

BC
p22a. b. c.
10.06.99

2-
ERRATA:)

Após a correção de alguns dados da tabela "Análise Histopatológica" à pág. 68 (maiores alterações: caso P19, córnea supra papilar: o correto é 23,34; caso P23, córnea na depressão do epitélio: o correto é 37,09; caso P37, córnea supra papilar: o correto é 21,63), descreve-se algumas variações em resultados. As tabelas corrigidas seguem-se nas próximas páginas.

A camada córnea na região supra papilar passa a diferir entre os grupos 1 e 3 de modo próximo à significância estatística (o valor de p muda de 0,111 para 0,055) - pág. 28.

A correlação entre a camada córnea na depressão do epitélio e o índice insulínogênico aos 120' se altera (o valor de p muda de 0,019 para 0,054)- pág. 23.

A correlação entre a camada córnea na depressão do epitélio e o índice insulínogênico ao jejum se altera (o valor de p muda de 0,049 para 0,062) - pág.23.

Médias, desvios padrões e comparações das variáveis *Valores corrigidos* referentes às tabelas das páginas 26 a 28.

	G1 <i>n=10</i>	G2 <i>n=8</i>	G3 <i>n=9</i>	G1XG2	G1XG3	G2XG3
Papila média DP	246,25 DP 85,46	136,40 DP 50,67	124,25 DP 37,64	p=0,019	p=0,004	p=0,736
Cone média DP	208,11 DP 62,53	140,01 DP 29,12	122,47 DP 36,23	p=0,019	p=0,005	p=0,136
Camada córnea (depressão epit) média DP	104,69 DP 54,83	50,12 DP 13,33	51,78 DP 31,56	p=0,009	p=0,016	p=0,665
Camada córnea (supra papilar) média DP	35,94 DP 20,54 <i>n=11</i>	21,18 DP 4,49 <i>n=9</i>	19,23 DP 9,85 <i>n=8</i>	p=0,120	p=0,055	p=0,248
Insulina Jejum média e DP	25,50 DP 13,69	21,14 DP 12,55	9,44 DP 5,95	p=0,569	p=0,009	p=0,053
Insulina 120' média e DP	131,73 DP 68,94	73,44 DP 33,72	40,75 DP 18,23	p=0,027	p=0,001	p=0,060
Área Insulina média DP	15702,95 DP 6828,15	10362,17 DP 1590,40	4965,38 DP 1614,73	p=0,149	p=0,001	p=0,001
Índ. Ins. Jejum média e DP	0,31 DP 0,18	0,25 DP 0,13	0,11 DP 0,08	p=0,494	p=0,014	p=0,043
Índ Ins. 120 média e DP	1,13 DP 0,65	0,66 DP 0,22	0,39 DP 0,15	p=0,053	p=0,002	p=0,024
Índ. Ins. Área média e DP	1,04 DP 0,54	0,76 DP 0,22	0,39 DP 0,14	p=0,323	p=0,002	p=0,003

Coeficientes de correlação e valores corrigidos de $p < 0,05$. *Referentes à pág. 22 e 23 da tese.*

Em relação ao grupo 1: não muda.

Analisando os 3 grupos $n=25$:

	insulina 120'	índice insul. 120'	área de insulina	índice insul. de área de insulina coef 0,44 p=0,029	índice insul.de jejum
Papila					
Cone	coef 0,51 p=0,010	coef 0,51 p=0,010	coef 0,53 p=0,006	coef :0,57 p=0,003	
Camada córnea na depressão do epitélio	coef 0,47 p=0,018		coef 0,45 p=0,024	coef 0,48 p=0,015	
Camada córnea na região supra papilar	coef 0,43 p=0,031			coef: 0,41 p=0,041	

Análise Histopatológica - Dados corrigidos

Pac	Gr	R	S	Local	AN	Fe Col.	Papila	Cone	Córn. (dep)	Córn. (SP)	Ins 0'	Ins 120'	área
P1	1	C	F	A	2+	1+	166,59	145,60	106,80	31,59	44,00	290,00	28410,00
P2	1	C	F	A	3+	1+	250,17	251,01	183,29	38,29	95,00	240,00	34425,00
P3	1	N	F	P	2+	1+	211,06	185,50	46,88	14,18	23,00	95,00	15870,00
P4	1	N	F	—	1+	—	—	—	—	—	25,00	90,00	9075,00
P5	1	C	F	P	2+	1+	90,14	124,35	25,12	15,10	56,00	—	—
P6	1	N	F	A	3+	1+	129,69	108,17	55,05	14,23	46,00	46,00	9150,00
P7	1	C	F	P	2+	1+	186,42	184,90	77,45	12,21	40,00	130,00	14700,00
P8	1	C	F	P	3+	1+	425,72	230,07	460,46	128,37	35,00	120,00	9855,00
P9	1	C	F	A	2+	1+	282,86	159,13	53,85	58,65	5,00	58,00	6165,00
P10	1	C	F	A	2+	1+	274,04	213,94	108,39	71,37	23,00	160,00	17895,00
P11	1	C	F	P	1+	1+	376,80	258,13	179,95	31,25	10,00	150,00	23400,00
P12	1	N	F	—	3+	—	—	—	—	—	19,00	190,00	20385,00
P13	1	N	F	A	3+	1+	167,07	250,00	213,51	56,20	32,00	90,00	9780,00
P14	1	N	F	A	3+	1+	325,24	267,31	116,44	29,16	13,50	150,00	17902,50
P34	1	N	F	A	2+	1+	342,74	308,39	88,53	40,53	—	—	—
P15	2	C	F	A		1+	173,49	159,35	64,18	25,24	34,00	100,00	9120,00
P16	2	C	F	A		1+	79,66	135,22	70,75	27,64	16,00	74,00	10050,00
P17	2	N	F	A		1+	124,59	137,81	40,17	22,07	6,80	74,00	7332,00
P18	2	N	F	A		1+	183,49	130,22	57,69	18,63	27,00	32,00	9285,00
P19	2	C	F	A		1+	180,29	143,27	42,67	23,34	5,00	90,00	10905,00
P20	2	C	F	A		1+	189,21	198,08	53,37	13,46	28,00	66,00	11370,00
P21	2	N	F	—		—	—	—	—	—	19,50	43,00	12457,50
P22	2	C	F	A		1+	80,38	110,99	35,02	17,86	42,00	42,00	10860,00
P23	2	C	F	P		1+	80,12	105,17	37,09	21,20	12,00	140,00	11880,00
P24	3	C	F	A		1+	92,96	98,08	41,47	11,75	7,00	74,00	5163,00
P25	3	C	F	A		1+	138,56	121,25	78,77	21,20	5,00	46,00	3645,00
P26	3	C	F	A		2+	126,95	129,21	16,13	10,41	10,00	45,00	5655,00
P27	3	C	F	A		1+	187,33	151,85	41,59	16,30	15,00	41,00	4710,00
P28	3	N	F	A		2+	168,27	200,55	122,60	41,27	21,50	33,00	6330,00
P29	3	C	F	A		1+	96,15	82,69	55,89	25,84	5,00	50,00	7545,00
P35	3	C	M	A		1+	105,43	93,75	38,46	12,26	7,00	14,00	4365,00
P36	3	N	M	A		1+	133,15	124,47	32,04	12,43	5,00	23,00	2310,00
P37	3	C	F	A		1+	69,45	100,36	39,11	21,63	—	—	—

FERNANDA ESPINOSA PIRES

ACANTOSE NIGRICANTE NOS PACIENTES OBESOS:

ESTUDO METABÓLICO E HISTOPATOLÓGICO

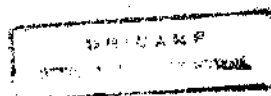
Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Medicina, área de Clínica Médica.

ORIENTADOR: PROF^a DR^a MARIA BEATRIZ PUZZI TAUBE

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. MÁRIO JOSÉ ABDALLA SAAD

CAMPINAS

1998



UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	
V	Es
PRO	8436539
POL	229/99
C	D ☒
PREC	R\$ 11,00
DATA	11/02/99
N.º CPD	

CM-00120930-0

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

P665a

Pires, Fernanda Espinosa

Acantose nigrante nos pacientes obesos : estudo metabólico e histopatológico / Fernanda Espinosa Pires. Campinas, SP : [s.n.], 1998.

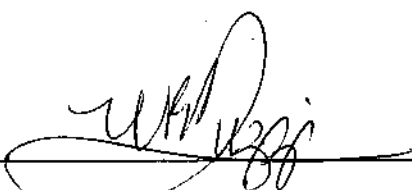
Orientadores : Maria Beatriz Puzzi Taube, Mário José Abdalla Saad

Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

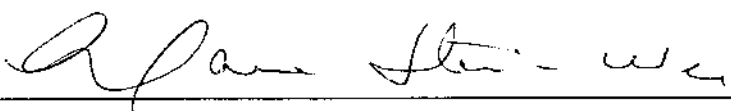
1. Fibroblasto. 2. Diabetes. 3. Insulina - Receptores. I. Maria Beatriz Puzzi Taube. II. Mário José Abdalla Saad. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado:

Orientador:


Prof^ª Dr^a Maria Beatriz Puzzi Taube

Membros :


Prof^ª Dr^a Laura Sterian Ward


Prof. Dr. Mauricio Mota de Avelar Alchorne

**Curso de Pós Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas
da Universidade Estadual de Campinas**

Data: ____/____/____

*Aos meus pais, Franci e Arlete,
Ao meu marido Adolfo*

Agradecimentos

Aos pacientes que participaram da pesquisa, que muito contribuíram para um melhor entendimento da Acantose Nigricante,

Aos Serviços de Endocrinologia e Nutrição do Hospital Celso Pierro da PUC de Campinas, que possibilitaram a seleção de pacientes; em especial às Dr^{as} Fátima Regina Chaves e Eliana Mantoveni de Luna Amatto; e às nutricionistas Júlia e Rosane,

À Conceição Aparecida da Silva e Luís Janeri, pela análise laboratorial, pelo interesse e participação constantes e pela extrema dedicação,

Ao Laboratório de Anatomia Patológica, especialmente à Luzia e Gisele, pelo preparo do material histopatológico,

Às enfermeiras e auxiliares de enfermagem, aos residentes, e docentes da disciplina de Dermatologia, a todos os colegas que se empenharam no encaminhamento de pacientes,

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e à FAEP (Fundação de Apoio ao Ensino e Pesquisa), pelo apoio financeiro,

À Comissão de Pesquisa/Estatística da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, pela análise estatística, em especial à Cleide Aparecida Moreira da Silva e Luzzane Leão Baia,

À minha cunhada Gisele Puime Pires, pelo estímulo para a finalização desse trabalho,

À Prof^a Dr^a Maria Beatriz Puzzi Taube, pela orientação e incentivo constantes,

Ao Prof. Dr. Mário José Abdalla Saad, pela orientação, pelas valiosas informações e sugestões na elaboração desse trabalho.

Agradecimento Especial

À Professora Doutora Eliane Maria Ingrid Amstalden, pela orientação e sugestões do estudo histológico e histoquímico, e pela documentação fotográfica.

Sumário

AGRADECIMENTOS	IV
AGRADECIMENTO ESPECIAL.....	V
SUMÁRIO.....	VI
LISTA DE ABREVIATURAS	VII
LISTA DE TABELAS E FIGURAS	VIII
RESUMO.....	IX
CAPÍTULO 1 : INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS.....	12
CAPÍTULO 2 : MATERIAIS E MÉTODOS	13
CAPÍTULO 3 : RESULTADOS	20
CAPÍTULO 4 : DISCUSSÃO.....	36
CAPÍTULO 5 : CONCLUSÕES.....	48
ABSTRACT.....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
ANEXO 1.....	64
ANEXO 2.....	71

Lista de Abreviaturas

AN - Acantose Nigricante

Clamp - Clampeamento hiperinsulinêmico euglicêmico

EGF - Fator de crescimento epidérmico

FSH - Hormônio folículo estimulante

GH - Hormônio do crescimento

HAIR-AN - Hiperandrogenismo, insulino resistência e acantose nigricante

IGF-1 - Fator de crescimento "insulina like"

IGFBP-3 - Proteína ligadora 3 do fator de crescimento "insulina - like"

IMC - Índice de massa corpórea

IRS-1 - Substrato 1 do receptor de insulina

Kg - Quilogramas

LH - Hormônio Luteinizante

m - Metro

sDHEA - Sulfato de dehidroepiandrosterona

T4L - Tiroxina livre

α TGF - Fator de crescimento alfa transformante

TOTG - Teste oral de tolerância à glicose

TSH - Hormônio estimulador da tireóide

TTI - Teste de tolerância à insulina

Lista de Tabelas e Figuras

Tabela 1	Página 25
Tabela 2	Página 26
Tabela 3	Página 28
Figura 1	Página 29
Figura 2	Página 30
Figura 3	Página 31
Figura 4	Página 32
Figura 5	Página 33
Figura 6	Página 34
Figura 7	Página 35

Resumo

A Acantose Nigricante (AN) benigna está associada a diversas endocrinopatias e alterações metabólicas, particularmente a resistência insulínica. A dermatose é encontrada mais freqüentemente nos pacientes obesos, e obesidade é uma condição de resistência insulínica. Alguns trabalhos têm mostrado associação de resistência insulínica com presença de depósito de mucopolissacárides na derme papilar em cortes histológicos de AN. Este estudo foi realizado com o objetivo de se avaliar a resposta insulínica após o teste oral de tolerância à glicose (TOTG) em obesos com AN e comparar com grupos controle, além de correlacionar com os aspectos histopatológicos e histoquímicos. Para tanto, foram avaliados 33 pacientes: 14 Obesos com AN (Grupo 1), 9 Obesos Normais (Grupo 2), e um grupo controle de 10 pacientes com peso normal. Para o estudo histológico, foi possível obter análise de 13 pacientes obesos com AN, 8 pacientes obesos sem AN e 9 pacientes de peso normal. Foram avaliados os níveis de insulina ao jejum, aos 120', a área sob a curva de insulina e os índices insulinogênicos (0', 120' e área). Biópsias de pele foram analisadas pela coloração pelo ferro coloidal para pesquisa de mucopolissacárides na lesão cutânea e nos grupos controle, na mesma região anatômica. Os resultados mostraram diferença significativa na insulina aos 120' do TOTG entre os grupos 1 e 2 ($p < 0,05$), e o índice insulinogênico aos 120' mostrou valores muito próximos do limite da significância estatística ($p = 0,053$). Ao estudo de correlação, quando analisados os 3 grupos em conjunto, foi observado correlação linear positiva entre níveis de insulina (120', índice insulinogênico aos 120', área de insulina e índice de área de insulina) e espessura da epiderme e camada córnea ($p < 0,05$) e entre medidas da papila e índice de área de insulina ($p < 0,05$). Não houve diferenças à coloração pelo ferro coloidal na área da AN, comparada com os grupos controle. Pacientes obesos sem AN apresentaram maior área de insulina ($p < 0,05$) quando comparados com pacientes magros sem AN, a despeito das medidas do epitélio e papila serem próximas, o que sugere que níveis altos de insulina isoladamente não justificam a

lesão dermatológica. Conclui-se que obesos com AN apresentam resistência insulínica maior que obesos sem AN, que a resistência insulínica não está associada à maior presença de mucopolissacárides na derme e que níveis sanguíneos de insulina estão associados à espessura da epiderme e camada córnea. Em contrapartida, níveis altos de insulina isoladamente não justificam a lesão dermatológica. A presença de mucopolissacárides na derme papilar na região da axila mostrou ser esse um achado normal. O presente trabalho sugere influência da insulina no crescimento epitelial.

Palavras-chave: Acantose Nigricante, Resistência Insulínica, Obesidade, Ferro Coloidal, Mucopolissacárides.

Capítulo 1 : Introdução

A Acantose Nigricante (AN) é uma dermatose caracterizada por hiperpigmentação e um aspecto rugoso, aveludado, localizando-se principalmente nas áreas de dobras, como pescoço, axilas, regiões inguinocrural e inframamária, embora possa ocorrer também em superfícies extensoras e mucosas.

Foi descrita em 1889 por Pollitzer e Janvovsky, que suspeitavam da associação da dermatose com neoplasia, o que foi corroborado quatro anos após por Darier. Assim, a AN foi inicialmente descrita como uma paraneoplasia -Acantose Nigricante maligna- e tumores gástricos são os mais frequentemente associados à dermatose.

Posteriormente foi descrita em associação com endocrinopatias diversas, como diabetes, síndrome dos ovários policísticos, entre outras; síndromes congênitas, drogas, obesidade, de surgimento familiar (BROWN & WINKELMANN, 1968; TASJIAN & JARRAT, 1984); e mais recentemente, e de modo mais freqüente, em associação com resistência insulínica -Acantose Nigricante benigna.

Diabetes Mellitus insulino resistente foi descrito em associação com AN na década de 50, e grandes avanços foram obtidos após o trabalho de KAHN et al, que, em 1976 relataram 6 pacientes com hiperandrogenismo, insulino resistência e AN (Síndrome HAIR-AN) sendo que 3 delas eram jovens do sexo feminino não obesas, com ovários policísticos e com diminuição do número de receptores de insulina, caracterizando o tipo A da síndrome. As outras 3 pacientes apresentavam faixa etária maior, manifestação de doença autoimune e presença de anticorpos anti receptor de insulina, caracterizando o tipo B da síndrome. Posteriormente foi descrito o tipo C da síndrome, onde a ligação da insulina com

o seu receptor estaria normal, o que sugere um defeito na ação da insulina a nível pós receptor (MISBIN et al, 1988; BARBIERI & RYAN, 1983b).

O avanço no conhecimento da AN e sua associação com resistência insulínica vêm confirmar a importância da dermatose como marcadora de doença interna, mesmo que esta não se apresente clinicamente.

Embora muitas vezes não valorizada pelo paciente, já que a dermatose é praticamente assintomática, é da maior importância o reconhecimento da mesma pelo médico, em função da sua associação com doenças tão diversas.

A etiopatogenia da AN ainda não é conhecida. Fatores de crescimento que têm ação na epiderme ou tecido conjuntivo podem desempenhar algum papel na origem da AN maligna, como o fator de crescimento epidérmico -EGF- (ELLIS et al, 1987; FROHMAN, 1992), o fator de crescimento alfa transformante (α TGF) (EBLING, EADY & LEIGH, 1992), entre outros, porém não há até o momento evidências da ação desses fatores de crescimento na AN benigna. Deficiência de ácidos graxos essenciais nos lipídeos epidérmicos foi apontada como causa da lesão dermatológica (SHERERTZ, 1988), mas essa hipótese ainda necessita maiores estudos. Alguns hormônios também foram aventados como possíveis causadores da AN benigna (BERNSTEIN et al, 1983), devido à associação desta com endocrinopatias, mas na atualidade, maiores atenções têm sido dadas aos estados de insulino resistência.

