como descritor nesta pesquisa, pois não foi reconhecido no DeCS.

Durante as buscas nas bases de dados, filtros foram utilizados para definição dos artigos a serem analisados. Assim, foram incluídos os diversos tipos de estudos publicados nos últimos 10 anos em inglês, português e espanhol, realizados com seres humanos, conforme pode ser observado no fluxograma abaixo (Figura 1). Foram excluídos estudos realizados em modelos animais e células cultivadas. Adicionalmente foram excluídos todos os artigos que não elucidaram aspectos da relação entre mutações do gene *PROP1* e DMHH. Foram incluídos todos os artigos que descreviam aspectos clínicos, genéticos e epidemiológicos referentes às mutações no gene *PROP1* e DMHH. Após leitura de títulos e resumos dos artigos, 44 trabalhos foram excluídos porque tratavam de outros genes relacionados à DMHH, dois porque avaliavam DMHH de etiologia adquirida e um que descrevia técnica de extração de DNA; 59 estudos foram excluídos por repetição. Desta maneira, foram lidos e utilizados 25 trabalhos completos, que atenderam ao objetivo da presente pesquisa (Figura 1).

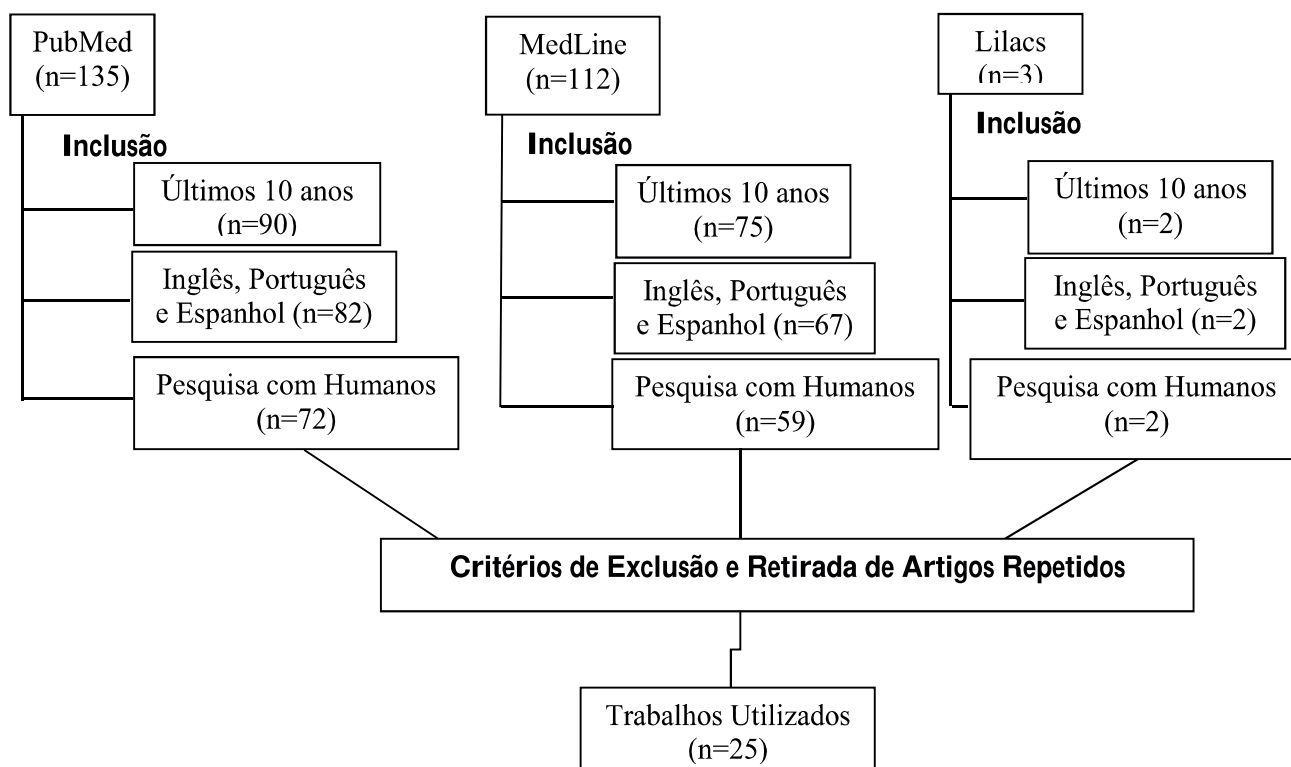


Figura 1. Fluxograma da pesquisa bibliográfica

Resultados e Discussão

Ao todo, foram analisados 25 artigos científicos dos últimos 10 anos nesta revisão sobre DMHH associada às mutações no gene *PROP1*. A maioria dos estudos amostrou populações europeias, sendo que a casuística variou de 1 indivíduo afetado até 82, como mostra a Tabela 1. Os estudos com maior número de casos foram feitos na Alemanha (n= 82), em Porgual (n= 19) e Lituânia (n= 47). A Lituânia é um pequeno país do Centro-Leste da Europa, com uma população de etnia homogênea (aproximadamente 11% tem ascendência russa ou polonesa) e de origem caucasiana, o que pode explicar o motivo do elevado número de pacientes com as mutações analisadas.

A mutação mais comum foi a c.301_302delAG (Tabela 1), descrita pela primeira vez em 1998⁽⁴⁾. Quando detectada a DMHH em um paciente, torna-se interessante observar se os parentes também apresentam indícios da enfermidade^(6,7,8). De fato, a porcentagem de casos familiares variou muito (de 0% a 100%) refletindo o tamanho da amostra estudada (Tabela 1).

Tabela 1: Caracterização dos estudos analisados na revisão segundo ano de publicação, origem da população estudada (local), população amostrada (casuística), porcentagem de casos familiares (familiar) e mutações descritas. A tabela está organizada por ordem alfabética dos autores.

Autores (Referência)	Ano	Local	Casuística	Familiar	Mutações	Tipo/Efeito previsto na proteína
do Amaral and cols. ⁽²²⁾	2007	Brasil	2	100%	c.301_302delAG	
Fernandez-Rodriguez and cols. ⁽¹⁹⁾	2011	Espanha	2	100%	c.301_302delAG	
Georgopoulos and cols. ⁽¹⁵⁾	2006	Grécia	2	100%	c.301_302delAG	
Halász and cols. ⁽¹⁶⁾	2006	Hungria	4	0	c.301_302delAG	
Lemos and cols. ⁽¹²⁾	2006	Portugal	14	85,7%	c.301_302delAG	
Navardauskaite and cols. ⁽¹⁰⁾	2014	Lituânia	47	48%	c.301_302delAG	Deleção (<i>frameshift</i>) / Truncagem no códon 109
Obermannova and cols. ⁽⁸⁾	2011	Alemanha	82	49%	c.301_302delAG	
Skowronska-Jozwiak and cols. ⁽²⁴⁾	2011	Polônia	1	0	c.301_302delAG	
Vieira and cols. ⁽⁶⁾	2007	Brasil	5	55,5%	c.301_302delAG	
Vieira and cols. ⁽¹³⁾	2006	Brasil	2	100%	c.301_302delAG	
Wassner and cols. ⁽¹¹⁾	2013	EUA	2	100%	c.301_302delAG	
Zimmermann and cols. ⁽²¹⁾	2007	Alemanha	5	100%	c.301_302delAG	
Zygmunt-Górska and cols. ⁽¹⁴⁾	2009	Polônia	2	0%	c.301_302delAG	
Abrão and cols. ⁽²⁶⁾	2006	Brasil	2	100%	Deleção completa do <i>PROP1</i>	
Hemchand and cols. ⁽²⁰⁾	2011	Índia	1	0	Deleção completa do <i>PROP1</i>	Deleção / 0
Kelberman and cols. ⁽²⁵⁾	2009	Inglaterra	2	100%	Deleção completa do <i>PROP1</i>	
Zhang and cols. ⁽¹⁸⁾	2010	China	4	75%	Deleção completa do <i>PROP1</i>	
Lemos and cols. ⁽¹²⁾	2006	Portugal	3	100%	c.358C>T	
Nystrom and cols. ⁽¹⁷⁾	2011	Suécia	2	100%	c.358C>T	<i>Missense</i> / Mudança de aminoácido R120C

Vieira and cols. (6)	2007	Brasil	2	100%	c.358C>T	
Andrikoula and cols. (23)	2013	Grécia	1	0	c.218G>A	<i>Missense</i> / Mudança de aminoácido R73H
Kandemir and cols. (7)	2012	Turquia	2	100%	c.149_150delAG	Deleção (<i>frameshift</i>) / Truncagem no códon 109
Kelberman and cols. (25)	2009	Inglaterra	4	100%	c.343-11C>G	Sítio de <i>splicing</i> / Truncagem
Vieira and cols. (6)	2007	Brasil	2	100%	c.296G>A	<i>Missense</i> / Mudança de aminoácido R99Q
Lemos and cols. (12)	2006	Portugal	2	100%	c.2T>C	Códon de iniciação / Sem tradução
Halász and cols. (16)	2006	Hungria	4	0	c.150delA	Deleção (<i>frameshift</i>) / Truncagem no códon 164
Halász and cols. (16)	2006	Hungria	1	0	c.217C>T	<i>Missense</i> / Mudança de aminoácido R73C
Halász and cols. (16)	2006	Hungria	1	0	c.349T>A	<i>Missense</i> / Mudança de aminoácido F117I
Nose and cols. (27)	2006	Japão	2	100%	467_468insT	Inserção / Perda do domínio de ativação da transcrição

EUA: Estados Unidos da América; 0: Não foi descrito.

Nos estudos analisados foram descritas 12 mutações diferentes no gene *PROP1*, conforme mostra a Tabela 1. A proteína produto do *PROP1* funciona como um dímero. Ela tem 60 pares de bases que se encaixam em regiões específicas do DNA para ativar o gene *POU1F1*, que também é um fator de transcrição. As mutações no gene *PROP1* acarretam diferentes efeitos deletérios na transcrição proteica, ocasionando mudanças na ontogênese pituitária⁽⁹⁾.

O principal indicador de DMHH na infância é o atraso no desenvolvimento e crescimento da criança, que pode ser observado no acompanhamento pela Curva de Crescimento. Outras manifestações observadas em crianças com DMHH causada por mutações no *PROP1* foram descritas em apenas três artigos dos 25 analisados, conforme mostra a Tabela 2. Os outros 22 artigos não citavam as características clínicas observadas ao nascimento e nos primeiros anos de vida dos afetados pelas mutações. A criptorquidia é

preditora da deficiência de gonadotrofina na fase adulta. Em alguns casos, a descida testicular ocorre espontaneamente até dois anos de idade, caso contrário será necessário procedimento cirúrgico. Observou-se que pacientes recém-nascidos com alterações no *PROP1* apresentaram icterícia neonatal prolongada; no entanto, não está claro o motivo disso. Já a presença de hipóxia neonatal é situação rara, citada em apenas um trabalho e com baixa prevalência ⁽¹⁰⁾.

