

**UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS
CENTRO DE CIÊNCIAS DA VIDA E DA SAÚDE
DOUTORADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
SAÚDE E COMPORTAMENTO**

**Aspectos Clínicos e Microscopia Eletrônica
de Varredura da Membrana Colódio
de um Caso de Bebê Colódio Auto-limitado
e da Síndrome MEND**

**Doutorando: Henrique Ribeiro Isaacsson
Orientador: Prof. Dr. Hiram Lorangeira de Almeida Júnior**

**Pelotas
2014**

HENRIQUE RIBEIRO ISAACSSON

**Aspectos Clínicos e Microscopia Eletrônica
de Varredura da Membrana Colódio
de um Caso de Bebê Colódio Auto-limitado
e da Síndrome MEND**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento da Universidade Católica de Pelotas como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Saúde e Comportamento.

Orientador: Prof. Dr. Hiram Larangeira de Almeida Júnior

**Pelotas
2014**

**Aspectos Clínicos e Microscopia Eletrônica
de Varredura da Membrana Colódio
de um Caso de Bebê Colódio Auto-limitado
e da Síndrome MEND**

Conceito final: _____

Aprovado em: _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Gilberto de Lima Garcias

Profa. Dra. Fernanda Nedel

Prof. Dr. Eduardo de Barros Coelho Bicca

Orientador – Prof. Dr. Hiram Larangeira de Almeida Júnior

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente ao meu orientador Prof.Dr. Hiram Larangeira, que fez muito mais do que apenas orientar, foi um amigo e me guiou quando eu mais precisei, professor extremamente competente.

Quero agradecer também à minha esposa Viviane que juntos durante este período tivemos a benção da chegada do nosso filho Heitor.

Aos meus pais também agradeço, eles que são peça fundamental em qualquer caminhada que tenha empreendido até hoje, e são meu exemplo de vida.

Agradeço a Dra. Isabelle Guarenti que me ajudou durante a realização da tese.

Sumário

1. Introdução.....	6
1.1. Pele.....	6
1.2. Queratinização.....	6
1.3. Ictioses.....	13
1.3.1. Feto Harlequim.....	14
1.3.2. Bebê Colódio.....	17
1.3.3. Síndrome de Conradi-Hünemann-Happle e Síndrome MEND.....	20
1.4. Microscopia eletrônica no bebê colódio.....	24
2. Justificativa	27
3. Objetivos.....	28
4. Hipóteses.....	29
5. Material e métodos.....	30
6. Aspectos éticos.....	31
7. Cronograma.....	32
8. Orçamento.....	33
9. Resultados.....	34
9.1. Bebê Colódio Auto-Limitado.....	34
9.1.1. Descrição do Caso.....	34
9.1.2. Fotos clínicas.....	35
9.1.3. Microscopia Eletrônica de Varredura da Membrana Colódio.....	37
9.2. Síndrome MEND.....	54
9.2.1. Descrição do Caso.....	54
9.2.2. Fotos clínicas.....	55
9.2.3. Exames de Imagem.....	62
9.2.4 Sequenciamento genético.....	71
9.2.5. Microscopia Eletrônica de Varredura da Membrana Colódio.....	72
10. Discussão.....	85
11. Conclusões.....	88
12. Referências bibliográficas.....	89
13. Artigo Proposto.....	92
14. ANEXOS.....	104

1.INTRODUÇÃO

1.1.Pele

A pele é a interface entre os seres vivos e o meio ambiente. É o maior órgão do corpo e pesa aproximadamente 4 kg, cobrindo uma área de 2m². Sua principal função é ser uma barreira, protegendo o corpo de condições externas adversas, e prevenindo a perda dos constituintes do corpo humano, principalmente a água.

A pele é dividida em três camadas: epiderme, derme e hipoderme^(1,2).

1.2.Queratinização

A queratinização também chamada de cornificação, é um processo de diferenciação celular no qual resulta um tecido duro e resistente, como são os pêlos e as unhas, sendo que a epiderme forma a camada córnea.

A epiderme não possui vasos sanguíneos, tem espessura variável dependendo da área do corpo e está em contínua divisão celular na camada germinativa ou basal. As células são empurradas para a superfície pela atividade mitótica, passando pela camada espinhosa e granulosa até serem descamadas na camada córnea(Figs.1, 2 e 3).

As células da epiderme são chamadas de queratinócitos. São células diferenciadas que sintetizam a queratina. Os queratinócitos estão firmemente ligados por pequenas estruturas citoplasmáticas que são os desmossomas, e separados por material intercelular formado

por lipoproteínas e glicoproteínas. Os grânulos lamelares ou Corpúsculos de Odland, que são derivados do aparelho de Golgi aparecem na superfície dos queratinócitos. Estes grânulos lamelares contêm polissacarídeos, enzimas hidrolíticas e lipídeos que são depositados no espaço intercelular da camada granular sendo os precursores dos lipídeos da camada córnea.

Na camada granular as células são mais achatadas que na camada espinhosa. Neste momento as células apresentam também os grânulos de querato-hialina, os quais contêm proteínas como: lorícina, involucrina e profilagrina. Esta última é clivada em filagrina na migração das células da camada granulosa até a camada córnea.

No processo de migração dos queratinócitos até as camadas superficiais, os grânulos de querato-hialina presentes se rompem, dispersando o seu conteúdo no citoplasma. A filagrina adere no esqueleto celular de queratina, fazendo com que as células da camada granular se transformem em escamas chatas, daí sua denominação: agregadora de filamentos, no caso a queratina intracitoplasmática (ou citoqueratina) (Figs. 4 e 5).

A camada córnea é formada por uma pilha de células mortas “os tijolos” separadas por lipídeos “a argamassa”, que juntos conferem as características de promover uma barreira efetiva contra a perda de água e contra a penetração de agentes químicos e infecciosos. As células na camada córnea normalmente não possuem núcleo ou organelas, são denominados corneócitos.

A queratina é uma proteína formada por 21 aminoácidos, ela é responsável por manter a estrutura e a integridade dos queratinócitos. Existem trinta tipos diferentes de queratina nos humanos. Até o

momento foram encontrados 54 genes funcionais que codificam a família das queratinas. Mutações nestes genes na maioria das vezes ocasionam alterações na formação da queratina, manifestando-se por desordens em pele e mucosas^(1,2,3,4).

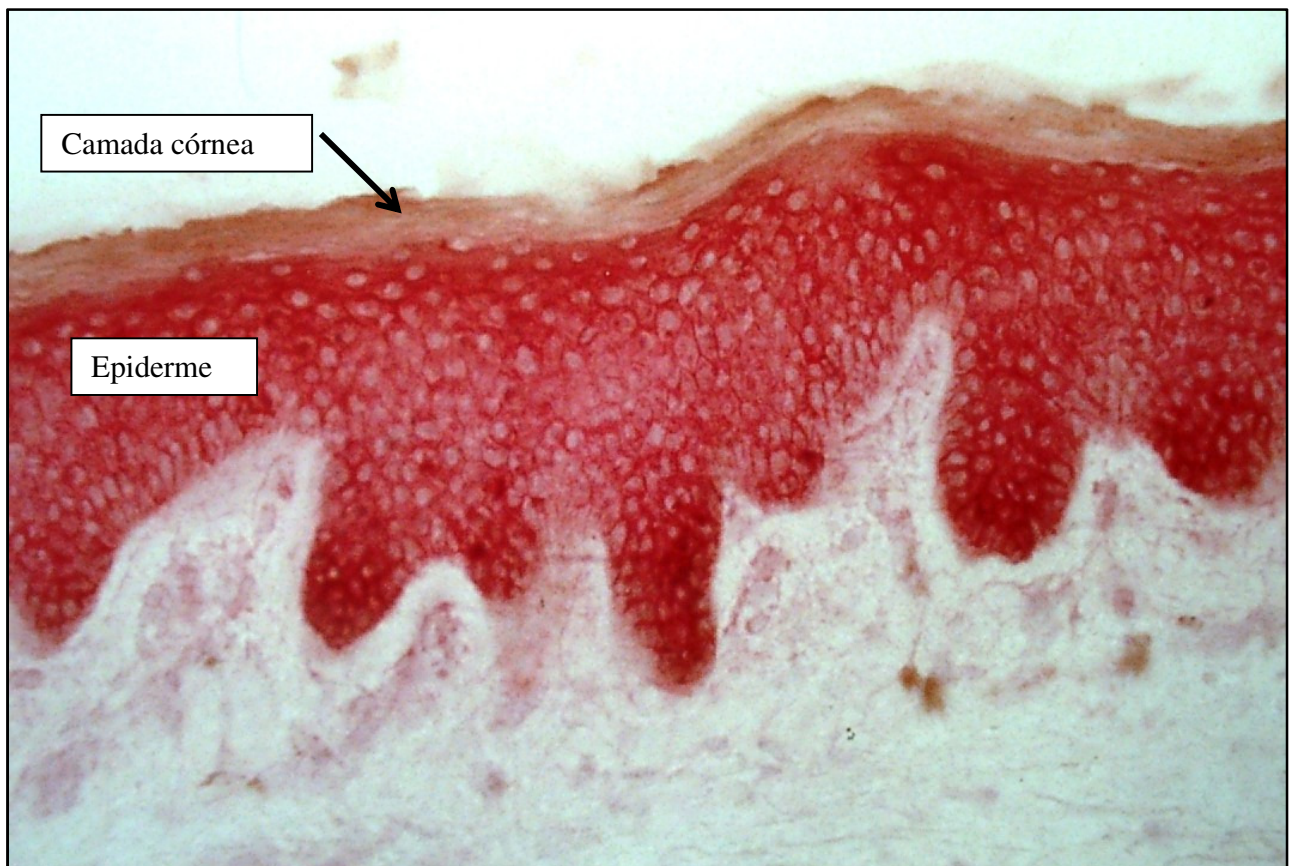


Figura 1 – Epiderme normal com a camada córnea (microscopia ótica com a técnica APAAP, anticorpo anti-panqueratina , x 400).

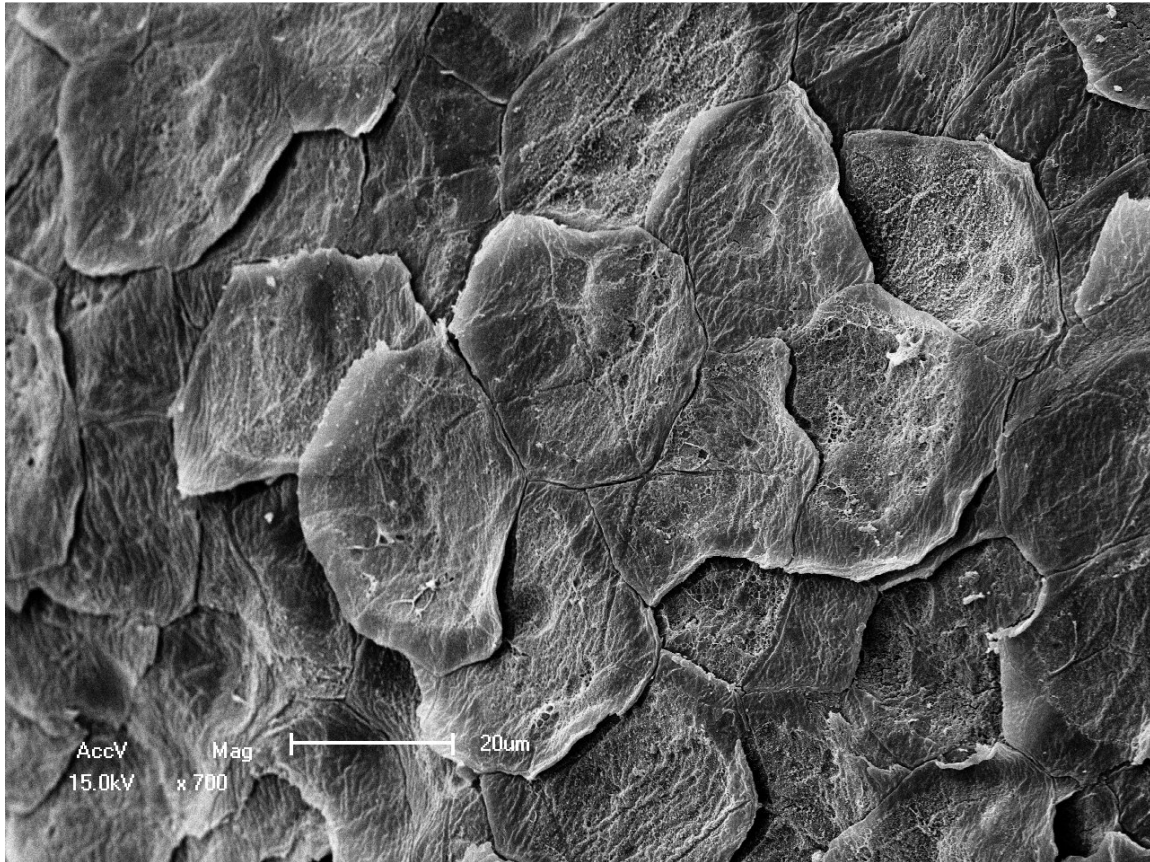


Figura 2 – Pele normal, aspecto da superfície mostrando a eliminação dos corneócitos (microscopia eletrônica de varredura x 700).

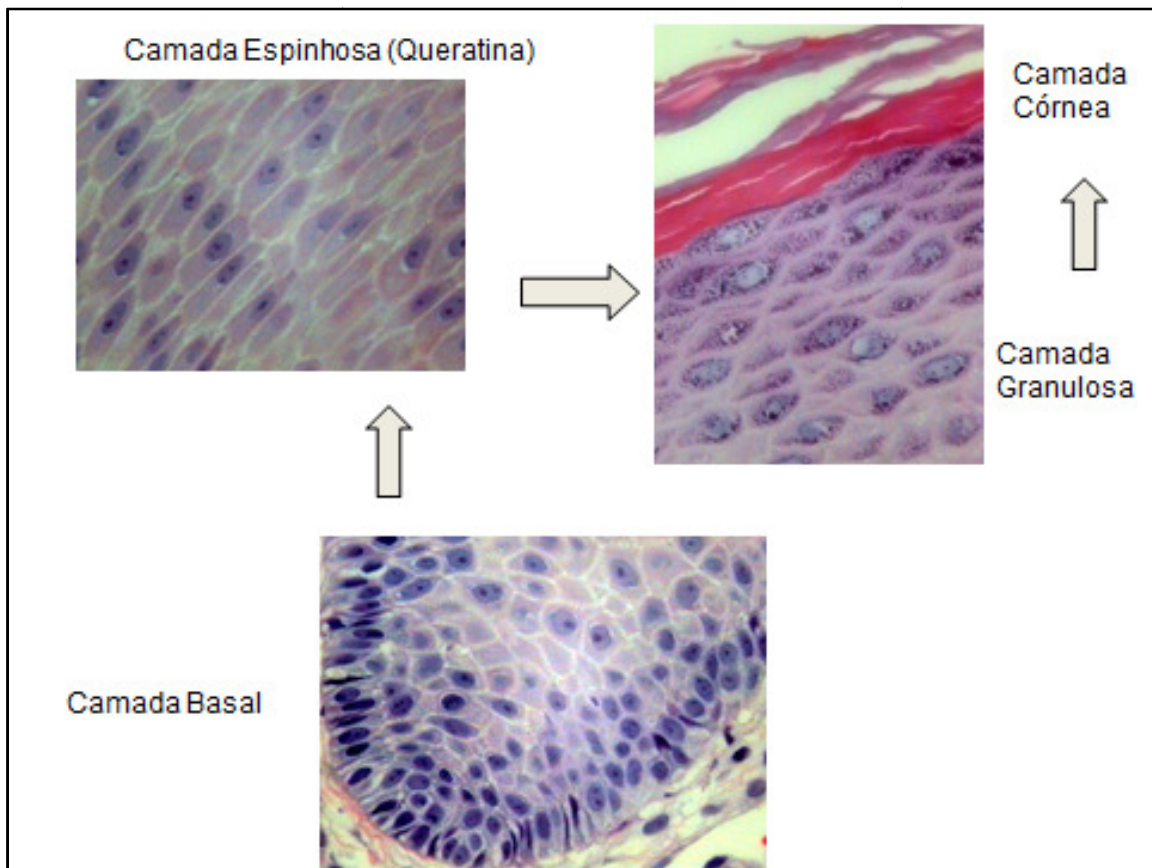


Figura 3 – As camadas da epiderme (microscopia ótica, HE x 400).

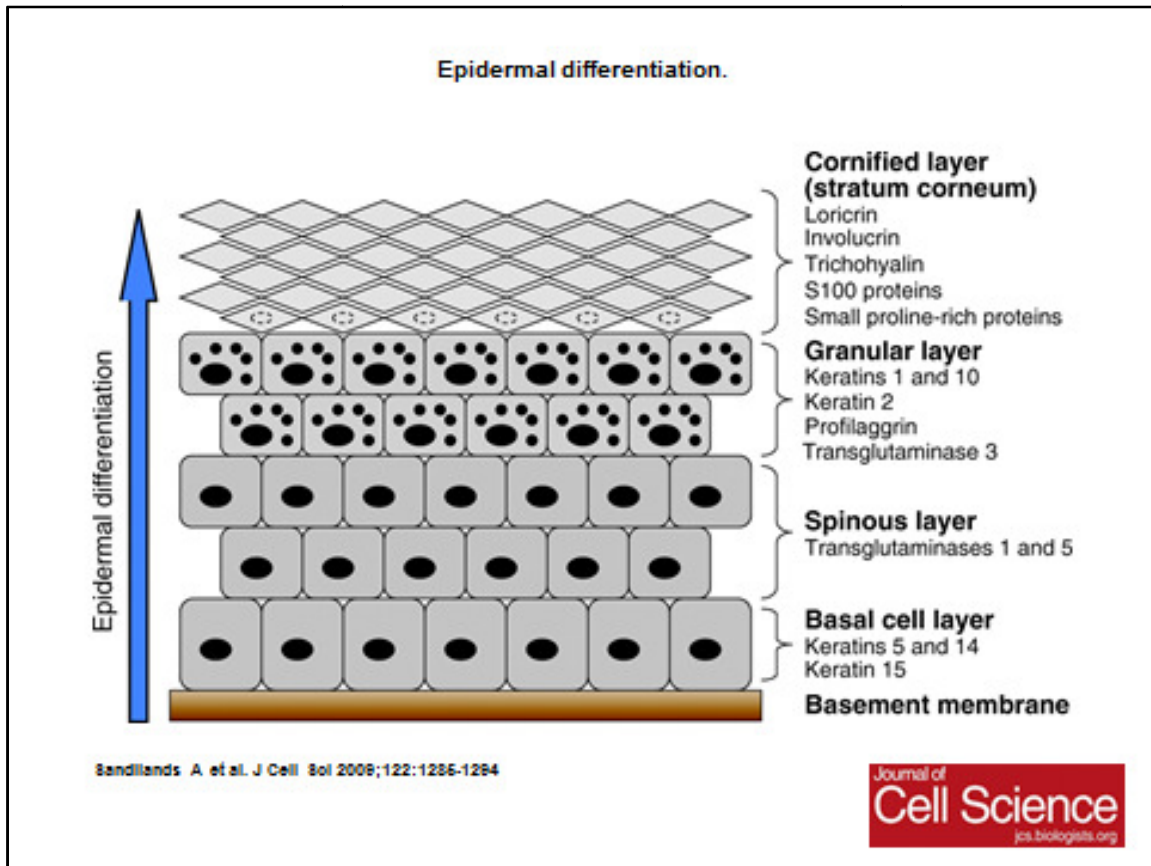


Figura 4 – Diferenciação esquemática da epiderme, demonstrando as várias proteínas envolvidas nesse processo.