Vários autores sugerem que a insulina age, entre outros, nos receptores dos queratinócitos epidérmicos, promovendo seu crescimento. Essa ação poderá ocorrer através do seu receptor clássico, ou através de receptores para fatores de crescimento "insulina like" (FLIER, 1985; CRUZ JR & HUD JR, 1992). Os receptores clássicos para insulina e os receptores para fator de crescimento "insulina like" (IGF-1) têm sido identificados em cultura de fibroblastos humanos e em cultura de queratinócitos (VERRANDO &

ORTONNE, 1985). Além disso, estudos “in vivo” têm demonstrado que a insulina pode atravessar a junção dermo-epidérmica para alcançar os queratinócitos (VERRANDO & ORTONNE, 1985) e a mesma promove migração de queratinócitos, observado em estudos de farmacocinética (ANDO & JENSEN, 1993).

O efeito da hiperinsulinemia na pele não está claramente definido. As lesões de AN podem representar um efeito isolado (OBER, 1985) ou combinado de produção de insulina aumentada e/ou andrógenos nos receptores da pele para insulina e para IGF-1 (GRASINGER, WILD e PARKER, 1993). Alguns autores excluem um papel etiológico primário dos andrógenos na AN, baseados no relato de uma paciente com AN, amenorréia e resistência à insulina, que exibia atresia ovariana à laparoscopia e sem aumento de andrógenos no sangue (WORTSMAN et al, 1983).

Sugere-se que, em baixas concentrações plasmáticas de insulina, os efeitos no crescimento epidérmico sejam mediados pelos receptores clássicos, enquanto que em altas concentrações plasmáticas, os efeitos seriam mediados pelos receptores para fator de crescimento insulina-like, já que esses receptores apresentam homologia estrutural com o receptor da insulina (KELLET et al, 1988). Contudo, a dermatose já foi descrita em pacientes com a síndrome tipo A de resistência insulínica em paciente com diminuição de receptores para insulina e para IGF-1, o que sugere a intermediação de algum outro receptor para fator de crescimento (DUNAIF et al, 1991).

O exame histopatológico geralmente contribui pouco para o diagnóstico da AN, que é essencialmente clínico. Podemos encontrar acantose irregular, que pode ser discreta, hiperqueratose, e principalmente papilomatose (ELDER et al, 1997). Alguns trabalhos demonstram que essas alterações histológicas podem estar presentes sem evidência da lesão clínica (DUNAIF et al, 1991).

Na última década, alguns poucos estudos que utilizaram colorações especiais (histoquímica) demonstraram depósito de mucopolissacárides na derme em cortes histológicos de AN. YAMADA, 1992, estudando pacientes obesas com a síndrome HAIR-AN, demonstrou que esse depósito é mais acentuado na derme da área com lesão, quando comparada com a derme de pele sã. MATSUOKA, GAVIN & GOLDMAN, 1987, estudaram 26 pacientes com endocrinopatias diversas, e todos apresentavam hiperinsulinismo basal. A biópsia da pele com AN revelou depósito de mucopolissacárides à coloração pelo ferro coloidal. Esses autores sugerem, por esses achados, que em condições de hiperinsulinismo, poderia haver uma maior estimulação dos fibroblastos dérmicos, ocasionando maior produção de mucopolissacárides na derme.

A resistência insulínica é definida quando uma determinada concentração de insulina produz resposta biológica subnormal (FLIER, 1983). Comumente ela se acompanha de hiperinsulinismo compensatório, e quando ocorre a exaustão das células β do pâncreas, pode surgir diabetes mellitus (SCHWARTZ, 1994; OPPENHEIMER, LINDER & DIMARTINO-NARDI, 1995).

Vários distúrbios endócrinos podem estar associados à resistência à ação da insulina, entre eles a síndrome de Cushing, a acromegalia (AKIYAMA et al, 1991; ÜNAL, SAHIN, KELESTIMUR, 1993), entre outros, e mais frequentemente, a obesidade (MOTA, 1993).

A insulina é o principal hormônio controlador da glicose sanguínea, além de influenciar o crescimento e a diferenciação celular, agindo na síntese do DNA e RNA, e participar no metabolismo dos lipídeos e proteínas (FLIER, 1983).

A ação da insulina na célula ocorre após a ligação com o seu receptor específico, que é uma glicoproteína composta por 2 subunidades alfa e 2 subunidades beta, unidas por pontes de dissulfeto. A subunidade alfa é extracelular e contém o sítio de ligação com a

insulina. A subunidade beta apresenta uma parte transmembrana e outra parte intracelular que apresenta atividade de tirosina quinase (FEISTEIN et al, 1993; ACCILI et al, 1992).

Após a ligação da insulina com a subunidade alfa, a subunidade beta é ativada, resultando num processo autocatalítico - Autofosforilação - , onde o ATP age como o doador de fosfato (KAHN & WHITE, 1988). A autofosforilação do receptor ocorre através de uma cascata de fosforilação dos resíduos tirosínicos da subunidade beta, e essa reação é crucial para a ação da insulina (MISBIN et al, 1988), haja visto que mutações no receptor ou anticorpos que inibam a tirosina quinase anulam a sinalização da insulina (FEINSTEIN et al, 1993).

Os eventos posteriores à autofosforilação do receptor ainda não estão completamente esclarecidos, porém o modelo mais aceito de ação da insulina sugere que, após a fosforilação do receptor, haveria a fosforilação do IRS-1 ("Insulin receptor substrate 1"), que é uma proteína de 185 kilodaltons, que se ligaria a moléculas adaptadoras e enzimas, gerando os vários efeitos biológicos da insulina. O IRS-1, então, teria o papel de proteína "ancoradura".

Muitas dessas proteínas que participam da sinalização da insulina estão sendo descritas, porém ainda não são completamente conhecidos os eventos bioquímicos intracelulares que culminam com as ações finais da insulina (FOLLI, SAAD & KAHN, 1996; MULLER-WIELAND et al, 1993).

Resistência insulínica pode acontecer devido a alterações prévias à ligação da insulina com o seu receptor; devido a alterações na ligação, devido a alterações pós ligação da insulina com o seu receptor, ou resultar de um prejuízo na translocação da glicose através da membrana plasmática, além de possíveis alterações regulatórias dos lipídeos (SUGDEN & HOLNESS, 1990).

Anticorpos anti insulina (FIER,1983), molécula de insulina estruturalmente anormal (OLEFSKY, 1992), são causas de resistência insulínica por alteração pré receptor.

Anticorpos anti receptor de insulina, como nas doenças auto imunes (KELLET et al, 1988; TAYLOR et al, 1982; MISBIN et al, 1988), diminuição da afinidade do receptor para a insulina, causada por pexemplo por mutações no receptor (GOLDSTEIN e KAHN, 1989), diminuição do número de receptores para a insulina (THIVOLET et al, 1988 ; MARIANI et al, 1982), que também ocorre na obesidade, são causas de alterações na ligação da insulina com o seu receptor.

Alterações pós ligação da insulina com o seu receptor podem ocorrer na síndrome HAIR-AN tipo C (MISBIN et al, 1988; LEBLANC et al, 1984), e também na obesidade, embora os mecanismos não sejam totalmente conhecidos. As alterações que ocorrem após a ligação da insulina com o seu receptor podem envolver várias moléculas importantes que participam do efeito final da insulina.

Na presença de hiperinsulinemia, pode haver diminuição do número de receptores para insulina, fenômeno chamado “down regulation”. Pacientes com obesidade ou insulinoma têm diminuição do número de receptores de 60 a 70% (BAR et al, 1978).

Há estudos sugerindo que a insulina em níveis fisiológicos, age no seu receptor clássico; porém quando presente em níveis supra fisiológicos, exerceria ação através dos receptores para fator de crescimento insulina like I -“Insulin like growth factor” - IGF-1 ou Somatomedina C (SCHMID, 1993; RENDON et al, 1989). Esse receptor compartilha mais de 80% de semelhança estrutural no domínio da “tirosina quinase”, mas tem pouca semelhança estrutural no domínio extracelular. Dessa forma, poderá haver fosforilação, pela insulina em níveis elevados, de vários sítios dessa região análoga dos receptores para IGF-1 (WHITE & KAHN, 1994).

As somatomedinas são mediadoras da ação do hormônio do crescimento (GH) em vários tecidos, sendo a mais importante a somatomedina C ou IGF-1. O fígado é o principal órgão sintetizador das somatomedinas, sob o estímulo do GH (FROESCH & HUSSAIN, 1993), mas as mesmas podem também ser secretadas de modo parácrino e autócrino. Existem evidências de que também o IGF-1 em altas concentrações reage cruzadamente com os receptores de insulina, exercendo efeitos “insulina like” (PARISH, 1992). Trabalhos recentes têm enfatizado a ação desse hormônio e suas proteínas ligadoras, especialmente a IGFBP-3 (“Insulin-like Growth Factor-Binding Protein 3) na modulação do crescimento (WRAIGHT et al, 1994) e migração de queratinócitos (ANDO & JENSEN, 1993).

Os ovários, assim como a pele, representam órgãos alvo de ação da insulina, quando em níveis supra fisiológicos (VERRANDO & ORTONNE, 1985; BARBIERI & RYAN, 1983). A insulina pode apresentar um efeito esteroidogênico sobre os ovários, através da ação em seus próprios receptores, ou através dos receptores para IGF-1, ambos presentes no estroma ovariano (BARBIERI, 1994). Esse efeito esteroidogênico poderá resultar de uma ação sinérgica com o LH na síndrome HAIR-AN (DUNAIF et al, 1985 ; AZIZIZ, 1994). Receptores para insulina têm sido demonstrados em tecido ovariano suíno e humano (BARBIERI, MAKRIS and RYAN, 1983a; FLIER et al, 1985) e receptores para IGF-1 têm sido encontrados tanto nos ovários como na pele (HODAK et al, 1996).

A resistência à ação da insulina na homeostase da glicose não necessariamente reflete resistência às outras ações da insulina, como por exemplo o transporte de potássio (SAAD & FOSS, 1989). A regulação do receptor insulínico no ovário parece se processar de maneira diversa da regulação em órgãos alvo tradicionais (MANTZOROS, LAWRENCE & LEVY, 1995), ou a insulina em níveis supra fisiológicos, poderá interagir com receptores para IGF-1 no ovário (BARBIERI, 1994).

Vários métodos laboratoriais podem demonstrar resistência insulínica, sendo o clampeamento hiperinsulinêmico euglicêmico (“Clamp”) considerado o “padrão ouro” (STARKE, 1992). Esse método diagnostica e quantifica a resistência insulínica. O teste de tolerância à insulina (TTI) também é um bom método para avaliar resistência insulínica (GELDING et al, 1994), entre outros.

O teste oral de tolerância à glicose (TOTG) e a curva de insulina são um método simples e de fácil execução. BARBIERI & RYAN, 1983b, consideram resistência leve, quando os níveis de insulina e glicose no jejum forem normais, porém com níveis de insulina alterados após sobrecarga de glicose. Resistência moderada a grave ocorre com aumento da insulina sanguínea no jejum, com a glicose normal ou aumentada.

A associação da AN com obesidade é largamente reconhecida. Curth, em 1955, denominou o termo “Pseudo Acantose Nigricante” aos casos em que a dermatose estava presente nos obesos sem endocrinopatia subjacente. Fatores locais, como atrito e suor eram implicados como causas dessa dermatose nos obesos (BROWN & WINKELMANN, 1968). Porém, trabalhos posteriores demonstraram que a AN é uma dermatose marcadora de resistência insulínica nos pacientes obesos, quando comparados com grupos controle com grau de obesidade semelhante (HUD JR et al, 1992).

A AN apresenta maior prevalência nos pacientes obesos (SCHWARTZ, 1994), e tem sido relatado que quanto maior a obesidade, maior a chance de surgimento dessa dermatose. HUD JR et al, 1992, observaram uma prevalência de 74% da AN em 34 pacientes obesos examinados ao acaso, sendo o grau da obesidade um fator importante na dermatose, pois 80% dos pacientes com 200% ou mais do peso ideal corporal apresentaram AN, confirmando a observação de STUART et al, 1986, que detectaram presença de AN num percentual de 66 % nas crianças com 200% ou mais do peso corporal ideal. Além disso, o tempo de obesidade parece ser maior nas pacientes obesas com a síndrome HAIR-AN, quando comparadas a obesas sem AN (WAJCHENBERG et al, 1988).

Sabe-se que, na obesidade, há uma combinação de alterações na ação da insulina, podendo haver diminuição do número de receptores ("down regulation"), e principalmente alterações pós receptor, levando à uma insensibilidade tecidual à insulina, além de outros fatores prováveis, como redução na capacidade de metabolizar a glicose (WAJCHENBERG et al, 1988). Ainda não se sabe até que ponto há a diminuição da ligação do hormônio primariamente ou secundariamente ao "down regulation" induzido pela hiperinsulinemia, embora a segunda hipótese seja mais aceita; há estudos que mostram que a incubação de células com altas concentrações de insulina estimula a taxa de degradação do receptor de insulina e pode também diminuir os níveis de RNA mensageiro para o gene do receptor de insulina ("apud" MULLER WIELAND et al, 1993).

Grande atenção foi dada à síndrome HAIR-AN nos últimos quinze anos, e vários autores demonstraram associação de obesidade, AN e resistência insulínica, além de hiperandrogenismo (RICHARDS et al, 1985; PETERS et al, 1986; GRASINGER, WILD & PARKER, 1993), comprovando que obesos com AN exibem alterações metabólicas, como a resistência à ação da insulina, que pode se apresentar de leve a grave, dependendo das alterações que envolvem a interação da insulina com o seu receptor específico, ou das alterações pós receptor.

A concentração da insulina plasmática é geralmente, mas não sempre, aumentada na obesidade humana (SALANS, 1987). A hiperinsulinemia é provavelmente consequência da hiperfagia (FLIER, 1983). Existem evidências em modelos animais de obesidade que, quanto maior e mais duradoura a hiperinsulinemia, maior será a resistência insulínica (CUSIN et al, 1992).

PETERS, STUART & PRINCE, 1986, demonstraram diminuição do número de receptores para insulina, mais do que diminuição da afinidade de ligação em obesos com AN, que aumentaram após dieta hipocalórica. Trabalhos em ratos obesos apontam um papel

causal do fator de necrose tumoral na supressão da fosforilação do receptor da insulina, e sugerem que este fator seja uma das causas da resistência insulínica na obesidade (FEINSTEIN et al, 1993).

Parece haver um subgrupo de pacientes obesas com sinais e sintomas da síndrome HAIR-AN tipo A, já que na descrição original da síndrome, as pacientes não apresentavam obesidade (FLIER et al, 1985). Esses autores sugerem que o defeito na ligação da insulina com o seu receptor seja consequência da hiperinsulinemia, pois essas pacientes obesas, quando foram submetidas a restrição calórica, apresentaram melhora nos parâmetros de ligação da insulina com o seu receptor. Isso difere das pacientes com defeito no receptor (ou pós receptor) geneticamente determinado, cujos parâmetros de ligação da insulina não melhoram com o jejum.

Na obesidade pode haver também alterações no metabolismo dos andrógenos, como aumento da produção dos mesmos e diminuição dos níveis da globulina que liga o estradiol e a testosterona, aumentando a fração livre desses hormônios (DUNAIF, 1985). Na síndrome HAIR-AN em crianças, o hiperandrogenismo parece se iniciar com a puberdade, devido a interferência da hiperinsulinemia sobre a função ovariana, aumentando a produção de andrógenos (RICHARDS et al 1985, BARBIERI, 1994).

Boa parte das pesquisas até o momento deu ênfase ao estudo de obesas com a síndrome HAIR-AN, embora haja estudos em obesos com AN sem a síndrome (HUD JR et al, 1992). Trabalhos recentes apontam que outros fatores, não somente a resistência insulínica, podem estar associados à AN das pacientes obesas com a síndrome dos ovários policísticos (PANIDIS et al, 1995).

O primeiro motivo do estudo surgiu para se avaliar os níveis insulinêmicos de obesos com AN, e compará-los com grupos obeso e magro controle, além de correlacioná-los com os achados histopatológicos obtidos na mesma região anatômica.

O segundo motivo do estudo surgiu em função da necessidade de se esclarecer o papel da presença de mucopolissacárides na lesão dermatológica, devido à escassez de trabalhos que abordem o assunto.

Objetivos

O presente estudo objetiva:

I - Comparar a resposta insulínica após o teste oral de tolerância à glicose entre pacientes obesos com AN e obesos sem AN.

II - Comparar os achados histopatológicos e histoquímicos entre pacientes obesos com AN, obesos sem AN e pacientes com índice de massa corpórea normal, e correlacioná-los com os níveis de insulina.

Capítulo 2 : Materiais e Métodos

Foram avaliados 46 pacientes, selecionados de forma aleatória dos ambulatórios de Endocrinologia e Nutrição do Hospital Celso Pierro da PUC de Campinas e do Ambulatório de Dermatologia do Hospital das Clínicas da UNICAMP. Quatorze pacientes participaram do grupo obeso com Acantose Nigricante (Grupo 1), nove pacientes participaram do grupo obeso sem AN (Grupo 2), e dez pacientes com índice de massa corpórea normal e sem AN participaram do grupo normal (Grupo 3). Para o estudo histológico, 13 pacientes participaram do grupo 1, 8 pacientes participaram do grupo 2 e 9 pacientes participaram do grupo 3. O período de coleta de dados durou 1 ano e meio. O grupo controle obeso sem AN foi pareado para idade, sexo, raça e índice de massa corpórea e o grupo controle com índice de massa corpórea normal sem AN foi igualado para sexo, raça e idade.

O estudo foi submetido à avaliação pela Comissão de Ética do Hospital das Clínicas da Unicamp, tendo sido aprovado em Janeiro de 1995. Todos os pacientes deram seu consentimento por escrito antes de participarem de qualquer procedimento do estudo. A pequena amostra de pacientes com AN se justifica pela dificuldade de se selecionar pacientes obesos em acompanhamento ambulatorial que não estejam sob uso de qualquer medicação que possa interferir na análise hormonal, particularmente a avaliação da sensibilidade à insulina. Diuréticos, bloqueadores adrenérgicos, inibidores de enzima de conversão da angiotensina são algumas das drogas usadas na prática médica que interferem na análise da sensibilidade à insulina (STARKE, 1992).

Os pacientes foram submetidos a :

- 1 - História Clínica e exame físico apurados.

Pacientes em uso de medicamentos que pudessem interferir na análise foram excluídos do estudo, assim como pacientes portadores de doenças sistêmicas graves. Pacientes sabidamente diabéticos não foram incluídos no estudo.

Os pacientes foram questionados sobre o tempo de obesidade, e quando os mesmos referiam que a obesidade surgiu “desde a infância”, a mesma foi considerada a partir de 5 anos.

A AN foi classificada de 0 a 3+: 0 - Sem a dermatose; 1+ - Hiperpigmentação e alterações verrucosas leves, em até 3 regiões de dobras cutâneas; 2+ - Hiperpigmentação e alterações verrucosas moderadas, em até 3 regiões de dobras cutâneas; 3+ - Hiperpigmentação e alterações verrucosas severas, em 3 ou mais regiões de dobras cutâneas.