Tabela 2: Manifestações clínicas iniciais descritas na literatura analisada

Autores	Mutações	Clínica	Prevalência (%)
Navardauskaite and cols. ⁽¹⁰⁾	c.301_302delAG	Criptorquidia	31
Navardauskaite and cols. ⁽¹⁰⁾	c.301_302delAG	Hipóxia neonatal	6,5
Navardauskaite and cols. ⁽¹⁰⁾	c.301_302delAG	Icterícia neonatal prolongada	13
Wassner and cols. ⁽¹¹⁾	c.301_302delAG	Hiperbilirrubinemia	50
Kelberman and cols. ⁽²⁵⁾	c.343-11C>G	Testículos pequenos	25
Kelberman and cols. ⁽²⁵⁾	c.343-11C>G	Micropênis	25
Kelberman and cols. ⁽²⁵⁾	Deleção completa do <i>PROP1</i>	Icterícia neonatal prolongada	50

Dos 25 estudos analisados, 16 (64%) avaliaram as dosagens de GH e IGF1 envolvendo 194 afetados, e mostraram que, em praticamente 100% dos casos, independentemente da mutação, havia redução na produção desses hormônios. Em uma pesquisa realizada por Obermannova and cols. (2011) ⁽⁸⁾ com 82 pacientes, a prevalência de dano ao crescimento foi comprovada em 76 (92,7%) indivíduos. No entanto, cinco pacientes não realizaram a dosagem hormonal que caso tivesse sido feita, possivelmente teria mostrado déficit hormonal na quase totalidade dos afetados. Em outro estudo, feito por Wassner and cols. (2013) ⁽¹¹⁾ com dois irmãos afetados, um deles não apresentou déficit hormonal ao crescimento. Isso poderia ser explicado pelo fato do paciente ter sido avaliado com apenas seis meses de vida. A dosagem deveria ter sido repetida para garantir maior precisão à informação. Os dados indicam que as baixas dosagens dos hormônios GH e IGF1 representam provavelmente uma característica comum a todos os pacientes com uma expressão insuficiente do gene *PROP1*.

Alguns autores relataram que a perda da velocidade de crescimento ocorre de forma mais proeminente entre um e três anos ⁽¹⁰⁾, enquanto outros mostraram dano mais tardio em crianças com 10 anos de idade ⁽⁶⁾, conforme pode ser observado na Tabela 3. Torna-se importante relatar, entretanto, que diversos pacientes não têm acesso aos testes hormonais nos primeiros anos de vida notadamente em países subdesenvolvidos, o que pode retardar o diagnóstico das deficiências hipofisárias ⁽⁶⁾. Desta forma, ainda não é consenso na literatura o

período do ciclo de vida em que ocorre o déficit de GH, sendo necessária avaliação constante por parte do endocrinologista com vistas a garantir a intervenção mais rápida para mitigar o efeito da deficiência hormonal ⁽¹²⁾. Essa intervenção é importante porque os pacientes com alterações no *PROP1* podem atingir a altura alvo (geneticamente esperada), desde que o tratamento com somatotrofina seja feito em idade adequada ⁽¹³⁾. Observou-se também que filhos de pais com baixa estatura tendem a ser mais severamente afetados ⁽¹⁰⁾.

Da totalidade dos estudos, 16 (64%) avaliaram as dosagens de TSH e T4 livre envolvendo casuística de 194 afetados, e também mostraram que em praticamente 100% dos casos, independentemente da mutação, a perda da função da proteína codificada pelo *PROP1* acarretava queda na síntese de tireotrofina. Em um estudo todos os 77 pacientes que realizaram a avaliação hormonal mostraram deficiência tireoidiana. No entanto, cinco pacientes não foram submetidos à análise da glândula tireoide, o que explica a porcentagem de afetados inferior a 100% encontrada entre os indivíduos que participaram deste trabalho ⁽⁸⁾.

A concentração dos hormônios tireoidianos está baixa ou no limite inferior da normalidade em pacientes afetados pelas alterações genéticas ⁽¹⁰⁾ e o hipotireoidismo cursa com ressecamento cutâneo, sonolência e fadiga; ele raramente leva ao cretinismo ⁽¹¹⁾; embora possa haver prejuízo ao desenvolvimento intelectual. Uma vez reconhecida a deficiência de tireotrofina em pacientes com mutações no *PROP1*, faz-se necessário investigar as demais trofinas, pois diversas vezes a clínica isolada não é elucidativa ⁽⁸⁾. Quanto mais precoce é determinado o diagnóstico de hipopituitarismo e iniciada a terapia, melhores são os resultados obtidos quanto à preservação da morfofuncionalidade ⁽¹⁰⁾.

Onze estudos (44%) avaliaram as dosagens do eixo gonadotrófico envolvendo 177 afetados, e também mostraram que em praticamente 100% dos casos, independentemente da mutação, havia redução na produção de hormônios sexuais (Tabela 3). Os pacientes só apresentam esse tipo de dano na adolescência, o que justificaria a menor prevalência, encontrada em dois estudos ^(8,10) analisados na Tabela 3. Caso as gonadotrofinas sejam afetadas, o desenvolvimento dos caracteres sexuais atrasa, torna-se incompleto ou até mesmo ausente. Certos indivíduos entram na puberdade normalmente, no entanto por volta dos 15-20 anos desenvolvem manifestações de hipogonadismo central ⁽¹⁰⁾.

As dosagens do eixo adrenocorticotrófico envolvendo 182 afetados foram realizadas em 14 (56%) dos estudos analisados, e mostraram uma prevalência menor da deficiência de ACTH quando comparada aos outros hormônios, independentemente do tipo da mutação (Tabela 3). Conjecturou-se, inicialmente, que a deficiência de ACTH era situação muito rara; no entanto, hoje é sabido que quantidade considerável dos pacientes com hipopituitarismo

congenito de causa genética apresenta algum grau de insuficiência adrenal ^(6,8,10,12). Lemos and cols. (2006) ⁽¹²⁾ sugeriram que pacientes com mutações c.358C>T poderiam apresentar certo grau de atividade residual no gene, o que supostamente garantiria que estes indivíduos não desenvolvessem deficiência de ACTH. No entanto, tal hipótese foi reavaliada no ano seguinte quando Vieira and cols. (2007) ⁽⁶⁾ relataram dois pacientes com a mesma mutação e importante deficiência no eixo adenocorticotrófico.

Lemos and cols. (2006) ⁽¹²⁾ enfatizaram que todos os pacientes com mutações no *PROP1* precisam ter o eixo hipófise-adrenal monitorizado de forma permanente, visto que a insuficiência adrenal deve ocorrer entre a segunda e quarta década de vida. Sabe-se que a perda aguda de ACTH pode levar ao óbito caso não haja rápido atendimento ⁽¹⁰⁾. A bibliografia avaliada não mostrou o porquê de apenas alguns pacientes acometidos pelas mutações chegaram a este desfecho.

Tabela 3: Relação entre a presença de mutações no gene *PROP1* e a deficiência de hormônios hipofisários, considerando o tamanho da amostra e a idade do diagnóstico.

REF	Mutações	Deficiências de Hormônios	Casos	Idade do Diagnóstico	Porcentagem de afetados (%)
8			82	-	92,7
12			14	-	100
10			47	1-3 anos	100
16			4	4-8 anos	100
11	c.301_302delAG	GH/IGF1	2	5 anos	50
21			5	5-14 anos	100
15			2	6-14 anos	100
19			2	6-17 anos	100
6			5	Até 10 anos	100
14			2	18 anos	100
23	c.218G>A	GH/IGF1	1	-	100
7	c.149_150delAG	GH/IGF1	2	-	100
26			2	7-10 anos	100
25	Deleção completa do <i>PROP1</i>	GH/IGF1	2	11-13 anos	100
20			1	16 anos	100
25	c.343-11C>G	GH/IGF1	4	8 meses-2 anos	100
6	c.296G>A	GH/IGF1	2	Até 10 anos	100
12	c.358C>T	GH/IGF1	3	-	100
6			2	Até 10 anos	100
12	c.2T>C	GH/IGF1	2	-	100

16	c.150delA	GH/IGF1	4	4-8 anos	100
16	c.217C>T	GH/IGF1	1	4-8 anos	100
16	c.349T>A	GH/IGF1	1	4-8 anos	100
27	467_468insT	GH/IGF1	2	4-9 anos	100
8			82	-	93,9
12			14	-	100
11			2	6 meses-3 anos	100
10			47	5-6 anos	100
16	c.301_302delAG	TSH/T4L	4	5-8 anos	100
21			5	5-14 anos	100
15			2	6 anos	100
19			2	6-31 anos	100
6			5	Até 10 anos	100
14			2	18 anos	100
23	c.218G>A	TSH/T4L	1	-	100
7	c.149_150delAG	TSH/T4L	2	-	100
26			2	10-14 anos	100
25	Deleção completa do <i>PROP1</i>	TSH/T4L	2	11-13 anos	100
20			1	16 anos	100
25	c.343-11C>G	TSH/T4L	4	2-5 anos	100
6	c.296G>A	TSH/T4L	2	Até 10 anos	100
12	c.358C>T	TSH/T4L	3	-	100
6			2	Até 10 anos	100
12	c.2T>C	TSH/T4L	2	-	100
16	c.150delA	TSH/T4L	4	5-8 anos	100
16	c.217C>T	TSH/T4L	1	5-8 anos	100
16	c.349T>A	TSH/T4L	1	5-8 anos	100
27	467_468insT	TSH/T4L	2	4-9 anos	100
10			47	-	50
8			82	-	64,6
12			14	-	100
6	c.301_302delAG	LH/FSH	5	Adolescência	100
21			5	13-14 anos	100
19			2	14-31 anos	100
15			2	15 anos	100
14			2	18 anos	100
25			2	13-14 anos	100
26	Deleção completa do <i>PROP1</i>	LH/FSH	2	14-16 anos	100
20			1	16 anos	100
25	c.343-11C>G	LH/FSH	4	13-14 anos	100
6	c.296G>A	LH/FSH	2	Adolescência	100
12	c.358C>T	LH/FSH	3	-	100
6			2	Adolescência	100
12	c.2T>C	LH/FSH	2	-	100
11			2	-	0
8			82	-	45,1
21			5	-	0

15			2	-	0
6	c.301_302delAG	ACTH/cortisol	5	2ª década	100
12			14	11-36 anos	42
10			47	13-14 anos	43
19			2	14-31 anos	100
14			2	20 anos	100
23	c.218G>A	ACTH/cortisol	1	-	100
20			1	-	0
25	Deleção completa do <i>PROP1</i>	ACTH/cortisol	2	15 anos	50
26			2	16 anos	50
25	c.343-11C>G	ACTH/cortisol	4	13-14 anos	50
6	c.296G>A	ACTH/cortisol	2	-	0
12	c.358C>T	ACTH/cortisol	3	-	0
6			2	2ª década	100
12	c.2T>C	ACTH/cortisol	2	11-36 anos	100
27	467_468insT	ACTH/cortisol	2	-	0

ACTH: adrenocorticotrofina; FSH: hormônio folículo-estimulante; GH: hormônio do crescimento; IGF1: fator de crescimento semelhante à insulina; LH: hormônio luteinizante; REF: referência; T4L: T4 livre; TSH: tireotrofina.

Vieira and cols. (2006) ⁽¹³⁾ realizaram investigações laboratoriais dos hormônios de pacientes com mutações no *PROP1*. Os autores relataram respostas mínimas ou ausentes aos estímulos com hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), hormônio liberador da tireotrofina (TRH), hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e hormônio liberador do hormônio de crescimento (GHRH), visto que a adeno-hipófise não responde aos estímulos (13).

Ao todo, 13 estudos estabeleceram relações entre mutações no *PROP1* e resultados de neuroimagem (Tabela 4). Isso indica que a investigação por meio de imagem é importante nos casos de diagnóstico de DMHH. Na Tabela 4, observa-se que, em crianças e adolescentes, é comum a ressonância nuclear magnética (RNM) revelar uma adeno-hipófise hiperplásica e com alterações císticas ⁽²²⁾. Já Kelberman and cols. (2009) ⁽²⁵⁾ descreveram os casos de quatro adultos que apresentavam hipoplasia da adenohipófise. Habitualmente, observa-se um modelo em que há aumento do volume da pituitária na infância, pico na adolescência e regressão na idade adulta, independente do sexo ⁽⁸⁾. A natureza da hiperplasia da hipófise transitória ainda não é bem compreendida ou detalhada em nenhum dos artigos citados. Chama atenção um caso raro revelado por Lemos and cols. (2006) ⁽¹²⁾, no qual um adulto de 27 anos ainda apresentava massa hipofisária, contrariando dados desta revisão. Talvez tal achado esteja associado a um tumor de outra natureza, não relacionado às mutações no *PROP1*.