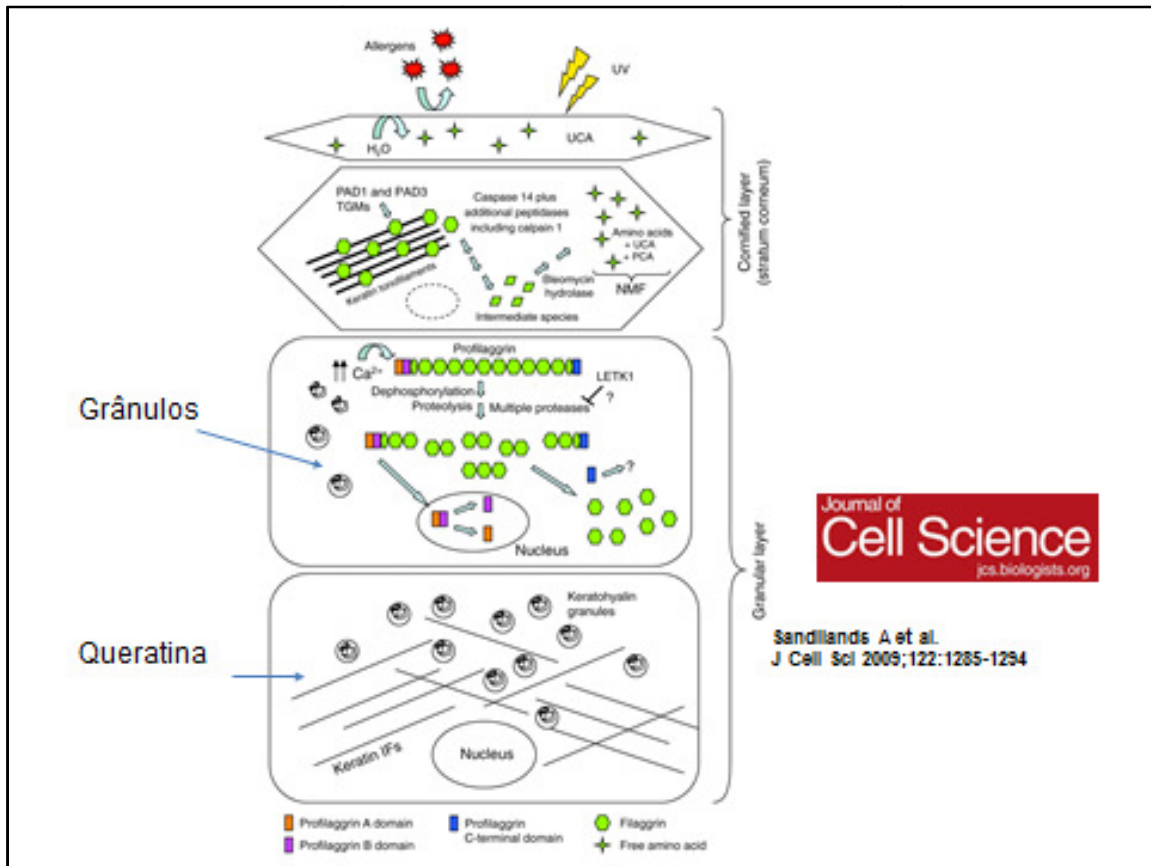


Figura 5 – Queratinização esquemática, mostrando a agregação dos filamentos de queratina (linhas negras) pela filagrina (hexágonos verdes).

1.3. Ictioses

O nome ictiose é derivado do grego antigo ichthys(ἰχθύς) que significa peixe e se refere à semelhança da pele às escamas do peixe⁽⁵⁾.

A ictiose é um grupo heterogêneo de doenças de pele caracterizadas por descamação generalizada. As escamas podem variar de tamanho, cor e topografia. Neste grupo de doenças há formas herdadas e adquiridas. Ela pode se apresentar ao nascimento ou na vida adulta, limitando-se a pele ou em associação com outras anormalidades⁽⁵⁾.

Segundo o último consenso sobre o tema em 2007, as ictioses são divididas em formas não sindrômicas e sindrômicas. A primeira se apresenta com manifestações apenas na pele. A segunda se apresenta com manifestações em outros órgãos além da pele. Entre as não sindrômicas existem quatro grupos: ictioses comuns, ictioses congênitas autossômico recessivas (ARCI), ictioses queratinopáticas e outras formas menos comuns⁽⁶⁾.

As ARCI foram tradicionalmente divididas em duas doenças: ictiose lamelar(IL) e ictiose eritrodérmica congênita(IEC), atualmente, foram adicionadas a este grupo: ictiose harlequin, icte colódio auto limitado e ictiose do calção de banho⁽⁶⁾.

A prevalência das ARCI é estimada, segundo estudo espanhol na região da Galícia, em 7,2 casos por um milhão na população em geral, e 16,2 casos por milhão entre os menores de 10 anos de idade. A diminuição da prevalência com o avançar da idade é provavelmente

devido a mortalidade pela enfermidade ⁽⁷⁾. Na França a prevalência estimada de ARCI foi de 7 casos por milhão. Nos menores de 15 anos a prevalência foi de 12,1 casos por milhão⁽⁸⁾, resultados semelhantes ao estudo espanhol.

Com relação às apresentações neonatais das ARCI, há um quadro de grave distúrbio da queratinização, o feto harlequin, e um menos intenso, o bebê colódio.

1.3.1. Feto Harlequin

Ictiose Harlequin é a forma mais grave de ictiose congênita com alto índice de mortalidade. Ela se apresenta ao nascimento, com escamas em grandes e espessas placas, fissuras profundas, presença de ectrópio, eclábio, contraturas nos dedos, achatamento de orelhas e nariz (Figs.6 e 7).

Nestes casos, a prematuridade é comum. Não há anormalidade em órgãos internos. Como a barreira cutânea está gravemente comprometida, estes neonatos estão mais propensos a sepse, desidratação e alteração da termorregulação, sendo a primeira a principal causa de mortalidade. Os que sobrevivem desenvolvem uma forma eritodérmica persistente ictiosiforme durante a vida. A Ictiose Harlequin é causada por mutação em ambos os alelos do gene ABCA12. Este é um transportador de lipídeos do queratinócito associado a formação do grânulo lamelar. A perda da função normal do ABCA12 leva a defeito no transporte lipídico pelos grânulos lamelares na epiderme superior e malformação das camadas lipídicas do extrato córneo. Os cuidados neonatais incluem incubadora

umidificada, regulação da temperatura, suporte nutricional, controle da dor e monitoramento das infecções. Também é importante o uso de emolientes tópicos, banhos de imersão, lágrima artificial para lubrificação dos olhos, tratamento cirúrgico para contraturas em dedos com objetivo de prevenir a necrose e gangrena. O uso precoce de retinóides é essencial e diminui a mortalidade^(9,10).



Figura 6 – Feto Harlequin com importante ectrópio, eclábio e fissuras (<http://prezi.com/4oarmzqaezu-/harlequin-ichthyosis/>).

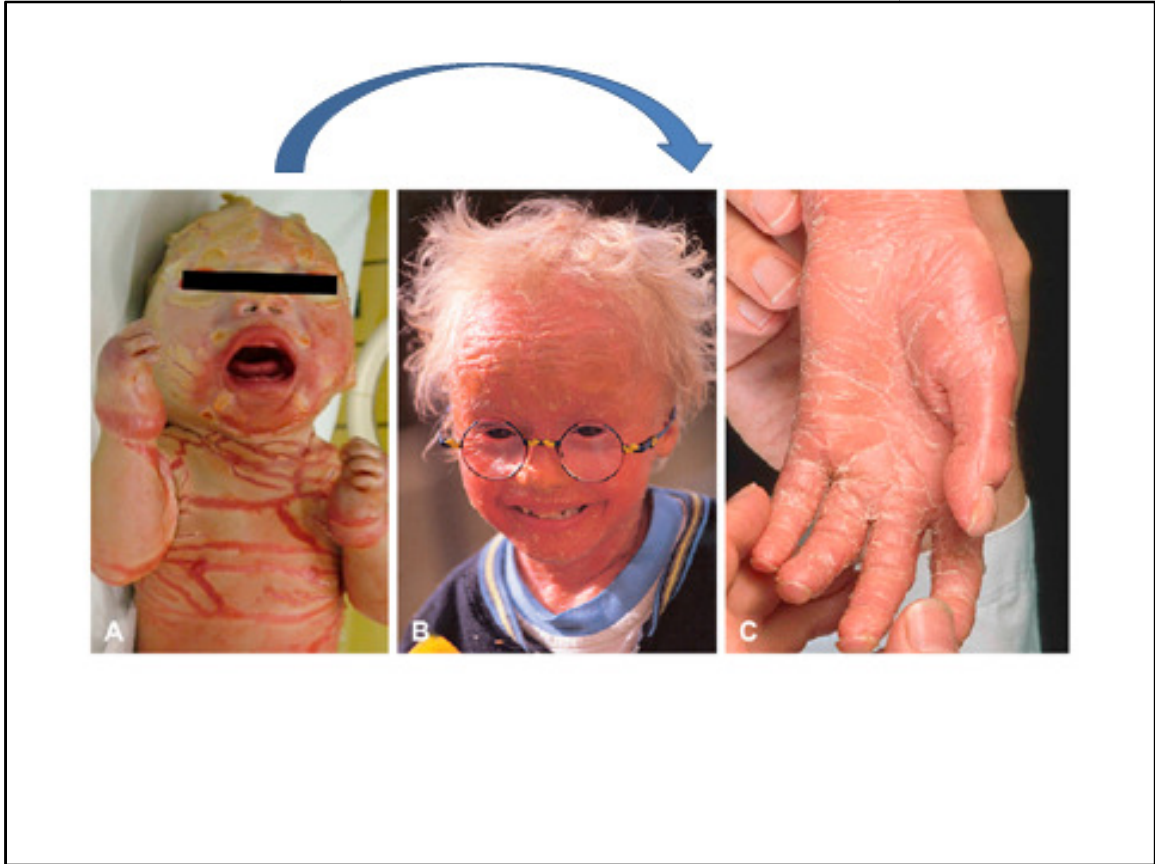


Figura 7 – Evolução Feto Harlequin segundo o 1º consenso de Ictiose em Soreze, 2009.

1.3.2. Bebê Colódio

O termo bebê colódio ou ainda feto colódio é uma apresentação fenotípica comum a várias ictioses congênitas, sendo a maioria adquirida de forma autossômica recessiva. O primeiro a descrever esta aparência foi Seligman em 1841⁽¹¹⁾. As crianças nascem geralmente prematuras e apresentam-se envoltas em uma película brilhante, com aspecto semelhante ao celofane (Figs.8 e 9). A pele ao redor dos olhos e boca pode estar tensa devido a esta membrana ocasionando ectrópio e eclábio respectivamente. Após o nascimento a membrana desidrata gradualmente e fatura, passadas algumas semanas ela descama totalmente revelando a doença de base. Estes pacientes podem apresentar desidratação hipernatrêmica, e são mais suscetíveis a infecções pulmonares e cutâneas^(5,12,13,14).

Um escore de severidade para bebês colódio foi proposto por Rubio-Gomez no qual é atribuído um ponto para a presença de cada um dos seguintes quesitos, perfazendo o máximo de 15 pontos: envolvimento generalizado, ectrópio, eclábio, anormalidades nasorelhas ou nariz, contraturas nos dedos da mão, contratura nos dedos dos pés, contraturas em extremidades superiores, contraturas em extremidades inferiores, dificuldade respiratória devido a restrição pela pele, eritrodermia, edema nas mãos, edema nos pés, edema nos membros superiores, edema nos membros inferiores, hipernatremia^(15,16).

Cabe salientar que bebê colódio é uma apresentação neonatal, das várias ictioses recessivas; e que bebê colódio auto-limitado é uma entidade clínica em separado, dependendo da evolução do quadro.

Os bebês colódio auto-limitados são neonatos que se apresentam envoltos pela membrana colódio. Com duas a três semanas de vida ocorre a descamação gradual desta membrana colódio, propiciando o aparecimento de uma pele com aspecto normal. Aproximadamente 10% de todos os casos de bebês colódio apresentam este tipo de evolução. Mutações nos genes TGM1, ALOX3 e ALOX12B foram identificadas nos pacientes com apresentação de bebê colódio autolimitado, sendo as últimas duas as mais comuns^(17,18 e 19).



Figura 8 – Bebê colódio com ectrópio leve e fissuras discretas. (<http://www.medilifenet.com/photo/collodion-baby1>).

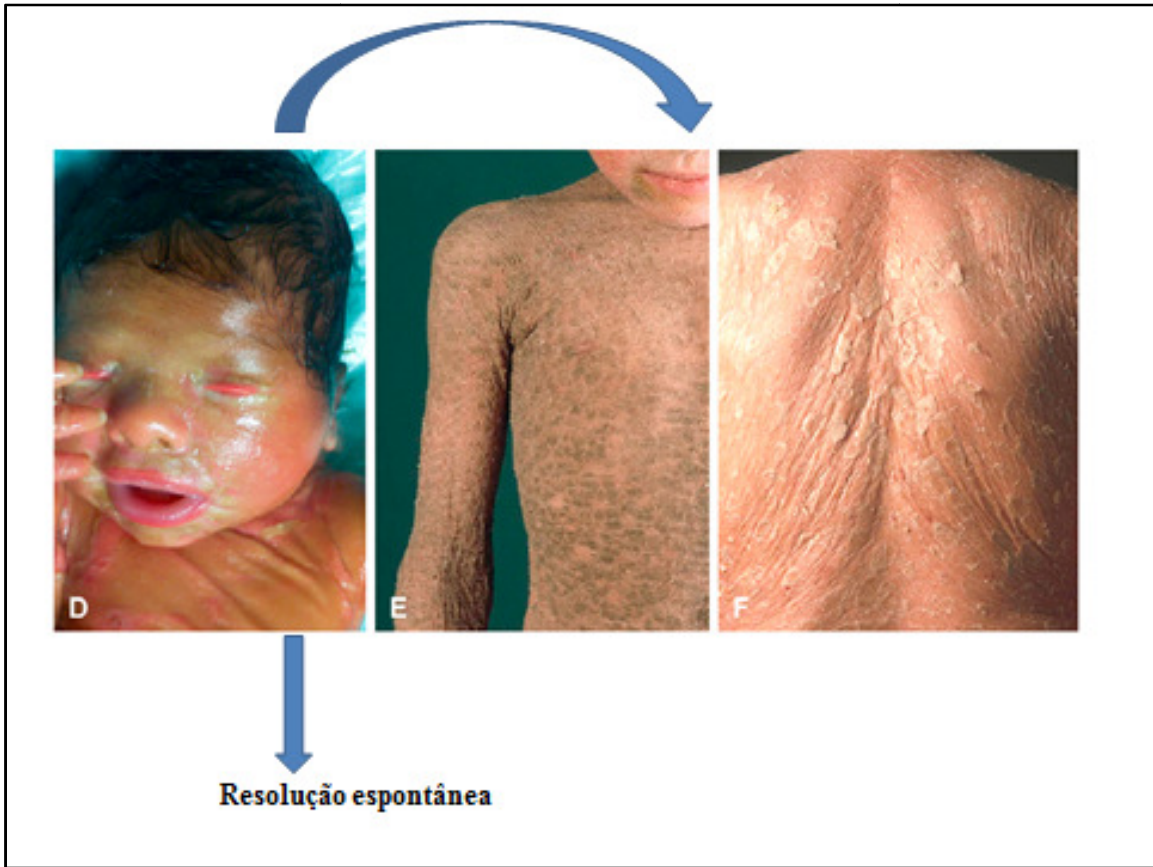


Figura 9 – Evolução bebê colódio segundo o 1º consenso de Ictiose em Soreze, 2009.

1.3.3.Síndrome de Conradi-Hünemann-Happle e Síndrome MEND

A Síndrome de Conradi-Hünemann-Happle apresenta manifestações cutâneas, oculares e esqueléticas. É uma síndrome dominante ligada ao cromossoma X, também conhecida como condrodysplasia punctata tipo II. Ocasionalmente por mutações no gene codificador da proteína de ligação do emopamil (EBP), que está localizado no braço curto do cromossoma X. A EBP é uma esteroisomerase e desempenha papel fundamental na biossíntese do colesterol⁽²⁰⁾.

Mais de cinquenta e cinco mutações no gene EBP já foram relacionadas à síndrome de Conradi-Hünemann-Happle, algumas destas mutações deletam ou inserem pequena quantidade de material genético neste gene. Estas mutações atrapalham o correto funcionamento da enzima EBP, impedindo que as células produzam colesterol suficiente⁽²¹⁾.

Nessa síndrome o envolvimento cutâneo inicia muitas vezes com fenótipo bebê colódio, sendo acompanhado de uma ictiose com placas largas e aderentes seguindo as linhas de Blaschko, além de uma eritrodermia generalizada. Após alguns meses as lesões ictiosiformes regredem na quase totalidade, permanecendo apenas áreas de atrofia folicular. Pode ainda apresentar ictiose discreta em membros e áreas de alopecia no couro cabeludo. No esqueleto ocorrem vários pontos de calcificação das epífises ósseas, promovendo encurtamento dos ossos longos por fusão prematura e

deformidades. Dois terços sofrem também de catarata congênita que pode ser focal e unilateral^(22 e 23).

A Síndrome de Conradi-Hünemann-Happle é na maioria das vezes letal intra útero para os fetos do sexo masculino, entretanto alguns casos já foram relatados, associados a mosaicismo⁽²³⁾.

O Acrônimo MEND (**M**ale **E**mopamil-binding-protein disorder with **N**eurological **D**efects), é utilizado na língua inglesa para nomear distúrbio masculino na proteína de ligação do emopamil associado a malformações neurológicas. Este termo foi cunhado apenas em 2012 para denominar a Síndrome MEND, que é uma doença recessiva ligada ao cromossoma X, sem mosaicismo⁽²⁴⁾.

O bloqueio da biosíntese do colesterol leva ao acúmulo de precursores do esterol e baixa concentração de colesterol intracelular, apesar de nível sérico de colesterol normal. As dosagens dos precursores do colesterol apesar de elevadas nestes casos, não se correlacionam diretamente com a gravidade do fenótipo.

Tabela 1- Comparação entre Síndrome de Conradi-Hünemann-Happle e Síndrome MEND⁽²⁴⁾.