Foram considerados obesos os pacientes com índice de massa corpórea ≥ 27 , segundo o cálculo: $IMC = \text{Peso (kg)} / \text{Altura}^2 \text{ (m)}$. Embora haja limitações nesse cálculo, esse método ainda é o mais prático e o mais largamente utilizado (SALANS, 1987). Pacientes com índice de massa corpórea ≤ 25 foram considerados de peso normal. O grau de obesidade foi arbitrariamente dividido em quatro níveis: Grau I: $27 < IMC < 34.99$, Grau II: $35 < IMC < 42.99$, Grau III: $43 < IMC < 50.99$, Grau IV: $IMC > 51$.

2 - Avaliação hormonal: Foi realizada no laboratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da UNICAMP e incluiu análises de: T4 livre e TSH, Testosterona total e livre, sulfato de dehidroepiandrosterona (sDHEA), androstenediona, FSH, LH, Prolactina, Cortisol livre na urina de 24 horas. O objetivo da análise hormonal foi o de afastar eventual patologia associada à AN.

A coleta foi realizada com jejum de 10 a 12 horas, na fase folicular do ciclo menstrual, nas pacientes do sexo feminino.

As análises do cortisol livre na urina de 24 hs foram feitas por radioimunoensaio (Kit DSL 2000 SP), usando anticorpo de coelho anticortisol, e os resultados foram expressos em μg na urina de 24 hs.

O sDHEA, androstenediona, testosterona total e livre foram analisados por radioimunoensaio de fase sólida.

O FSH, LH, Prolactina, T4 livre (DADE) e o TSH (BAXTER) foram analisados por método fluorimétrico imunoenzimático usando duplo anticorpo.

3 - Biópsia de pele para análise histopatológica e histoquímica - Foi obtido fragmento de pele de 3,5 mm de diâmetro com punch, sob anestesia local com xilocaína a 2%, em local onde a dermatose estava mais nítida ao exame dermatológico. O fragmento foi retirado preferencialmente na axila; e quando o mesmo não era possível (por algum processo infeccioso), optou-se por obter-se um fragmento do pescoço. As peças foram fixadas em formol a 10%, incluídas em parafina, e as lâminas resultantes foram coradas pela hematoxilina - eosina e pelo ferro coloidal, tendo sido analisadas em conjunto.

Foram incluídos na avaliação histológica do grupo 3 outros pacientes que participaram da pesquisa, e que foram excluídos da avaliação insulínica por diferirem do sexo, ou raça. Até onde vai nosso conhecimento, não existem estudos em humanos que demonstrem diferenças na espessura da epiderme entre o sexo masculino e o feminino e entre as raças preta ou branca. Trabalhos que avaliaram a camada córnea da epiderme das raças preta e branca não mostraram diferenças significativas na espessura (BERARDESCA & MAIBACH, 1988; "apud" MACDONALD, C.J., 1988), e outros trabalhos já mostraram

não haver diferenças estruturais entre a pele preta ou branca, exceto pela diferença do tamanho dos melanossomas (MONTAGNA & CARLISLE, 1991).

Foi utilizada uma ocular milimetrada Kp1-W 10X/18 acoplada ao microscópio Carl Zeiss para avaliar as medidas das papilas dérmicas, dos cones epidérmicos, da camada córnea das regiões suprapapilar e nas depressões do epitélio. As medidas foram realizadas em lâminas coradas pela hematoxilina-eosina, utilizando objetiva no aumento de 40X. Os valores observados foram convertidos em micrômetros. A análise obedeceu os seguintes critérios:

Medida da altura das papilas: As papilas foram medidas a partir do ponto médio entre as extremidades dos cones que delimitam a papila até a camada basal do epitélio, no sentido longitudinal. Quando os cones exibiam diferentes medidas, era calculado o valor médio dessas medidas. Um mínimo de 5 papilas por corte foram avaliadas, sendo desprezadas as papilas das bordas do corte, ou quando havia fusão dos cones, ou cones não perpendiculares.

Medidas dos cones: Os cones foram medidos desde o polo inferior da camada basal até a última célula da camada granulosa, de modo perpendicular ao epitélio. Foram avaliados 5 cones por corte no mínimo. Não foram considerados os cones das extremidades e cones fundidos.

Medida da camada córnea na região supra papilar: Foi medida a camada córnea em áreas onde as lâminas córneas estavam dispostas no sentido horizontal e não destacadas, num mínimo de 5 pontos diferentes.

Medida da camada córnea na depressão do epitélio: Foi medida a camada córnea na depressão do epitélio, num mínimo de 5 pontos diferentes, onde a mesma não se

apresentasse destacada. Essa análise também foi incluída porque a maior expressão da hiperkeratose ocorria na região da depressão do epitélio, sendo importante considerá-la.

A avaliação histoquímica à coloração pelo ferro coloidal (MANUAL OF HISTOLOGIC AND SPECIAL STAINING TECHNIQS - ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY, 1957) foi expressa em cruces, e considerada leve (+) e intensa (++)

Utilizou-se um corte de intestino como controle positivo da reação, pela riqueza em mucopolissacarídeos ácidos.

4 - Teste Oral de Tolerância à Glicose e Curva de Insulina - O paciente foi orientado a ingerir dieta rica em carboidratos (com mínimo de 200g) por 3 dias antes do exame, e a não realizar exercícios físicos vigorosos nesse período. Após jejum entre 10 e 12 horas, o paciente era acomodado no leito, e uma veia periférica era puncionada. Amostras de sangue foram coletadas no tempo basal para avaliação hormonal (item 2), avaliação da glicose e insulina, e após ingestão de uma solução com 75g de glicose por via oral, foram coletadas novas amostras nos tempos de 30', 60', 120' para análise de glicose e insulina.

Foi usado o método enzimático (Glicose Oxidase - Labtest) para análise da glicemia e os resultados foram expressos em mg/dl. A insulina foi analisada por radioimunoensaio com a utilização de anticorpo anti insulina de porco (Kit DSL 1600). Os soros para dosagem de insulina foram mantidos a -20° C até o seu processamento. Historicamente, no nosso laboratório a sensibilidade do radioimunoensaio é de 1,3 µUI/ml e o anticorpo utilizado apresenta reatividade cruzada desprezível contra a pró insulina.

Foram considerados diabéticos pacientes com glicemia de jejum maior ou igual a 140 mg/dl e/ou glicemia aos 120'maior ou igual a 200 mg/dl e, pelo menos mais um valor maior ou igual a 200 mg/dl entre os tempos zero e 120' (NATIONAL DIABETES DATA GROUP, 1979).

Foram considerados intolerantes à glicose os pacientes com glicemia de jejum menor que 140 mg/dl com a glicemia aos 120' entre 140 e 200 mg/dl, e pelo menos um valor entre zero e 120' maior ou igual a 200 mg/dl.

Foi dosada a insulina nos tempos zero e aos 120', o pico de resposta de insulina ao estímulo com glicose, a área integrada sob a curva de insulina, e também o índice insulinogênico nos tempos 0 e 120', o índice de área, e os resultados foram comparados entre os grupos.

Insulina no tempo zero : Valores até 30,8 μ UI/ml em presença de euglicemia foram considerados normais segundo o kit utilizado.

Área integrada sob a curva (AIC): Calcula-se pelo método trapezoidal durante os 120 minutos do Teste Oral de Tolerância à Glicose.

Índice Insulinogênico: Resulta da divisão dos valores de insulina (em μ UI/ml) sobre os valores de glicose (em mg/dl) nos tempos zero e 120 minutos. O índice da área resulta da divisão da área de insulina sobre a área de glicose.

Pico de Insulina: É o valor mais alto de insulina apresentado durante o teste oral de tolerância à glicose.

5 - Ultrassonografia de ovários:

Foi realizada no Setor de Radiologia do Hospital das Clínicas da Unicamp, para análise da dimensão e morfologia ovarianas. Foi considerada normal a medida ovariana entre 3 a 9 cm³ (diâmetro ântero posterior X transversal X lateral X 0,52) e a uterina entre 25 a 90 cm³ (diâmetro ântero posterior X transversal X lateral X 0,52).

6 - Análise Estatística:

Foi usado o teste de Wilcoxon para amostras independentes (Mann-Withney) para todas as comparações, devido ao reduzido número de indivíduos em cada grupo e à não normalidade das variáveis estudadas. Para verificar correlação linear utilizou-se o coeficiente de Spearman (não paramétrico). Resultados com significância estatística foram considerados quando o valor de p se mostrou menor que 0,05 (CONOVER, 1971).

Capítulo 3 : Resultados

Os dados clínicos e laboratoriais relevantes dos 3 grupos (Obesos com AN - Grupo 1, Obesos sem AN - Grupo 2 e Magros sem AN - Grupo 3), encontram-se no Anexo 1 (páginas 64 a 67). Duas pacientes do grupo 1 apresentaram diabetes mellitus (P2 e P5) e 1 paciente apresentou intolerância à glicose (P8), e seus resultados foram excluídos de toda a análise estatística. Uma paciente apresentou valores próximos, mas não pôde ser classificada como intolerante à glicose (P12).

A média de idade entre os grupos não difere estatisticamente (ANOVA para comparação das médias de idade entre os grupos; valor de $p=0,146$). O índice de massa corpórea (IMC) do grupo 2 é maior que o do grupo 1, mas sem diferença estatística ($p=0,88$).

A **Tabela 1** (página 25) exibe os valores de insulina dos grupos 1, 2 e 3 (0', 120', pico e área de insulina), e os valores dos índices insulinogênicos (0', 120' e área). Os resultados foram expressos em médias, desvio padrão e erro padrão da média (EPM), e os valores com asterisco revelam $p<0,05$.

A média da insulina de jejum do grupo 1 não mostrou diferença estatística quando comparada com a do grupo 2. A **Figura 1** (página 29) exibe os valores de insulina basal dos 3 grupos e a **Figura 2** (página 30) exibe a média e o erro padrão da média desses valores.

A média do índice insulinogênico no jejum também não mostrou diferença estatística entre os grupos 1 e 2, mas sim entre os grupos 1 e 3.

A média da insulina aos 120' mostrou valores maiores no grupo 1, quando comparados com os grupos 2 e 3, e essa diferença mostrou significância estatística. A **Figura 3** (página 31) mostra os valores de insulina aos 120' após o TOTG e a **Figura 4** (página 32) exibe a média desses valores e o erro padrão da média.

A área integrada sob a curva de insulina não mostrou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos 1 e 2, mas sim entre os grupos 1 e 3 e 2 e 3. As **Figuras 5 e 6** (páginas 33 e 34) exibem as curvas de glicose e insulina dos 3 grupos nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos, respectivamente.

O índice insulinogênico aos 120' mostrou valores maiores no grupo 1, quando comparados com os grupos 2 e 3, e essa diferença se mostrou próxima do limite da significância estatística (G1 vs G2: $p=0,053$).

O pico de insulina não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos 1 e 2. A **Figura 7** (página 35) exibe os valores apresentados pelos grupos 1 e 2. Em função da falta de dados completos do grupo 3, esse não foi representado graficamente.

A média das glicemias dos tempos 0, 120' e a área de glicose não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos 1 e 2 e entre grupos 2 e 3, porém houve diferenças significativas na glicose aos 120' ($p=0,041$) e na área de glicose ($p=0,012$) entre grupos 1 e 3.

Os dados histopatológicos dos pacientes encontram-se no Anexo 1 (página 68). A **Tabela 2** (páginas 26 e 27) sintetiza a média, o desvio padrão e o erro padrão da média encontrados em cada grupo, a média das insulinas (0', 120', área), e a média dos índices insulinogênicos (0', 120', área).

Houve diferença com significância estatística nas medidas das papilas, dos cones, e na camada córnea na depressão do epitélio entre os grupos 1 (Obesos com AN) e 2 (Obesos sem AN), e entre grupos 1 e 3, como era de se esperar em lesões de AN. A camada córnea na porção supra papilar mostrou também diferenças, porém sem significância estatística. Os grupos 2 (Obesos sem AN) e 3 (Magros sem AN) mostraram valores das medidas histopatológicas próximos.

A **Tabela 3** (página 28) sintetiza as comparações das variáveis e o nível de significância dos testes de Wilcoxon.

Em relação ao grupo 1, houve correlação linear negativa entre insulina de jejum e medida da papila dérmica (coeficiente: -0,93, $p=0,000$), mas não houve correlação entre insulina aos 120' e área de insulina com medidas da papila.

Analisando os 3 grupos ($n=25$) não houve correlação linear entre papila dérmica e insulinas de jejum, aos 120'; e área de insulina, mas houve correlação entre papila e índice de área de insulina (coeficiente: 0,44, $p=0,029$).

Em relação apenas ao grupo 1, não houve correlação entre insulina (0', 120' e área) e índices insulinogênicos com medidas dos cones epidérmicos, camada córnea na depressão do epitélio ou na região supra papilar.

Porém, analisando os 3 grupos ($n=25$), observou-se correlação da insulina aos 120' e índice insulinogênico aos 120' com medidas do cone epidérmico (coeficiente: 0,56, $p=0,009$; coeficiente: 0,52, $p=0,008$, respectivamente), área de insulina e índice de área com medidas do cone epidérmico (coeficiente: 0,54, $p=0,006$; coeficiente: 0,58 e $p=0,002$, respectivamente).

A camada córnea na depressão do epitélio (n=25) mostrou correlação com insulina aos 120', com índice insulinogênico aos 120' (coeficiente:0,56, p=0,003; coeficiente:0,47, p=0,019, respectivamente), com a área de insulina e com o índice de área (coeficiente:0,53, p=0,007; coeficiente:0,51, p=0,010 respectivamente) e com o índice insulinogênico ao jejum (coeficiente:0,40, p=0,049).

A camada córnea na região supra papilar mostrou correlação com a insulina aos 120' (coeficiente:0,43, p=0,032) e com o índice de área de insulina (coeficiente:0,41, p=0,042).

Não houve diferenças à coloração pelo ferro coloidal entre os grupos 1, 2 e 3 (Anexo 2 - páginas 73 a 75). Foi realizado também outro método histoquímico - coloração pelo Alcian blue - para evidenciar mucopolissacárides ácidos, mas a coloração se mostrou muito tênue e de difícil avaliação, por isso, optou-se pelo método do ferro coloidal, que mostrou uma coloração mais nítida.

Não houve correlação entre o grau da AN clínica e valores de insulina ao jejum, aos 120', a área de insulina, ou ao pico de insulina.

O tempo de obesidade não diferiu entre os grupos 1 e 2 (Grupo 1: média-12,82 anos DP:6,19; grupo 2: média-10,67 DP:6,16, G1 vs G2: p=0,45).

Não houve correlação entre tempo de obesidade e área de insulina dos grupos 1 e 2: n:20, p=0,972, nem correlação entre o tempo de obesidade e os níveis de insulina aos 120': n:20, p = 0,933, e também não houve correlação entre tempo de obesidade e insulina ao jejum: n:20, p=0,514.

Não houve correlação entre o grau de obesidade e a área de insulina do grupo 1 ou insulina aos 120', mas sim entre o grau de obesidade e a insulina de jejum (coeficiente:0,781, $p=0,005$).

Em relação aos andrógenos, observou-se tanto aumento da testosterona livre, como aumento ou diminuição do sulfato de DHEA nos grupos 1 e também no grupo 2. Uma paciente do grupo 1 apresentou hirsutismo leve e hidrosadenite, e investigações posteriores revelaram o diagnóstico de hiperplasia adrenal congênita de manifestação tardia. Os resultados da avaliação hormonal dos grupos 1 e 2 encontram-se no Anexo 1 (página 69).

Grupos	Ins. 0'	Ins. 120'	Área Ins.	Pico Ins.	Índ. Ins. 0'	Índ. Ins. 120'	Índ. Área
1 n=11							
Média	25,50	131,73	15702,95	183,55	0,31	1,13	1,04
DP	13,69	68,94	6828,15	63,11	0,18	0,65	0,54
EPM	4,13	20,79	2058,77	19,03	0,06	0,20	0,16
2 n=9							
Média	21,14	73,44	10362,17	131,56	0,25	0,66	0,76
DP	12,55	33,72	1590,40	34,67	0,13	0,22	0,22
EPM	4,18	11,24	530,14	11,56	0,04	0,08	0,07
3 n=10							
Média	9,30	39,58	4618,95	-	0,12	0,39	0,38
DP	5,57	18,99	1733,18	-	0,07	0,16	0,12
EPM	1,76	6,01	548,11	-	0,02	0,05	0,04
p: 1 vs 2	0,569	0,027*	0,149	0,074	0,494	0,053	0,323
p: 1 vs 3	0,004*	0,000*	0,000*	-	0,010*	0,001*	0,000*
p: 2 vs 3	0,025*	0,037*	0,000*	-	0,033*	0,016*	0,000*

Tabela 1

GRUPOS	Obesos com AN - Grupo 1 n=11	Obesos sem AN - Grupo 2 n=8	Magros - Grupo 3 n=9
PAPILA			
Média	244,16	136,41	124,25
Desvio Padrão	82,11	50,67	37,64
Erro Padrão da Média	25,96	17,91	12,55
CONE			
Média	207,59	140,01	122,47
Desvio Padrão	63,33	29,12	36,23
Erro Padrão da Média	20,03	10,29	12,08
CÓRNEA (DEP. EPIT.)			
Média	104,70	54,20	51,78
Desvio Padrão	54,87	13,76	31,56
Erro Padrão da Média	17,35	4,86	10,52
CÓRNEA (SP)			
Média	36,18	23,67	21,90
Desvio Padrão	20,50	9,06	13,25
Erro Padrão da Média	6,48	3,21	4,42
INSULINA 0'	n=10	n=9	n=8
Média	25,50	21,15	9,38
Desvio Padrão	13,69	12,55	5,80
Erro Padrão da Média	4,13	4,18	2,05
INSULINA 120'			
Média	131,73	73,45	40,75
Desvio Padrão	68,94	33,72	18,23
Erro Padrão da Média	20,79	11,24	6,44
ÁREA DE INSULINA			
Média	15702,95	10362,17	4963,50
Desvio Padrão	6828,15	1590,40	1612,92
Erro Padrão da Média	2058,77	530,13	569,94
ÍND. INS. 0'			
Média	0,31	0,25	0,11
Desvio Padrão	0,18	0,13	0,08
Erro Padrão da Média	0,06	0,04	0,03
ÍND. INS. 120			
Média	1,13	0,66	0,39
Desvio Padrão	0,65	0,22	0,15
Erro Padrão da Média	0,20	0,07	0,05
ÍND. ÁREA			

Média	1,04	0,76	0,38
Desvio Padrão	0,54	0,22	0,15
Erro Padrão da Média	0,16	0,07	0,05

Tabela 2

Variáveis	Grupos Comparados		
	1 x 2	1 x 3	2 x 3
	p - valor	p - valor	p - valor
Papila	0,019*	0,004*	0,736
Cone	0,024*	0,005*	0,136
Camada Córnea na depressão	0,019*	0,016*	0,361
Camada Córnea Supra Papilar	0,230	0,111	0,336
Insulina Jejum	0,567	0,009*	0,053*
Insulina 120'	0,027*	0,000*	0,060
Área de Insulina	0,149	0,000*	0,000*
Índ. Ins. 0	0,494	0,013*	0,034*
Índ. Ins. 120	0,053	0,002*	0,024*
Índ. Área	0,323	0,002*	0,003*