Zygmunt-Górska and cols. (2009) ⁽¹⁴⁾ mostraram o caso de dois indivíduos portadores de mutações *PROP1*, com idades de 4 e 18 anos, os quais foram submetidos a procedimentos neurocirúrgicos devido a presença de massas hipofisárias. A análise histopatológica da peça cirúrgica revelou apenas a presença de células epiteliais formando estruturas microcísticas, a maioria cheia de colóide eosinofílico, sem atipia ou quaisquer vestígios de atividade proliferativa. Tratava-se de hiperplasia cística, o que evidenciou ser desnecessária a conduta de cirurgia para os casos de DMHH causadas por mutações no *PROP1*⁽¹⁴⁾. As cirurgias desnecessárias aumentam o risco de desenvolvimento de sequelas. Para estes casos, espera-se que haja regressão das massas hipofisárias com a idade. Nos 13 artigos analisados, os autores são unânimes em afirmarem que, em pacientes portadores de mutações no *PROP1*, a neuro-hipófise é tópica e não sofre danos.

Tabela 4: Relação entre a presença de mutações no gene *PROP1* e os achados da RNM

AUTORES	MUTAÇÃO	ADENOHIPÓFISE	CASOS	IDADE
do Amaral and cols. ⁽²²⁾	c.301_302delAG	↑ (100%)	2	7 e 10 anos
Fernandez-Rodriguez and cols. ⁽¹⁹⁾	c.301_302delAG	↓ (100%)	2	34 e 49 anos
Georgopoulos and cols. ⁽¹⁵⁾	c.301_302delAG	Normal (100%)	2	-
Lemos and cols. ⁽¹²⁾	c.301_302delAG	↓ ou sela vazia (92,8%), ↑ (7,2%)	14	18-64 anos
Navardauskaite and cols. ⁽¹⁰⁾	c.301_302delAG	↓ (33%), Normal (45%), ↑ (22%)	47	3-24 anos
Obermannova and cols. ⁽⁸⁾	c.301_302delAG	↓, Normal e ↑	82	2-72 anos
Skowronska-Jozwiak and cols. ⁽²⁴⁾	c.301_302delAG	↓ (100%)	1	52 anos
Vieira and cols. ⁽⁶⁾	c.301_302delAG	↓ (20%), Normal (80%)	5	8-24 anos
Zimmermann and cols. ⁽²¹⁾	c.301_302delAG	↓ (100%)	5	-
Zygmunt-Górska and cols. ⁽¹⁴⁾	c.301_302delAG	↑ (100%)	2	4 e 18 anos
Abrão and cols. ⁽²⁶⁾	Deleção completa do <i>PROP1</i>	↓ (50%), ↑ (50%)	2	14 e 18 anos
Kelberman and cols. ⁽²⁵⁾	Deleção completa do <i>PROP1</i>	↓ (50%), ↑ (50%)	2	13 e 14 anos
Lemos and cols. ⁽¹²⁾	c.358C>T	↓ ou sela vazia (100%)	3	57-66 anos
Vieira and cols. ⁽⁶⁾	c.358C>T	↓ (100%)	2	39 e 41 anos
Vieira and cols. ⁽⁶⁾	c.296G>A	↓ (100%)	2	25 e 26 anos

Kelberman and cols. (25)	c.343-11C>G	↓ (100%)	4	19-21 anos
Lemos and cols. (12)	c.2T>C	↓ (100%)	2	30 e 42 anos
Nose and cols. (27)	467_468insT	↓ (100%)	2	4 e 8 anos

RNM: ressonância nuclear magnética; ↓: hipoplasia; ↑: hiperplasia.

Implicações

O acompanhamento da velocidade de crescimento de crianças é feito por meio da Caderneta de Saúde da Criança nas visitas regulares feitas ao pediatra ou médico da Estratégia Saúde da Família (ESF). Caso seja observado crescimento lento e baixa estatura em relação ao esperado, é importante que o médico solicite as dosagens de hormônios do crescimento e tireoidianos para detectar precocemente a DMHH⁽¹⁰⁾. Na análise da literatura realizada neste estudo, verificou-se que ocorrem deficiências desses hormônios em praticamente 100% das crianças com mutações *PROP1*. Considerando que as mutações no *PROP1* são responsáveis por mais de 10% de todas as causas de DMHH⁽¹⁰⁾, entendemos que a investigação precoce dos hormônios citados pode ser uma importante evidência de alterações no *PROP1* e indicação para triagem genética das mutações neste gene. O diagnóstico precoce de DMHH causada por mutações no *PROP1* é fundamental para evitar a realização de exames de imagem de repetição e cirurgias desnecessárias⁽¹⁴⁾. De fato, observou-se que há uma regressão da hiperplasia da hipófise nos pacientes e que qualquer cirurgia deve ser adiada tanto tempo quanto possível ou evitada, pois ela não é necessária⁽⁸⁾.

Na literatura analisada, verificou-se que todos os pacientes com mutações no gene *PROP1* apresentam deficiência dos hormônios GH, TSH, FSH, LH e PRL. Entretanto, há variabilidade na prevalência da deficiência dos níveis de ACTH, que até o momento não foi completamente elucidada. Em 2013, Andrikoula and cols.⁽²³⁾ mostraram que o gene *PROP1* não é expresso nas linhagens de corticotrofos, responsáveis pela produção de ACTH.

Esta revisão também mostrou que a maioria dos casos estabelecidos de alterações no *PROP1* está na Europa, possivelmente pela maior presença de caucasianos nesta parte do globo, além disso, foi verificado que grande parte dos casos tem caráter familiar⁽¹⁰⁾. A prevalência de afetados por DMHH causado por mutações no *PROP1* deve ser maior em populações descendentes de europeus e com elevada prevalência de casamentos consanguíneos^(6,10,12), tendo em vista que as mutações até então identificadas no *PROP1* associadas a DMHH são autossômicas recessivas. No Brasil, as populações nordestinas

devem ter mais risco de manifestação devido às elevadas taxas de consanguinidade ⁽²⁸⁾. Vieira and cols. (2006) ⁽¹³⁾ identificaram casos familiares de afetados pelas mutações *PROP1* em famílias consanguíneas.

Outra lacuna identificada nos estudos é a ausência de trabalhos para estabelecer relações genótipo-fenótipo envolvendo indivíduos heterozigotos para as mutações no gene *PROP1*. Os indivíduos que carregam a mutação devem produzir uma quantidade menor de proteína ativadora do gene *POU1F1*, então será que eles têm altura menor do que a média da população? Será que a produção de hormônios têm maior variação nesses indivíduos heterozigotos e efeito na sua qualidade de vida? A avaliação das trofinas no grupo de indivíduos heterozigotos para mutações no gene *PROP1*, bem como de outros genes envolvidos na regulação de hormônios pode ser uma importante ferramenta para estabelecer relações entre variação genotípica e fenotípica nas populações. Nenhum estudo discutiu essa questão que está aberta na literatura.

Em relação às limitações desta revisão, podemos dizer que o estabelecimento do critério de inclusão de um período de tempo dos últimos dez anos acabou por excluir as publicações de algumas mutações descritas antes de 2006. Por exemplo, no banco de dados Online Mendelian Inheritance in Man (*OMIM*) há 13 mutações descritas em levantamento feito em setembro de 2016; das quais quatro não foram reportadas nesta revisão: 263T>C ⁽²⁹⁾, 112_124del ⁽³⁰⁾; 295C>T ⁽³¹⁾, 582G>A ⁽³²⁾. Na revisão de Graaff (2014) ⁽³³⁾ sobre *PROP1* relacionada à DMHH, que é atualizada periodicamente, foram reportadas 17 mutações patogênicas no *PROP1*, das quais quatro delas não foram relatadas nesta revisão devido ao filtro do período de tempo: 112_124del ⁽³⁰⁾; 157delA ⁽³⁴⁾, heterozigoto composto 211C>T + 212C>A ⁽³⁵⁾; 582G>A ⁽³²⁾. Em contrapartida, há quatro mutações descritas neste trabalho que não foram reportadas no *OMIM* (deleção completa do *PROP1*, c343-11C>G, 2T>C, 467_468insT) e outras quatro diferentes de Graaf ⁽³³⁾ (358C>T; 149_150delAG; c296G>A; c349T>A). Por outro lado, verificamos que bancos de dados diferentes apresentam também variação no número e nas mutações descritas para *PROP1*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio da Universidade Estadual da Paraíba, e financiamento da FAPESQ e CNPq referente ao Edital PPSUS (Termo 015/2014) e a CAPES.

Referências

1. Romero CJ, Nesi-França S, Radovick S. The molecular basis of hypopituitarism. *Trends Endocrinol Metab.* 2009;20(10):506-16.
2. Sornson MW, Wu W, Dasen JS, Flynn SE, Norman DJ, O'Connell SM, et al. Pituitary lineage determination by the Prophet of Pit-1 homeodomain factor defective in Ames dwarfism. *Nature.* 1996;384:327-33.
3. Treier M, Rosenfeld MG. The hypothalamic-pituitary axis co-development of two organs. *Curr Opin Cell Bio.* 1996;8:833-43.
4. Wu WCJ, Pläffle RW. Mutations in *PROP1* cause familial combined pituitary hormone deficiency. *Nat Genet.* 1998; 18:147-49.
5. Kelberman D, Dattani MT. The role of transcription factors implicated in anterior pituitary development in the aetiology of congenital hypopituitarism. *Ann Med.* 2006;38(8):560-77.
6. Vieira TC, Boldarine VT, Abucham J. Molecular analysis of *PROP1*, *PIT1*, *HESX1*, *LHX3*, and *LHX4* shows high frequency of *PROP1* mutations in patients with familial forms of combined pituitary hormone deficiency. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2007;51(7):1097-103.
7. Kandemir N, Vuralli D, Taskiran E, Gonç N, Ozon A, Alikasifoglu A, et al. Frequency of mutations in *PROP-1* gene in Turkish children with combined pituitary hormone deficiency. *Turk J Pediatr.* 2012;54(6):570-5.
8. Obermannova B, Pfaeffle R, Zygmunt-Gorska A, Starzyk J, Verkauskiene R, Smetanina N, et al. Mutations and pituitary morphology in a series of 82 patients with *PROP1* gene defects. *Horm Res Paediatr.* 2011;76(5):348-54.
9. Sugiyama Y, Ikeshita N, Shibahara H, Yamamoto D, Kawagishi M, Iguchi G, et al. A *PROP1*-binding factor, AES cloned by yeast two-hybrid assay represses *PROP1*-induced Pit-1 gene expression. *Mol Cell Endocrinol.* 2013;376(1-2):93-8.
10. Navardauskaite R, Dusatkova P, Obermannova B, Pfaeffle RW, Blum WF, Adukauskiene D, et al. High prevalence of *PROP1* defects in Lithuania: phenotypic findings in an ethnically homogenous cohort of patients with multiple pituitary hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(1):299-306.
11. Wassner AJ, Cohen LE, Hechter E, Dauber A. Isolated central hypothyroidism in young siblings as a manifestation of *PROP1* deficiency: clinical impact of whole exome sequencing. *Horm Res Paediatr.* 2013;79(6):379-86.
12. Lemos MC, Gomes L, Bastos M, Leite V, Limbert E, Carvalho D, et al. *PROP1* gene analysis in Portuguese patients with combined pituitary hormone deficiency. *Clin Endocrinol.* 2006;65(4):479-85.
13. Vieira TC, da Silva MR, Abucham J. The natural history of the R120C *PROP1* mutation reveals a wide phenotypic variability in two untreated adult brothers with combined pituitary hormone deficiency. *Endocrine.* 2006;30(3):365-9.
14. Zygmunt-Górska A, Starzyk J, Adamek D, Radwanska E, Sucharski P, Herman-Sucharska I, et al. Pituitary enlargement in patients with *PROP1* gene inactivating mutation represents cystic hyperplasia of the intermediate pituitary lobe. Histopathology and over 10 years follow-up of two patients. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2009;22(7):653-60.
15. Georgopoulos NA, Katsikis I, Giamalis P, Koika V, Adonakis G, Kourtis A, et al. Long-term follow up of combined pituitary hormone deficiency in two siblings with a Prophet of Pit-1 gene mutation. *Gynecol Endocrinol.* 2006;22(12):704-9.