	Síndrome de Conradi-Hünemann-Happle	Síndrome MEND
Pele	Ictiose linear, placas hipo pigmentadas e antrofoaderma folicular	Ictiose difusa leve
Cabelo	Espesso, alopecia cicatricial, sobrancelhas e cílios esparsos	-----
Face	Face achatada, ponte nasal	Telecanto, ponte nasal

	baixa, fissuras palpebrais inclinadas inferiormente	proeminente, baixa implantação das orelhas, micrognatia, palato fendido, fontanela anterior alargada
Ossos	Potilhado epifisiário, encurtamento de membros, escoliose e baixa estatura	Polidactilia, sindactilia e cifose
Sistema Nervoso Central	-----	Malformação de Dandy-Walker, hipoplasia cerebelar, hipoplasia de corpo caloso, hidrocefalia, hipotonia, atraso no desenvolvimento e convulsões
Olhos	Cataratas de severidade assimétrica	Catarata bilateral e glaucoma
Coração	-----	Hipoplasia de arco aórtico, defeitos de septo e valvares
Outros Órgãos	-----	Malformação renal, criptorquidia e hipospádia
Envolvimento Assimétrico	Sim	Não
Achados Laboratoriais	Aumento dos precursores do colesterol	Aumento dos precursores do colesterol
Defeito Genético	Mutações no EBP	Mutações no EBP hipomórficas
Mosaicismo	Sim, geralmente genômico. Raramente funcional devido a constituição XXY	Não

A Síndrome MEND ao nascimento apresenta-se como bebê colóidio, além de uma ictiose difusa, os pacientes apresentam face com ponte nasal proeminente, baixa implantação das orelhas e fontanela anterior larga. No sistema nervoso central nota-se a hipoplasia cerebelar e de corpo caloso, hidrocefalia, hipotonia, atraso no desenvolvimento e convulsões. Há também presença de polidactilia e sindactilia⁽²⁴⁾. Sendo portanto uma ictiose sindrômica.

1.4. Microscopia Eletrônica no bebê colódio

A microscopia eletrônica é um campo promissor nas ictioses, já no ano de 1981 Frenck a utilizou para tentar prever o desfecho de recém-nascidos com fenótipo de bebê colódio. Ele notou que bebês colódio auto-limitados apresentavam estrato córneo espesso, mas com arranjo celular normal, e epiderme também com arquitetura usual. Já os que evoluíram posteriormente para ictiose lamelar possuíam estrato córneo espessado, com os dois terços externos compactos e a presença de remanescentes de organelas e núcleos. Epiderme com queratinócitos superficiais menos achatados, ricos em ribossomas e mitocôndrias⁽²⁵⁾.

Dobbeleer e colaboradores no ano de 1981 verificaram que bebês colódio logo após o nascimento apresentavam na microscopia eletrônica camadas basal e intermediária da epiderme normais (o que demonstra defeito em proteína expressa nas camadas altas da epiderme). O estrato granuloso estava reduzido a uma única camada, mas sem alterações qualitativas nos grânulos. O estrato córneo estava dividido em duas partes, a interna com células córneas de aparência normal compreendendo cinco ou seis camadas, e a parte externa onde as células córneas estavam dispostas de forma irregular com desarranjo estrutural. Foram visualizados também restos de citoplasma e núcleos, corpúsculos de Odland e desmossomas preservados. Já aos seis meses de idade essas alterações não eram mais verificadas⁽²⁶⁾.

Estes pacientes na microscopia eletrônica costumam apresentar gotas lipídicas anormais e vacúolos nas células queratinizadas do espesso estrato córneo. As gotas lipídicas estão confinadas em bolsões entre as camadas interna e externa das células cornificadas aberrantes. No citoplasma dos queratinócitos da camada granular existe a presença de vesículas ligadas a membrana, provavelmente grânulos lamelares aberrantes. As células da camada basal estão aparentemente normais, e em todas as camadas da epiderme pontes de queratina estão usualmente formadas. Não se visualiza a formação de mitocôndrias gigantes nem membrana perinuclear na camada granulosa⁽²⁷⁾.

A anterior classificação de Anton-Lamprecht divide as ARCl em quatro grupos de ictioses congênicas, observando critérios clínicos e de microscopia eletrônica:

-Ictiose Congênita tipo I apresentam descamação fina generalizada e grau variável de eritrodermia, na microscopia eletrônica apresentam gotas ou anéis lipídicos e estruturas lamelares.

-Ictiose Congênita tipo II apresentam escamas largas e marrons, na ultra-estrutura notam-se cristalóides na camada córnea que são chamados de fissuras de colesterol.

-Ictiose Congênita tipo III tem o aparecimento dos primeiros sintomas em variadas épocas da vida, podem apresentar eritema generalizado ou não, e as flexuras são comumente afetadas pela ictiose. Apresenta como marcador de microscopia eletrônica a presença de estruturas de membrana, queratinócitos anormais e complexos vesiculares na epiderme externa e camada córnea.

-Ictiose Congênita tipo IV deste tipo existem poucos casos relatados, sendo que o recém-nascido pode falecer devido à síndrome do stress respiratório, posteriormente a apresentação clínica é moderada e a hiperqueratose folicular torna a pele com aspecto similar a de um ganso. Tem estruturas de membrana trilaminar na epiderme externa e camada córnea^(28,29).

Há hoje em dia uma lacuna entre os achados de ultraestrutura e a nova classificação de ictiose, a qual mudou muito no último consenso.

2. JUSTIFICATIVA:

Existem poucas publicações sobre o tema bebê colódio que contemplem aspectos clínicos associados à microscopia eletrônica. É uma doença, que apesar da pequena prevalência, tem grande impacto devido a gravidade do quadro.

A síndrome MEND foi estabelecida recentemente há 2 anos, e este será o primeiro caso a ser relatado no Brasil.

3. OBJETIVOS:

3.1. Objetivo Geral

-Descrever aspectos clínicos e ultraestruturais com microscopia eletrônica de varredura da membrana colóide de dois casos de fenótipo bebê colóide, e comparar com a literatura.

3.2. Objetivos Específicos

- Descrever os aspectos clínicos e ultraestruturais de um bebê colóide auto-limitado.

-Descrever o primeiro caso no Brasil a ser relatado na literatura de bebê colóide que preenche os critérios para Síndrome de MEND.

-Sequenciar o gene EBP a partir de DNA de sangue periférico de paciente com Síndrome de MEND e de seus genitores.

4. HIPÓTESES

- A membrana colódio é formada por corneócitos.
- Os achados de ultra estrutura de um bebê colódio com Síndrome de MEND serão distintos dos achados de um bebê colódio não sindrômico.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo, o qual relata os casos clínicos de dois pacientes com fenótipos bebê colódio ao nascimento. Um destes pacientes apresenta a forma auto-limitada de bebê colódio, já o outro apresenta uma forma sindrômica (MEND). Após a descrição dos achados clínicos são demonstrados os achados de ultraestrutura.

Para os exames de microscopia eletrônica de varredura, os fragmentos da membrana colódio eliminados espontaneamente foram processados de rotina para essa técnica, com o apoio técnico e estrutural dos laboratórios de microscopia eletrônica - EMBRAPA-CPA-CT e Faculdade de Odontologia – UFPEL.

Foi coletado sangue periférico do paciente com síndrome MEND e de seus genitores para isolamento de DNA e sequenciamento do gene EBP. Sequenciamento genético este realizado com auxílio da Universidade de Freiburg.

Os resultados obtidos foram confrontados com a literatura disponível (PUBMED e LILACS) e posteriormente serão divulgados na forma de artigo.

6. ASPECTOS ÉTICOS

A pele utilizada foi obtida através da descamação usual que ocorre nesta enfermidade, e foi submetida a microscopia eletrônica de varredura.

O sangue do paciente com síndrome MEND foi coletado para exames clínicos de rotina da UTI neonatal, e aproveitada a mesma punção para coleta extra de 2 ml de sangue periférico para sequenciamento do gene EBP.

Foi obtido consentimento dos responsáveis dos pacientes.

7. CRONOGRAMA

Revisão bibliográfica.....	março 2012/dezembro 2014
Elaboração do projeto.....	abril/junho 2014
Defesa do projeto.....	Outubro 2014
Microscopia eletrônica de varredura.....	Novembro 2014
Editoração fotográfica.....	Novembro 2014
Análise dos resultados.....	Novembro 2014
Redação dos artigos.....	Dezembro 2014
Defesa da tese.....	Dezembro 2014

8. ORÇAMENTO

Não haverá custo para a realização das microscopias. Os custos foram absorvidos pelos setores envolvidos (Laboratórios de microscopia eletrônica - EMBRAPA-CPA-CT e Faculdade de Odontologia – UFPEL).

O sequenciamento do gene EBP foi realizado em cooperação com a Universidade de Freiburg, Alemanha, com o grupo que caracterizou o fenótipo da Síndrome de MEND.

9. Resultados

9.1. Bebê Colódio Auto-Limitado

9.1.1. Descrição do Caso

Paciente do sexo masculino, nascido após 36 semanas de gestação. Apesar da mãe do paciente ter realizado consultas regulares de pré-natal, somente no momento do nascimento foi constatada a presença de alterações de pele que caracterizavam o fenótipo bebê colódio. Não havia nesta família história prévia conhecida de caso similar, os genitores são jovens e sem morbidades aparentes. Durante os primeiros quinze dias o bebê foi atendido em UTI neonatal, recebendo cuidados em incubadora umidificada e alimentação exclusivamente com leite materno. Em relação ao escore de gravidade para bebê colódio este neonato atingiu valor 2 (ectrópio e envolvimento generalizado, figs.10 e 11).

A membrana colódio foi gradualmente desidratando e fissurando com o passar dos dias, e após três semanas já havia descamado totalmente, evidenciando uma pele subjacente de aspecto normal.

9.1.2.Fotos clínicas



Figura 10 – Recém-nascido apresentando ectrópio leve e rosto coberto por membrana colóidio.



Figura 11 – Recém-nascido apresentando o corpo recoberto por uma membrana brilhante e com fissuras discretas.

9.1.3. Microscopia Eletrônica de Varredura da Membrana Colódio

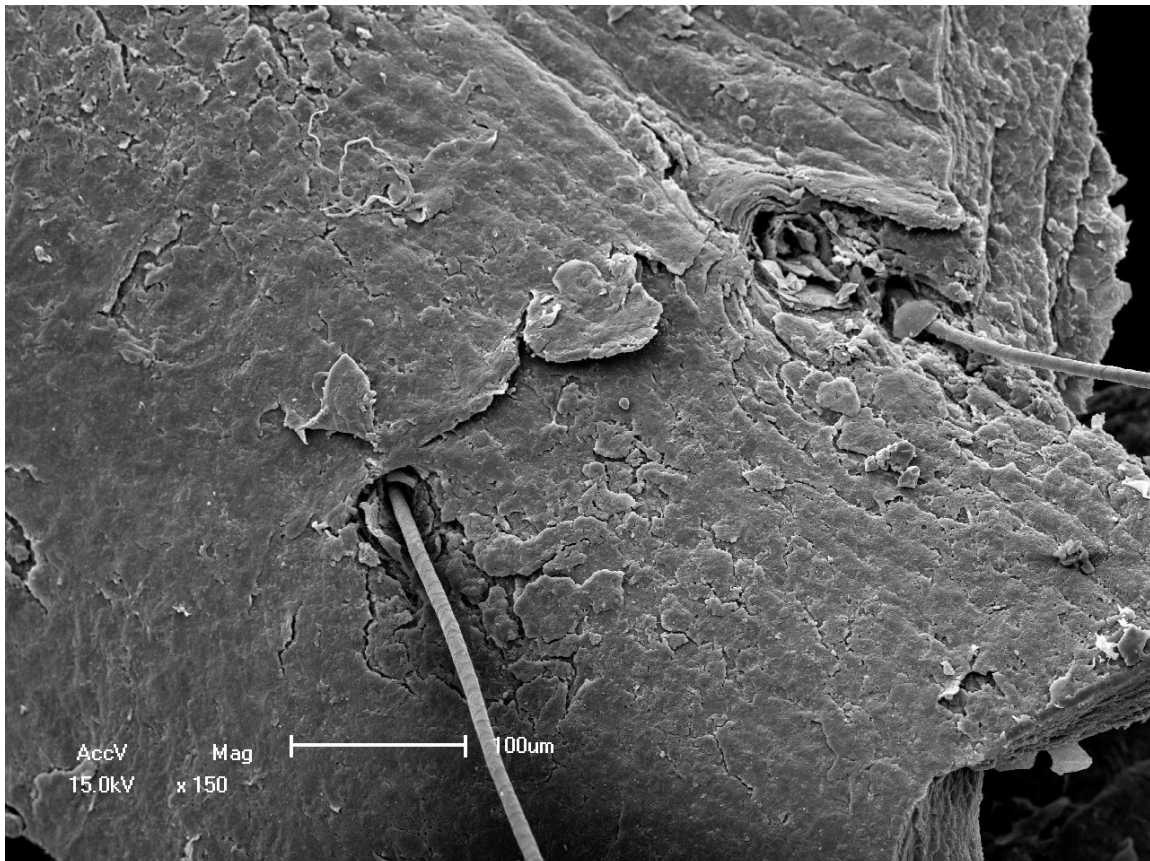


Figura 12 – Membrana colódio, face externa, sendo perfurada por pêlos, comprovando que se trata da superfície externa (MEV – 150x).

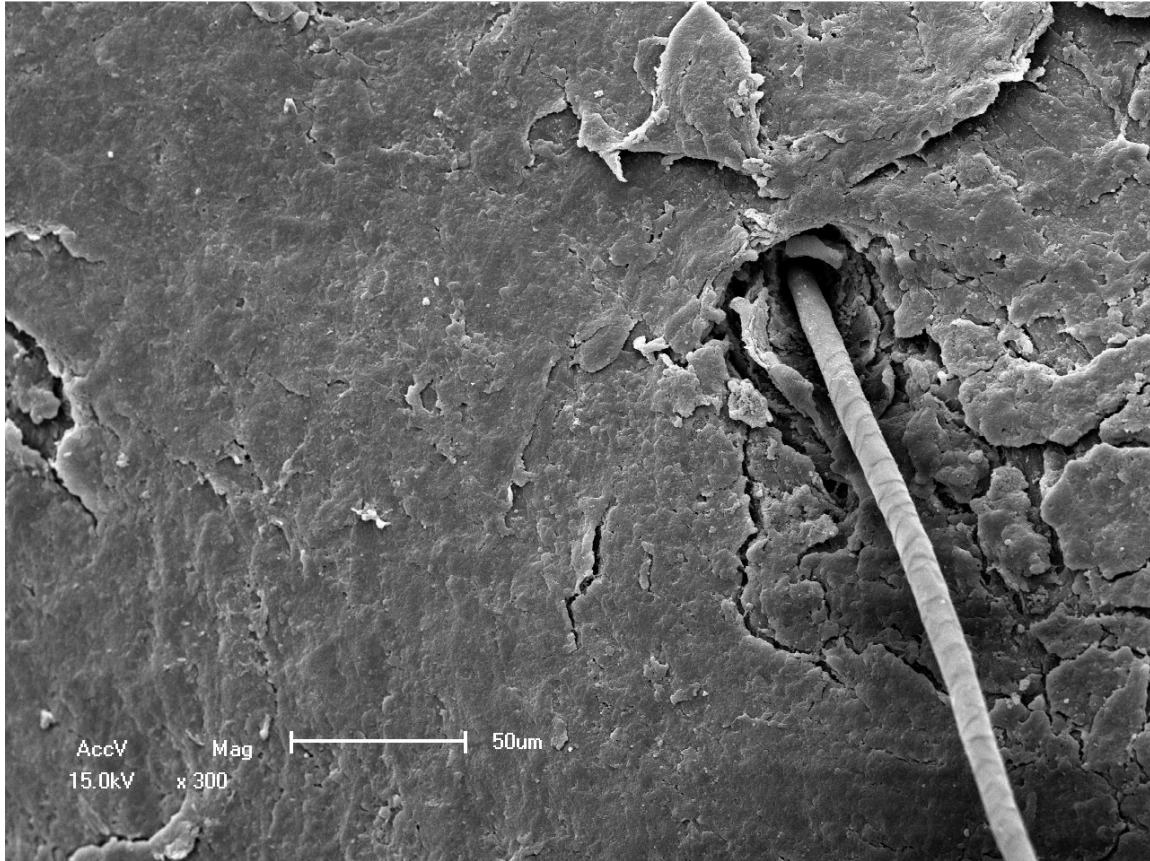


Figura 13 – Membrana colódio, detalhe da face externa, sendo perfurada por pêlo (MEV – 300x).

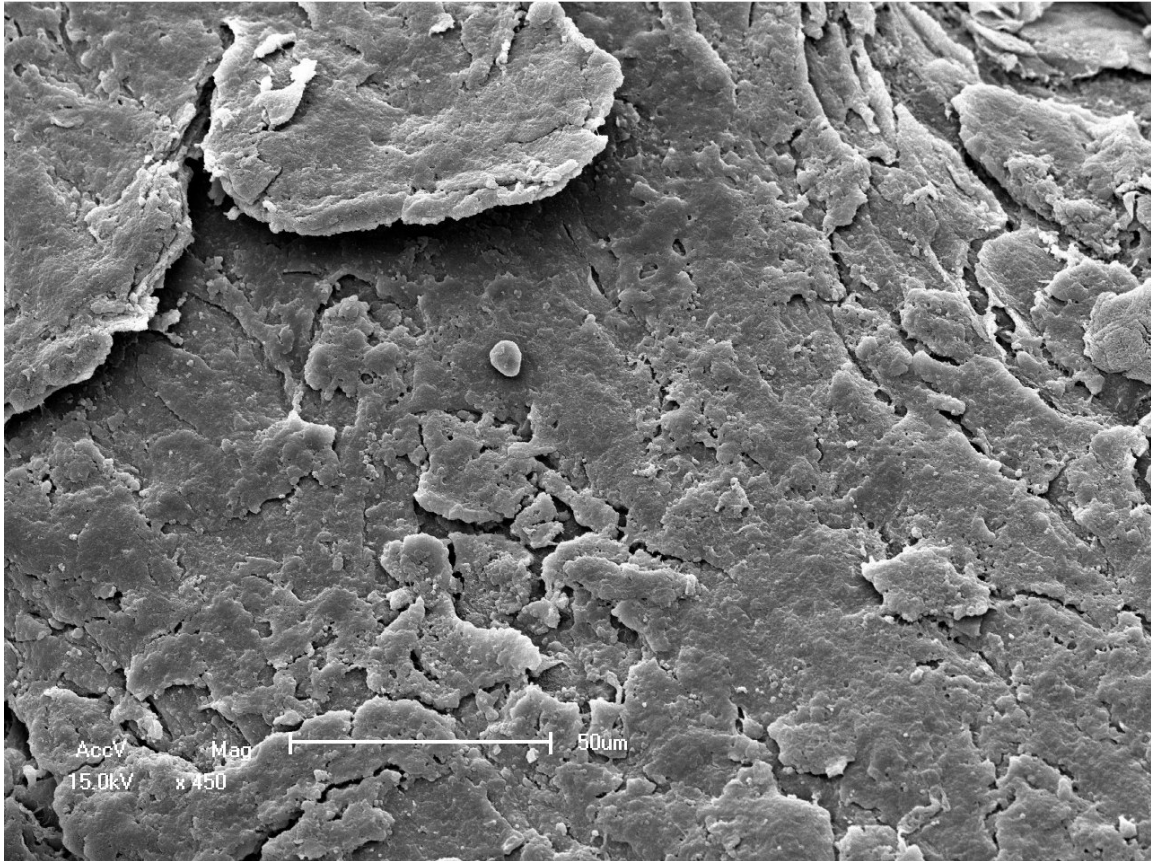


Figura 14 – Membrana colóidio,detalhe da face externa, bem compacta, sem descamação de corneócitos (MEV – 450x).