Tabela 3

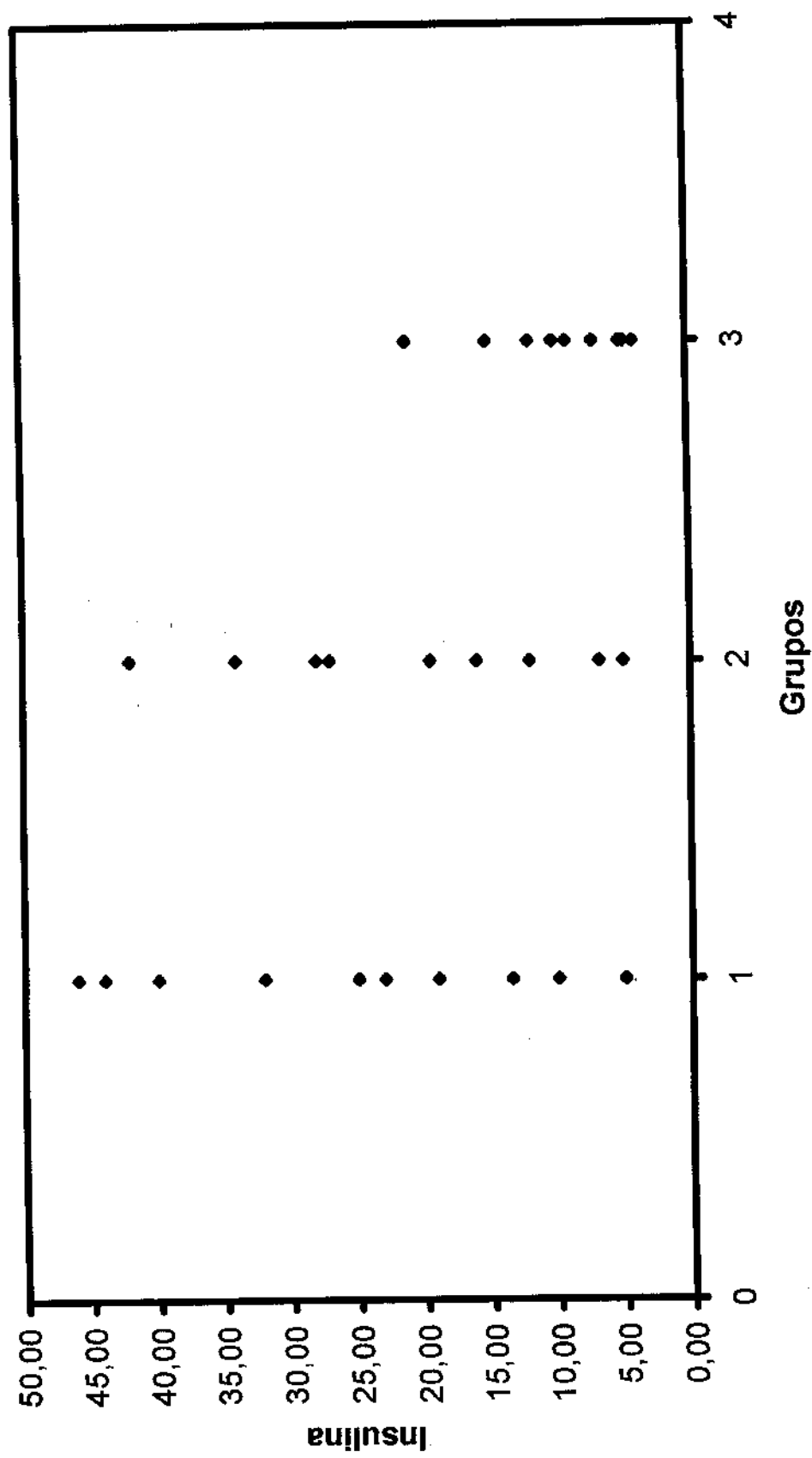


Figura 1

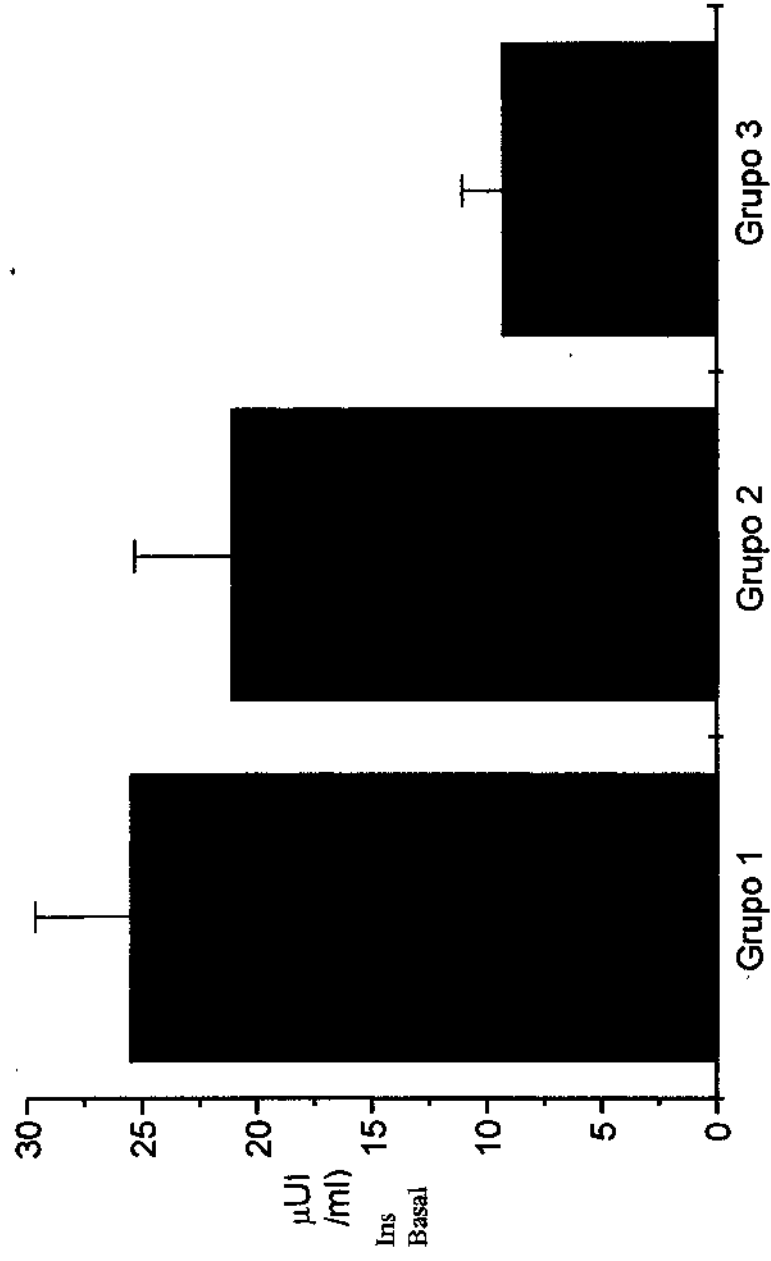


Figura 2

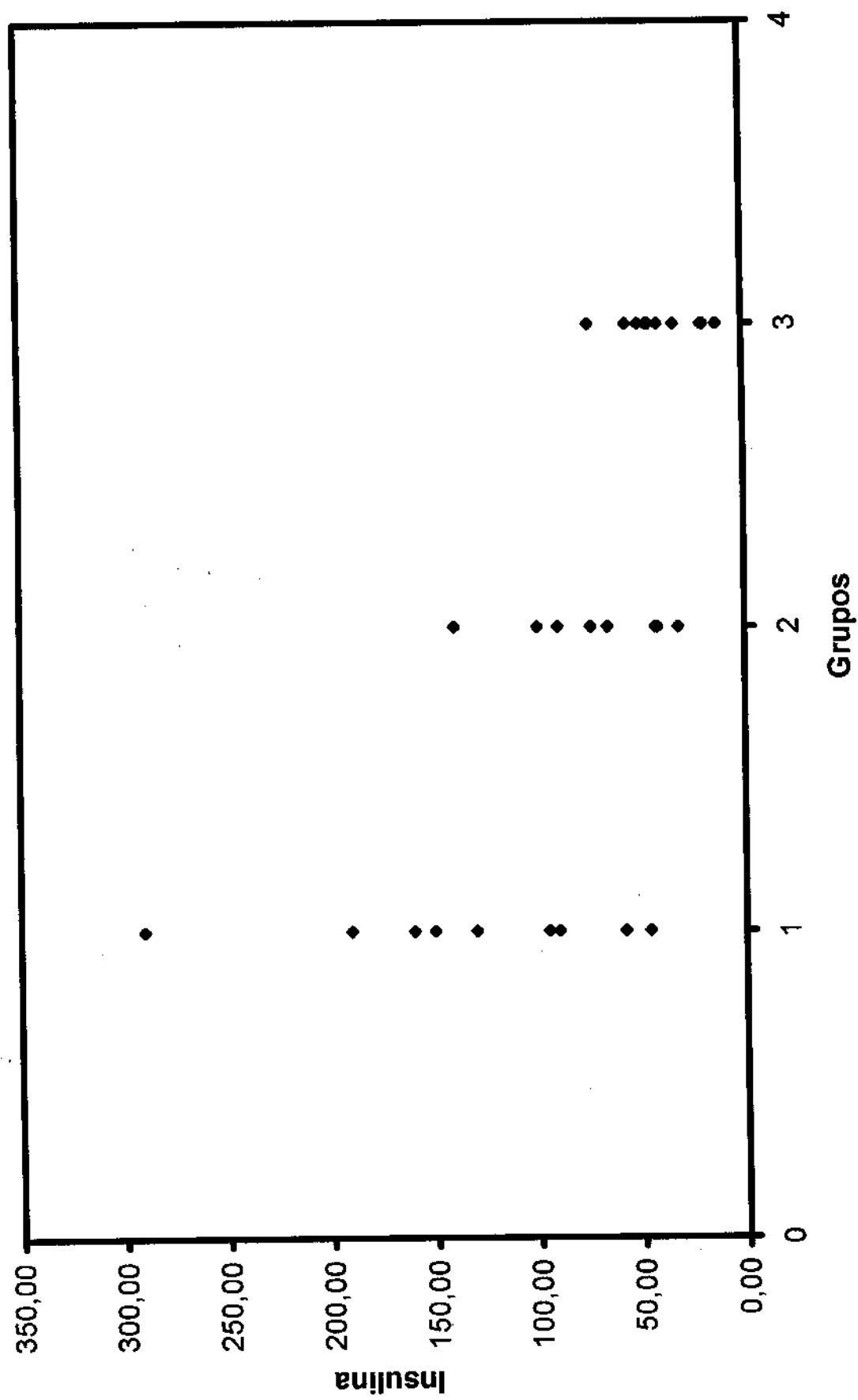
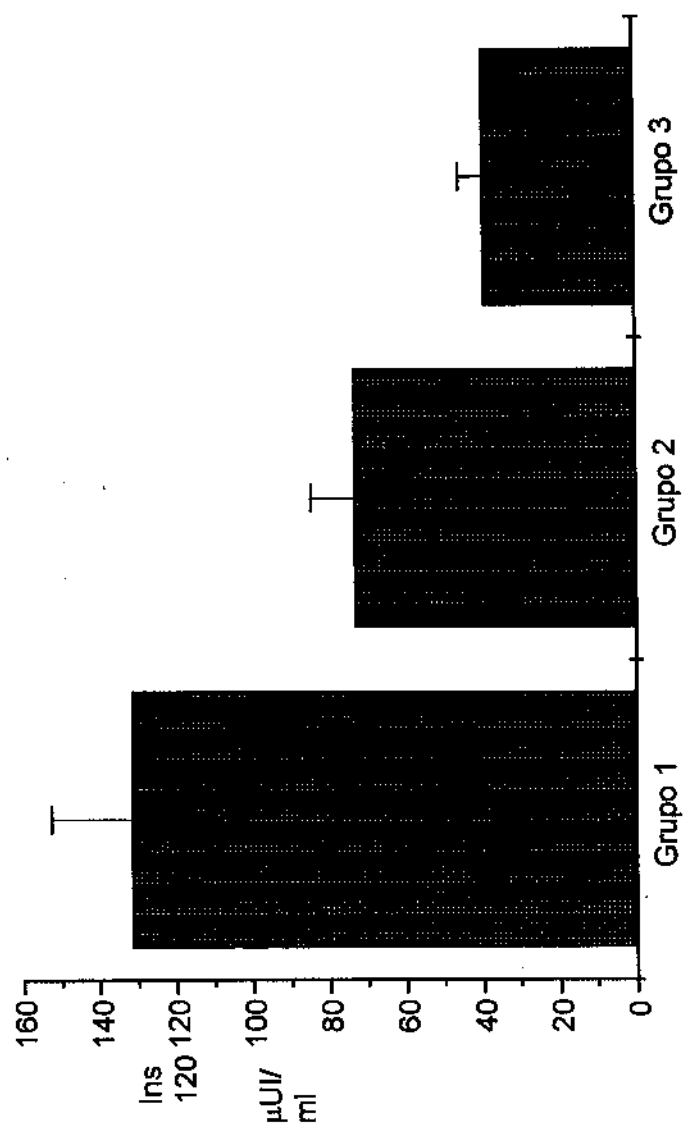