16. Halász Z, Toke J, Patócs A, Bertalan R, Tombol Z, Sallai A, et al. High prevalence of *PROP1* gene mutations in Hungarian patients with childhood-onset combined anterior pituitary hormone deficiency. *Endocrine*. 2006;30(3):255-60.
17. Nystrom HF, Saveanu A, Barbosa EJ, Barlier A, Enjalbert A, Glad C, et al. Detection of genetic hypopituitarism in an adult population of idiopathic pituitary insufficiency patients with growth hormone deficiency. *Pituitary*. 2011;14(3):208-16.
18. Zhang H, Wang Y, Han L, Gu X, Shi D. A large deletion of *PROP1* gene in patients with combined pituitary hormone deficiency from two unrelated Chinese pedigrees. *Horm Res Paediatr*. 2010;74(2):98-105.
19. Fernandez-Rodriguez E, Quinteiro C, Barreiro J, Marazuela M, Pereiro I, Peinó R, et al. Pituitary stalk dysgenesis-induced hypopituitarism in adult patients: prevalence, evolution of hormone dysfunction and genetic analysis. *Neuroendocrinology*. 2011;93(3):181-8.
20. Hemchand K, Anuradha K, Neeti S, Vaman K, Roland P, Werner B, et al. Entire prophet of Pit-1 (*PROP-1*) gene deletion in an Indian girl with combined pituitary hormone deficiencies. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2011;24(7-8):579-80.
21. Zimmermann A, Schenk JP, Grigorescu Sido P, Pfaffle R, Lazea C, Zimmermann T, et al. MRI findings and genotype analysis in patients with childhood onset growth hormone deficiency – correlation with severity of hypopituitarism. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2007;20(5):587-96.
22. do Amaral LL, Ferreira RM, Ferreira NP, Mendonça RA, Marussi VH, da Cunha JL, et al. Combined pituitary hormone deficiency and *PROP-1* mutation in two siblings: a distinct MR imaging pattern of pituitary enlargement. *Am J Neuroradiol*. 2007;28(7):1369-70.
23. Andrikoula M, Sertedaki A, Andrikoula S, Dacou-Voutetakis C, Tsatsoulis A. *PROP-1* gene mutations in a 63-year-old woman presenting with osteoporosis and hyperlipidaemia. *Hormones*. 2013;12(1):128-34.
24. Skowronska-Jozwiak E, Wierzbinski P, Talarowska M, Galecki P, Florkowski A, Drobnik K, et al. Psychotic disturbances in an adult female patient with congenital hypopituitarism due to mutation in *PROP1* gene. *Neuro Endocrinol Lett*. 2011;32(6):741-7.
25. Kelberman D, Turton JP, Woods KS, Mehta A, Al-Khawari M, Greening J, et al. Molecular analysis of novel *PROP1* mutations associated with combined pituitary hormone deficiency (CPHD). *Clin Endocrinol*. 2009;70(1):96-103.
26. Abrão MG, Leite MV, Carvalho LR, Billerbeck AEC, Nishi MY, Barbosa AS, et al. Combined pituitary hormone deficiency (CPHD) due to a complete *PROP1* deletion. *Clin Endocrinol*. 2006;65(3):294-300.
27. Nose O, Tatsumi K, Nakano Y, Amino N. Congenital combined pituitary hormone deficiency attributable to a novel *PROP1* mutation (467insT). *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2006;19(4):491-8.
28. Weller M, Tanieri M, Pereira JC, Almeida Edos S, Kok F, Santos S. Consanguineous unions and the burden of disability: a population-based study in communities of Northeastern Brazil. *Am J Hum Biol*. 2012;24(6):835-40.
29. Osorio MGF, Kopp P, Marui S, Latronico AC, Mendonca BB, Arnhold IJP. Combined pituitary hormone deficiency caused by a novel mutation of a highly conserved residue (F88S) in the homeodomain of *PROP-1*. *J. Clin. Endocr. Metab*. 2000; 85: 2779-85.
30. Agarwal G, Bhatia V, Cook S, Thomas PQ. Adrenocorticotropin deficiency in combined pituitary hormone deficiency patients homozygous for a novel *PROP1* deletion. *J. Clin. Endocr. Metab*. 2000; 85: 4556-61.
31. Vallette-Kasic S, Barlier A, Teinturier C, Diaz A, Manavela M, Berthezene F, et al. *PROP1* gene screening in patients with multiple pituitary hormone deficiency reveals two sites of hypermutability and a high incidence of corticotroph deficiency. *J. Clin. Endocr. Metab*. 86; 4529-35, 2001.

32. Reynaud R, Barlier A, Vallette-Kasic S, Saveanu A, Guillet MP, Simonin G, et al. An uncommon phenotype with familial central hypogonadism caused by a novel PROP1 gene mutant truncated in the transactivation domain. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2005; 90: 4880-87.
33. de Graaff. LCG. PROP1-Related Combined Pituitary Hormone Deficiency. GeneReviews [Internet]. [Última atualização: 7 de agosto de 2014].
34. Tatsumi KI, Kikuchi K, Tsumura K, Amino N. A novel PROP1 gene mutation (157delA) in Japanese siblings with combined anterior pituitary hormone deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; 61:635–40.
35. Paracchini R, Giordano M, Corrias A, Mellone S, Matarazzo P, Bellone J, et al. Two new PROP1 gene mutations responsible for compound pituitary hormone deficiency. *Clin Genet.* 2003; 64:142–7.

ARTIGO 2

***Cluster* de hipopituitarismo causado pela mutação (c.301_302delAG) no *PROP1* em família consanguínea do nordeste brasileiro**

Hypopituitarism *cluster* caused by mutation (c.301_302delAG) in *PROP1* in consanguineous family in northeastern Brazil

Categoria: Original

Área: Medicina e Saúde Coletiva

Thiago de Almeida Pequeno¹, Thalita Figueiredo Cunha¹, Mathias Weller¹, Silvana Santos¹
¹Núcleo de Estudos em Genética e Educação, Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, Campina Grande-PB, Brasil.

Endereço para correspondência:

Silvana Cristina dos Santos

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Avenida das Baraúnas 351 (CIAC – sala 329) – CAMPUS UNIVERSITÁRIO

CEP: 58109-753 – Campina Grande, PB – Brasil.

Email: silvanaipe@gmail.com

Título curto: *Cluster* de hipopituitarismo causado pela mutação no *PROP1*

Short Title: Hypopituitarism *cluster* caused by *PROP1* mutation

Resumo

Introdução: A Deficiência Múltipla de Hormônios Hipofisários (DMHH) revela-se pela perda da ação de dois ou mais hormônios da pituitária, tendo prevalência de 30 a 45,5 afetados por 100000 habitantes, e pode ser adquirida ou genética. Mutações no gene *PROP1* são a principal causa genética do hipopituitarismo (13,3% de todas as causas), tendo maior prevalência na Europa e levando a deterioração da hipófise anterior. **Material e Métodos:** Tratou-se de um estudo transversal de base populacional, realizado em seis municípios do interior da Paraíba e no Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC) em Campina Grande-PB. Na etapa final deste trabalho, 24 pacientes foram submetidos à avaliação genética para detecção de mutações no gene *PROP1*. Os exons 1 a 3 do gene *PROP1*, compreendendo toda a região codificante, foram amplificados por PCR utilizando *primers* intrônicos e sequenciamentos pelo método de Sanger. Aqueles que tiveram as mutações confirmadas puderam realizar exames laboratoriais que avaliavam crescimento, função tireoidiana, desenvolvimento sexual e possível agravo adrenal. **Resultados e Discussão:** No exon 2 do gene *PROP1* foi identificada, em oito afetados, a deleção de dois nucleotídeos (AG) na posição c.301_302 do cDNA em homozigose que gera uma mutação tipo *frameshift* [p.(Leu102Cysfs*8)]. Os exames hormonais para avaliação das trofinas revelaram deficiência de hormônio do crescimento (GH) e do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF1) nos seis pacientes que aceitaram fazer os testes. Em três deles foi confirmado o hipogonadismo hipogonadotrófico; e três não atingiram idade para avaliação. Todos os indivíduos testados apresentavam distúrbio da função tireoidiana, e três deles tinham hipocortisolismo, sugerindo insuficiência adrenal. Nas pessoas acometidas pelas alterações no *PROP1*, a mutação c.301_302delAG é a mais prevalente. Deficiências de GH e IGF1 são danos hormonais muito comuns. Hipotireoidismo e hipogonadismo são outras situações possíveis que demandam correção. A redução de ACTH, apesar de mais rara, pode levar ao óbito. **Conclusão:** Estes resultados evidenciam a existência de um *cluster* da mutação c.301_302delAG do gene *PROP1* em uma população do nordeste brasileiro, o que evidencia a necessidade de ampliar a investigação genética na região para ofertar aconselhamento genético e tratamento adequado aos pacientes. A reposição hormonal pode ampliar a sobrevida e as condições de saúde dos afetados.

Palavras-chave: Consanguinidade, Hipopituitarismo genético, *PROP1*.

Abstract

Introduction: Multiple Pituitary Hormone Deficiency (MPHD) is shown by loss of action of two or more hormones of the pituitary. It has a prevalence 30-45,5 affected by 100000 inhabitants, and it can be acquired or genetic. Mutations in *PROP1* gene are the leading genetic cause of hypopituitarism (13.3% of all causes), with higher prevalence in Europe and leading to deterioration of the anterior pituitary. **Material and Methods:** This was a cross-sectional population-based study conducted in six cities in Paraiba and in the University Hospital Alcides Carneiro in Campina Grande-PB. In the final stage of this study, 24 patients had genetic evaluation for detection of mutations in the *PROP1* gene. Exons 1 to 3 *PROP1* gene, comprising the entire coding region, was amplified by PCR using intronic *primers* and sequencing by the Sanger method. Those who had the confirmed mutations could perform laboratory tests that assessed growth, thyroid function, sexual development and possible adrenal injury. **Results and Discussion:** In exon 2 of *PROP1* gene was identified in eight affected, the deletion of two nucleotides (AG) at position c.301_302 of the cDNA homozygous, which generates a *frameshift* mutation type [p.(Leu102Cysfs*8)]. Hormonal tests to assess trofinas revealed deficiency of growth hormone (GH) and growth factor similar to insulin (IGF1) in six patients who agreed to take the tests. In three of them confirmed the hypogonadotropic hypogonadism; and three had not reached age for evaluation. All the patients that were evaluated had disorders of thyroid function, and three had hypocortisolism, suggesting adrenal insufficiency. In people affected by changes in *PROP1*, the c.301_302delAG mutation is the most prevalent. Growth hormone deficiency and IGF1 deficiency are very common. Hypothyroidism and hypogonadism are other possible situations that require correction. The reduction of ACTH, although rare, can lead to death. **Conclusion:** These results show the existence of a *cluster* with mutation c.301_302delAG in *PROP1* gene in a Brazilian northeastern population, which suggests the need to expand the genetic research in the region to offer genetic counseling and appropriate treatment to patients. Hormone replacement can better the survival and health conditions of the affected.