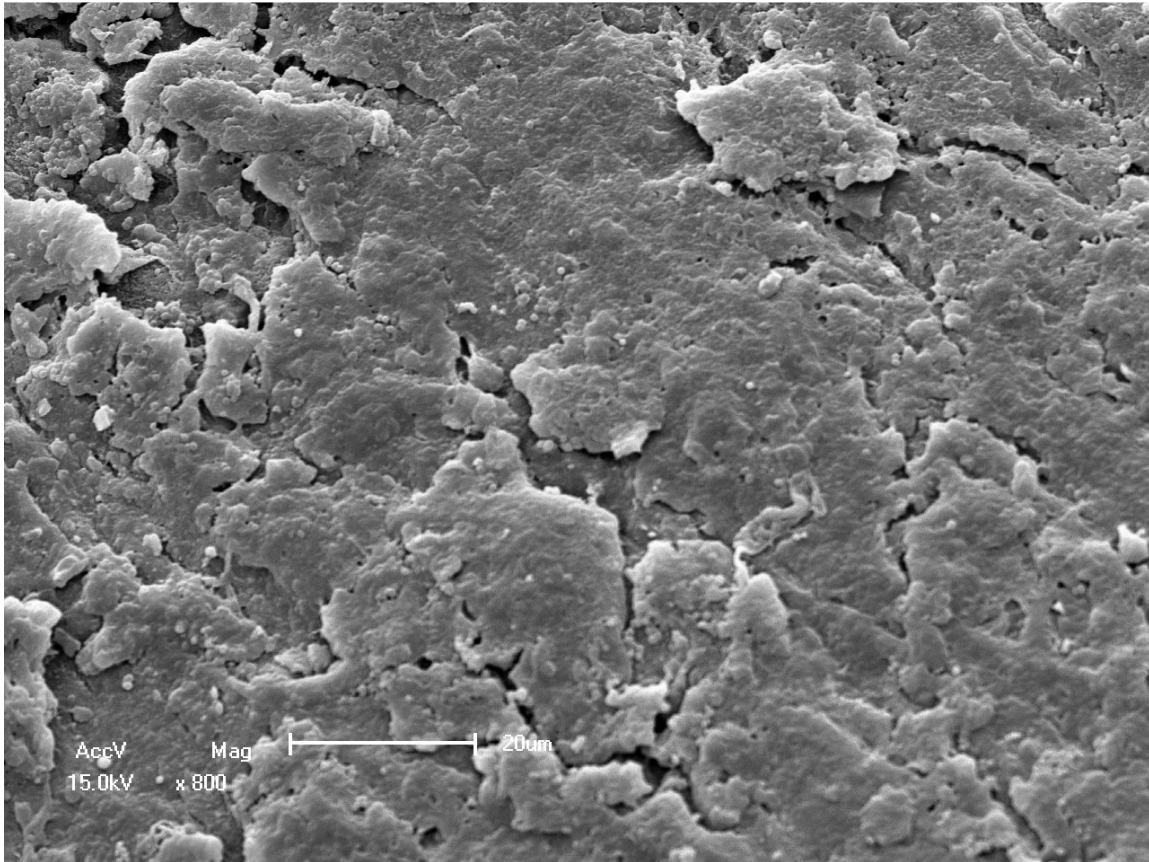


Figura 15 – Membrana colódio, face externa em grande aumento demonstrando seu aspecto compacto, pétreo (MEV – 800x).

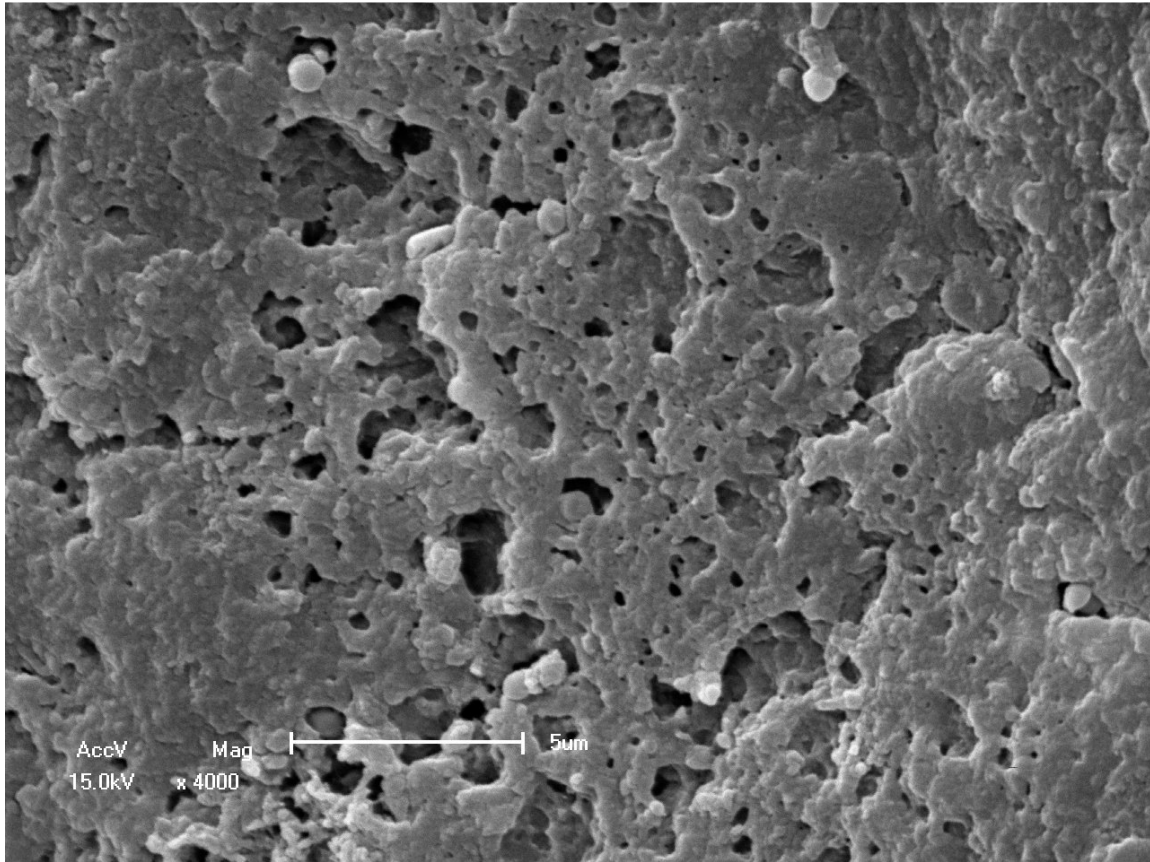


Figura 16 – Membrana colódio, face externa em grandíssimo aumento demonstrando sua superfície compacta (MEV – 4.000x).

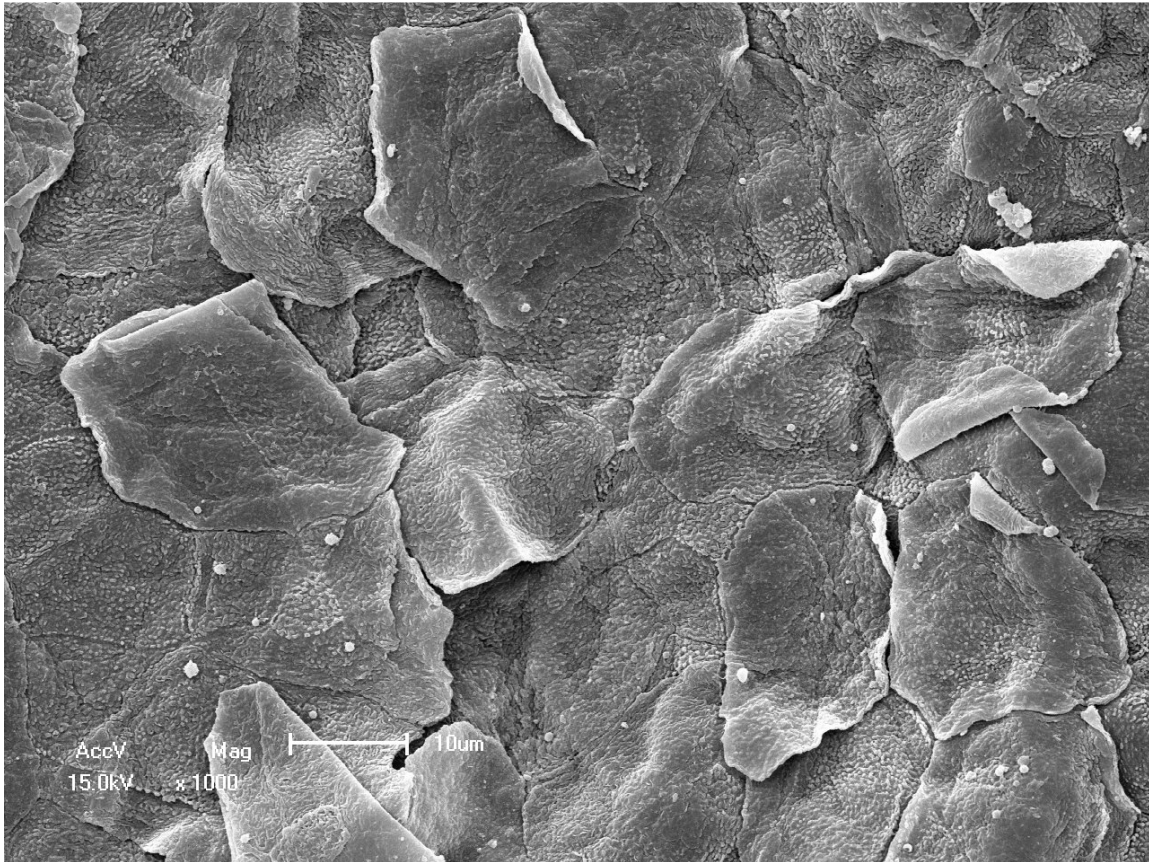


Figura 17 –Face interna da membrana demonstrando corneócitos da camada inferior com discreto desprendimento e irregularidade no seu contorno(MEV – 1000x).

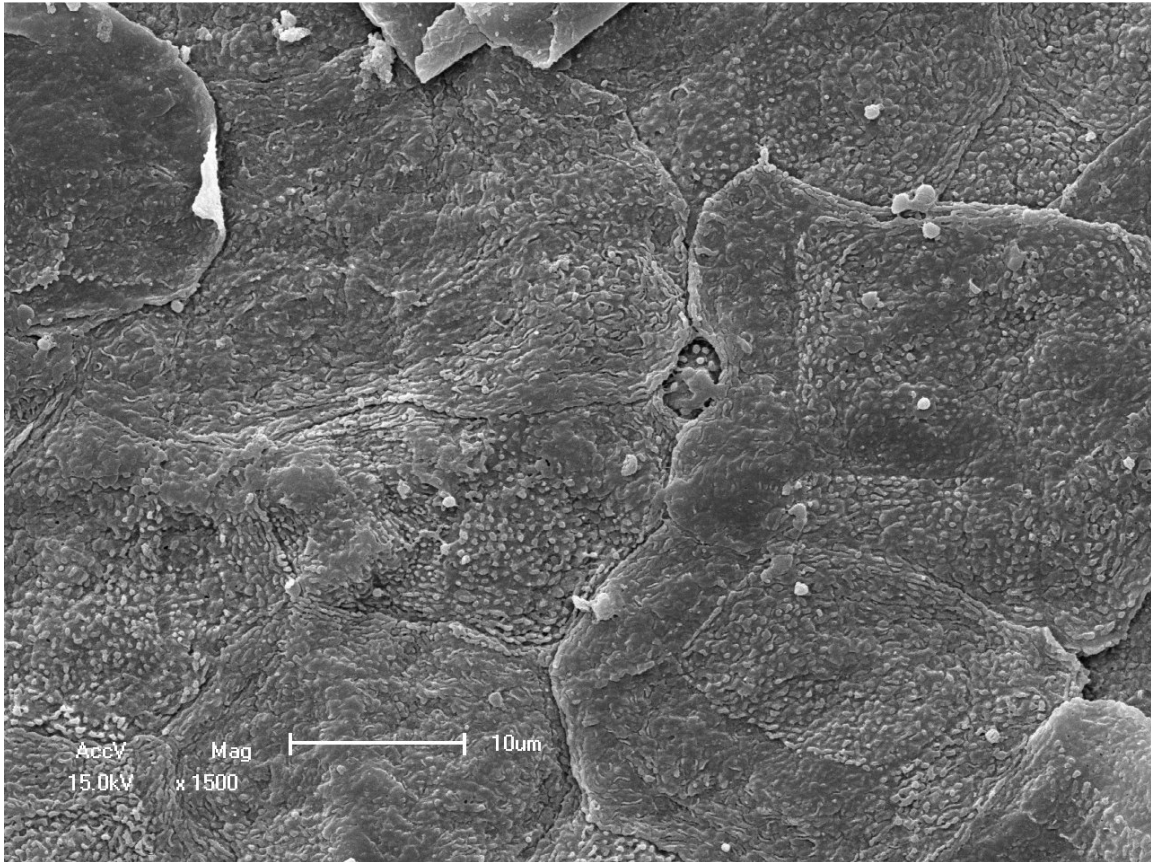


Figura 18 –Face interna da membrana colódio demonstrando corneócitos da camada inferior com detalhe da sua irregularidade (MEV – 1500x).

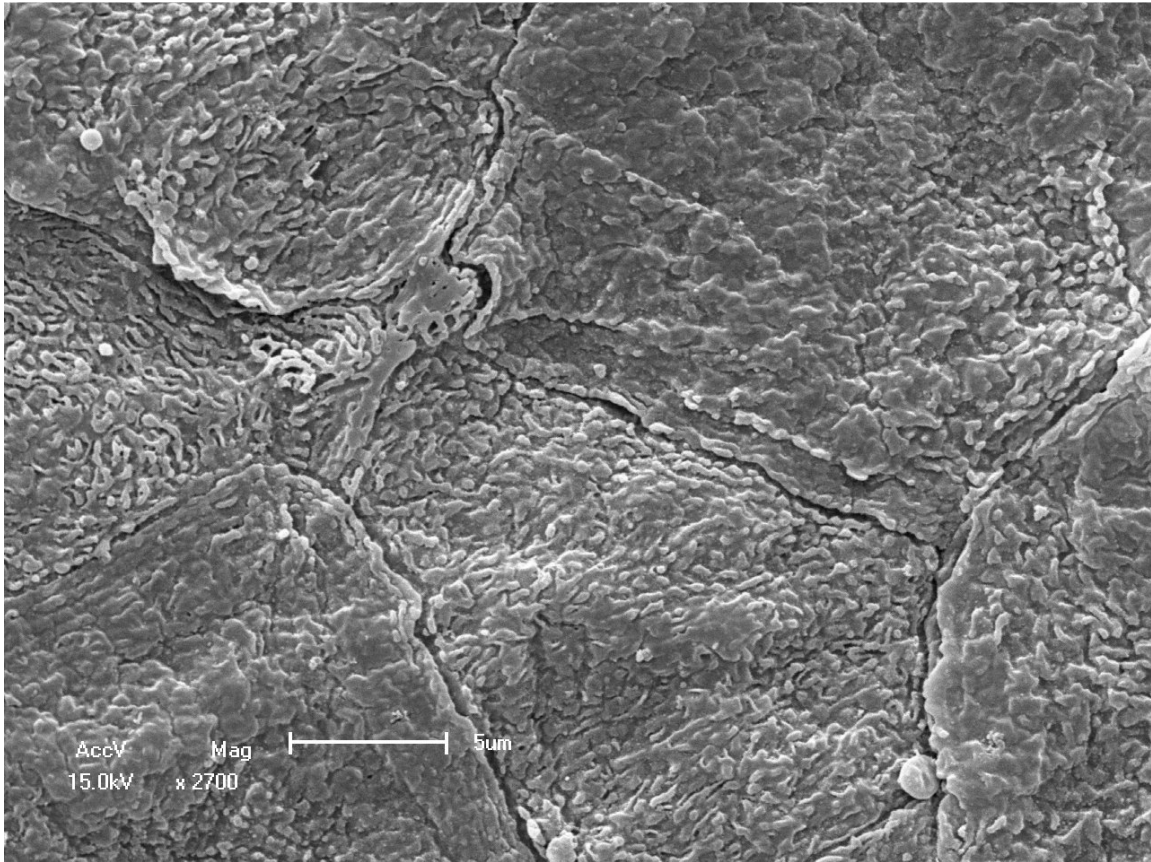


Figura 19 –Membrana colóidio, corneócitos face interna demonstrando células irregularese projeções vilosas (MEV – 2.700x).

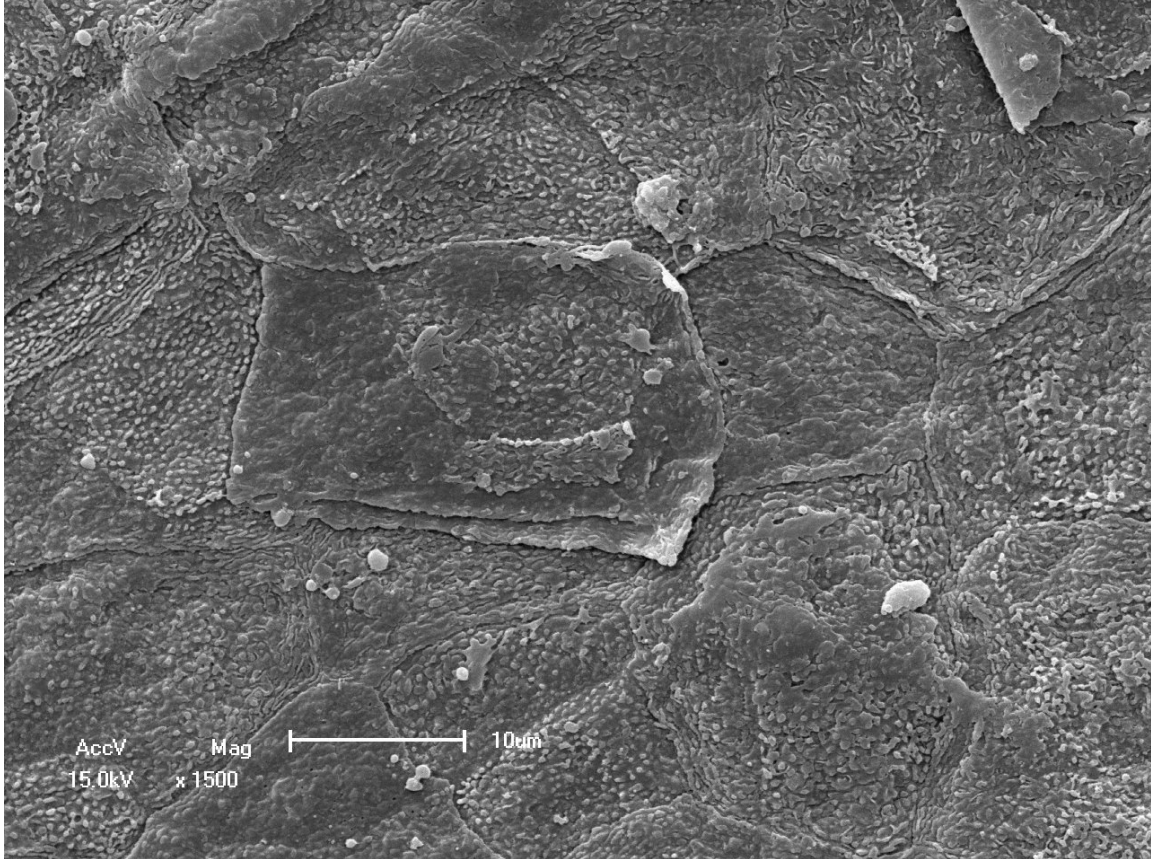


Figura 20 –Membrana colóidio, corneócitos face interna demonstrando células irregulares, formando inclusive células quadrangulares (MEV – 4.000x).