Figura 3

Figura 4



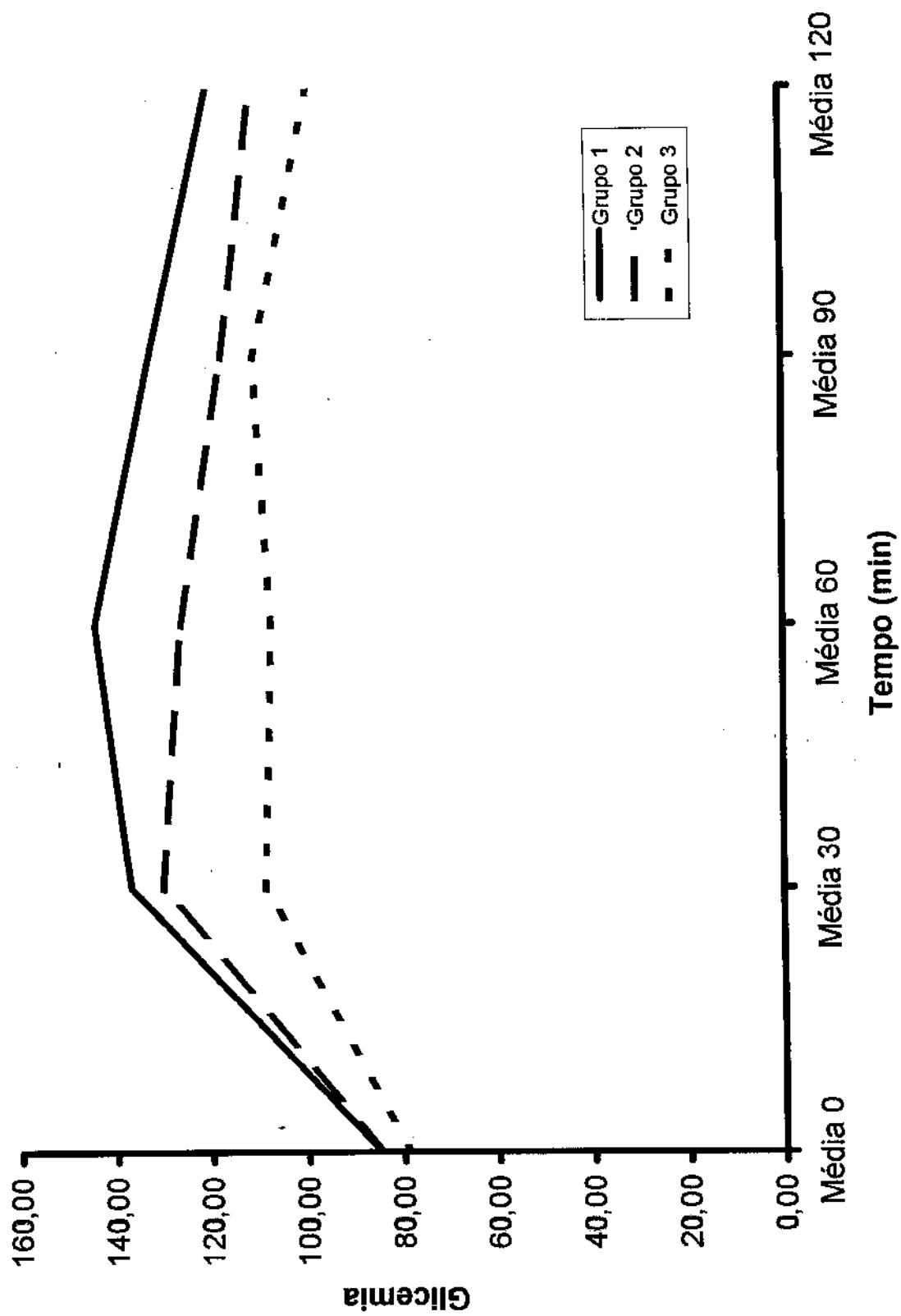


Figura 5

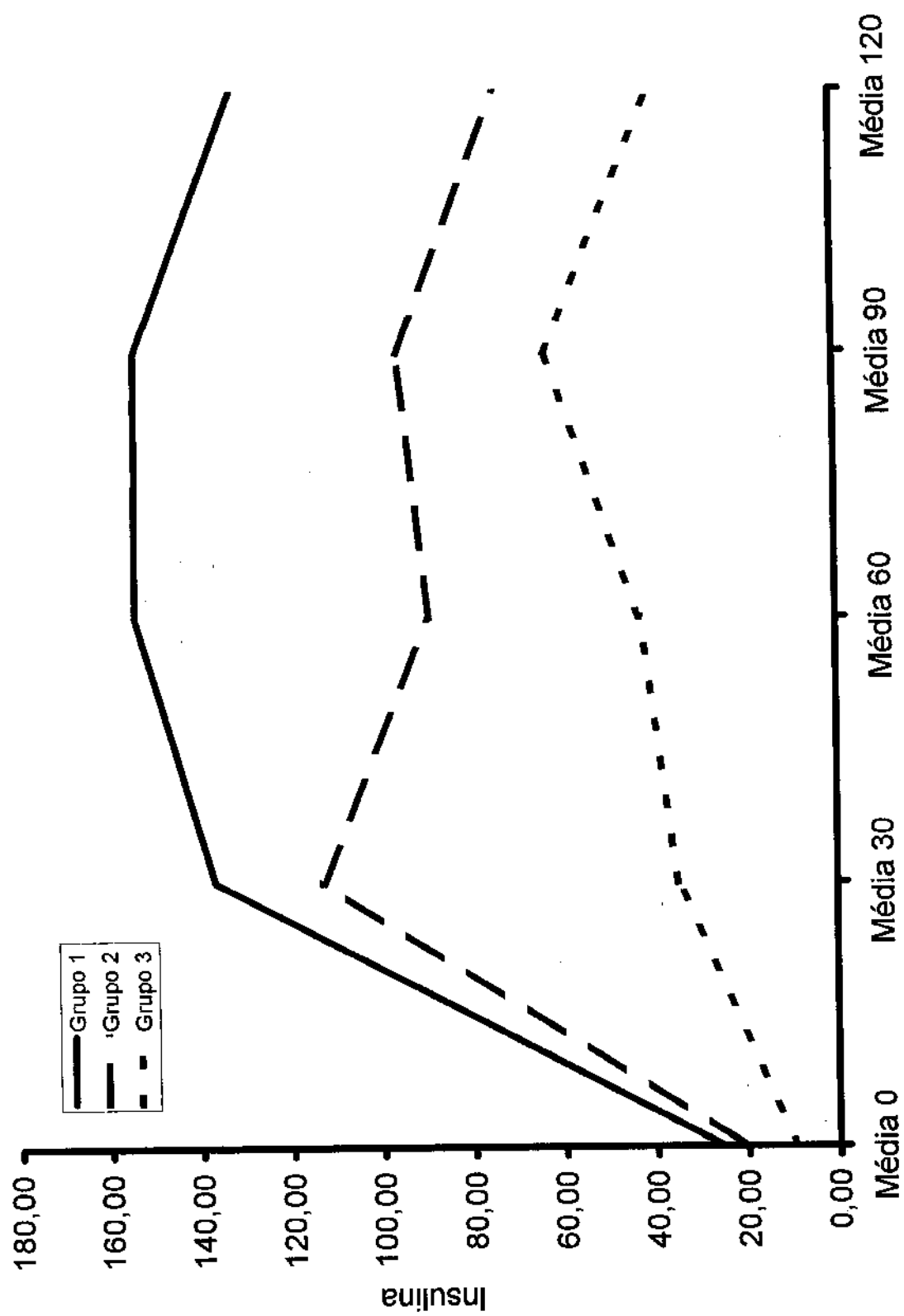


Figura 6

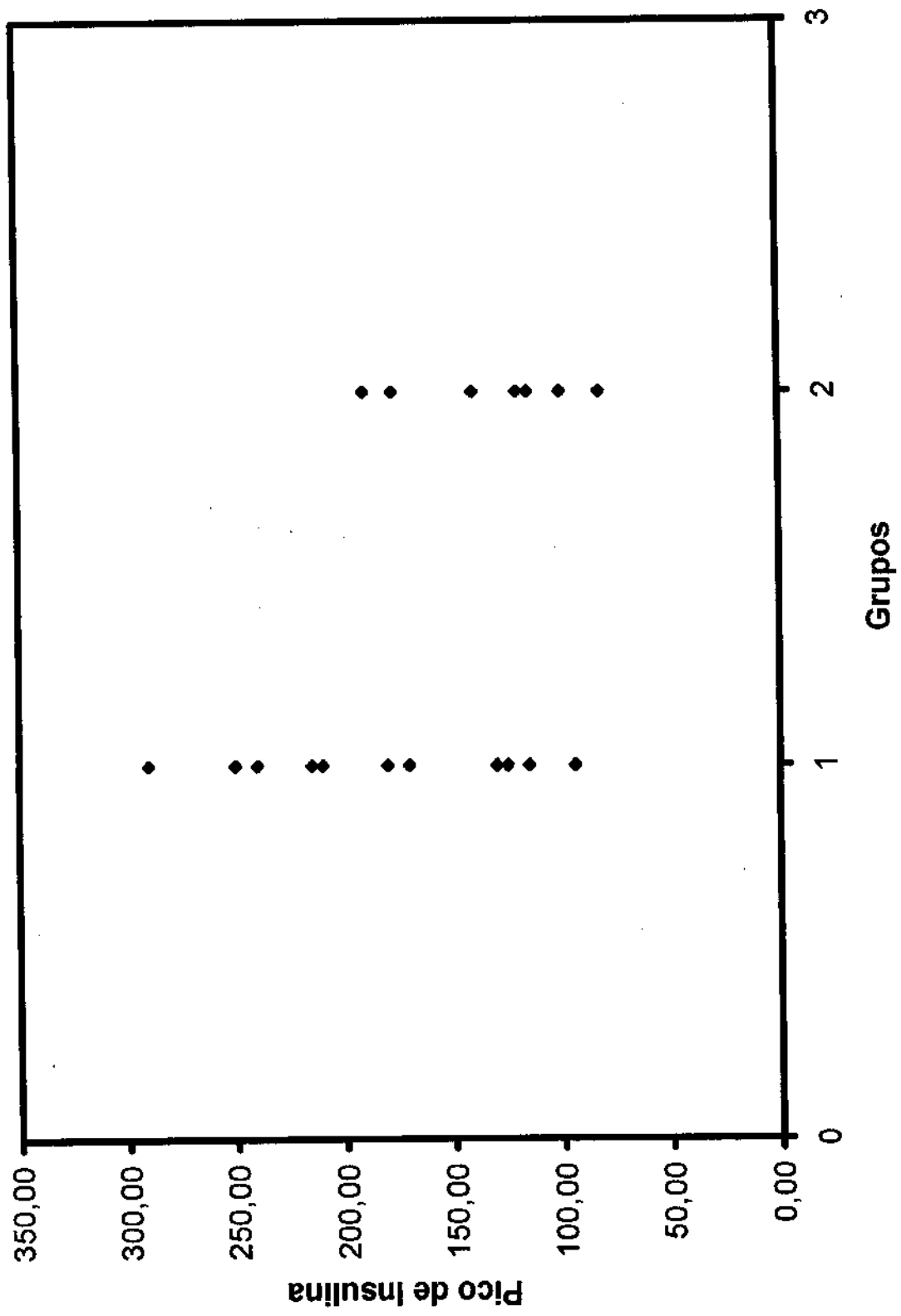
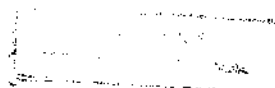


Figura 7

Capítulo 4 : Discussão

Os grupos do estudo foram pareados para idade, índice de massa corpórea e raça, pois são variáveis que influenciam na sensibilidade à insulina (ARSLANIAN & SUPRASONGSIN, 1996; WAJCHENBERG et al, 1988). Houve pequena diferença na idade entre os grupos 1 e 2, porém sem significância estatística. Após a exclusão das pacientes diabéticas e de uma paciente com intolerância à glicose, houve certa desproporção entre pacientes caucasóides e negróides do grupo 1 comparados com o grupo obeso controle (grupo 1: 6 negróides para 5 caucasóides e grupo 2: 3 negróides para 6 caucasóides). A literatura tem mostrado diferenças na sensibilidade à insulina entre as raças negra e branca (SVEC et al, 1992; ARSLANIAN & SUPRASONGSIN, 1996; PROUDLER et al, 1996), porém na presente amostra, os pacientes caucasóides exibiram níveis de insulina maiores que os negróides, exceto pelos valores basais de insulina, que se mostraram muito próximos. SAAD, MONTE ALEGRE & SAAD, 1990, não mostraram diferença significativa na área sob a curva de insulina entre os 10 e os 60 minutos do teste venoso de tolerância à glicose entre negros e brancos normais, e mostraram que as diferenças ocorrem nos primeiros 10', ou seja, na fase rápida da secreção de insulina. ALBU et al, 1997, observaram que mulheres negras (n=25) exibem áreas sob a curva de insulina após TOTG semelhantes às das mulheres brancas (n=25), com áreas de glicose um pouco menores, o que sugere uma tendência a uma menor sensibilidade à insulina nas negras, porém essa diferença não foi significativa.

Serão comentados os resultados, comparando-os com outros encontrados na literatura, fazendo uma ressalva de que boa parte das pesquisas publicadas deram enfoque à síndrome HAIR-AN, o que não ocorreu no presente estudo. Porém, entende-se que obesos com AN são parte de um espectro da síndrome HAIR-AN, com o agravante de que na síndrome, podem ser encontrados graus de resistência insulínica maiores, pela possível



influência dos andrógenos (particularmente a testosterona) na piora da resistência insulínica (PEPPER et al, 1987; KELLET et al, 1988).

Oito pacientes do grupo 1 e duas pacientes do grupo 2 apresentaram insulina de jejum aumentada em relação ao valor normal do método utilizado (VN: 30,8 μ UI/ml). A média dos valores da insulina de jejum do grupo 1 foi pouco maior que a do grupo 2, mas as diferenças não foram significativas, concordante com os trabalhos de FLIER et al, 1985; DUNAIF et al, 1985. Já RICHARDS et al, 1985, encontraram diferenças significativas nos valores da insulina de jejum entre o grupo de estudo e o grupo controle. Segundo BARBIERI & RYAN, 1983b, resistência leve à insulina geralmente ocorre com níveis de insulina de jejum normais. Resistência moderada a severa ocorre com níveis de insulina de jejum aumentados, com a glicemia normal ou aumentada. Pelos resultados encontrados, o grupo 1 apresenta resistência insulínica leve.

As pacientes P2 e P5 apresentaram critérios para o diagnóstico de diabetes e a paciente P8 apresentou intolerância à glicose. A paciente P2 apresentou os níveis de insulina mais elevados, tanto no jejum como em todos os tempos do teste oral de tolerância à glicose, o que sugere resistência insulínica grave; além da paciente P5, que apresentou também insulina de jejum bastante aumentada. Essas 3 pacientes não foram incluídas na análise estatística, pois apresentam um estágio diferente (de resistência e de alteração de secreção de insulina) do restante do grupo e das pacientes controle, com descompensação na manutenção da homeostase da glicose. A paciente P12 apresentou critérios próximos, mas não pôde ser considerada com intolerância à glicose.

A hiperinsulinemia, sem hiperglicemia de jejum, tem se mostrado um fator de risco para doença coronariana; e isso pode fazer parte de um grupo de características associada à hiperinsulinemia, que incluem concentração alta de triglicerídeos, baixos níveis de HDL, obesidade de segmento superior e hipertensão arterial (RETT, WICKLMAYR, MEHNERT, 1992; STUART et al, 1994). Obesidade de segmento inferior parece acarretar

menor risco de hipertensão, anormalidade no metabolismo de lipídeos e glicose do que a obesidade de segmento superior (SALANS, 1987). A relação cintura sobre quadril tem sido utilizada para caracterizar obesidade de segmento superior (ALBU et al, 1997), mas essa avaliação não foi feita no nosso estudo.

Parece haver um decréscimo na prevalência da AN benigna nas faixas etárias mais avançadas, em contraste com o aumento da prevalência de diabetes não insulino dependente, como revela o estudo de STUART et al, 1994. De fato, a faixa etária dos pacientes do presente estudo, cuja seleção ocorreu ao acaso, se mostrou entre 11 e 30 anos, com média de 20,73 anos. É provável que, com a exaustão das células beta pancreáticas para compensar a resistência insulínica, surja o diabetes, e os níveis de insulina tendam a baixar, e isso pode ser concomitante com a diminuição e/ou desaparecimento da dermatose. Cabe comentar a evolução da paciente P5 como ilustração, embora o presente estudo não seja prospectivo. Essa paciente obesa apresentou diabetes insulino resistente aos 16 anos, com insulina basal de 56 μ UI/ml (VN: até 30,8 μ UI/ml), e após dieta hipocalórica, perda de peso de 9 kg, uso de metformina com normalização da glicemia, sua dermatose desapareceu. Embora a dosagem de insulina de jejum não tenha sido refeita, é possível que a mesma possa ter diminuído. A consideração de que nessa paciente a dermatose não está associada à glicemia, e sim, à insulina, encontra respaldo na literatura, que não relata associação da glicemia de jejum entre pacientes com AN, comparados a controles sem AN (WAJCHENBERG et al, 1988; PETERS et al, 1986, RICHARDS et al, 1985, HUD JR et al, 1992, COHEN et al, 1990).

A área de insulina do grupo 1 mostrou resultados maiores, mas essa diferença não mostrou significância estatística em relação ao grupo 2. Os resultados são concordantes com os de WAJCHENBERG et al, 1988, que não encontraram diferenças estatisticamente significativas na área sob a curva de insulina entre obesos com AN e hiperandrogenismo e obesos controle; e discordantes de PETERS et al, 1986.

Os valores de insulina aos 120' foram significativamente maiores quando se compararam os grupos 1 e 2, os grupos 1 e 3 e os grupos 2 e 3. Uma paciente do grupo 1 (P1) que apresentou valor de insulina aos 120' acentuadamente alto e elevou a média do grupo apresenta resistência insulínica grave, e esse achado deve refletir algum defeito na interação da insulina com o seu receptor. BARBIERI & RYAN, 1983b, consideram que o pico de insulina no teste oral de tolerância à glicose em pacientes obesos oscila entre 150-300 μ UI/ml, e esses valores indicam resistência moderada, enquanto valores ≥ 300 μ UI/ml indicam resistência grave. Nos pacientes normais, o pico de insulina é entre 150-200 μ UI/ml. Entretanto, existe dificuldade em se padronizar os valores em função de variações entre métodos.

Duas pacientes do grupo 1 (P4 e P9) que apresentavam a dermatose com grau leve e moderado, mostraram valores de insulina ao longo do TOTG semelhantes aos do grupo 2, e até próximos dos valores do grupo normal, com glicemia sem alterações. Isso sugere que a hiperinsulinemia não justifica todos os casos de AN, ou que a curva de insulina após o TOTG não é um teste suficientemente sensível para discriminar esses grupos; ou ainda, que podem existir outros fatores associados à dermatose, não evidenciados pelo estudo. Resistência insulínica leve é melhor demonstrada através de testes mais sensíveis, como o teste de tolerância à insulina ou o "clamp", o que não foi feito no presente trabalho. De fato, DUNAIF et al, 1991 mostraram associação mais estreita entre resistência insulínica e AN do que hiperinsulinemia e AN. Ainda assim, o TOTG com a análise de insulina, é um método útil e largamente utilizado na avaliação de sensibilidade à insulina, como mostram trabalhos recentes utilizando grandes amostras (PROUDLER et al, 1996) e amostras com menor número de pacientes (ALBU et al, 1997).

A glicose de jejum e de 120' e a área de glicose não mostraram diferenças estatísticas entre os grupos 1 e 2, e isso reflete a manutenção da homeostase da glicose, às custas de secreção aumentada de insulina no grupo 1. Esse achado está concordante com o de outros autores (FLIER et al, 1985; RICHARDS et al, 1985), embora PETERS et al,

1986, e WAJCHENBERG et al, 1988, tenham encontrado valores maiores, e com significância estatística, na glicemia aos 120' entre o grupo obeso com AN e hiperandrogenismo e o grupo obeso controle, mesmo desconsiderando os diabéticos.

O índice insulinogênico no jejum não mostrou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos 1 e 2, mas o índice aos 120' mostrou valores muito próximos do limite da significância estatística, refletindo os valores de insulina do grupo 1 maiores nesse tempo.

As pacientes do grupo 1 não apresentaram tempo de obesidade maior que as pacientes do grupo 2, o que sugere não ser o tempo de obesidade um fator decisivo para o surgimento da AN, como sugeriram WAJCHENBERG et al, 1988 e HUD JR et al, 1992. Não houve correlação do tempo de obesidade e a área de insulina, ou do tempo de obesidade com a insulina aos 120'.

Existe tendência à correlação entre o grau de AN clínica e os níveis de insulina ao jejum, e embora o pequeno número da amostra não permita conclusões definitivas. Parece que quanto mais acentuada a dermatose, maior será a resistência insulínica.

Considera-se que o termo “AN associada à obesidade” seja mais apropriado do que “Pseudo AN”, como também realçam SCHWARTZ & JANNIGER, 1995, em seu trabalho de revisão, pois os resultados deste trabalho demonstram que obesos com AN apresentam resistência insulínica mais acentuada do que os obesos controle, e a resistência insulínica implica em maior chance de surgimento de diabetes, dependendo da manutenção ou não da obesidade, além de fatores genéticos. Na atualidade, estudos recentes têm enfatizado o papel da resistência insulínica como agravante para hipertensão arterial e doença coronariana (RETT, WICKLMAYR, MEHNERT, 1992; ALBU et al, 1997). Por isso, a dermatose persiste como importante marcadora de doença interna (e/ou alteração metabólica), mesmo que não haja expressão clínica dessas, sendo importante orientar os

pacientes para a perda de peso e para eliminar outros possíveis fatores de risco, como por exemplo a alteração no metabolismo dos lipídeos.

Embora não seja o objetivo principal deste estudo, além de nem todos os pacientes terem completado todos os exames, devem ser comentadas algumas alterações encontradas no sDHEA dos grupos 1 e 2, que ora apresentou valores aumentados, ora os valores se mostraram diminuídos (Anexo 1 - página 69). A literatura corrente mostra que poderá haver, na hiperinsulinemia, inibição da enzima que converte a 17 α hidroxipregnenolona a DHEA (17,20 liase), levando a diminuição no sulfato de DHEA em homens e mulheres (EBELING, STENMAN & KOIVISTO, 1995). Outras revisões sobre o assunto citam que a insulina provoca também o aumento da excreção renal de sDHEA (MOTTA, 1993). RITTMASER, DESHWAL & LEA, 1993 não encontraram correlação entre secreção adrenal e resistência insulínica em pacientes portadoras da síndrome dos ovários policísticos. Esses autores utilizaram a dosagem da androstenediona após infusão do ACTH nas pacientes do estudo, e nos grupos controle (mulheres hirsutas, obesas não hirsutas, e magras não hirsutas). SCHUSTER, O'DORISIO & OSEI, 1994, também não encontraram relação entre hiperinsulinemia e testosterona total, hiperinsulinemia e sDHEA em 4 membros de uma família com a síndrome HAIR-AN. PARRA et al, 1995, obtiveram resultado semelhante, ou seja, não encontraram correlação entre concentração dos andrógenos e hiperinsulinemia (induzida por refeição) ou hipoinsulinemia induzida farmacologicamente. Esses autores estudaram 6 pacientes com a síndrome dos ovários policísticos e hiperinsulinemia, 3 das quais com AN, e comparou com 13 pacientes controle normais.

Entretanto, PANIDIS et al, 1995, encontraram aumento no sDHEA em 60% das 20 pacientes obesas com ovários policísticos e resistência insulínica, 10 delas com AN, 10 sem AN, além de 10 pacientes com índice de massa corpórea normal, sem AN e com ovários policísticos, em contraste com os grupos controle. Em suma, a relação entre insulina e os andrógenos sDHEA e androstenediona ainda não é totalmente conhecida.

No grupo 1, a paciente P9, apresentou aumento muito discreto na testosterona total e livre com ultrassonografia pélvica normal e cortisol urina de 24 hs normal, e apresentava alguns pelos terminais na face; essa paciente passou a fazer seguimento ambulatorial em outro hospital, o que impossibilitou maiores informações. A paciente foi reavaliada após 6 meses, quando exibiu uma perda de peso de 15 kg, regressão da dermatose e desaparecimento dos pelos da face.

A paciente P14, no período da pesquisa, ainda não havia apresentado a menarca. Seus exames mostraram aumento na androstenediona, testosterona livre, sDHEA, FSH, LH e prolactina. Embora não tenha completado os exames do estudo, permaneceu em acompanhamento no ambulatório de Endocrinologia da PUC de Campinas, tendo a mãe da paciente informado que, após 1 ano, iniciou o ciclo menstrual, mantinha a obesidade e a lesão cutânea, e o exame de ultra som pélvico realizado naquele hospital revelou ovários policísticos. Portanto, é possível que essa paciente venha a apresentar a síndrome HAIR-AN.