Keywords: Inbreeding, Genetic hypopituitarism, *PROP1*.

1. INTRODUÇÃO

A Deficiência Múltipla de Hormônios Hipofisários (DMHH) caracteriza-se pela perda da ação de dois ou mais hormônios, seja da adeno-hipófise ou neuro-hipófise. Segundo estudo europeu, a prevalência da doença é de 30 a 45,5 afetados por 100000 habitantes ⁽¹⁾. Ela pode ser adquirida ou genética, sendo que a primeira tem etiologia tumoral, traumática, infecciosa, vascular, funcional, medicamentosa ou infiltrativa; enquanto a segunda surge de anomalias estruturais nas células devido a danos hereditários na citodiferenciação. A DMHH congênita de causa genética é evidenciada a partir de mutações em genes que codificam fatores de transcrição fundamentais para morfogênese da pituitária. Assim, observam-se alterações no *PROP1*, *POU1F1*, *HESX1*, *LHX4*, *OTX2*, *SOX2*, *SOX3*, *GLI2* ⁽²⁾.

O gene *PROP1* (*Prophet of Pit1*) está localizado no cromossomo 5 (5q35) e codifica uma proteína de 226 aminoácidos. Ele é imprescindível para a ativação do gene *POU1F1* (*Pituitary-specific positive transcription factor 1*), homólogo ao gene *Pit1* de murinos; tendo função na diferenciação das seguintes linhagens: tireotrofos, lactotrofos, somatotrofos e gonadotrofos. Mutações no *PROP1* são os principais fatores genéticos para a DMHH, sendo responsáveis por 13,3% de todas as causas, e ocasionam a progressiva deterioração da hipófise anterior ⁽³⁾.

Já foram descritas diferentes alterações no *PROP1*, sendo mais frequente a deleção em homozigose de dois pares de base no éxon 2 (c.301_302delAG) de herança autossômica recessiva. Este distúrbio é mais prevalente na Europa e a maioria tem caráter familiar, indicando um provável efeito fundador. Na Lituânia foram revelados 47 casos da enfermidade ⁽⁴⁾.

No Brasil, a investigação mais abrangente foi feita em São Paulo envolvendo nove indivíduos com mutações no *PROP1*, sendo oito deles provenientes de famílias consanguíneas, cujas origens não foram relatadas no artigo, e apenas um caso esporádico ⁽²⁾. Todos os pacientes adultos apresentavam deficiência dos hormônios sexuais. Cinco deles possuíam a mutação c.301_302delAG e dois, c.358C>T (p.R120C), associadas à deficiência de GH, TSH e ACTH. Por fim, dois pacientes possuíam a mutação c.296G>A (p.R99Q) e não tinham danos em relação à corticotrofina ⁽²⁾.

O fenótipo dos indivíduos acometidos pelas alterações no *PROP1* é bastante variável no que tange a deficiência de adrenocorticotrofina ⁽⁴⁾. A tentativa de identificar genes específicos responsáveis por determinadas deficiências hormonais, bem como os diversos

fatores de transcrição envolvidos, permanece limitada ⁽¹⁾. Os afetados costumam ter comprimento e peso normais ao nascimento, sem graves complicações perinatais. O déficit de crescimento é notado ainda na infância e o dano sexual na puberdade. Insuficiência adrenal pode ocorrer mais tardiamente inclusive com risco de óbito ⁽⁵⁾.

O conhecimento das manifestações da doença é imprescindível, pois o tratamento hormonal adequado previne todos os danos acima citados ⁽⁶⁾. A reposição hormonal aumenta a sobrevivência dos atingidos quando, por exemplo, a administração de corticoide evita mortes por insuficiência adrenal aguda. Entende-se que a terapêutica melhora as condições de saúde dos indivíduos. Caso recebam hormônio do crescimento (GH) em momento oportuno, pacientes atingem a estatura final esperada (alvo genético); o reestabelecimento das gonadotrofinas garante vida sexual saudável e fertilidade; a restituição do hormônio tireoidiano permite maior disposição para enfrentar atividades diárias ⁽⁷⁾. Outra grande contribuição na detecção das alterações genéticas é evitar neurocirurgias desnecessárias (riscos de seqüela) em pacientes com concomitância de mutações no *PROP1* e adenomas hipofisários ⁽⁸⁾.

As pessoas acometidas precisam compreender adequadamente a importância do tratamento e o Sistema de Saúde deve criar mecanismos para oferta dos testes genéticos e medicamentos necessários ⁽⁷⁾. O aconselhamento genético é indicado tendo em vista que a doença é autossômica recessiva e pode ter prevalência aumentada em populações que mantêm práticas de casamentos consanguíneos, como as do Nordeste brasileiro ⁽⁹⁾.

Este trabalho teve por objetivo realizar o estudo clínico, genético e epidemiológico da prevalência de DMHH causada por mutações no gene *PROP1* em populações da Paraíba, que mantêm a tradição de casamentos consanguíneos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 TIPO DE ESTUDO E AMOSTRA

Este é um estudo transversal de base populacional. Os métodos utilizados para prospecção de famílias para estudos clínico-genéticos já foram descritos em diferentes publicações ⁽¹⁰⁻¹³⁾. A seleção dos municípios para os estudos de genética comunitária foi realizada considerando a maior frequência de uniões consanguíneas; maior porcentagem de indivíduos com deficiência considerando dados do SIAB/DATASUS; municípios vizinhos formando “*clusters*” e interesse das secretarias de saúde municipais em participar do estudo. A partir disso, selecionamos seis municípios marcados no mapa abaixo (Figura 1).

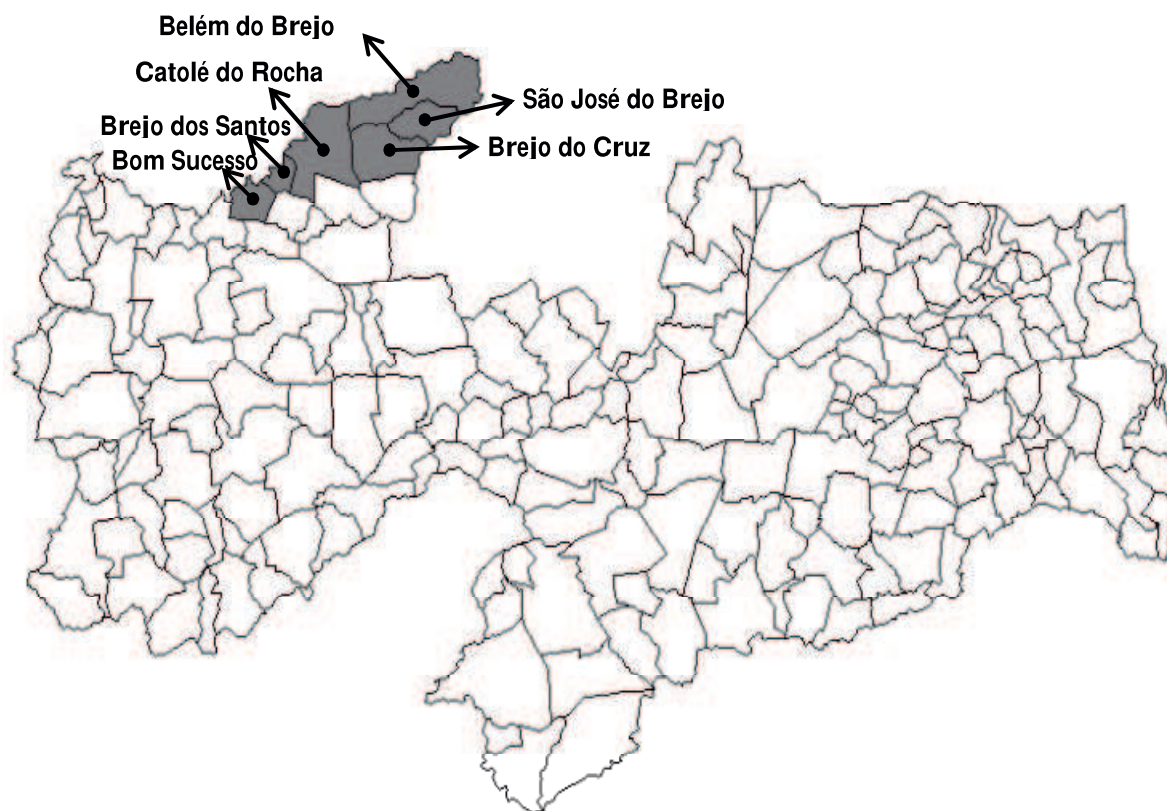


Figura 1. Mapa do estado da Paraíba. Os municípios que participaram do estudo estão em cinza

Antes de iniciar as ações em campo, os pesquisadores do grupo reuniram-se com gestores municipais e profissionais da Estratégia de Saúde da Família para pactuação das ações de pesquisa. Posteriormente, foram ministrados seminários para os Agentes Comunitários de Saúde (ACS) para apresentação dos objetivos da pesquisa, métodos de coleta e consolidação de dados e explicados conceitos de Genética Médica.

As famílias com indivíduos portadores de deficiência foram indicadas pelos ACS, os quais acompanharam os pesquisadores durante as ações em campo. Em vez de entrevistar todos os indivíduos com deficiência, priorizamos as famílias que possuíam mais de dois afetados por uma mesma deficiência, entrevistando 276 pacientes durante a triagem. Nestas entrevistas, foram colhidas informações sobre a história e a evolução dos quadros clínicos, bem como, foram feitos heredogramas das famílias. A partir disso, selecionamos 109 pacientes que possuíam deficiência por prováveis causas genéticas para avaliação médica com equipes do Dr. Fernando Kok do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo que atuam na área de neurogenética e participaram da ação de genética comunitária para determinação do diagnóstico.

Durante ações de prospecção no intuito de detectar doenças genéticas em regiões com forte tradição de casamentos consanguíneos, foi identificada uma família com 11 indivíduos (dois homens, quatro mulheres e cinco crianças, com idades entre 5-63 anos) com quadro de acentuada baixa estatura e ausência de caracteres sexuais secundários. Essa família foi investigada para determinação da possível mutação que estava associada à doença e foram realizados exames laboratoriais para dosagem de hormônios. Os pacientes foram encaminhados para acompanhamento junto ao Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC) em Campina Grande-PB, referência em neuroendocrinologia na região.

Após identificação da mutação genética presente na família estudada, uma alteração no gene *PROP1*, foram selecionados todos os pacientes com quadro semelhante de hipopituitarismo acompanhados no HUAC para verificar se havia mais algum afetado. Em todos os casos, foi colhida uma amostra de sangue dos pacientes selecionados para extração de DNA e genotipagem das mutações do gene *PROP1*, essa etapa foi realizada em colaboração com o Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

2.2 SEQUENCIAMENTO DO GENE *PROP1*

O teste genético foi realizado no laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM/42 do departamento de Endocrinologia do Desenvolvimento da Universidade de São Paulo. Os exons 1 a 3 do gene *PROP1* foram amplificados por PCR utilizando *primers* intrônicos (sequenciais de referência encontradas no NCBI: NC_000005.9 para DNA genômico e NM_006261.4 para cDNA). Os produtos de PCR foram sequenciados pelo método de Sanger e os eletroferogramas analisados com o programa *Sequencher*TM 4.9 (*Gene Codes Corporation*).