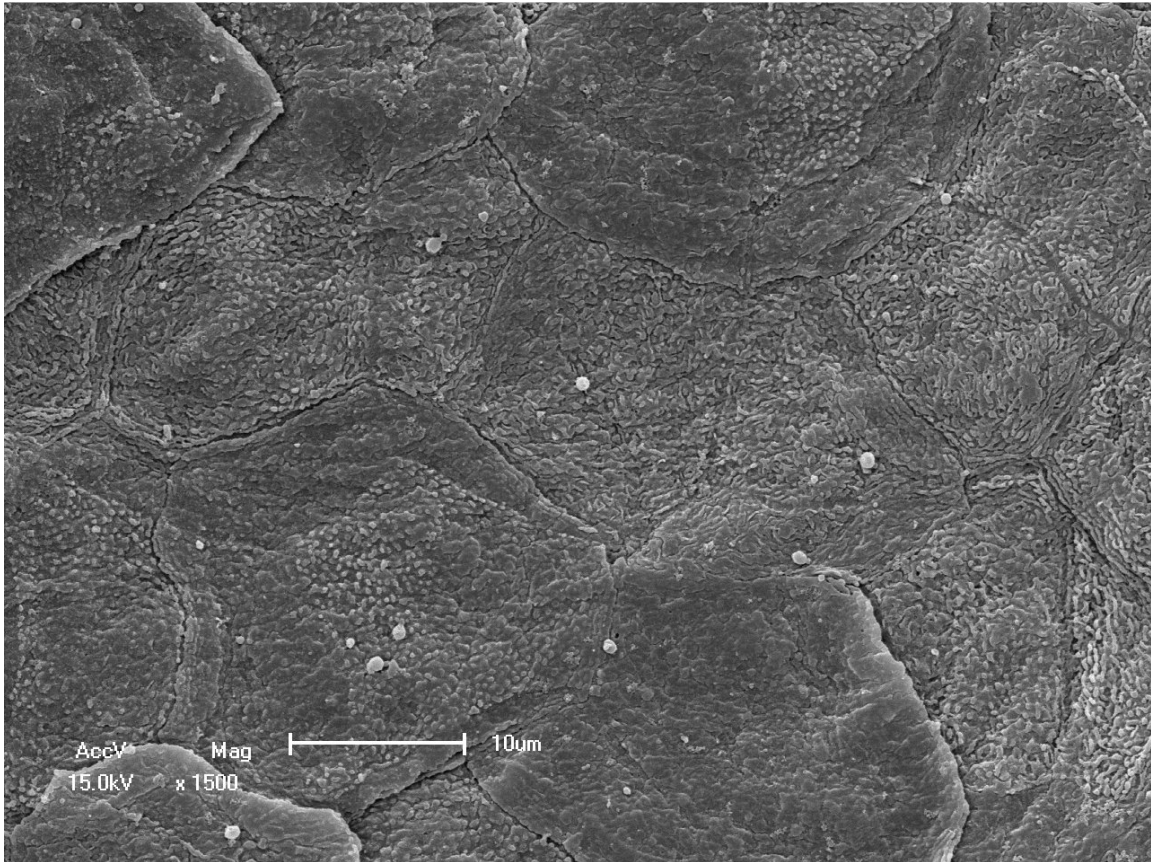


Figura 21 –Membrana colóidio, corneócitos face interna demonstrando células irregulares, formando mosaicos (MEV – 4.000x).

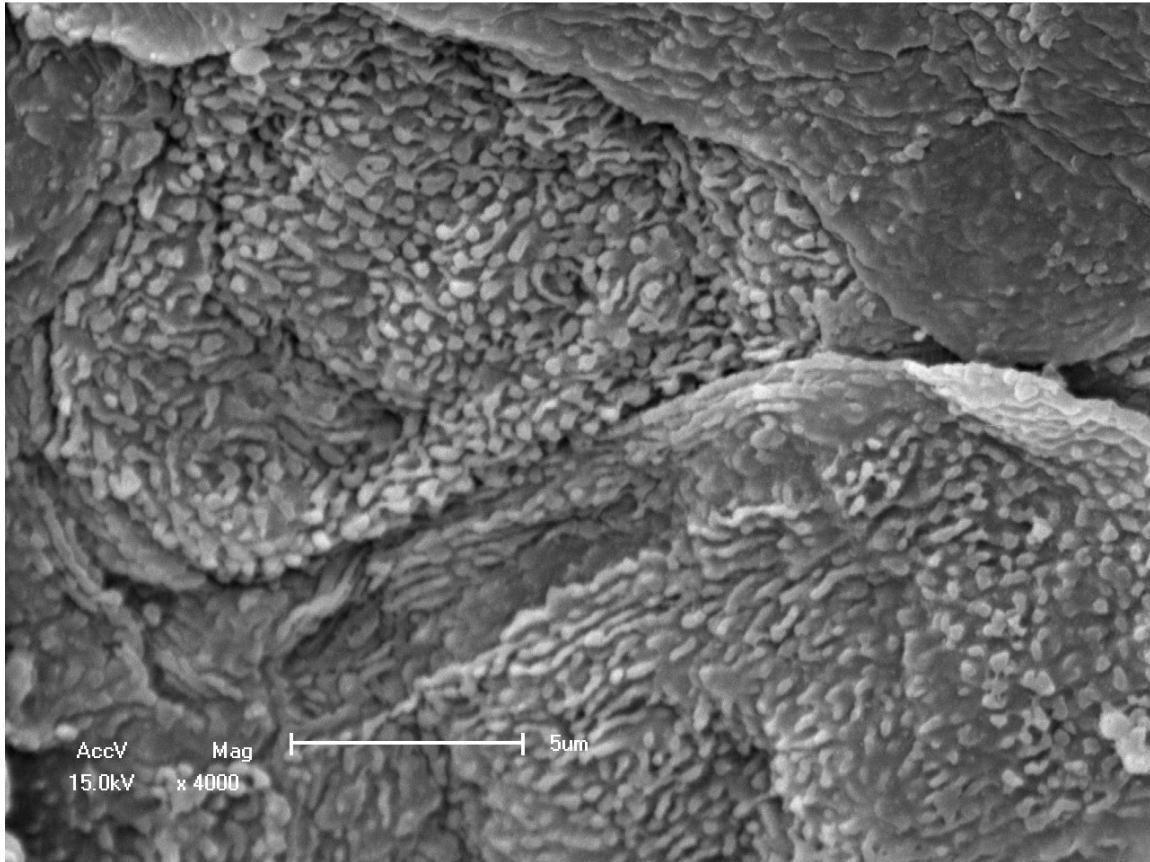


Figura 22 –Membrana colóidio, corneócitos face interna grande aumento com contorno celular irregular, fendas e projeções vilosas na superfície (MEV – 4.000x).

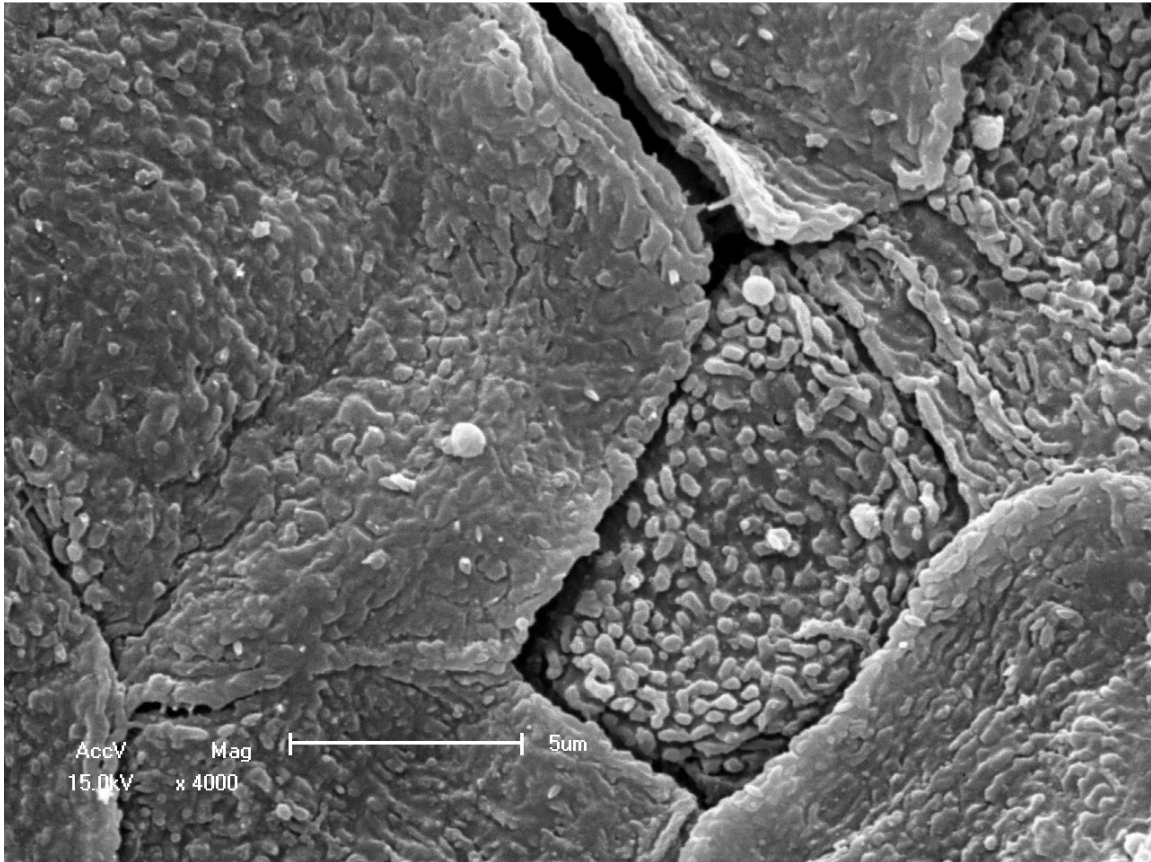


Figura 23 –Membrana colódio, corneócitos face interna detalhe de fenda entre células (MEV – 4.000x).

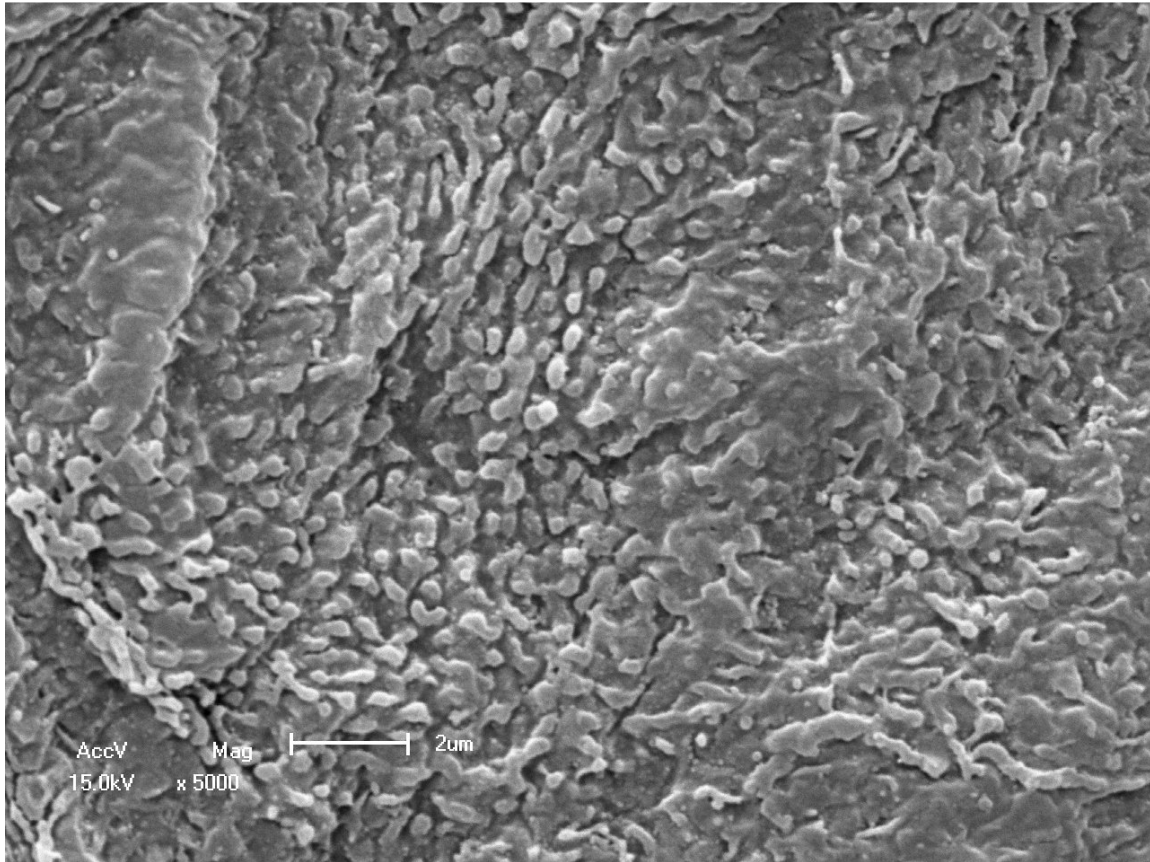


Figura 24 –Projeções dos corneócitos inferiores da membrana colódio, face interna (MEV – 5.000x).

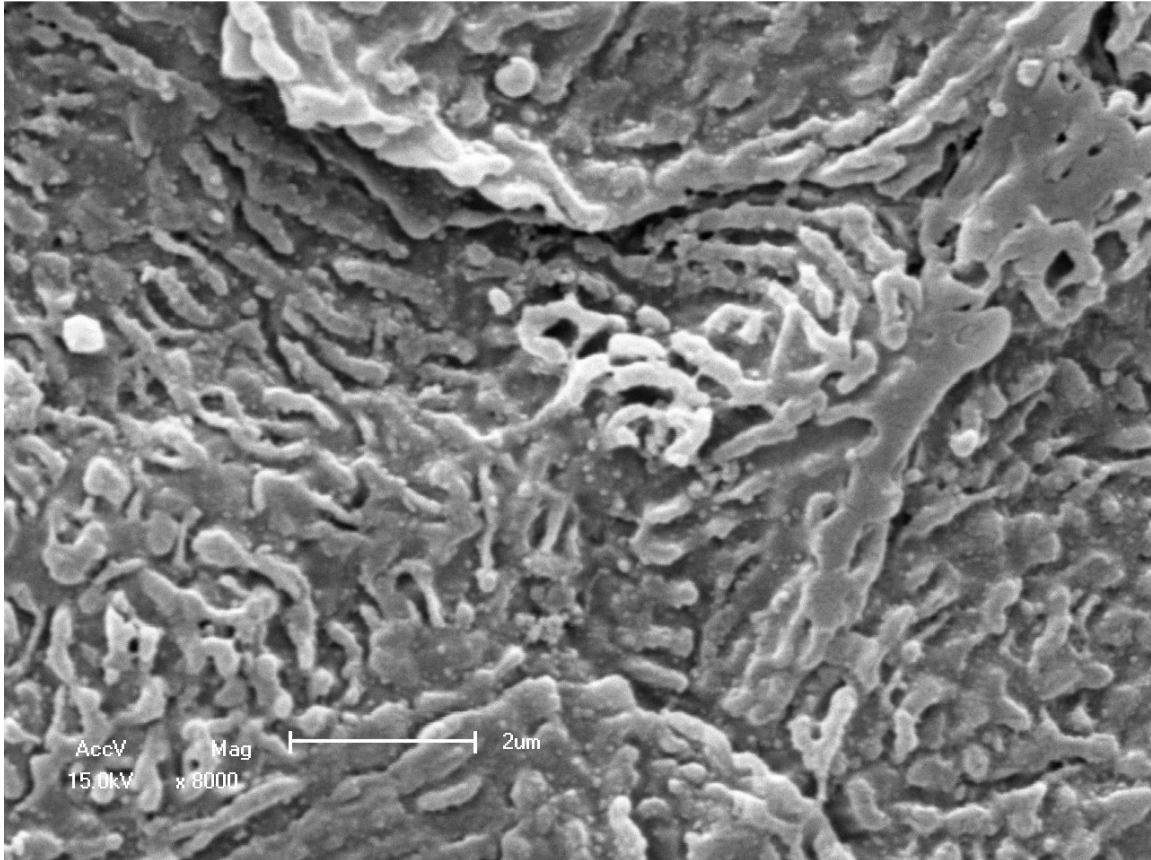


Figura 25 –Grande aumento das vilosidades com certa irregularidade (MEV – 8.000x).

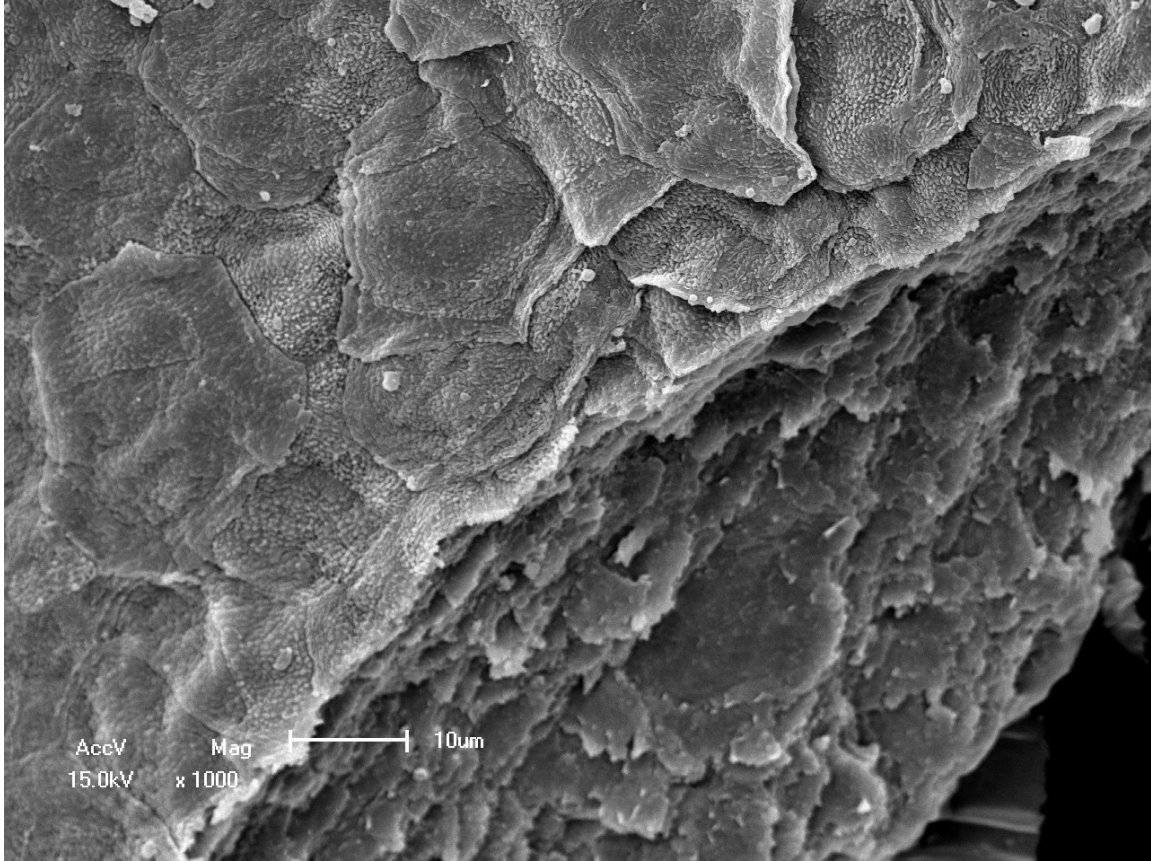


Figura 26 – Visão lateral da membrana colóidio demonstrando várias camadas de corneócitos(MEV – 1.000x).