PETERS, STUART & PRINCE, 1986 não encontraram diferenças nos valores da testosterona e androstenediona em pacientes com obesidade e AN, comparando com pacientes obesas controle. RICHARDS et al, 1985, estudaram pacientes com idade média de 13 anos, com obesidade, AN e hirsutismo, e não encontraram valores aumentados de androstenediona e DHEA. Já WAJCHENBERG et al, 1988, encontraram valores médios de testosterona maiores nas pacientes obesas com a síndrome HAIR-AN, quando comparadas com obesas controle. MOTA, 1993, atribui aos ovários a fonte da hiperandrogenemia na síndrome HAIR-AN. O aumento da testosterona descrito em vários trabalhos pode ser explicado pela ação da insulina nas células da teca e estroma ovarianos produtoras de andrógenos, como tem sido mostrado em estudos in vitro (BARBIERI, 1994).

No estudo histológico, o grupo 1 apresenta 3 biópsias de pescoço para 7 biópsias de axila, enquanto que no grupo 2 existe 1 biópsia de pescoço para 7 biópsias de axila, porém a média dos valores das análises de pescoço isoladamente e axila isoladamente não diferem, por isso todo o material foi analisado em conjunto. Foi possível obter fragmento de pele de pescoço de paciente com índice de massa corpórea (IMC) normal, e observamos que os valores de medidas de papila, dos cones epidérmicos e da camada córnea não diferem em relação à axila.

Os resultados mostraram aumento na espessura da camada córnea (hiperceratose), dos cones epidérmicos (acantose) e das papilas (papilomatose) na lesão da AN, o que apenas confirmou conceitos prévios da literatura (ELDER et al, 1997). As áreas de acantose alternam com áreas até de atrofia epidérmica, observada no topo das papilas. A camada córnea espessada tende a preencher as áreas criadas pelas projeções papilares (Fotos no Anexo 2 - páginas 71 e 72). Esses valores encontrados foram maiores no grupo 1, quando comparados aos grupos controle 2 e 3 e se mostraram próximos nos grupos 2 e 3, a despeito de haver diferença significativa na área de insulina e nos índices insulinogênicos (0', 120, área) entre esses grupos.

Esses resultados sugerem que a hiperinsulinemia isoladamente pode não justificar a lesão de AN histológica. Pode-se especular que, para o desenvolvimento da lesão cutânea seria necessário um determinado nível de resistência insulínica a ser alcançado, possivelmente associado a uma predisposição individual. Ou ainda; que o grupo 1 possa apresentar outro evento que contribuiu para a lesão cutânea, não evidenciado pelo nosso estudo e que caminha paralelamente à resistência insulínica. Alguns autores admitem que outros fatores possam ser considerados na patogênese da AN que não a resistência insulínica (PANIDIS et al, 1995). Esses autores estudaram pacientes obesas com AN e síndrome dos ovários policísticos.

Foi mantida a exclusão das pacientes diabéticas e de uma com intolerância à glicose nas análises dos coeficientes de correlação, para que seja afastada outra variável (hiperglicemia), que não sabemos até que ponto poderá influenciar nas alterações histológicas.

Foi encontrada correlação positiva entre medidas da papila e índice insulinogênico da área de insulina, entre medidas do cone epidérmico e níveis de insulina, entre medidas da camada córnea na depressão do epitélio e níveis de insulina. Esses resultados sugerem que a pele pode sofrer influência “in vivo” da insulina em níveis suprafisiológicos, como tem sido aventado na literatura, possivelmente em associação com fator individual. Se essas alterações ocorrem de modo direto (via receptor insulínico específico?) ou indireto (via receptor para IGF-1?) ainda não é possível saber. Várias proteínas importantes na sinalização da insulina para que ela exerça as suas ações, entre elas a de crescimento celular, podem estar implicadas na fisiopatologia da AN; são hipóteses que mereceriam confirmações por estudos de biologia molecular.

A insulina, “in vitro”, tem sido utilizada para melhorar o padrão de cultivos celulares, atuando sinergisticamente com outros fatores, estimulando o crescimento de células epiteliais, fibroblastos, macrófagos e células transformadas. Além disso, a insulina tem demonstrado aceleração da cicatrização em feridas experimentais em coelhos (GASPAR, 1995). Em experimento com biópsias em feridas provocadas em ratos, GASPAR, 1995, utilizou injeções locais de insulina e observou epitelização discretamente mais acelerada e contração da ferida mais rápida. Em outro ensaio “in vivo”, foi observado, por essa autora, retorno do tecido adiposo e elaboração da matriz extra celular numa paciente com atrofia mamária corticóide induzida.

Analisando apenas o grupo 1 (Obesos AN), observa-se correlação negativa entre insulina de jejum e medidas da papila, ou seja, os pacientes com menores valores de insulina de jejum tenderam a apresentar maiores medidas de papila. Esse achado ainda não foi

documentado na literatura, e mais estudos são necessários para esclarecimento dessa questão.

Foi utilizado o método do ferro coloidal para a avaliação histoquímica, que evidencia os mucopolissacarídes ácidos sulfatados e não sulfatados, sendo que a reação ocorre pela afinidade dos grupos ácidos livres nos tecidos para o ferro coloidal, com carga positiva, agindo como um corante catiônico ($\text{FeCl}_3 + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})_3 + 3\text{H}^+ + 3\text{Cl}^-$). O hidróxido férrico permanece em suspensão coloidal, se ligando aos mucopolissacarídes. O método apresenta boa sensibilidade, e vários autores o consideram específico para tais substâncias, embora outros discordem (PEARSE, 1985).

Não foram observadas diferenças na intensidade da coloração pelo ferro coloidal nos 3 grupos; a presença de coloração mais proeminente na derme papilar na região das axilas poderá significar alguma função de mucossustâncias nesse sítio anatômico (Fotos no Anexo 2 - páginas 73 a 76). Embora realizada apenas para informação e não comparação, a biópsia de região pré tibial de paciente jovem masculino foi submetida à coloração para o ferro coloidal com resultado positivo, porém este se apresentava de permeio às fibras colágenas por toda a derme, e não de modo mais proeminente na derme papilar.

A partir dos resultados encontrados no estudo histoquímico, pode-se concluir que a hiperinsulinemia encontrada nos pacientes do grupo 1 não se correlaciona com presença de mucopolissacarídes na derme papilar, pois os grupos 2 e 3 apresentaram achados histoquímicos semelhantes.

Vários hormônios e peptídeos podem influenciar o conteúdo de glicosaminoglicans na derme. O uso da testosterona em ratos resulta em aumento do ácido hialurônico, os estudos com estrógenos são controversos. A hidrocortisona parece diminuir as concentrações de ácido hialurônico e sulfato de condroitina, enquanto a deficiência dos hormônios tireoidianos, com um provável sinergismo com o TSH se associa a um aumento

do ácido hialurônico e sulfato de condroitina (SILBERT, 1987; FREINKEL & FREINKEL, 1987). Os fatores de crescimento insulina "like" aumentam a produção da matriz pelas células de tecido conjuntivo "in vitro" (SCHMID, 1993, GASPAR, 1995).

ELDER et al, 1997, descrevem que mucopolissacarídes estão presentes na substância fundamental da derme, em condições normais, em quantidades muito pequenas para serem demonstradas, tanto nas colorações de rotina como nas colorações especiais, exceto na papila de pelo anagênico, porém não faz menção às regiões de dobras. Isso contrasta com os achados de MONTAGNA & CARLISLE, que em 1991, realizaram estudo comparativo de biópsias da região malar de negros e brancos, usando a coloração pelo ferro coloidal, e observaram presença de material amorfo (glicosaminoglicans) na derme papilar e reticular de negros, e esse era mais extenso do que os encontrados nos brancos.

MATSUOKA et al, 1987, documentaram um caso de um paciente com feocromocitoma e AN, com insulino resistência às custas da presença de anticorpos anti receptor de insulina e compararam a biópsia da AN com a biópsia de região extensora de antebraço do mesmo paciente e de um paciente controle normal à coloração pelo ferro coloidal. Eles observaram depósito de glicosaminoglicans na área com AN, e classificaram de "leve" o depósito encontrado na derme de pele sem AN.

Em outro trabalho nesse mesmo ano, MATSUOKA et al, realizaram biópsia no pescoço em 2 pacientes sem AN e encontraram depósito leve de glicosaminoglicans em derme papilar, ao contrário dos pacientes com AN, onde foi observado um depósito denso, embora houvesse variação desse depósito entre os pacientes com AN.

YAMADA, 1992, estudando 19 pacientes com a síndrome HAIR-AN, comparou a biópsia da área de AN com área de pele sã usando a coloração pelo Alcian blue, e observou coloração mais intensa nas áreas com AN associada ao grau de papilomatose.

Os resultados do presente estudo sugerem que a presença de mucopolissacárides na derme papilar da região axilar é um achado normal.

Capítulo 5 : Conclusões

1. A Acantose Nigricante nos pacientes obesos estudados mostrou associação com resistência insulínica evidenciada pelos níveis de insulina aos 120' do teste oral de tolerância à glicose.
2. As alterações metabólicas mais encontradas em associação com a Acantose Nigricante foram o "diabetes mellitus" e a intolerância à glicose.
3. Existe correlação entre níveis sanguíneos de insulina e medidas do epitélio; entretanto a hiperinsulinemia, isoladamente, pode não justificar a lesão de AN histológica, pois pacientes obesos e magros sem AN apresentaram medidas próximas do epitélio e das papilas dérmicas, a despeito de diferenças significativas na área de insulina após TOTG e nos índices insulinogênicos (0,120' e índice de área).
4. Não houve associação da Acantose Nigricante histológica com a presença de mucopolissacarídes na derme papilar.
5. Presença de mucopolissacarídes na derme papilar na região da axila revelou-se ser um achado normal na amostra estudada.

Abstract

Benign Acanthosis Nigricans (AN) is associated to many endocrinopathies and metabolic disturbs, specially insulin resistance. The dermatosis is more frequently found in obese patients, and obesity is a condition of insulin resistance. Some papers have shown association of insulin resistance and presence of mucopolysaccharides in dermis on histological slides of AN. This study was performed to evaluate the insulin response to the oral test of glucose tolerance in obese patientes with AN comparing with control groups, and to correlate it with histopathological and histochemical findings. For this purpose, 33 patientes were studied in 3 groups: 14 obese with AN (Group 1), 9 normal obese (Group 2) and 10 nomal lean (Group 3). For histological analyzes, 13 patients were studied in group 1, 8 patients in group 2 and 9 patients in group 3. Insulin levels at 0', 120', insulin area, insulinogen index (at 0', 120' and area) were evaluated. Skin biopsies were performed by the colloidal iron method to evaluate mucopolysaccharide presence in skin lesions of AN and in control groups, in the same anatomic site. There was statistically difference on insulin of 2 hours after glucose overload between groups 1 and 2 ($p<0,05$), and the insulinogen index of 2 hours after glucose overload were near the significance limit ($p<0,053$). When the 3 groups were analysed together, there was positive linear correlation between insulin levels (at 120', insulinogen index at 120', insulin area and insulinogen index of area) and epithelium and horny layer thickness ($p<0,05$), and between papilla measurement and area insulinogen index. There wasn't difference at colloidal iron staining in AN slides, comparing with control groups. Obese patients without AN shows higher insulin area, comparing with lean patients without AN ($p<0,05$) in spite of close epithelium and papilla measurements, wich is suggestive that only high insulin levels does not justify the dermatologic lesion. In conclusion, obese patients with AN shows more insulin resistance than obese patients without AN, insulin resistance is not associated to more amount of mucopolysaccharides in dermis and insulin levels are correlated to epithelium and horny layer thickness. In

counterpart, only high insulin levels does not justify the dermatologic lesion. Mucopolysaccharides in dermal papilla of axilar region is a normal finding. This work suggests insulin influence on epithelial growth.

Keywords: Acanthosis Nigricans, Insulin Resistance, Obesity, Colloidal Iron, Mucopolysaccharides.

Referências Bibliográficas

- ACCILI, D.; BARBETTI, F.; CAMA, A.; KADOWAKI, H.; KADOWAKI, T.; IMANO, E.; LEVY-TOLEDANO, R.; TAYLOR, S.I. - Mutations in the insulin receptor gene in patients with genetic syndromes of insulin resistance and acanthosis nigricans. **J. Invest. Dermatol.**, **98**(Suppl):77S-81S, 1992.
- AKIYAMA, M.; SASAKI, Y.; HAYAKAWA, K.; SUZUKI, H.; NISHIKAWA, T. - Coexistent urticaria pigmentosa, acromegaly and acanthosis nigricans. **Dermatologica**, **182**:52-55, 1991.
- ALBU, J.B.; MURPHY, L.; FRAGER, D.H.; JONHSON, J.A.; PI-SUNYER, X. - Visceral fat and race dependent health risks in obese nondiabetic premenopausal women. **Diabetes**, **46**:456-462, 1997.
- ANDO, Y. & JENSEN, P. - Epidermal growth factor and insulin-like growth factor 1 enhance keratinocyte migration. **J. Invest. Dermatol.**, **100**:633-639, 1993.
- ARSLANIAN, S. & SUPRASONGSIN, C. - Differences in the in vivo insulin secretion and sensitivity of healthy black versus white adolescents. **J. Pediatr.**, **129**:440-443, 1996.
- AZZIZ, R. - The hyperandrogenic insulin resistant acanthosis nigricans syndrome: therapeutic response. **Fertil. Steril.**, **61**(3):570-572, 1994.
- BARBIERI, R.L. - Hyperandrogenism, insulin resistance and acanthosis nigricans - 10 years of progress. **J. Reprod. Med.**, **39**(5):327-336, 1994.

- BARBIERI, R.L., MAKRIS, A. and RYAN, K.J. - Effects of insulin on steroidogenesis in cultured porcine ovarian theca. **Fertil. Steril.**, **40**:237-241, 1983a.
- BARBIERI, R.L. & RYAN, J. - Hiperandrogenism, insulin resistance and acanthosis nigricans syndrome: A common endocrinopathy with distinct pathophysiologic features. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, **147**:90-101, 1983b.
- BAR, R.S.; MUGGEO, M.; ROTH, J.; KAHN, C.R.; HAVRANKOVA, J.; IMPERATO-McGINLEY, J. - Insulin resistance, acanthosis nigricans and normal insulin receptors in a young woman: evidence for a postreceptor defect. **J. Clin. Endocrinol. Metabol.**, **47**:620-625, 1978.
- BERARDESCA, E. & MAIBACH, H.I. - Racial differences in sodium lauryl sulphate induced cutaneous irritation: black and white. **Contact Dermatitis**, **18**:65-70, 1988.
- BERNSTEIN, J.E.; ROTHSTEIN, J.; SOLTANI, K.; LEVINE, L.E. - Neuropeptides in the pathogenesis of obesity-associated benign acanthosis nigricans. **J. Invest. Dermatol.**, **80**:7-9, 1983.
- BROWN, J. & WINKELMANN, R.K. - Acanthosis nigricans: A study of 90 cases. **Medicine**, **47**:33-51, 1968.
- COHEN, P.; HAREL, C.; BERGMAN, R.; DAOUD, D.; PAM, Z.; ARMONI, M.; KARNIELI, K. - Insulin resistance and Acanthosis Nigricans: Evidence for a postbinding defect in vivo. **Metabolism**, **39**:1006-1011, 1990.
- CONOVER, W.J. - **Practical nonparametric statistics**. New York, John Wiley & Sons Inc., 1971.

CRUZ JR, P.D. & HUD JR, J.A. - Excess insulin binding to insulin-like growth factor receptors: proposed mechanism for Acanthosis Nigricans. **J. Invest. Dermatol.**; 98(Suppl):82S-85S, 1992.

CUSIN, I.; ROHNER-JEANRENAUD, F.; TERRETTAZ, J; JEANRENAUD, B. - Hyperinsulinemia and its impact on obesity and insulin resistance. **Int. J. Obes.**, 16(Suppl. 4):1-11, 1992.

DUNAIF, A.; GREEN, G.; PHELPS, R.G.; LEBWOHL, M.; FUTTERWEIT, W.; LEWY, L. - Acanthosis nigricans, insulin action and hyperandrogenism: clinical, histological and biochemical findings. **J. Clin. Endocrinol. Metabol.**, 73:590-595, 1991.

DUNAIF, A.; HOFFMAN, A.R. ; SCULLY, R.E.; FLIER, J.S.; LONGCOPE, C. ;LEVY, L. J.; CROWLEY JR.,W. F. - Clinical, biochemical and ovarian morphologic features in women with acanthosis nigricans and masculinization. **Obstet. Gynecol.**, 66:545-552, 1985.

EBELING, P., STENMAN, U-H.; KOIVISTO, V.A. - Acute hyperinsulinemia, androgen homeostasis and insulin sensitivity in healthy man. **J. Endocrinol.**, 146:63-69, 1995.

EBLING, F.J.G.; EADY, R.A.J.; LEIGH, I.M. - Anatomy and organization of human skin. In: ROOK, A.; WILKINSON, D.S.; EBLING, F.J.G.; CHAMPION, R.H.; BURTON, J.L. - **Textbook of Dermatology**. 5. ed., London, Blackwell Scientific Publications, 1992. p. 49-123.

ELDER, D.; ELENITSAS, R.; JAWORSKY, C.; JOHNSON JR, B. - **Lever's histopathology of the skin**. 8 ed. Philadelphia, Lippincott-Raven, 1997. p 1073.

- ELLIS, D.L.; KAFKA, S.; CHOW, J.C.; NANNEY, L.B.; INMAN, W.H.; McCADDEN, M.E.; KING JR, L.E. - Melanoma, growth factors, acanthosis nigricans, the sign of Leser-Trélat, and multiple acrochordons. **N. Eng. J. Med.**, **317**:1582-1587, 1987.
- FEINSTEIN, R; KANETY, H.; PAPA, M. Z.; LUNENFELD, B.; KARASIC, A. - Tumor necrosis alpha supresses insulin-induced tyrosine phosphorylation of insulin receptor and its substrates. **J. Biol Chemistry**, **268**:26055-26058, 1993.
- FLIER, J.S. - Insulin receptors and insulin resistance. **Ann. Rev. Med**, **34**:145-160, 1983.
- FLIER, J.S. Metabolic importance of acanthosis nigricans. **Arch. Dermatol**, **121**:193-194, 1985.
- FLIER, J.S.; EASTMAN, R.C.; MINAKER, K.L.; MATTESON, D.; ROWE, J.W. - Acanthosis Nigricans in obese woman with hyperandrogenism. Characterization of an insulin-resistant state distinct from the type A and B syndromes. **Diabetes**, **34**:101-107, 1985.
- FOLLI, F.; SAAD, M.J.A.; KAHN, C.R. - Insulin receptor/IRS-1/PI 3-kinase signaling system in corticosteroid-induced insulin resistance. **Acta Diabetol**, **33**:185-192, 1996.
- FREINKEL, R.K. & FREINKEL, N. - Cutaneous manifestations of endocrine disorders. In: FITZPATRICK, T.B.; EISEN, A.Z.; WOLFF, K.; FREEDBERG, I.M.; AUSTEN, K.F. - **Dermatology in General Medicine**, 3. ed. New York, McGraw-Hill Book Company, 1987. p. 2063-2081.
- FROESCH, E.R. & HUSSAIN, M. - IGFs: Function and clinical importance. Therapeutic potencial of rh IGF-I in diabetes and conditions of insulin resistance. **J. Int. Med.**, **234**: 561-570, 1993.