2.3 DOSAGENS HORMONAIAS

A dosagem hormonal, feita no HUAC, foi oferecida a todos os indivíduos com mutação detectada no gene *PROP1*. Os seis pacientes que aceitaram fazer a avaliação das trofinas possuíam o seguinte perfil: três eram do sexo masculino com idades de 11, 15 e 63 anos e três do sexo feminino com 5, 10 e 17 anos. Três pacientes ainda não haviam entrado na puberdade e não foi possível avaliar evolução sexual. Sendo assim, seguiam-se testes para análise da baixa estatura por meio da dosagem do hormônio de crescimento (GH) e fator de

crescimento semelhante à insulina (IGF1); a função tireoidiana era averiguada por ensaios com tireotrofina (TSH) e T4 livre (T4L); e o possível agravo adrenal através da adrenocorticotrofina (ACTH) e cortisol basal. Por fim, o eixo gonadotrófico era estudado por meio do hormônio folículo-estimulante (FSH), hormônio luteinizante (LH) e testosterona ou estradiol. Terminados os referidos procedimentos, os dados obtidos eram comparados às informações clínicas e epidemiológicas encontradas na literatura.

2.4 COMITÊ DE ÉTICA

Esta pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – HCFMUSP e ao Comitê de Ética da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB. Após aprovação, a pesquisa seguiu com as normas da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP de acordo com a Resolução 466/2012, em especial no que se refere ao termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), por se tratar de uma pesquisa com seres humanos. O presente estudo não ofereceu constrangimento ou risco à vida dos pacientes.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 11 indivíduos selecionados durante a prospecção de seis municípios da Paraíba e com a inclusão dos 13 casos de hipopituitarismo do HUAC, em oito casos foi identificada a mutação c.301_302delAG em homozigose (Tabela 1). Esta é uma mutação tipo *frameshift* que acarreta a perda de função da proteína codificada pelo gene ⁽⁷⁾. Todos os casos confirmados pertenciam a uma família de Brejo do Cruz, constituindo um *cluster*, incluindo dois pares de irmãos, todos provindos de um ancestral comum (efeito fundador) (Figura 2). Nenhum paciente com hipopituitarismo catalogado no serviço de Neuroendocrinologia do HUAC tinha a alteração genética.

Tabela 1. Descrição do município de origem, do resultado da triagem para mutação no gene *PROP1* e laços de consanguinidade entre seus genitores de 24 pacientes avaliados na Paraíba.

Paciente	Cidade	Mutação c.301_302delAG	Consanguinidade
1	Brejo do Cruz-PB	Confirmada	Sim
2	Brejo do Cruz-PB	Confirmada	Sim

3	Brejo do Cruz-PB	Confirmada	Sim
4	Brejo do Cruz-PB	Confirmada	Sim
5	Brejo do Cruz-PB	Confirmada	Sim
6	Brejo do Cruz-PB	Confirmada	Sim
7	Brejo do Cruz-PB	Confirmada	Sim
8	Brejo do Cruz-PB	Confirmada	Sim
9	Brejo do Cruz-PB	Ausente	Sim
10	Brejo do Cruz-PB	Ausente	Sim
11	Brejo do Cruz-PB	Ausente	Sim
12	Campina Grande-PB	Ausente	Não
13	Campina Grande-PB	Ausente	Não
14	Campina Grande-PB	Ausente	Não
15	Queimadas-PB	Ausente	Não
16	Queimadas-PB	Ausente	Não
17	Queimadas-PB	Ausente	Não
18	São Paulo-SP	Ausente	Não
19	São Paulo-SP	Ausente	Não
20	Pedra Lavrada-PB	Ausente	Não
21	Nova Palmeira-PB	Ausente	Não
22	Boqueirão-PB	Ausente	Não
23	Massaranduba-PB	Ausente	Não
24	Parambu-CE	Ausente	Não

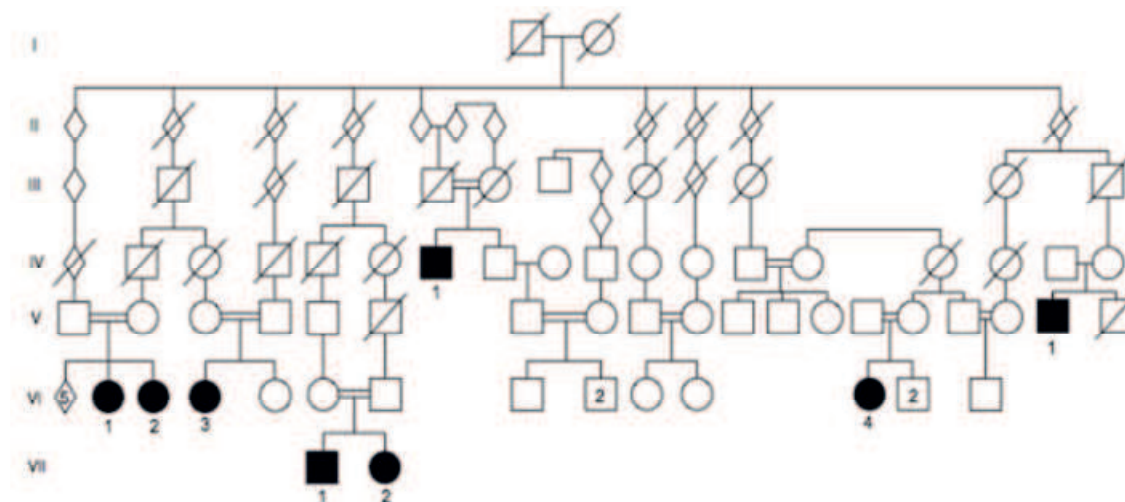


Figura 2. Genealogia de uma família com vários afetados com hipopituitarismo associado à mutação no gene *PROP1* (em negrito).

Os exames hormonais para avaliação das trofinas foram realizados em seis dos oito pacientes em que foi confirmada a mutação c.301_302delAG, pois os outros recusaram o procedimento. As dosagens hormonais revelaram deficiência de hormônio do crescimento (GH) e do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF1) em todos os analisados, justificando a baixa estatura encontrada. Em três deles foi confirmado o hipogonadismo

hipogonadotrófico (LH, FSH e testosterona/estradiol baixos); e três não haviam atingido idade adequada para avaliação (possuíam apenas 5, 10 e 11 anos). Os seis pacientes apresentavam distúrbio da função tireoidiana devido a hipotireoidismo central (todos com TSH normal e T4 livre baixo), e apenas três deles tinham hipocortisolismo, sugerindo insuficiência adrenal, como é mostrado na Tabela 2. No registro fotográfico é possível observar algumas características comuns aos pacientes, como a baixa estatura e ausência de caracteres sexuais secundários (Figura 3).

A mutação c.301_302delAG do gene *PROP1* foi observada em oito indivíduos dentre 11 avaliados no município de Brejo do Cruz. Tal alteração prediz uma mutação tipo *frameshift* em homozigose, causando o aparecimento de um códon de parada prematuro e gerando uma proteína truncada com perda de 118 aminoácidos [p.(Leu102Cysfs*8)], acarretando na perda de função da proteína, sendo a causa, portanto, do hipopituitarismo ⁽⁷⁾.

A descrição da caracterização dos pacientes e resultados para dosagens hormonais está na Tabela 2. No que tange as deficiências hormonais, GH e IGF1 são danos muito frequentes e estão presentes em quase 100% dos casos, com manifestações ainda na infância. A maioria dos pacientes precisará de reposição nos primeiros cinco anos de vida para atingirem o alvo genético da altura ⁽¹⁴⁾. Hipotireoidismo central e hipogonadismo hipogonadotrófico, cujas prevalências na literatura são de 100% dos afetados, expressam outras situações já aguardadas e que demandam correção para permitir que os indivíduos tenham melhor qualidade de vida e entrem na puberdade em idade cronológica adequada ⁽²⁾. A redução de ACTH, apesar de afetar menor número de pacientes (prevalência em torno de 43%), também necessita de investigação, pois pode levar a insuficiência adrenal aguda e óbito ⁽⁴⁾.

Tabela 2. Perfis e resultados de dosagens hormonais de pacientes com mutações no gene *PROP1* confirmadas

Paciente	Sexo	Idade (Anos)	IGF1	TT ou estradiol	T4L	Cortisol	Altura (cm)	Tratamento
VII.2	F	5	28↓ (50-286)	-	0,48↓ (0,54-1,24)	6,4↓ (6,7-22,6)	96	Nunca tratou
VI.4	F	10	25↓ (88-452)	-	0,35↓ (0,54-1,24)	5,4↓ (6,7-22,6)	109	Nunca tratou
VII.1	M	11	23↓ (60-399)	-	0,3↓ (0,89-1,76)	10,2 (5,4-25)	111	Abandonou (2014)
V.1	M	15	13↓ (93-551)	< 20 (180-772)	0,314↓ (0,89-1,76)	6,5↓ (7,2-63,3)	110	Nunca tratou
VI.3	F	17	45↓ (219-483)	17↓ (>27)	0,27↓ (0,7-1,8)	20,2 (7,2-63,3)	147	GH/Estradiol + progestágeno/ Levotiroxina
IV.1	M	63	16↓ (20-176)	< 20 (180-772)	0,30↓ (0,89-1,76)	11,8 (7,2-63,3)	112	Nunca tratou

VI.1	F	41	-	-	-	-	146	Nunca tratou
VI.2	F	48	-	-	-	-	146	Nunca tratou

GH: hormônio do crescimento; IGF1: fator de crescimento semelhante à insulina; FSH: hormônio folículo-estimulante; LH: hormônio luteinizante; TT: testosterona total; TSH: tireotrofina; T4L: T4 livre; ACTH: adrenocorticotrofina; cm: centímetros; M: masculino; F: feminino; N: normal; ↓: redução. Os valores de referência de cada hormônio estão entre parênteses.

Nos pacientes avaliados neste estudo, foram observadas ainda as significativas variações no eixo adrenocorticotrófico mesmo entre pacientes aparentados e portadores da mesma mutação ⁽¹⁵⁾. A integridade de fatores de transcrição e dos seus diversos co-ativadores ou co-repressores representa situação crítica para formação da pituitária ⁽¹⁶⁾, desta forma, quaisquer mudanças nos componentes dessas vias podem alterar as produções hormonais ⁽¹⁷⁾. É possível encontrar indivíduos com hipotireoidismo central isolado ⁽¹⁸⁾; mulheres que devido ao déficit de FSH e LH desenvolvem amenorreia primária com consequente osteoporose ⁽¹⁹⁾ ou obesidade ⁽²⁰⁾; e até pacientes que evoluem para insuficiência adrenal abrupta devido aos baixos níveis de ACTH ⁽²¹⁾. Segundo a literatura, a época dos diversos prejuízos hormonais é diferente. O déficit de gonadotrofinas ocorre próximo à adolescência ⁽²²⁾ e de corticotrofinas na segunda, terceira ou quarta décadas de vida ⁽²³⁾, revelando a importância da avaliação constante por parte do endocrinologista.





Figura 3. Registro fotográfico de pacientes com hipopituitarismo causado por mutações no gene *PROP1* identificados no município de Brejo do Cruz (PB)

4. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi identificado um *cluster* de indivíduos com hipopituitarismo causado por mutação no gene *PROP1* por meio do uso de métodos de prospecção ou busca ativa contando com a parceria dos profissionais que atuam na Estratégia de Saúde da Família. Após a identificação dos seis pacientes com deficiências hipofisárias, foi ofertada reposição hormonal específica para cada indivíduo, melhorando assim a sua sobrevivência e condições de saúde. Por fim, este estudo revelou, mais uma vez, a necessidade da expansão dos serviços de referência em Genética Médica para as regiões interioranas do Nordeste brasileiro, tendo em vista que, nestas áreas, muitas doenças genéticas estão sendo subdiagnosticadas, devido à ausência de profissionais qualificados. O aconselhamento genético e ações de educação genética comunitária são importantes para facilitar o diagnóstico, melhorar o acompanhamento por equipe multiprofissional e para redução da incidência de enfermidades por causas genéticas.