Figura 27– Visão lateral da membrana colóidio demonstrando várias camadas de corneócitos, ao redor de 15 (MEV – 1.500x).

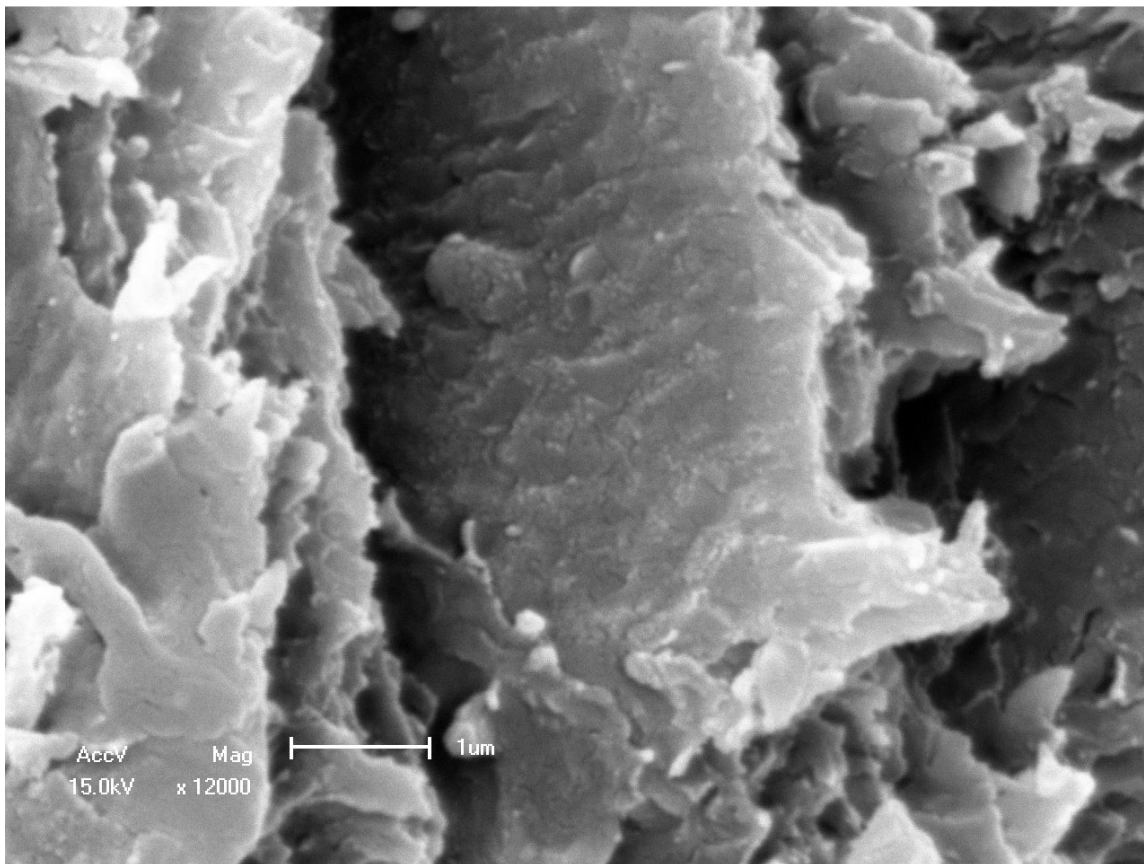


Figura 28 – Visão lateral da membrana colóidio demonstrando a perda das vilosidades nas células medianas de membrana colóidio (MEV – 12.000x).

9.2. Síndrome MEND

9.2.1. Descrição do Caso

Recém-nascido do sexo masculino, examinado em UTI neonatal, o qual apresentava lesões cutâneas desde o nascimento.

Ao exame dermatológico foi evidenciada importante membrana colódio, de aspecto ocre e recobrindo o tronco (fig. 29) e membros (figs.30 e 31).

Apresentava também microftalmia e sindactilias, as quais também estavam recobertas pela membrana (fig.32). Após a eliminação espontânea da membrana a polidactilia nos pés (fig.33) e a sindactilia das mãos (fig.34) ficaram mais evidentes.

Em relação ao escore de gravidade para bebê colódio este neonato atingiu escore 4 (envolvimento generalizado, anormalidades em orelhas ou nariz, contraturas em dedos da mão, edema em mãos).

A mãe apresentava lesões hiperocrômicas lineares no membro superior esquerdo e lesões atróficas lenticulares no abdome (Figs. 35 e 36). O exame oftalmológico demonstrou catarata focal de padrão congênito.

A mesma informou que sua mãe relatou, após o nascimento desse neto afetado, que teve neonato há 30 anos, o qual evoluiu para óbito e apresentava a “pele queimada” e os dedos “colados”.

9.2.2. Fotos clínicas



Figura 29 – Recém-nascido apresentando no corpo várias áreas ainda cobertas por membrana colóidio e fissuras no abdome.



Figura 30 – Detalhe membro inferior recoberto parcialmente por membrana colóidio.



Figura 31 – Pé recoberto por membrana colóidio.



Figura 32– Mão esquerda recoberta por membrana colóidio, sindactilia de 4° e 5° dedos.



Figura 33 – Pé esquerdo após descamação da membrana colóidio, evidenciando claramente a polidactiliae sindactilia tripla.



Figura 34 – Mão direita após descamação da membrana colóidio, evidenciada claramente a sindactilia de três dedos.



Figura 35 – Pele do abdome da mãe do paciente apresentando lesões hipocrômicas e atróficas lenticulares.



Figura 36 – Pele do braço esquerdo da mãe do paciente apresentando lesão hipocrômica linear.

9.2.3. Exames de Imagem

As radiografias simples não mostraram qualquer calcificação em epífises sugestiva de condrodisplasia punctata, porém evidenciaram calcificações isoladas em partes moles de etiologia a esclarecer (Figs. 37, 38, 39 e 40).

A tomografia computadorizada de crânio demonstrou microftalmia (Fig. 41), agenesia de corpo caloso (Fig. 42), ausência de vermix cerebelar, hipoplasia cerebelar, alargamento de 4º ventrículo e presença de cisto de Dandy-Walker (Fig. 43) configurando a síndrome de Dandy Walker. Também visualizou-se importante hidrocefalia e afinamento do córtex cerebral (Fig. 44).



Figura 37 – Radiografia dos pés demonstrando alteração nas partes moles sugerindo polidactilia, e ausência de sinais de calcificação nas epífises distais da tíbia e fíbula, porém com depósitos esparsos de cálcio nas partes moles.



Figura 38 – Radiografia da mão apresentando imagem de partes moles sugestiva de sindactilia, e ausência de sinais de calcificação nas epífises distais da ulna e do rádio.



Figura 39 – Radiografia da mão apresentando imagem de partes moles sugestiva de sindactilia, e ausência de sinais de calcificação nas epífises distais da ulna e do rádio.

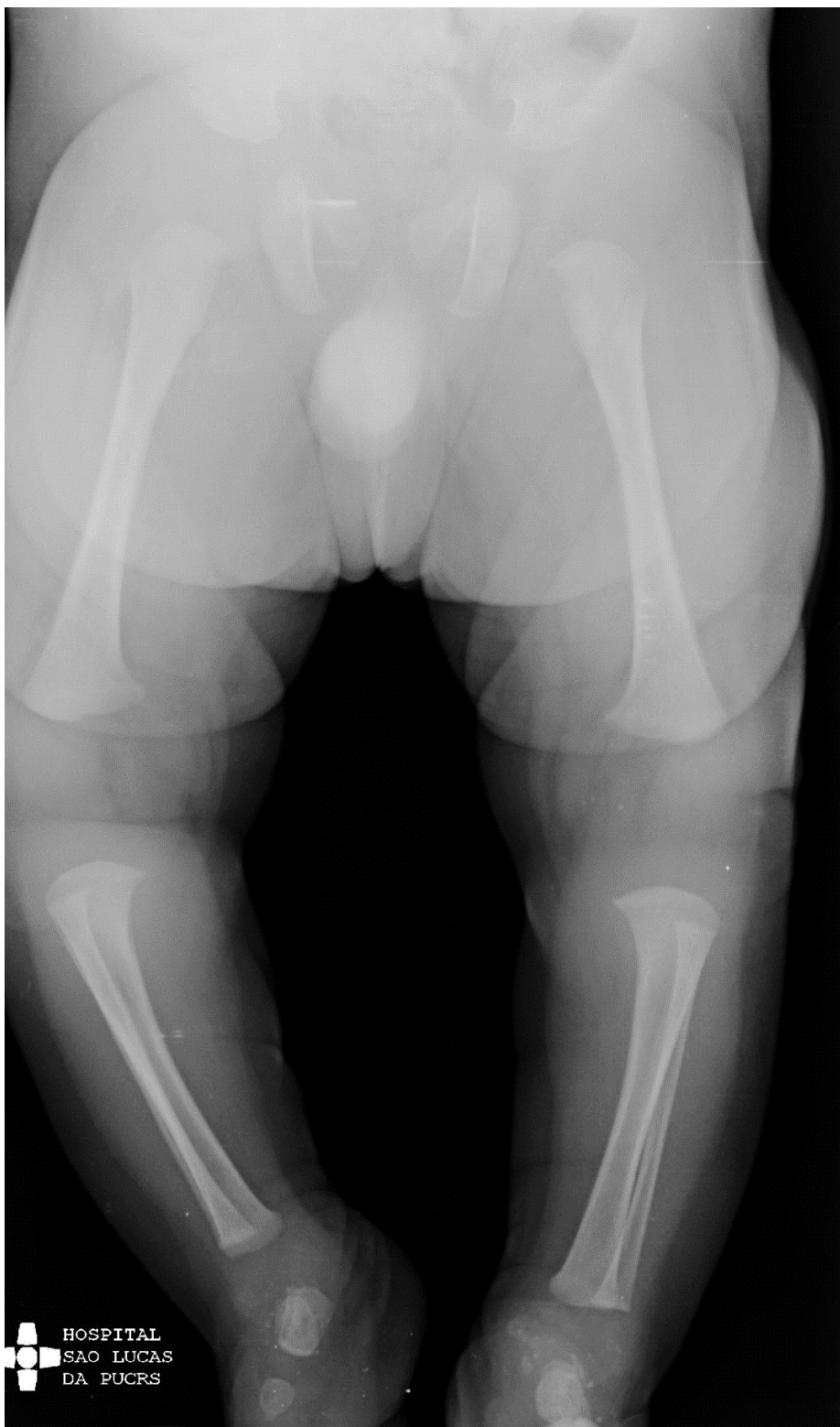


Figura 40 – Radiografia panorâmica de membros inferiores demonstrando ausência de focos de calcificação em epífises ósseas, e a presença de calcificações em partes moles.

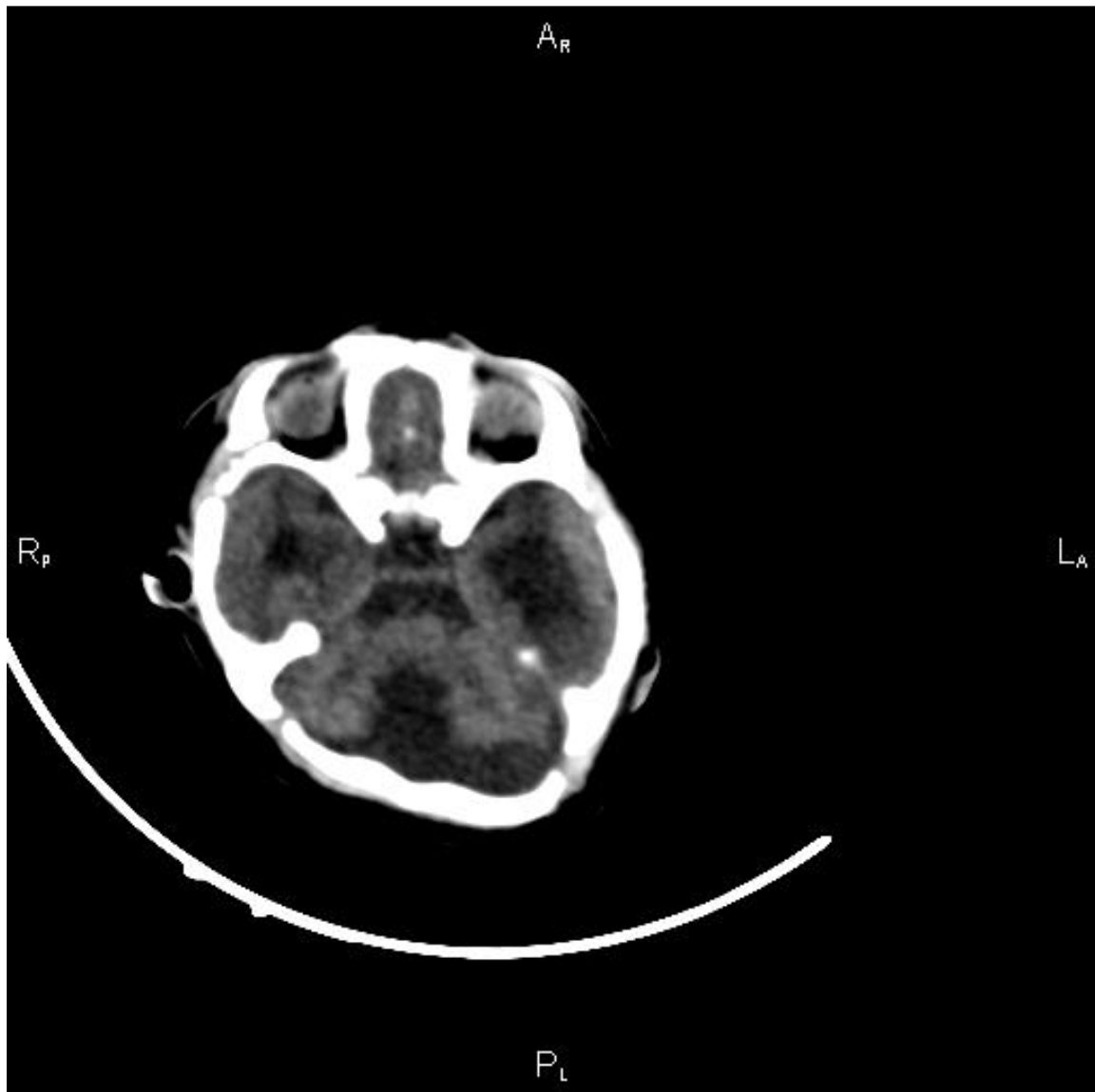


Figura 41 – Corte tomográfico no qual visualiza-se microftalmia bilateral, evidenciado pelo pequeno tamanho dos globos oculares na órbita.



Figura 42 – Corte tomográfico evidenciando agenesia de corpo caloso.



Figura 43 – Corte tomográfico evidenciando hipoplasia de cerebello, ausência de vérmix cerebelar, alargamento do quarto ventrículo e cisto de Dandy-Walker .

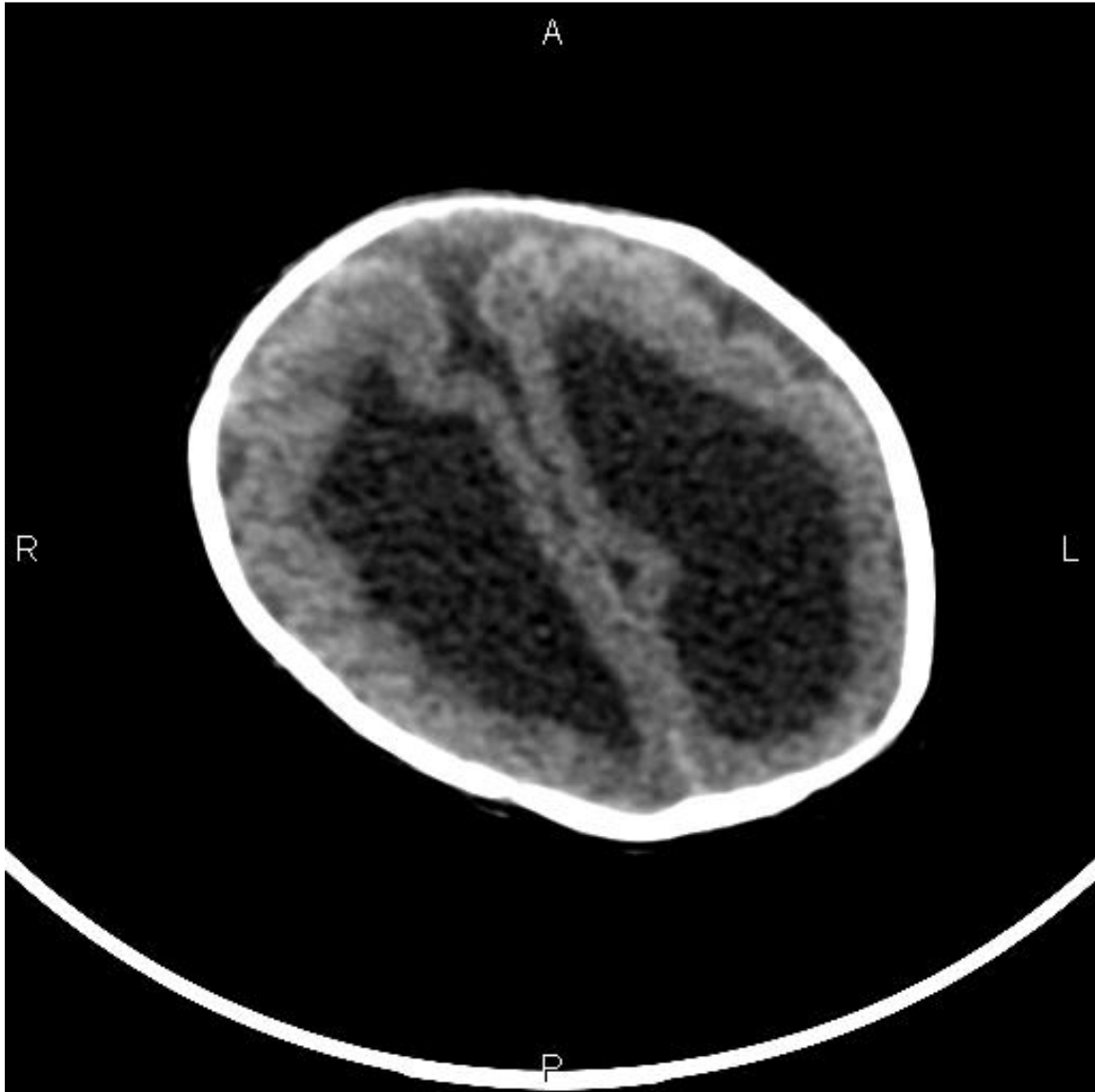
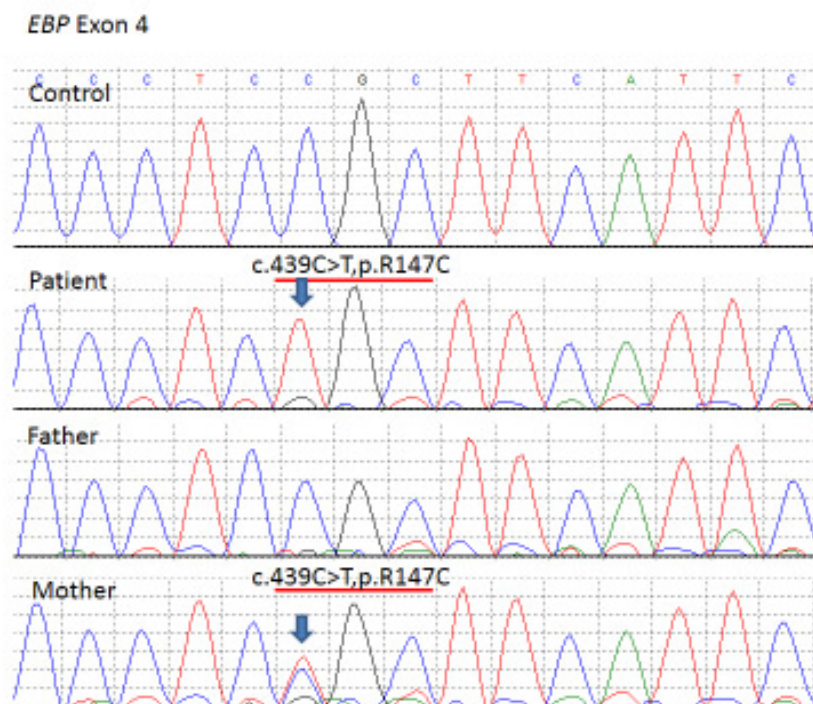


Figura 44 – Corte tomográfico evidenciando importante hidrocefalia e afinamento do córtex cerebral.