FROHMAN, L.A. The anterior pituitary. In: WYNGAARDEN, J.B.; SMITH JR.; LLOYD, H.; BENNETT, J.C. - **Cecil Textbook of Medicine**. 19 ed. Philadelphia. W. B. Saunders Company, 1992. p 1224 -1238.

GASPAR, N.K. - A importância da insulina nos processos regenerativos cutâneos e subcutâneos. Niterói, 1995 (Tese apresentada ao Concurso para Professor Titular do Departamento de Medicina Clínica, Disciplina de Dermatologia. Centro de Ciências Médicas da Universidade Federal Fluminense)

GELDING, S.V.; ROBINSON, S.; LOWE, S.; NITHTHYANANTHAN, R.; JOHNSTON, D.G. - Validation of the low dose short insulin tolerance test for evaluation of insulin sensitivity. **Clin. Endocrinol.**, 40:611-615, 1994.

GOLDSTEIN, B.J. & KAHN, R. - Insulin receptor messenger ribonucleic acid sequence alterations detected by ribonuclease cleavage in patients with syndromes of insulin resistance. **J. Clin. Endocrinol. Metabol.**, 69:15-24, 1989.

GRASINGER, C.C.; WILD, R.A.; PARKER, I.J. - Vulvar Acanthosis Nigricans: a marker for insulin resistance in hirsute women. **Fertil. Steril.**, 59:583-586, 1993.

HODAK, E.; GOTTLIEB, A.B.; ANZILOTTI, M.; KRUEGER, J.G. - The insulin-like growth factor 1 receptor is expressed by epithelial cells with proliferative potential in human epidermis and skin appendages: correlation of increased expression with epidermal hyperplasia. **J. Invest. Dermatol.**, 106:564-570, 1996.

HUD JR., J.A.; COHEN, J.B.; WAGNER, J.M.; CRUZ JR., P.D. - Prevalence and significance of acanthosis nigricans in an adult obese population. **Arch. Dermatol.**, 128:941-944, 1992.

- KAHN, R.C. & WHITE, M.F. The insulin receptor and the molecular mechanism of insulin action. **J. Clin. Invest.**, **82**:1151-1156, 1988.
- KAHN, C.R.; FLIER, J.S.; BAR, R.S.; ARCHER, J.A.; GORDEN, P.; MARTIN, M.M.; ROTH, J.- The syndromes of insulin resistance and acanthosis nigricans. **N. Engl. J. Med.**, **294**:739-745, 1976.
- KELLET, H.A.; COLLIER, A.; TAYLOR, R.; SAWERS, J.S.A.; BENTON, C.; DRUG, A.; BAIRD, D.; CLARKE, B.F. - Hyperandrogenism, insulin resistance, acanthosis nigricans and systemic lupus erythematosus associated with insulin receptor antibodies. **Metabolism**, **37**:656-659, 1988.
- LEBLANC, H.; JADAUD, J.M.; DEJAX, C.; SALTIEL, H.; PASSA, PH. - Diabète lipoatrophique avec acanthosis nigricans. **La Presse Médicale**, **13**(16):987-989, 1984.
- LEVER, W. F. & SCHAUMBURG-LEVER, G. - Histopathology of the skin. 6 ed. Philadelphia, Lippincott, 1983. 848 p.
- McDONALD, C.J. - Structure and function of the skin. Are there differences between black and white skin? **Dermatologic Clinics**, **6**(3):343-347, 1988.
- MANTZOROS, C.S.; LAWRENCE, W.D.; LEVY, J. - Insulin resistance in a patient with ovarian stromal hyperthecosis and the hyperandrogenism, insulin resistance and acanthosis nigricans syndrome. Report of a case with a possible endogenous ovarian factor. **J. Reprod. Med.**, **40**:491-494, 1995.
- MANUAL OF HISTOLOGIC AND SPECIAL STAINING TECHNIQS - ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY, 1957

- MARIANI, S.; PEDONE, A.; MESCHI, F.; DI NATALE, B.; CAPUTO, R.; BROGGI, U.; CHIUMELLO, G. - Case report : Insulin resistance in a child with acanthosis nigricans type A. **Acta Paediatr Scand**, 71:667-670, 1982.
- MATSUOKA, L.Y.; GAVIN, J.R.; GOLDMAN, J. - Spectrum of endocrine abnormalities associated with acanthosis nigricans. **Am. J. Med.**, 83:719-725, 1987.
- MATSUOKA, L.Y.; GOLDMAN, J.; WORTSMAN, J.; KLEINSMITH, D.; KUPCHELLA, C. E. - Antibodies against the insulin receptor in paraneoplastic acanthosis nigricans. **Am. J. Med.**, 82:1253-1256, 1987.
- MISBIN, R.I.; GREEN, A.; ALVAREZ, I. M.; DOHM, G.L.; CARO, J.F. - Inhibition of insulin stimulated glucose transport by factor extracted from serum of insulin-resistant patient. **Diabetes**, 37:1217-1225, 1988.
- MONTAGNA, W. & CARLISLE, K. - The architecture of black and white facial skin. **J. Am. Acad. Dermatol.**, 24:929-937, 1991.
- MOTTA, E.L.A. - Comportamento dos níveis séricos de insulina e de androgênios em pacientes com a Síndrome dos ovários policísticos, hiperandrogenismo e acantose nigricans. São Paulo, 1993. (Tese de Mestrado - Escola Paulista de Medicina).
- MULLER-WIELAND, D.; STEICHER, R.; SIEMEISTER, G.; KRONE, W. - Molecular biology of insulin resistance. **Exp. Clin. Endocrinol.**, 101:17-29, 1993.
- NATIONAL DIABETES DATA GROUP - Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. **Diabetes**, 28:1039-1057, 1979.

- OBER, K.P. - Acanthosis nigricans and insulin resistance associated with hypothyroidism. **Arch. Dermatol.**, **121**:229-231, 1985.
- OLEFSKY, J.M. - Diabetes Mellitus. In: WYNGAARDEN, J.B.; SMITH JR, L.H.; BENNET, J.C. - **Cecil Textbook of Medicine**. 19. ed., Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1992. p. 1291-1310.
- OPPENHEIMER, E.; LINDER, B.; DiMARTINO-NARDI, J. - Decreased insulin sensitivity in prepubertal girls with premature adrenarche and acanthosis nigricans. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **80**:614-618, 1995.
- PANIDIS, D.; SKIADOPOULOS, S.; ROUSSO, D.; IOANNIDES, D.; PANIDOU, E. - Association of acanthosis nigricans with insulin resistance in patients with polycystic ovary syndrome. **Br. J. Dermatol.**, **132**: 936-941, 1995.
- PARISH, W.E. - Inflammation. In: ROOK, A.; WILKINSON, D.S.; EBLING, F.J.G.; CHAMPION, R.H.; BURTON, J.L. - **Textbook of Dermatology**. 5. ed., London, Blackwell Scientific Publications, 1992. p. 219-252.
- PARRA, A.; BARRON, J.; MOTA-GONZALES, M.; IBARRA, V.; DE LOS MONTEROS, A.E. - Serum androgen changes during meal-induced hyperinsulinemia and after acute sequential blockade and hyperstimulation of insulin release in women with polycystic ovary syndrome. **Arch. Med. Res.**, **26**(Suppl.):209-217, 1995.
- PEARSE, A.G.E. - Histochemistry - Theoretical and applied, 4. ed., London, Churchill Livingstone, 1985. p.1055.

- PEPPER, G.M.; PORETSKY, L.; GABRILOVE, J.L.; ARITON, M.M. - Ketoconazol reverses hyperandrogenism in a patient with insulin resistance and Acanthosis Nigricans. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **65**:1047-1052, 1987.
- PETERS, E.J.; STUART, C.A.; PRINCE, M.J. - Acanthosis Nigricans and obesity: acquired and intrinsic defects in insulin action. **Metabolism**, **35**:807-813, 1986.
- PROUDLER, A.J.; GODSLAND, I.F.; BRUCE, R.; SEED, M.; WYNN, V. Lipid and carbohydrate metabolic risk markers for coronary heart disease and blood pressure in healthy non obese pre menopausal women of different racial origins in the United Kingdom. **Metabolism**, **45**(3):328-333, 1996.
- RENDON, M.I.; CRUZ, P.D.; SONTHEIMER, R.D.; BERGSTRESSER, P.R. -Acanthosis nigricans : A cutaneous marker of tissue resistance to insulin. **J. Am. Acad. Dermatol.**, **21**:461-469, 1989.
- RETT, K.; WICKLMAYR, M.; MEHNERT, H. - What is the clinical significance of insulin resistance? **J. Cardiov. Pharmacol.**, **20**(Suppl. II):S22-S26, 1992.
- RICHARDS, G.E.; CAVALLO, A.; MEYER, W.J.; PRINCE, M.J.; PETERS, E.J.; STUART, C.A.; SMITH, E.R. - Obesity, acanthosis nigricans, insulin resistance and hyperandrogenemia: Pediatric perspective and natural history. **J. Pediatr.**, **107**:893-897, 1985.
- RITTMASER, R.S.; DESHWAL, N.; LEHMAN, L. - The role of adrenal hyperandrogenism, insulin resistance and obesity in the pathogenesis of polycystic ovarian syndrome. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **76**:1295-1300, 1993.

- SAAD, M.J.A. & FOSS, M.C. - Peripheral muscle glucose and potassium transport in a family with acanthosis nigricans and insulin resistance. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, **22**: 683-686, 1989.
- SAAD, M.J.A.; MONTE-ALEGRE, S.; SAAD, S.T.O. - Differences in first-phase insulin release between normal blacks and whites. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, **23**:665-657, 1990.
- SALANS, L.B. - The obesities. In: FELIG, P.; BAXTER, J.D.; BROADUS, A.E.; FROHMAN, L.A. - **Endocrinology and Metabolism**. McGraw Hill Book Company 2. ed., 1987, p. 1203-1244.
- SCHMID, C. - IGFs: function and clinical importance. The regulation of osteoblast function by hormones and cytokines with special reference to insulin-like growth factors and their binding proteins. **J. Int. Med.**, **243**:535-542, 1993.
- SCHUSTER, D.; O'DORISIO, T.M.; OSEI, K. - Case report: Defective beta and alpha cell regulation in patients with hyperinsulinemia and acanthosis nigricans. **Am. J. Med. Sci.**, **307**(5):342-345, 1994.
- SCHWARTZ, R.A. - Acanthosis Nigricans. **J. Am. Acad. Dermatol.**, **31**:1-19, 1994.
- SCHWARTZ, R.A. & JANNIGER, C.K. - Childhood acanthosis nigricans. **Cutis**, **55**:337-341, 1995.
- SHERERTZ, E.F. - Improved acanthosis nigricans with lipodystrophic diabetes during dietary fish oil supplementation. **Arch Dermatol**, **124**:1094-1096, 1988.

- SILBERT, J.E. - Glycosaminoglycans and proteoglycans of skin. In: FITZPATRICK, T. B.; EISEN, A.Z.; WOLFF, K.; FREEDBERG, I.M.; AUSTEN, K.F. - **Dermatology in General Medicine**, 3. ed., New York, 1987, p. 314-321.
- STARKE, A.A.R. - Determination of insulin sensitivity: Methodological considerations. **J. Cardiovasc Pharmacol**, 20(Suppl II):S17-S21, 1992.
- STUART, C.A.; PETERS, E.J.; PRINCE, M.J.; RICHARDS, G.; CAVALLO, A.; MEYER, W.J. - Insulin resistance with acanthosis nigricans: the roles of obesity and androgen excess. **Metabolism**, 35(3):197-205, 1986.
- STUART, C.A.; PIETRZYK, R.A.; PETERS, E.J.; SMITH, F.E; PRINCE, M.J. - Autophosphorylation of cultured skin fibroblast insulin receptors from patients with severe insulin resistance and acanthosis nigricans. **Diabetes**, 38:328-332, 1989.
- STUART, C.A.; SMITH, M.M.; GILKINSON, C.R.; SHAHEB, S.; STAHN, R.M. - Acanthosis Nigricans among native americans: An indicator of high diabetes risk. **Am. J. Public Heath**, 84:1839-1842, 1994.
- SUGDEN, M.C. & HOLNESS, M.J. Substrate interactions in the development of insulin resistance in type II diabetes and obesity. **J Endocrinol**, 127:187-190, 1990.
- SVEC, F.; NASTASI, K.; HILTON, C.; BAO, W.; SRINIVASAN, S.R.; BERENSONO, G.S. - Black-White contrasts in insulin levels during pubertal development. The Bogalusa Heart Study. **Diabetes**, 41:313-317, 1992.
- TASJIAN, D. & JARRATT, M. - Familial acanthosis nigricans. **Arch. Dermatol.**, 120:1351-1354, 1984.

TAYLOR, S.I.; DONS, R.F.; HERNANDEZ, E.; ROTH, J.; GORDEN, P. - Insulin resistance associated with androgen excess in women with autoantibodies to the insulin receptor. **Ann. Int. Med.**, **97**:851-855, 1982.

THIVOLET, C.H.; MAUDUIT, G.; CANIVET, B.; GARREL, D.; TOURNIAIRE, J.; THIVOLET, J.; PUGEAT, M. - Acanthosis nigricans, hyperandrogénie, insulino-résistance et hyperlipémie mixte. **Presse Méd.**, **17**:1355-1359, 1988.

ÜNAL, A.; SAHIN, Y.; KELESTIMUR, F. - Acromegaly with polycystic ovaries, hyperandrogenism, hirsutism, insulin resistance and acanthosis nigricans: A case report. **End. J.**, **40**:207-211, 1993.

VERRANDO, P. & ORTONNE, J.P. - Insulin binding properties of normal and transformed human epidermal cultured keratinocytes. **J. Invest. Dermatol.**, **85**:328-332, 1985.

YAMADA, S.L.B. - Acanthosis Nigricans: Estudo prospectivo de sua associação com resistência à insulina e hiperandrogenismo. São Paulo, 1992. (Tese de Mestrado - Escola Paulista de Medicina).

WAJCHENBERG, B.L.; GIANELLA-NETO, D.; LERARIO, A.C.; MARCONDES, J.A.M.; OHNUMA, L.Y. - Role of obesity and hyperinsulinemia in the insulin resistance of obese subjects with the clinical triad of polycystic ovaries, hirsutism and acanthosis nigricans. **Hormone Res.**, **29**:7-13, 1988.

WRAIGHT, C.J.; MURASHITA, M.M.; RUSSO, V.C.; WERTHER, G.A. - A keratinocyte cell line synthesizes a predominant insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP-3) that modulates insulin-like growth factor-1 action. **J. Invest. Dermatol.** **103**:627-631, 1994.

WHITE, M.F. & KAHN, R.C. - The insulin signaling system. **J. Biol. Chem.**, 269(1):1-4, 1994.

WORTSMAN, J.; MATSUOKA, L.Y.; DIETRICH, J.; JAGDISH, B.; GAVIN, J.R.; COULAM, C.B.; KOUSSEF, B.G. - Acanthosis Nigricans in a patient with streak gonads. **Arch. Intern. Med.**, 143 :825-827, 1983.

Anexo 1

Dados Clínicos

Pacientes	Grupo	AN	Raça	Idade	IMC	tempo OB
OB - AN						
<i>P1</i>	1	2+	C	17	27,35	11
<i>P2</i>	1	3+	C	30	40,50	30
<i>P3</i>	1	2+	N	30	36,64	25
<i>P4</i>	1	1+	N	29	36,00	20
<i>P5</i>	1	2+	C	16	33,50	7
<i>P6</i>	1	3+	N	17	32,05	12
<i>P7</i>	1	2+	C	20	33,98	15
<i>P8</i>	1	3+	C	21	38,40	16
<i>P9</i>	1	2+	C	30	40,93	12
<i>P10</i>	1	2+	C	21	32,37	16
<i>P11</i>	1	1+	C	25	40,93	5
<i>P12</i>	1	3+	N	16	36,75	11
<i>P13</i>	1	3+	N	10	29,68	3
<i>P14</i>	1	3+	N	11	35,00	11
MÉDIA n=11				20,55	34,70	12,82
DESVIO PADRÃO				7,20	4,24	6,19
EPM				2,17	1,28	1,87
OB - N						
<i>P15</i>	2	0	C	16	33,25	8
<i>P16</i>	2	0	C	32	39,14	13
<i>P17</i>	2	0	N	31	34,8	10
<i>P18</i>	2	0	N	37	33,11	15
<i>P19</i>	2	0	C	32	27,66	1
<i>P20</i>	2	0	C	27	43,14	22
<i>P21</i>	2	0	N	13	34,43	8
<i>P22</i>	2	0	C	24	31,02	5
<i>P23</i>	2	0	C	29	51,68	14
MÉDIA N=9				26,78	36,47	10,67
DESVIO PADRÃO				7,87	7,24	6,16

EPM				2,62	2,41	2,05
MAGROS - N						
<i>P24</i>	3	0	C	31	22,94	
<i>P25</i>	3	0	C	26	20,71	
<i>P26</i>	3	0	C	31	24,26	
<i>P27</i>	3	0	C	13	21,23	
<i>P28</i>	3	0	N	17	18,88	
<i>P29</i>	3	0	C	39	25,32	
<i>P30</i>	3	0	N	24	22,11	
<i>P31</i>	3	0	N	23	22,28	
<i>P32</i>	3	0	N	26	23,8	
<i>P33</i>	3	0	N	27	21,08	
MÉDIA N=10				25,70	22,26	
DESVIO PADRÃO				7,32	1,90	
EPM				2,21	0,57	