5. REFERÊNCIAS

1. Romero CJ, Nesi-França S, Radovick S. The molecular basis of hypopituitarism. *Trends Endocrinol Metab.* 2009;20(10):506-16.
2. Vieira TC, Boldarine VT, Abucham J. Molecular analysis of *PROP1*, *PIT1*, *HESX1*, *LHX3*, and *LHX4* shows high frequency of *PROP1* mutations in patients with familial forms of combined pituitary hormone deficiency. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2007;51(7):1097-103.

3. de Moraes DC, Vaisman M, Conceição FL, Ortiga-Carvalho TM. Pituitary development: a complex, temporal regulated process dependent on specific transcriptional factors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;215(2):239-45.
4. Navardauskaite R, Dusatkova P, Obermannova B, Pfaeffle RW, Blum WF, Adukauskiene D, et al. High prevalence of *PROP1* defects in Lithuania: phenotypic findings in an ethnically homogenous cohort of patients with multiple pituitary hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(1):299-306.
5. Lebl J, Vosáhlo J, Pfaeffle RW, Stobbe H, Cerná J, Novotná D, et al. Auxological and endocrine phenotype in a population-based cohort of patients with *PROP1* gene defects. *Eur J Endocrinol.* 2005;153(3):389-96.
6. Voutetakis A, Maniati-Christidi M, Kanaka-Gantenbein C, Dracopoulou M, Argyropoulou M, Livadas S, et al. Prolonged jaundice and hypothyroidism as the presenting symptoms in a neonate with a novel *PROP1* gene mutation (Q83X). *Eur J Endocrinol.* 2004;150(3):257-64.
7. Lemos MC, Gomes L, Bastos M, Leite V, Limbert E, Carvalho D, et al. *PROP1* gene analysis in Portuguese patients with combined pituitary hormone deficiency. *Clin Endocrinol.* 2006;65(4):479-85.
8. Kelberman D, Dattani MT. Hypothalamic and pituitary development: novel insights into the aetiology. *Eur J Endocrinol.* 2007;157(1):3-14.
9. Santos SC, Melo US, Lopes SSS, Weller M, Kok F. A endogamia explicaria a elevada prevalência de deficiências em populações do Nordeste brasileiro? *Ciência & Saúde Coletiva.* 2013;18(4):1141-50.
10. Santos S, Kok F, Weller M, Paiva FRL, Otto PA. Inbreeding levels in Northeast Brazil: Strategies for the prospecting of new genetic disorders. *Genet. Mol. Biol.* 2010;33(2): 10-6.
11. Santos S, da Silva Pequeno AA, Pessoa A, Galvão CR, de Medeiros JL, Mathias W, et al. Increased prevalence of inherited neuromuscular disorders due to endogamy in Northeast Brazil: the need of community genetics services. *J Community Genet.* 2013;5(3):199-203.
12. Santos S, Pequeno AAS, Galvao CRC, Pessoa ALS, Almeida ES, Pereira JC, et al. As causas da deficiência física em municípios do nordeste brasileiro e estimativa de custos de serviços especializados. *Ciência & Saúde Coletiva.* 2014;19(2):559-68.
13. Weller M, Tanieri M, Pereira JC, Almeida Edos S, Kok F, Santos S. Consanguineous unions and the burden of disability: a population-based study in communities of Northeastern Brazil. *Am J Hum Biol.* 2012;24(6):835-40.
14. Halász Z. Genetic background of inherited multiple pituitary hormone deficiency. Mutations of *PROP1* gene in Hungary. *Orv Hetil.* 2011;152(6):221-32.
15. Vallette-Kasic S, Barlier A, Teinturier C, Diaz A, Manavela M, Berthezene F, et al. *PROP1* gene screening in patients with multiple pituitary hormone deficiency reveals two sites of hypermutability and a high incidence of corticotroph deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(9):4529-35.
16. Davis SW, Castinetti F, Carvalho LR, Ellsworth BS, Potok MA, Lyons RH, et al. Molecular mechanisms of pituitary organogenesis. In search of novel regulatory genes. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;323(1):4-19.
17. Hilmes A, Raetzman L. Premature differentiation and aberrant movement of pituitary cells lacking both *Hes1* and *PROP1*. *Dev Biol.* 2009;325(1):151-61.
18. Wassner AJ, Cohen LE, Hechter E, Dauber A. Isolated central hypothyroidism in young siblings as a manifestation of *PROP1* deficiency: clinical impact of whole exome sequencing. *Horm Res Paediatr.* 2013;79(6):379-86.

19. Andrikoula M, Sertedaki A, Andrikoula S, Dacou-Voutetakis C, Tsatsoulis A. *PROP1* gene mutations in a 63-year-old woman presenting with osteoporosis and hyperlipidaemia. *Hormones (Athens)*. 2013;12(1):128-34.
20. Arroyo A, Pernasetti F, Vasilyev W, Amato P, Yen SS, Mellon PL. A unique case of combined pituitary hormone deficiency caused by a *PROP1* gene mutation (R120C) associated of normal height and absent puberty. *Clin Endocrinol*. 2002;57(2):283-91.
21. Araujo R, Chang C, Cescato V, Fragoso M, Bronstein M, Mendonça B, et al. *PROP1* overexpression in corticotrophinomas: evidence for the role of *PROP1* in the maintenance of cells committed to corticotrophic differentiation. *Clinics*. 2013;68(6):887-91.
22. Layman LC. The genetic basis of female reproductive disorders: etiology and clinical testing. *Mol Cell Endocrinol*. 2013;370(1-2):138-48.
23. Cushman LJ, Watkins-Chow DE, Brinkmeier ML, Raetzman LT, Radak AL, Lloyd RV, et al. Persistent *PROP1* expression delays gonadotrope differentiation and enhances pituitary tumor susceptibility. *Hum Mol Genet*. 2001;10(11):1141-53.

ARTIGO 3

***PROP1* sequencing by the Sanger method is a cost-effective approach of molecular diagnosis in patients with combined pituitary hormone deficiency and topic posterior pituitary lobe**

Joao LO Madeira¹, Mirian Y Nishi¹, Marilena Nakaguma¹, Anna F Benedetti¹, Isabela Peixoto Biscotto¹, Thamiris Fernandes², Thiago Pequeno³, Thalita Figueiredo³, Marcela M Franca¹, Fernanda A Correa¹, Aline P Otto¹, Milena Abrão¹, Mirta B Miras⁴, Silvana Santos³, Alexander AL Jorge^{1,5}, Everlayny F Costalonga², Berenice B Mendonca¹, Ivo JP Arnhold¹ and Luciani R Carvalho¹

¹Unidade de Endocrinologia do Desenvolvimento, Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM/42, Disciplina de Endocrinologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, Brazil

²Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, Brazil

³Núcleo de Estudos em Genética e Educação, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Paraíba, Brazil

⁴Servicio de Endocrinología Hospital de Niños de la Santísima Trinidad Córdoba, Córdoba, Argentina

⁵Unidade de Endocrinologia-Genética - LIM/25, Disciplina de Endocrinologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, Brazil

Running title: *PROP1* sequencing in CPHD patients with TPP

Keywords: Combined pituitary hormone deficiency, *PROP1*, large-scale sequencing

Word count: 3,572

Corresponding authors:

João Luiz de Oliveira Madeira, MD

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo,

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155, 2º andar, Bloco 6

São Paulo, Brasil, ZIP code 05403-900 Tel 55 11 2661 7512 Fax: 55 11 2661 7519

e-mail: joao.madeira@usp.br

Luciani Renata Silveira de Carvalho, MD PhD

**Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo,
Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155, 2º andar, Bloco 6
São Paulo, Brasil, ZIP code 05403-900 Tel 55 11 2661 7512 Fax: 55 11 2661 7519
e-mail: lucianic@gmail.com**

Funding:

This work was supported by Grants 2013/03236–5 (to A.A.L.J.), 2014/50137-5 (to B.B.M.) and 2015/26563-7 (to J.L.O.M. and L.R.C.) from the São Paulo Research Foundation (FAPESP); and Grants 304678/2012–0 (to A.A.L.J.) and 3057-43/2011-2 (to B.B.M.) from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

Disclosure summary:

The authors have no conflict of interest to declare.

Clinical Trial Registration Number: Not applicable

Précis

Analysis of *PROP1*, *HESX1* and *LHX3* in patients with hypopituitarism and topic posterior lobe reveals 3 novel *PROP1* mutations and suggests that *PROP1* Sanger sequencing in this group is cost-effective.

Abstract

Context: Mutations in *PROP1*, *HESX1* and *LHX3* are associated to combined pituitary hormone deficiency (CPHD) and topic posterior pituitary lobe (TPP). **Objective:** To compare the cost–effectiveness of sequencing of *PROP1*, *HESX1* and *LHX3* by the Sanger method and of large-scale sequencing (LSS) for the molecular diagnosis of patients with CPHD and TPP.

Design and Methods: *PROP1* was analyzed by using the Sanger method. Multiplex-ligation-dependent probe amplification (MLPA) was employed when *PROP1* was not amplified. In patients without *PROP1* mutations, *HESX1* and *LHX3* were also sequenced by Sanger. One sporadic case was studied by using the LSS target panel and one sporadic case born to consanguineous parents without *PROP1* mutation was studied by using whole-exome sequencing (WES). We analyzed 45 Latin-American patients (21 females) with CPHD and TPP: 22 familial (7 families) and 23 sporadic cases. **Results:** Three novel *PROP1* mutations were identified, one affecting the initiation codon (c.1A>G) and two affecting splicing sites, c.109+1G>A and c.342+1G>C. The following known mutations were also detected: c.150delA (p.Arg53Aspfs*112), c.218G>A (p.Arg73His), c.263T>C (p.Phe88Ser), and c.301_302delAG (p.Leu102Cysfs*8). MLPA confirmed complete *PROP1* deletion in two families. The overall prevalence of *PROP1* mutations among index cases was 53%. The homozygous *HESX1* mutation c.68T>C (p.Ile26Thr) was identified by using WES. No other *HESX1* or *LHX3* mutations were detected. **Conclusion:** *PROP1* mutations, including three novel mutations described herein, were detected in 53% of our patients. Moreover, Sanger sequencing for *PROP1* should be the first approach to determine the molecular etiology of CPHD in patients with TPP.

*

* O artigo científico na íntegra foi submetido à publicação (Clinical Endocrinology)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ESTUDO: **Cluster de hipopituitarismo causado pela mutação (c.301_302delAG) no PROP1 em família consanguínea do nordeste brasileiro.**

Você está sendo convidado (a) a participar do projeto de pesquisa acima citado. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que estamos fazendo. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, mas se desistir a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo a você.

Eu,.....,residente a rua.....na cidade de....., portador da Cédula de identidade....., CPF....., nascido(a) em ____ / ____ / _____, abaixo assinado(a), concordo de livre e espontânea vontade em participar como voluntário(a) do estudo “**Título**” (**Cluster de hipopituitarismo causado pela mutação (c.301_302delAG) no PROP1 em família consanguínea do nordeste brasileiro**).

Declaro que obtive todas as informações necessárias, bem como todos os eventuais esclarecimentos quanto às dúvidas por mim apresentadas.