9.2.4. Sequenciamento

Foi isolado DNA de sangue periférico da paciente e genitores, sendo sequenciado o gene EBP, encontrada no exon 4 mutação c.439C>T,p.R147C no paciente e na mãe.



9.2.5. Microscopia Eletrônica de Varredura da Membrana Colódio

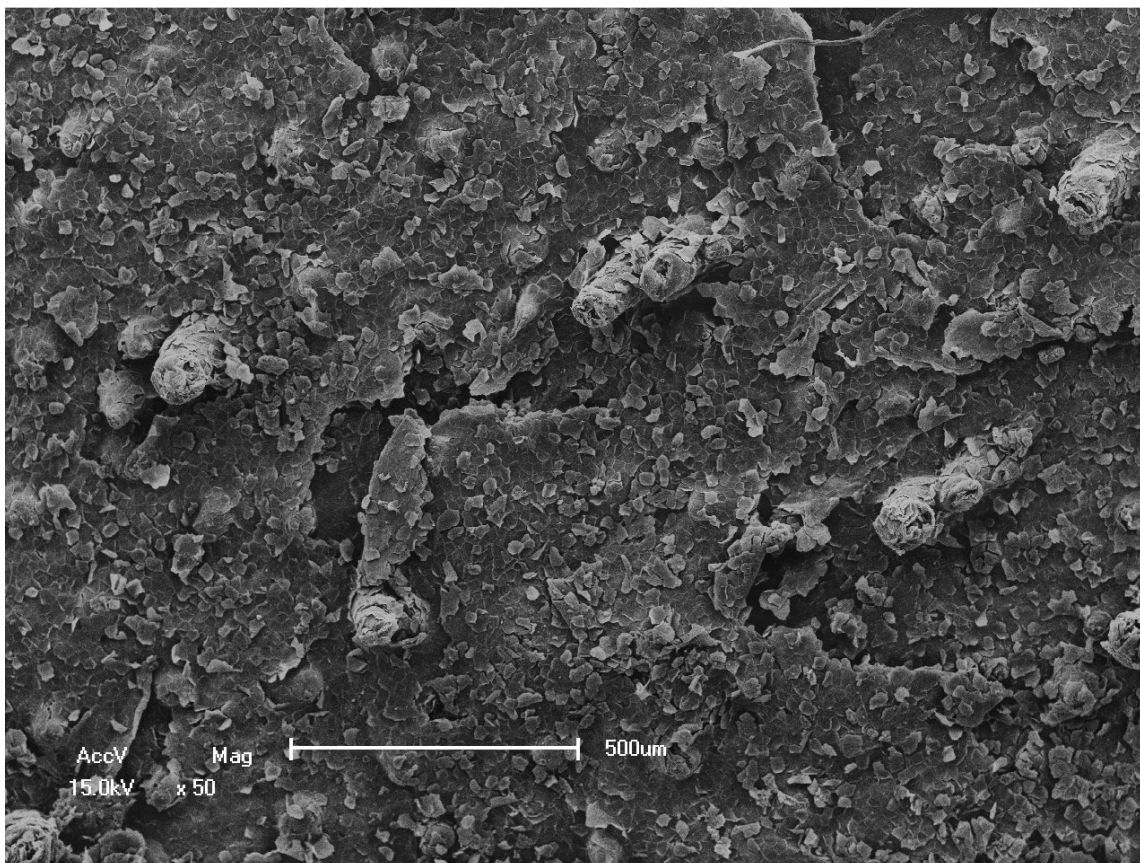


Figura 45 –face externa com intensa descamação de corneócitos e visualização das projeções dos folículos pilosos (MEV – 50x).

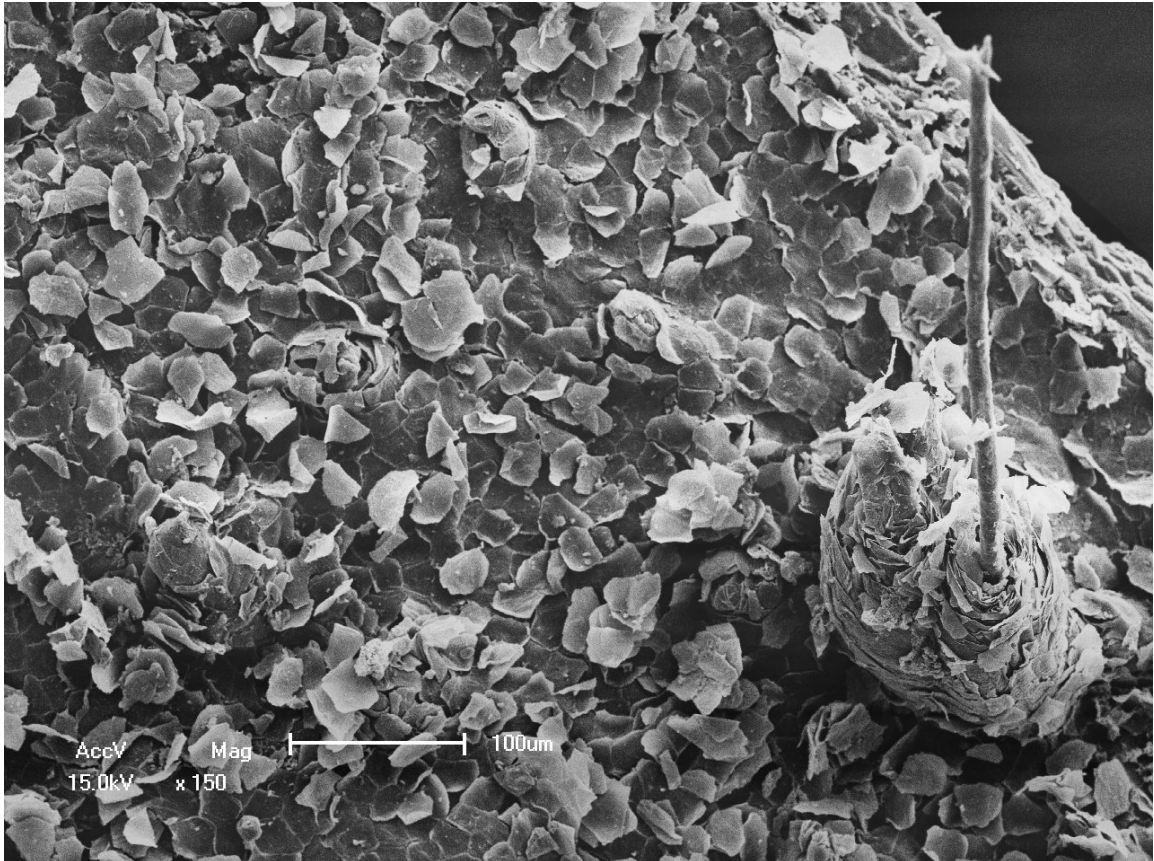


Figura 46 – face externa com folículo piloso emergindo através da membrana (MEV – 50x).

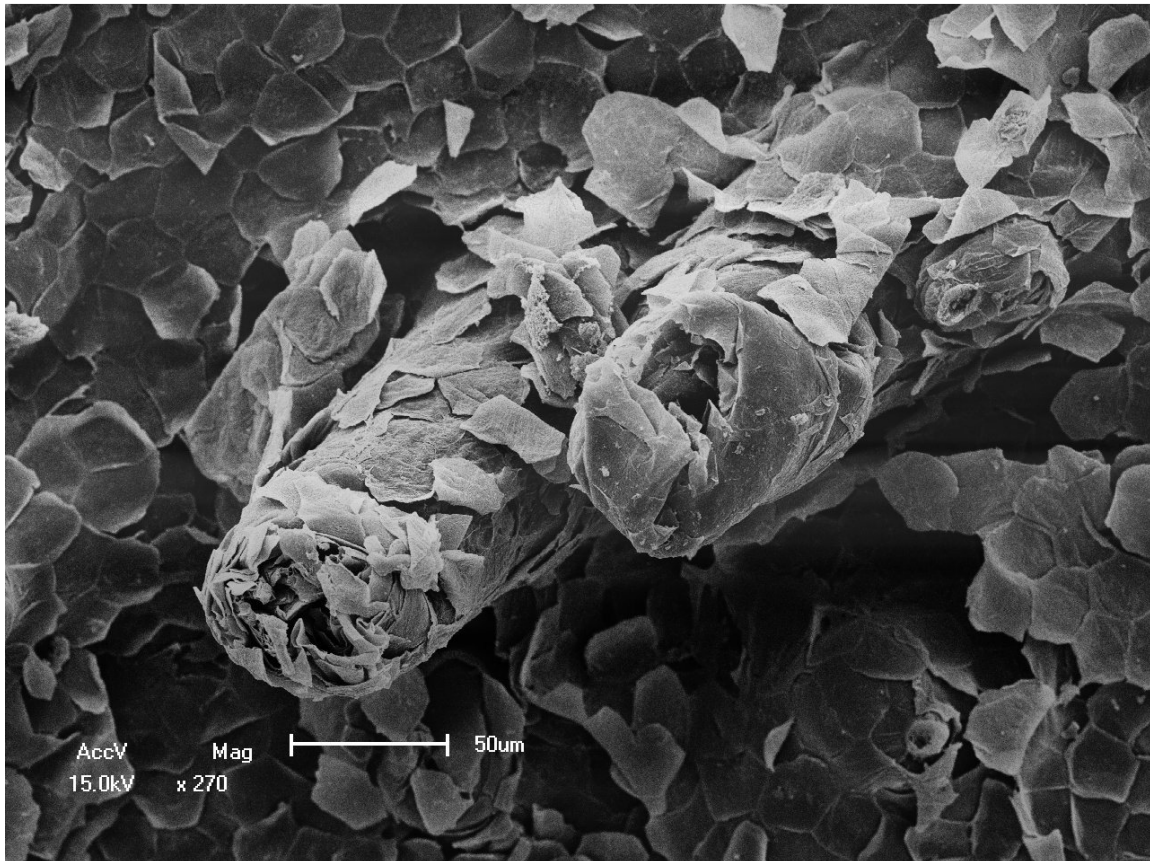


Figura 47 – Membrana colódio, face externa demonstrando agregação de corneócitos nos óstios foliculares(MEV – 270x).

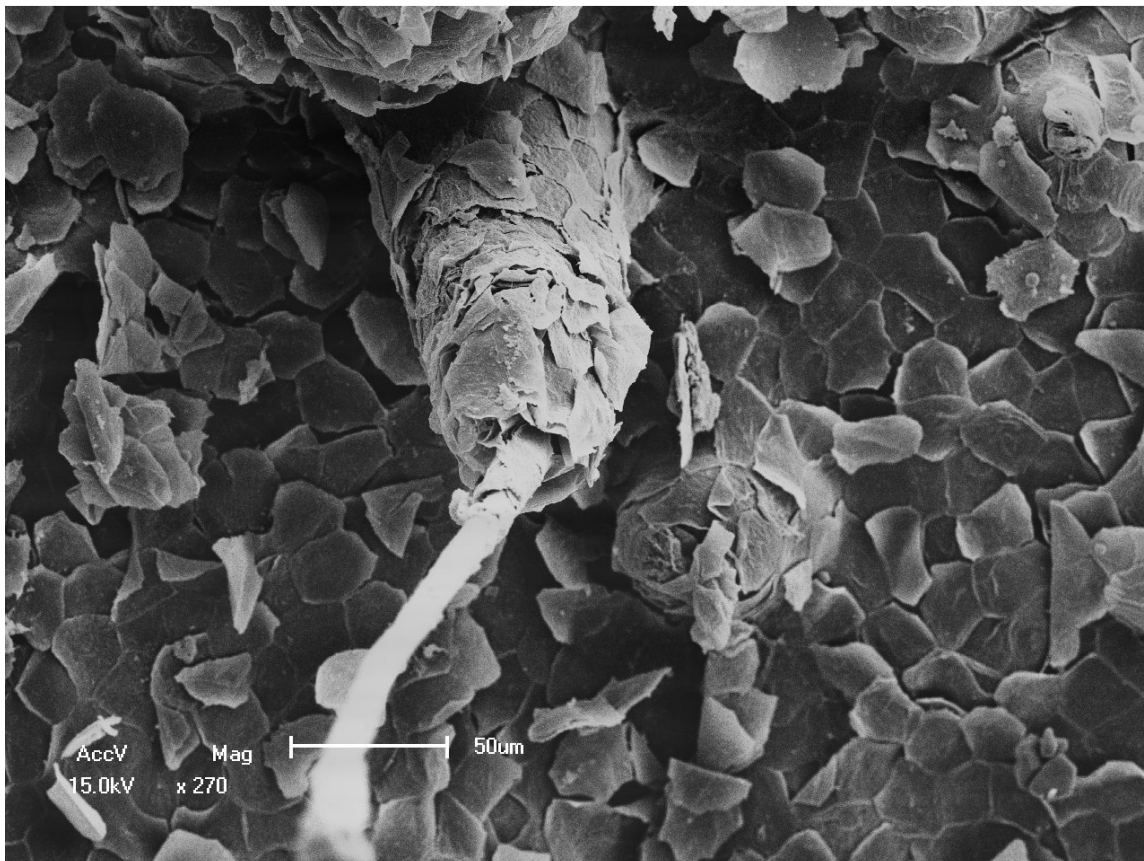


Figura 48 – face externa com pêlo emergindo acompanhado por camadas de corneócitos (MEV – 50x).

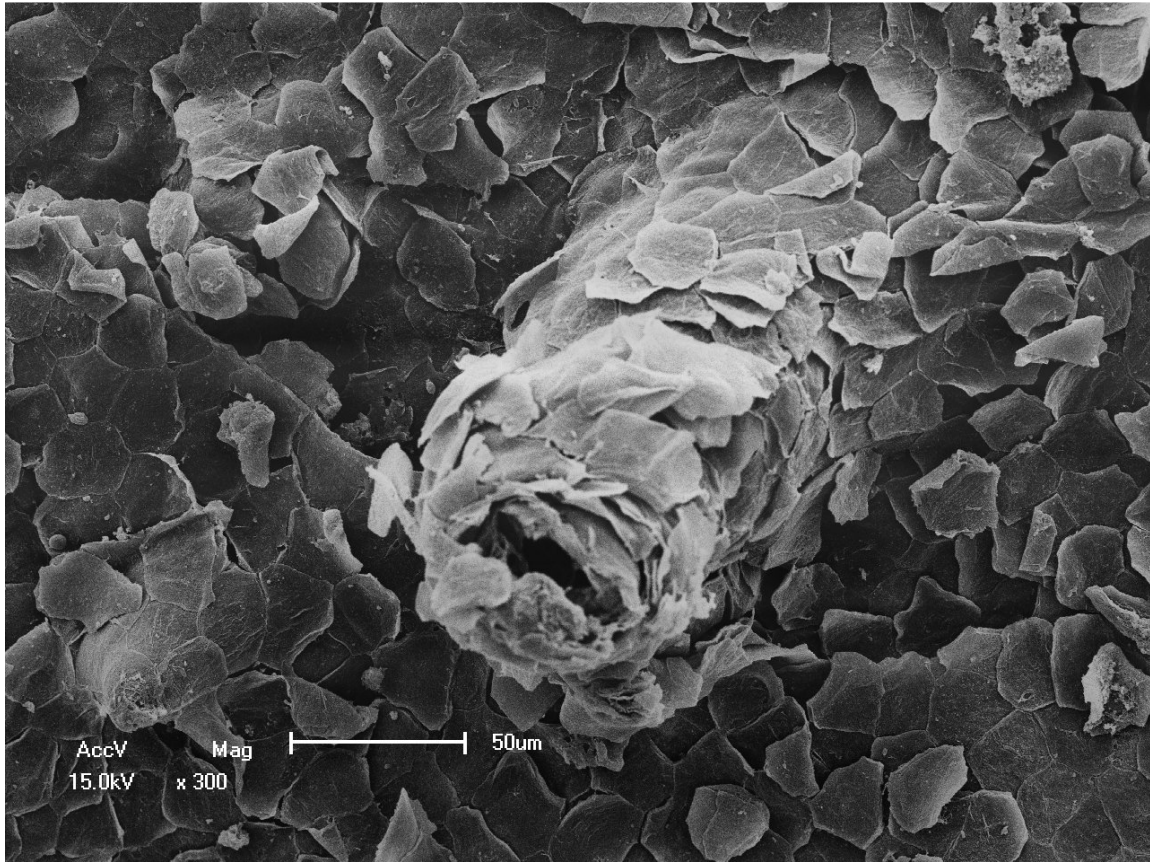


Figura 49 – Membrana colódio, face externa com agregação de corneócitos perifoliculares(MEV – 300x).