Dados Laboratoriais

			Glicose					Insulina						
Min	G	Raça	0	30	60	90	120	Área	0	30	60	90	120	Área
OB - AN														
P1	1	C	76,00	104,00	114,00	102,00	105,00	12315,00	44,00	220,00	290,00	270,00	290,00	28410,00
P2	1	C	118,00	208,00	260,00	276,00	271,00	28065,00	95,00	280,00	280,00	480,00	240,00	34425,00
P3	1	N	92,50	140,30	123,90	98,00	84,00	13513,50	23,00	160,00	130,00	180,00	95,00	15870,00
P4	1	N	89,00	124,00	122,00	132,00	150,00	14925,00	25,00	40,00	90,00	115,00	90,00	9075,00
P5	1	C	279,00						56,00					
P6	1	N	97,00	184,00	171,00	142,00	115,00	18090,00	46,00	130,00	87,00	42,00	46,00	9150,00
P7	1	C	69,00	150,00	179,00	149,00	113,00	17070,00	40,00	115,00	120,00	170,00	130,00	14700,00
P8	1	C	101,00	149,00	208,00	193,00	176,00	20415,00	35,00	46,00	75,00	130,00	120,00	9855,00
P9	1	C	82,20	91,20	99,60	106,00	115,90	11875,50	5,00	20,00	94,00	60,00	58,00	6165,00
P10	1	C	76,00	135,00	132,00	96,00	117,00	13785,00	23,00	165,00	210,00	130,00	160,00	17895,00
P11	1	C	100,00	139,00	151,00	121,00	114,00	15540,00	10,00	250,00	240,00	210,00	150,00	23400,00
P12	1	N	95,00	162,00	219,00	198,00	138,00	20665,00	19,00	210,00	215,00	150,00	190,00	20385,00
P13	1	N	71,50	139,70	122,70	168,60	135,30	16032,00	32,00	70,00	70,00	125,00	90,00	9780,00
P14	1	N	84,60	134,30	150,10	143,60	130,10	16060,50	13,50	125,00	150,00	240,00	150,00	17902,50
Média n=11	1		84,80	136,68	144,03	132,38	119,75	15481,05	25,50	136,82	154,18	153,82	131,73	15702,95
DP			10,72	25,28	34,67	32,20	17,93	2627,50	13,69	73,87	73,31	70,18	68,94	6828,15
OB - N														
P15	2	C	92,00	169,00	145,00	137,00	157,00	17265,00	34,00	90,00	62,00	85,00	100,00	9120,00
P16	2	C	82,00	124,00	119,00	109,00	90,00	13140,00	16,00	90,00	120,00	80,00	74,00	10050,00
P17	2	N	76,00	148,30	144,70	130,10	109,90	15481,50	6,80	52,00	82,00	70,00	74,00	7332,00
P18	2	N	81,00	135,00	118,00	120,00	104,00	13965,00	27,00	115,00	95,00	70,00	32,00	9285,00
P19	2	C	95,00	138,00	129,00	93,00	97,00	13680,00	5,00	140,00	120,00	56,00	90,00	10905,00
P20	2	C	80,00	134,00	98,00	100,00	109,00	12795,00	28,00	190,00	66,00	76,00	66,00	11370,00
P21	2	N	72,00	95,00	81,00	92,00	75,00	10245,00	19,50	159,00	48,00	177,00	43,00	12457,50
P22	2	C	99,00	86,00	120,00	101,00	109,00	12330,00	42,00	120,00	90,00	110,00	42,00	10860,00
P23	2	C	77,40	140,90	180,10	174,60	144,40	18195,00	12,00	60,00	120,00	140,00	140,00	11880,00
Média n=9	2		83,82	130,02	126,09	117,41	110,59	14121,83	21,14	112,89	89,22	96,00	73,44	10362,17
DP			9,29	25,68	28,73	26,71	25,55	2487,56	12,55	45,30	27,17	39,40	33,72	1590,40
Magro														
P24	3	C	99,50	97,00	144,10	125,30	114,50	14202,00	7,00	7,60	60,00	64,00	74,00	5163,00
P25	3	C	68,00	133,00	111,00	104,00	122,00	13290,00	5,00	46,00	16,00	34,00	46,00	3645,00
P26	3	C	84,60	110,00	107,60	98,40	85,60	12033,00	10,00	52,00	64,00	45,00	45,00	5655,00
P27	3	C	96,00	133,00	92,00	131,00	106,00	13710,00	15,00	49,50	32,00	47,50	41,00	4710,00
P28	3	N	76,00		92,00	75,00	105,00	10245,00	21,50		78,00	56,00	33,00	6330,00
P29	3	C	83,60	89,20	146,80	130,90	122,20	14094,00	5,00	44,00	45,00	135,00	50,00	7545,00
P30	3	N	69,00	92,00	89,00		88,00	10440,00	4,00	33,20	27,60		18,80	2862,00
P31	3	N	65,00	98,00	50,00		58,00	7905,00	9,00	24,00	23,00		12,50	2265,00
P32	3	N	78,00	147,00	149,00		89,00	14955,00	11,80	49,40	70,00		19,50	5394,00
P33	3	N	64,00	79,00	90,00		96,00	10260,00	4,70	8,00	14,00		56,00	2620,50
Média n=10	3		78,37	108,69	107,15	110,77	98,63	12113,40	9,30	34,86	42,96	63,58	39,58	4618,95

DP	12,52	23,56	31,72	22,38	19,67	2303,06	5,57	17,72	23,61	36,43	18,99	1733,27
----	-------	-------	-------	-------	-------	---------	------	-------	-------	-------	-------	---------

Análise Histopatológica

Pac	Gr	R	S	Local	AN	Fe Col.	Papila	Cone	Córn. (dep)	Córn. (SP)	ins 0'	ins 120'	área
P1	1	C	F	A	2+	1+	166,59	145,60	106,80	33,99	44,00	290,00	28410,00
P2	1	C	F	A	3+	1+	250,17	251,01	183,29	38,29	95,00	240,00	34425,00
P3	1	N	F	P	2+	1+	211,06	185,50	46,88	14,18	23,00	95,00	15870,00
P4	1	N	F	-	1+	-	-	-	-	-	25,00	90,00	9075,00
P5	1	C	F	P	2+	1+	90,14	124,35	25,12	15,10	56,00	75,00	7965,00
P6	1	N	F	A	3+	1+	129,69	103,37	55,05	14,23	46,00	46,00	9150,00
P7	1	C	F	P	2+	1+	186,42	184,90	77,45	12,21	40,00	130,00	14700,00
P8	1	C	F	P	3+	1+	425,72	230,07	460,46	128,37	35,00	120,00	9855,00
P9	1	C	F	A	2+	1+	282,84	159,13	53,85	58,65	5,00	58,00	6165,00
P10	1	C	F	A	2+	1+	274,04	213,94	108,39	71,39	23,00	160,00	17895,00
P11	1	C	F	P	1+	1+	356,30	258,10	179,95	31,25	10,00	150,00	23400,00
P12	1	N	F	-	3+	-	-	-	-	-	19,00	190,00	20385,00
P13	1	N	F	A	3+	1+	167,07	250,00	213,68	56,18	32,00	90,00	9780,00
P14	1	N	F	A	3+	1+	325,24	267,31	116,44	29,13	13,50	150,00	17902,50
P34	1	N	F	A	2+	1+	342,36	308,03	88,53	40,53	-	-	-
P15	2	C	F	A		1+	173,49	159,33	64,18	25,24	34,00	100,00	9120,00
P16	2	C	F	A		1+	79,66	135,22	70,75	27,64	16,00	74,00	10050,00
P17	2	N	F	A		1+	124,62	137,81	40,17	22,07	6,80	74,00	7332,00
P18	2	N	F	A		1+	183,49	130,22	57,69	18,63	27,00	32,00	9285,00
P19	2	C	F	A		1+	180,29	143,27	42,67	43,27	5,00	90,00	10905,00
P20	2	C	F	A		1+	189,21	198,08	53,37	13,46	28,00	66,00	11370,00
P21	2	N	F	-		-	-	-	-	-	19,50	43,00	12457,50
P22	2	C	F	A		1+	80,38	110,99	35,02	17,86	42,00	42,00	10860,00
P23	2	C	F	P		1+	80,12	105,17	69,71	21,20	12,00	140,00	11880,00
P24	3	C	F	A		1+	92,96	98,08	41,47	11,75	7,00	74,00	5163,00
P25	3	C	F	A		1+	138,56	121,25	78,77	21,20	5,00	46,00	3645,00
P26	3	C	F	A		2+	126,95	129,21	16,13	10,41	10,00	45,00	5655,00
P27	3	C	F	A		1+	187,33	151,85	41,59	16,30	15,00	41,00	4710,00
P28	3	N	F	A		2+	168,27	200,55	122,60	41,27	21,50	33,00	6330,00
P29	3	C	F	A		1+	96,15	82,69	55,89	25,84	5,00	50,00	7545,00
P35	3	C	M	A		1+	105,43	93,75	38,46	12,26	7,00	14,00	4365,00
P36	3	N	M	A		1+	133,15	124,47	32,04	12,43	5,00	23,00	2310,00
P37	3	C	F	A		1+	69,45	100,36	39,11	45,67	-	-	-

R=raça S=sexo A=axila P=pescoço

Resultados Hormonais dos Grupos 1 e 2

Pacientes	Androst	Test. total	Test. livre	sDHEA	FSH	LH	Protac.	TSH	T4 livre	U.Som Pélv.	Outros Diagn.	Hirsut.	Ca / P	irr.Menst.
P1		d	A	A										
P2		d		d						Aum.Vol.Ov.	Diabetes			
P3	-	-	-	-						-				
P4										-				
P5			A	A							Diabetes			sim
P6			A	A							Hidroadenite			sim
P7		A	A								Hidroaden./Acne/Hiperplasia SR	sim		sim
P8										Cistos Foliculares	Intol.Glic / Esteatose Hep. / Litíase biliar	leve		sim
P9		a	a	a										sim
P10					-	-	-				Duplicidade pieło calicial rím E			sim
P11											aum.vol.ovários			
P12			A	A										
P13											Cistos foliculares			
P14	A		A	A	A	A	A				Ov.Policísticos			
P15	A	A		A			a							sim
P16			d	d							2 cistos folic ov. E			sim
P17				d							aum. vol. ovários			sim
P18				d			A				Miomatose Uterina			
P19														
P20				d							Litíase Biliar			
P21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
P22			d											
P23			A	d							Litíase Biliar			

A: Aumentado a: levemente aumentado d: diminuído -: exame não realizado espaço em branco: exame normal

Anexo 2



Caso P8

H & E, original 2,5x

Pescoço - Acanthose Nigricante

Sinuosidade da epiderme com hiper ortoceratose e papilomatose exuberantes.

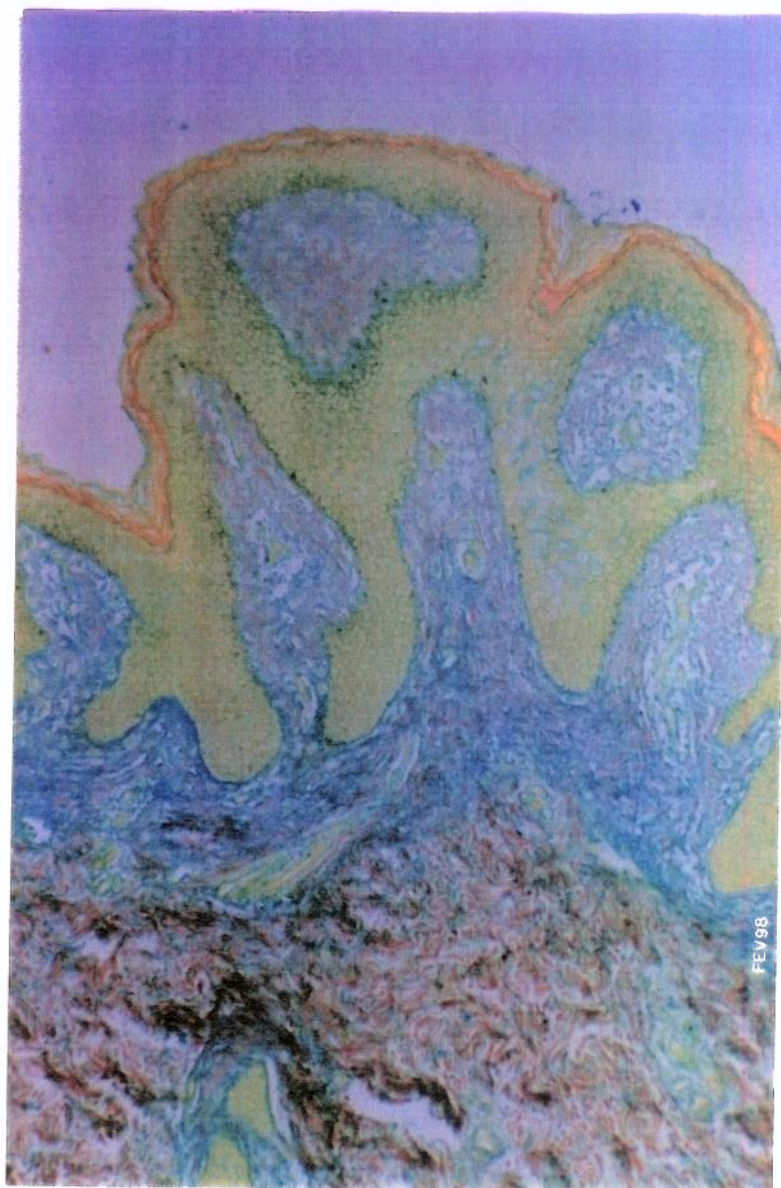


Caso P8

H & E, original 10x

Detalhe - Acanthose Nigricante

Depressão na epiderme com grandes vales preenchidos por material córneo lamelar.

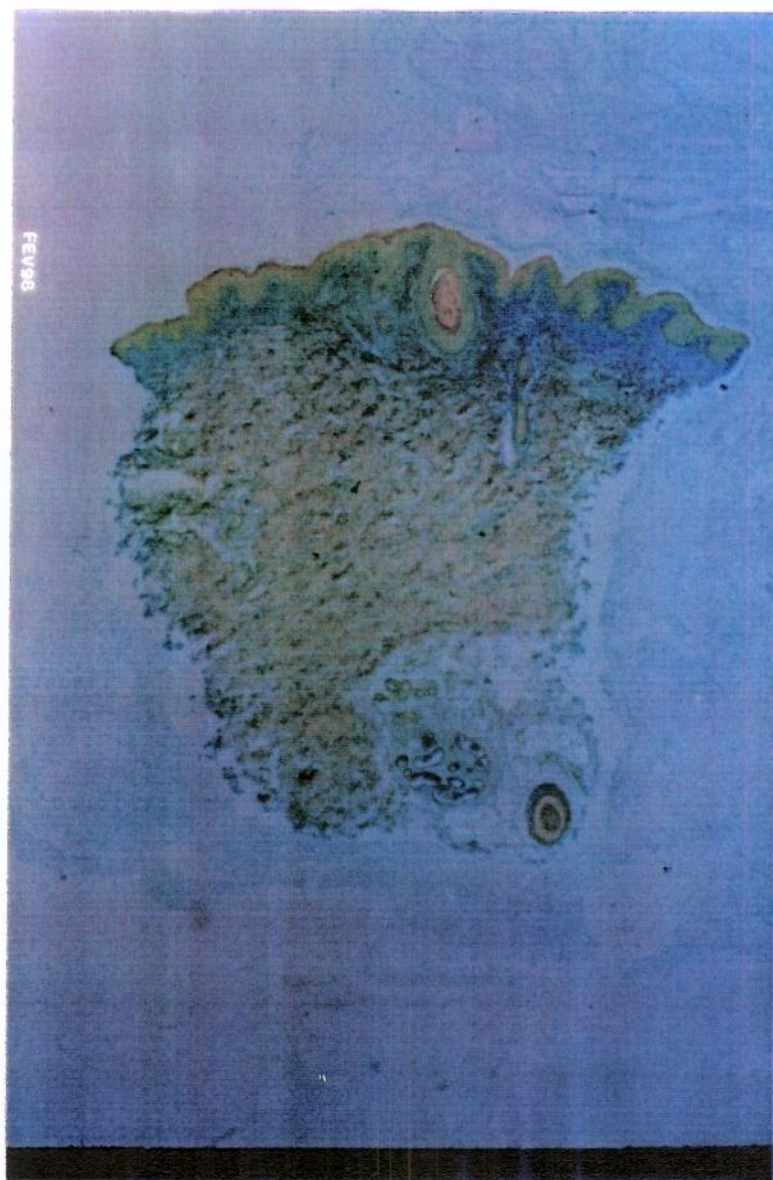


Caso P14

Ferro Coloidal, original 10x

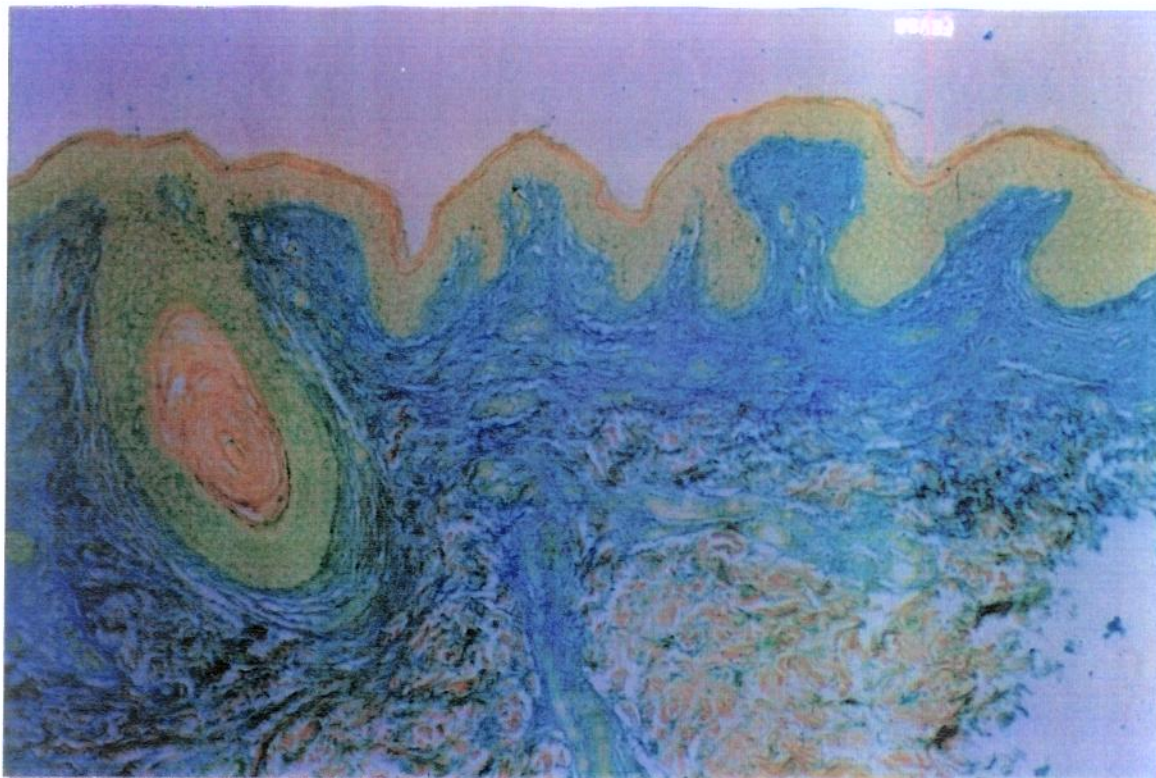
Axila - Acanthose Nigricante

Depósito de substância mucopolissacáride leve na derme papilar.



Caso Controle - P26
Ferro Coloidal, original 2,5x
Axila

Presença de mucopolissacáride na derme papilar mais proeminente à direita.



Caso Controle - P26

Ferro Coloidal, original 10x

Detalhe do depósito de mucopolissacáride.



Caso Controle - P26

Ferro Coloidal, original 10x

Controle interno positivo de coloração em secreção de ductos sudoríparos écrinos.