Estou ciente que:

- I) A participação neste projeto não tem objetivo de me submeter a um tratamento, bem como não me acarretará qualquer ônus pecuniário com relação aos procedimentos médico-clínico-terapêuticos efetuados com o estudo;
- II) Tenho a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação;
- III) A desistência não causará nenhum prejuízo à minha saúde ou bem estar físico. Não virá interferir no atendimento ou tratamento médico;
- IV) Os resultados obtidos durante este ensaio serão mantidos em sigilo, mas concordo que sejam divulgados em publicações científicas, desde que meus dados pessoais não sejam mencionados;
- V) Caso eu desejar, poderei pessoalmente tomar conhecimento dos resultados, ao final desta pesquisa.
 - () Desejo conhecer os resultados desta pesquisa.
 - () Não desejo conhecer os resultados desta pesquisa.

VII) Observações Complementares.

Caso me sinta prejudicado (a) por participar desta pesquisa, poderei recorrer ao Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos, ao Conselho Regional de Medicina da Paraíba e a Delegacia Regional de Campina Grande.

Campina Grande, ____ / ____ / _____
 () Paciente / () Responsável

Testemunhas:

1.1 _____ 1.2 _____
 Nome / RG / Telefone

Responsáveis pelo Projeto:

Dra. Silvana Cristina dos Santos

Thiago de Almeida Pequeno, CRM-PB: 6734

Telefone para contato: (83) 98811-9934

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO..... Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA

**1 “SEQUENCIAMENTO EXÔMICO PARA INVESTIGAÇÃO GENÉTICO-
MOLECULAR DOS DISTÚRBIOS DE CRESCIMENTO E
DESENVOLVIMENTO PUBERAL”**

2. PESQUISADOR : **Alexander Augusto de Lima Jorge**

CARGO/FUNÇÃO: **Médico Responsável e Professor da Faculdade de Medicina –USP**

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº **80.218**

UNIDADE DO HCFMUSP: **Disciplina de Endocrinologia e Metabologia**

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	<input checked="" type="checkbox"/>	RISCO MÉDIO	<input type="checkbox"/>
RISCO BAIXO	<input type="checkbox"/>	RISCO MAIOR	<input type="checkbox"/>

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : **55 meses**

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

1 – Estas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo que visa pesquisar o exoma, que é a análise de todos os genes do indivíduo. Genes são estruturas presentes em todas as células do corpo e que dão as características às pessoas. Esses genes quando possuem alguma alteração (defeito) podem causar doenças. O objetivo desta pesquisa é estudar os genes relacionados a anormalidades ou distúrbios do crescimento e do desenvolvimento da puberdade. Outros genes associados a outras doenças não serão avaliados nesse estudo.

O estudo do exoma dos pais em conjunto com a avaliação do exoma do paciente aumenta a chance do diagnóstico de defeitos (mutações) relacionados à doença do seu filho (a). A partir dessas informações poderemos avaliar a sua família e fazer um aconselhamento genético, isto é, orientar as pessoas que poderiam transmitir a mesma doença para os filhos. Por este motivo, você está sendo convidado a participar desse estudo.

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos:

Para a pesquisa de defeitos (mutações) nos genes será necessário a coleta de uma amostra de sangue de aproximadamente 5 ml. O DNA (conjunto de genes das células) será obtido a partir das células do seu sangue.

O material obtido da coleta de sangue será estocado no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM 42, PAMB 2 andar, bloco 6, fazendo parte do biorepositório de material biológico humano – amostras de DNA do referido laboratório. Há a possibilidade desse estudo não conseguir esclarecer a causa da doença. Assim, material doado poderá ser utilizado em pesquisas futuras que possam vir a esclarecer o diagnóstico da doença. Neste caso uma nova aprovação da Comissão de Ética e Pesquisa e um novo consentimento serão solicitados.

3 – Desconfortos e riscos esperado: O desconforto associado ao exame de sangue consiste naquele relacionado a dor da picada da agulha para a coleta do sangue e eventualmente o aparecimento de um pequeno hematoma (mancha arroxeadada em torno da picada) que desaparecerá em pouco menos de uma semana sem a necessidade do uso de medicamentos.

4 – Benefícios que poderão ser obtidos: O benefício ao participar desse estudo será a identificação de possíveis defeitos em genes, responsáveis pelo aparecimento da doença que gerou as alterações do crescimento ou desenvolvimento da puberdade em seu filho. A partir dessas informações poderemos fazer um aconselhamento genético, isto é, orientar sobre a possibilidade de transmissão da mesma doença para outros filhos.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-7585 ramais 16, 17, 18 ou 20 – e-mail: cappesq@hcnnet.usp.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

5 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade do tratamento de seu filho na Instituição;

6– Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente;

7 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

8 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Pesquisador responsável: Alexander Augusto de Lima Jorge, CRM:80218

Laboratório de Endocrinologia Genética LIM 25, FMUSP

Av Dr Arnaldo 455 4 andar- Sala 4305- CEP: 01246903- Cerqueira César

Telefone (0xx11) 2661-7467

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo

“SEQUENCIAMENTO EXÔMICO PARA INVESTIGAÇÃO GENÉTICO-MOLECULAR DOS DISTÚRBIOS DE CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO PUBERAL”

Eu discuti com o Dr. Alexander Augusto de Lima Jorge sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas.

Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no atendimento de meu filho neste Serviço.

Assinatura do participante do estudo

Data ____/____/____

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____/____/____

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE
SÃO PAULO-HCFMUSP**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA O RESPONSÁVEL LEGAL

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO:..... CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO RESPONSÁVEL LEGAL

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador, etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE:.....SEXO: M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA

2 **“SEQUENCIAMENTO EXÔMICO PARA INVESTIGAÇÃO GENÉTICO-MOLECULAR
DOS DISTÚRBIOS DE CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO PUBERAL”**

2. PESQUISADOR: **Alexander Augusto de Lima Jorge**

CARGO/FUNÇÃO: **Médico Responsável e Professor da Faculdade de Medicina–USP**

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº **80.218**

UNIDADE DO HCFMUSP: **Disciplina de Endocrinologia e Metabologia**

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO **X** RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO RISCO MAIOR

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : **55 meses**

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

1 – Estas informações estão sendo fornecidas para a participação voluntária do seu filho, ou representado legal, neste estudo que visa pesquisar o exoma, que é a análise de todos os genes do indivíduo. Genes são estruturas presentes em todas as células do corpo e que dão as características às pessoas. Esses genes quando possuem alguma alteração (defeito) podem causar doenças. O objetivo desta pesquisa é estudar os genes relacionados a anormalidades ou distúrbios do crescimento e do desenvolvimento da puberdade. Outros genes associados a outras doenças não serão avaliados nesse estudo.

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos:

Para a pesquisa de defeitos (mutações) nos genes será necessário a coleta de uma amostra de sangue de aproximadamente 5ml. O DNA (conjunto de genes das células) será obtido a partir das células do seu sangue.

O material obtido da coleta de sangue será estocado no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM 42, PAMB 2 andar, bloco 6, fazendo parte do biorepositório de material biológico humano – amostras de DNA do referido laboratório. Há a possibilidade desse estudo não conseguir esclarecer a causa da doença. Assim, material doado poderá ser utilizado em pesquisas futuras que possam vir a esclarecer o diagnóstico da doença. Neste caso uma nova aprovação da Comissão de Ética e Pesquisa e um novo consentimento serão solicitados.

3 – Desconfortos e riscos esperados: O desconforto associado ao exame de sangue consiste naquele relacionado à dor da picada da agulha para a coleta do sangue e eventualmente o aparecimento de um pequeno hematoma (mancha arroxeadada em torno da picada) que desaparecerá em pouco menos de uma semana sem a necessidade do uso de medicamentos.

4 – Benefícios que poderão ser obtidos: benefício ao participar desse estudo será a identificação de possíveis defeitos no gene, responsáveis pelo aparecimento da doença que gerou as alterações. A partir dessas informações poderemos avaliar os demais membros da sua família e fazer um aconselhamento genético, isto é, prever quais pessoas poderiam transmitir a mesma doença para os filhos.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-7585 ramais 16, 17, 18 ou 20 – e-mail: cappesq@hcnet.usp.br

5 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

6 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente;

7– Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

8 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

**INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS
PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE
INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.**

Pesquisador responsável Alexander Augusto de Lima Jorge CRM:80218

Laboratório de Endocrinologia Genética LIM 25, FMUSP

Av Dr Arnaldo 455 4 andar- Sala 4305- CEP: 01246903- Cerqueira César

Telefone (0xx11) 2661-7467

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo:

“SEQUENCIAMENTO EXÔMICO PARA INVESTIGAÇÃO GENÉTICO-MOLECULAR
DOS DISTÚRBIOS DE CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO PUBERAL”

Eu discuti com o Dr. Alexander Augusto de Lima Jorge sobre a minha decisão em permitir que meu filho ou representado legal participe nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em permitir a participação do meu filho ou representado legal neste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data / /

Assinatura da testemunha Data / /

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

Em casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data / /

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA – UEPB
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
NÚCLEO DE ESTUDOS EM GENÉTICA E EDUCAÇÃO – NEGE

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA USO DE IMAGEM

Eu,, autorizo a publicação da minha fotografia em uma publicação científica. Eu entendo que minha identidade não será sob nenhuma hipótese revelada e que esta publicação tem o intuito de contribuir para o reconhecimento e o entendimento da doença que apresento.

CONSENT TO USE OF IMAGE OF PATIENT

I,, herein authorize the display of my picture in a specific publication. I understand that my identity will not be disclosed by any mean and that the aim of this report is to contribute with the pattern recognition and knowledge of my disease.

Local:

Data: ___/___/___

Date: ___/___/___

Assinatura do responsável
(Signature of responsible person)

Pesquisador (a)
(Researcher)

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA – UEPB
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
NÚCLEO DE ESTUDOS EM GENÉTICA E EDUCAÇÃO – NEGE

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA USO DE IMAGEM

Eu,, responsável legal de, autorizo a publicação da fotografia de em uma publicação científica. Eu entendo que a identidade não será sob nenhuma hipótese revelada e que esta publicação tem o intuito de contribuir para o reconhecimento e o entendimento da doença que apresenta.

CONSENT TO USE OF IMAGE OF PATIENT

I,....., legal guardian of, herein authorize the display of the picture of in a specific publication. I understand that the identity will not be disclosed by any mean and that the aim of this report is to contribute with the pattern recognition and knowledge of the disease.

Local:

Data: ___/___/___
Date: ___/___/___

Assinatura do responsável
(Signature of responsible person)

Pesquisador (a)
(Researcher)



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

COMPROVANTE SISNEP

Andamento do projeto - CAAE - 0359.0.133.000-11

Título do Projeto de Pesquisa				
RETRATO EPIDEMIOLÓGICO DE DOENÇAS GENÉTICAS E PADRÕES REPRODUTIVOS EM POPULAÇÕES DA PARAÍBA				
Situação	Data Inicial no CEP	Data Final no CEP	Data Inicial na CONEP	Data Final na CONEP
Aprovado no CEP	04/07/2011 11:10:57	05/09/2011 14:25:07		

Descrição	Data	Documento	Nº do Doc	Origem
1 - Envio da Folha de Rosto pela Internet	29/06/2011 10:42:34	Folha de Rosto	FR.442854	Pesquisador
2 - Recebimento de Protocolo pelo CEP (Check-List)	04/07/2011 11:10:57	Folha de Rosto	0359.0.133.000-11	CEP
3 - Protocolo Aprovado no CEP	05/09/2011 14:25:07	Folha de Rosto	0359.0.133.000-11	CEP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA/
PRORETORIA DE REGISTRAÇÃO E EXERCÍCIOS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Prof. Dra. Doraciela Pedrosa de Azevedo
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