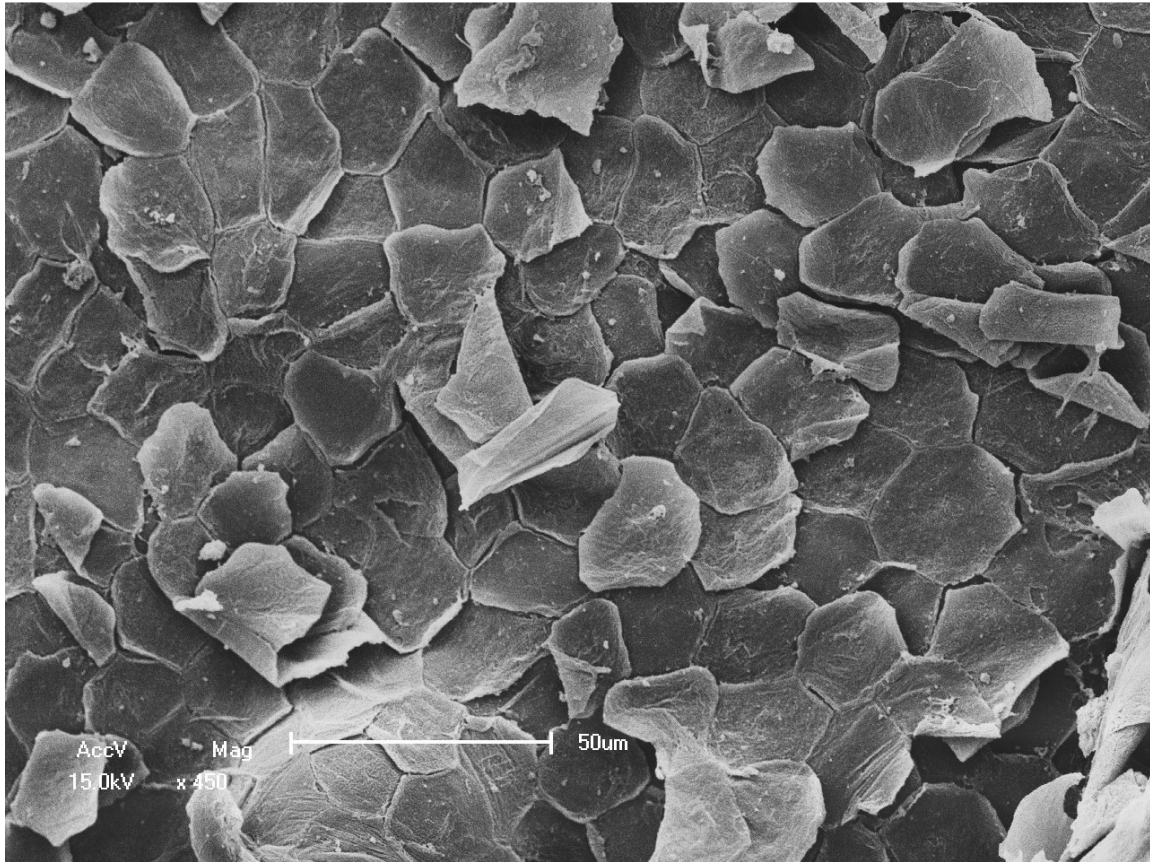


Figura 50 – Membrana colódio, face externa com intensa descamação de corneócitos (MEV – 450x).

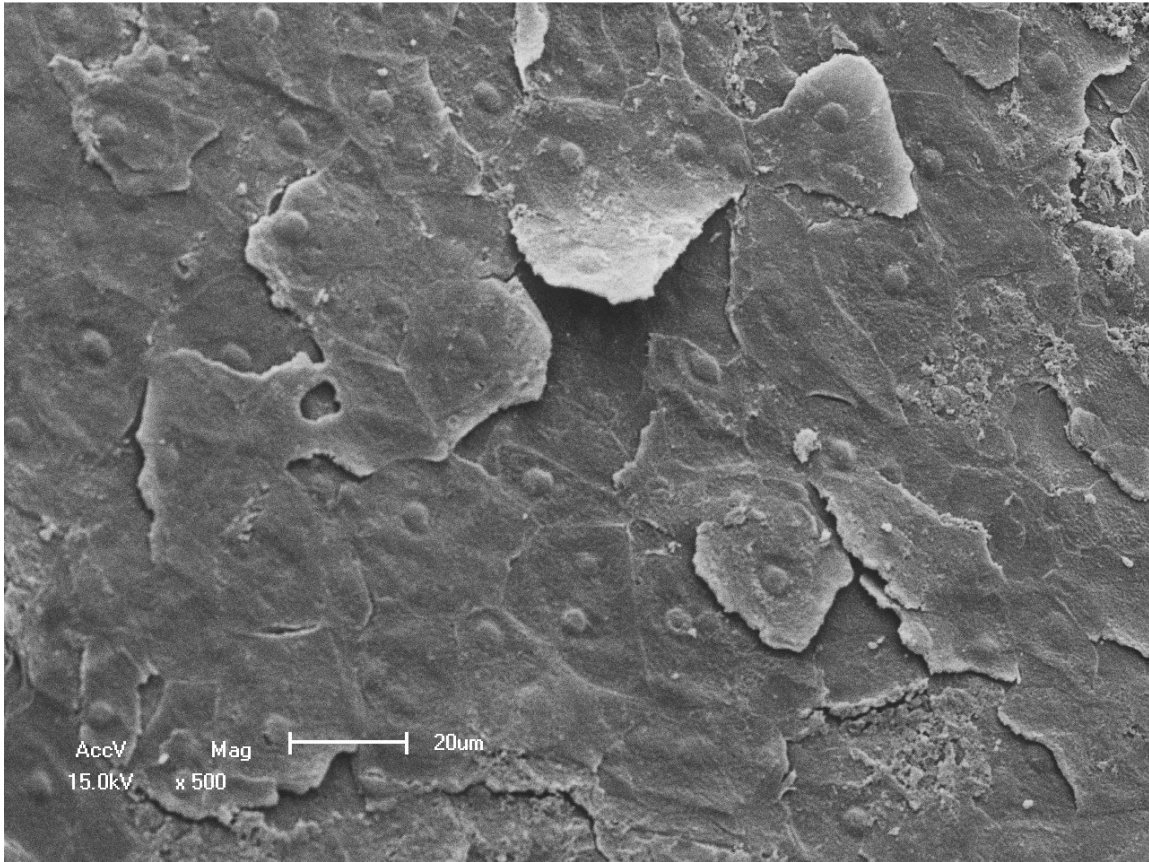


Figura 51 – Membrana colódio, face interna demonstrando corneócitos ainda nucleados(MEV – 500x).

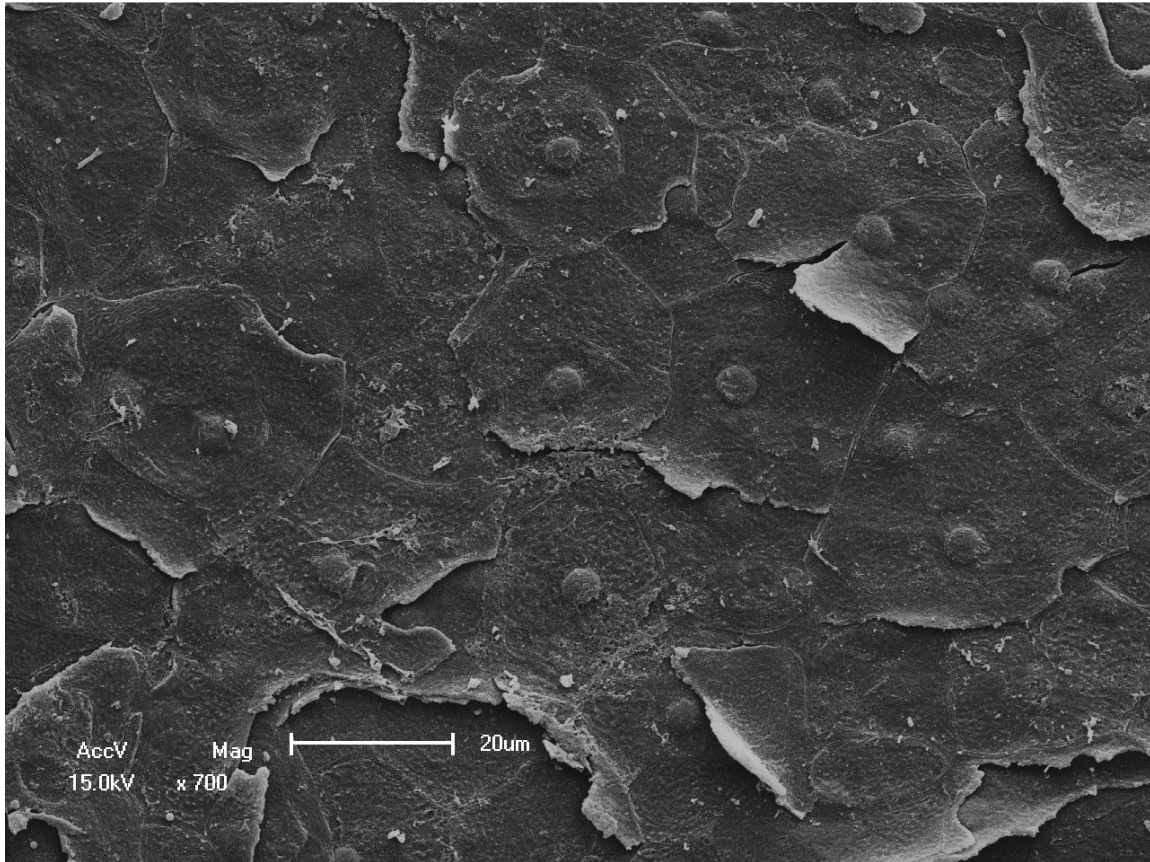


Figura 52 – face interna demonstrando corneócitos com núcleos bem evidentes (MEV – 700x).

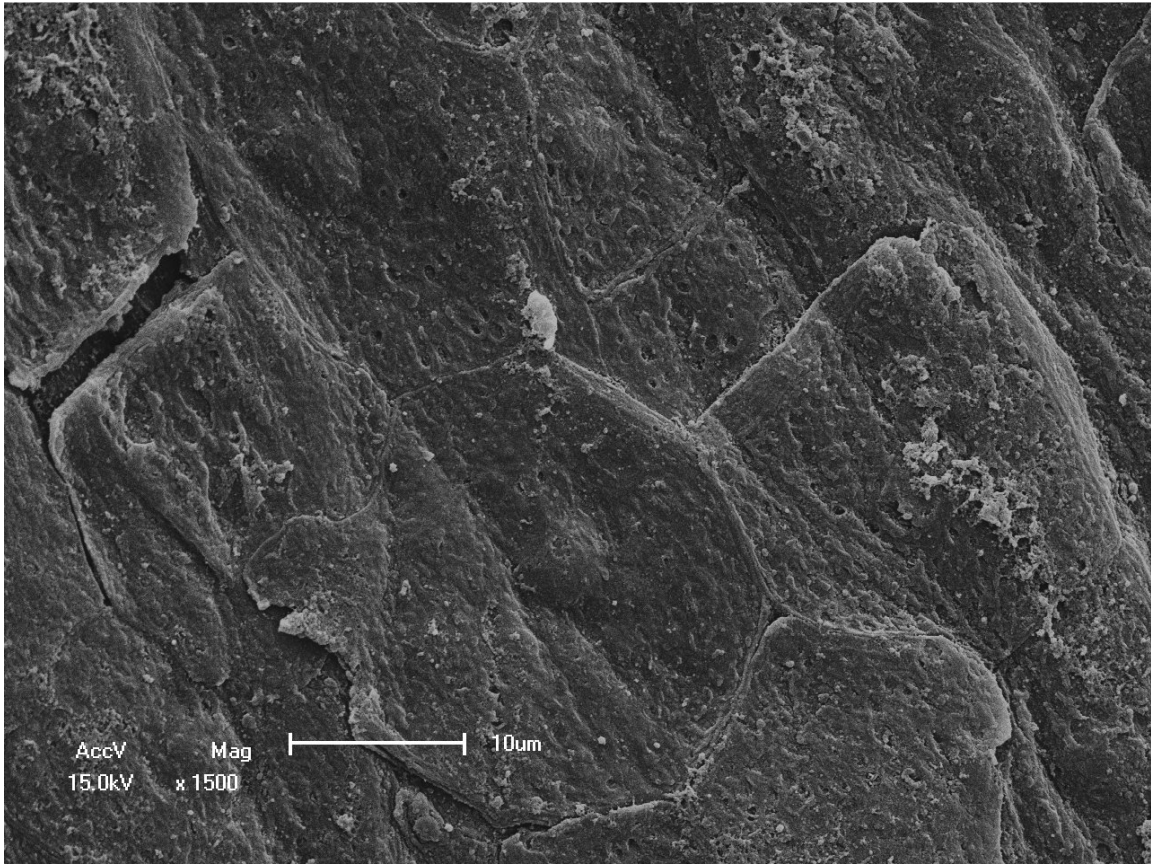


Figura 53 – Membrana colódio, face interna demonstrando corneócitos ainda nucleados com discreta irregularidade e sem evidência de vilosidades (MEV – 1.500x).

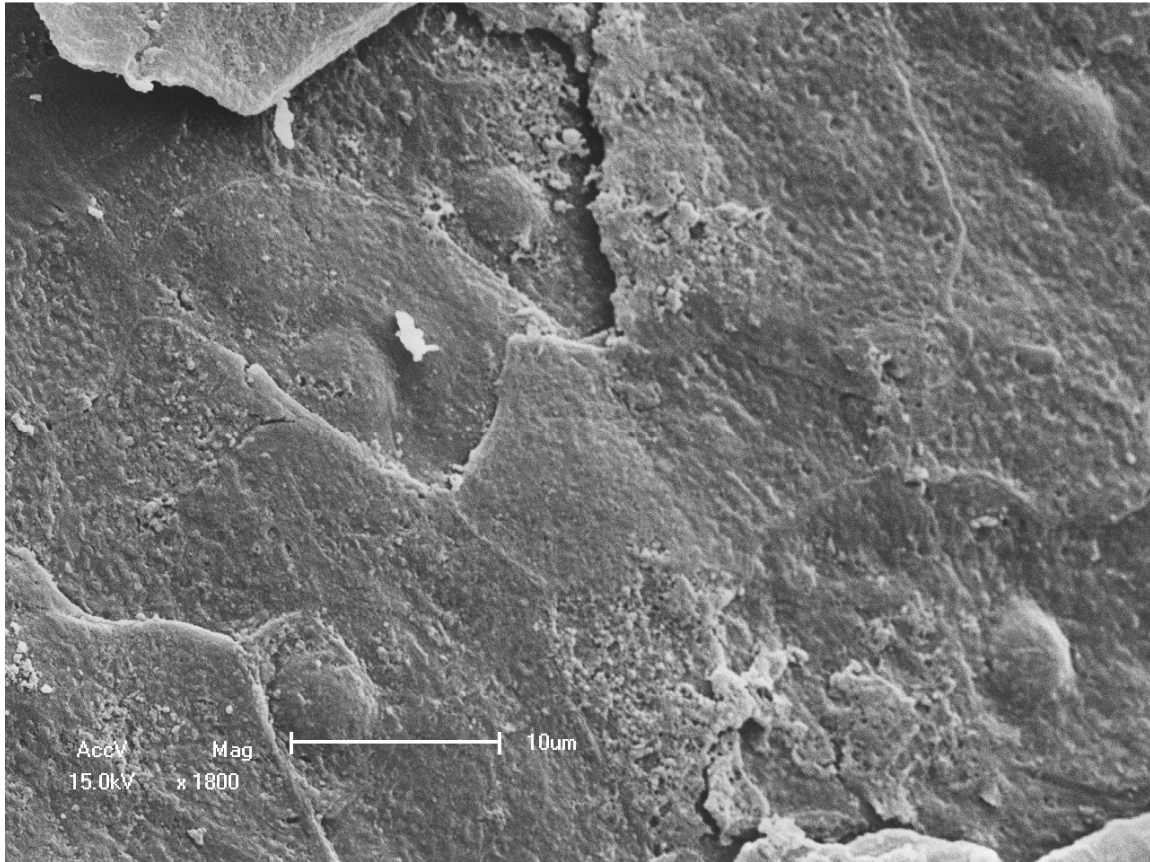


Figura 54 – Membrana colódio, face interna demonstrando corneócitos ainda nucleados(MEV – 1.800x).

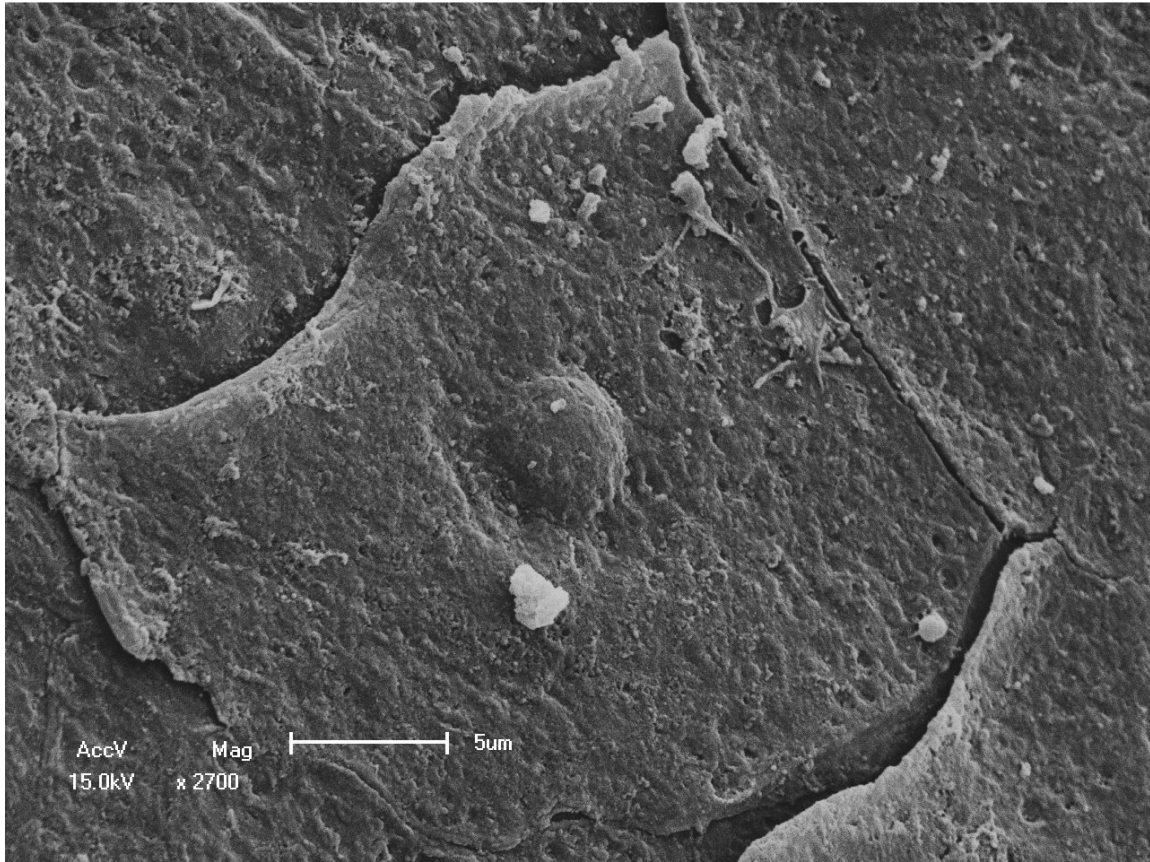


Figura 55 – Membrana colóidio face interna, detalhe decorneócito nucleado (MEV – 2.700x).

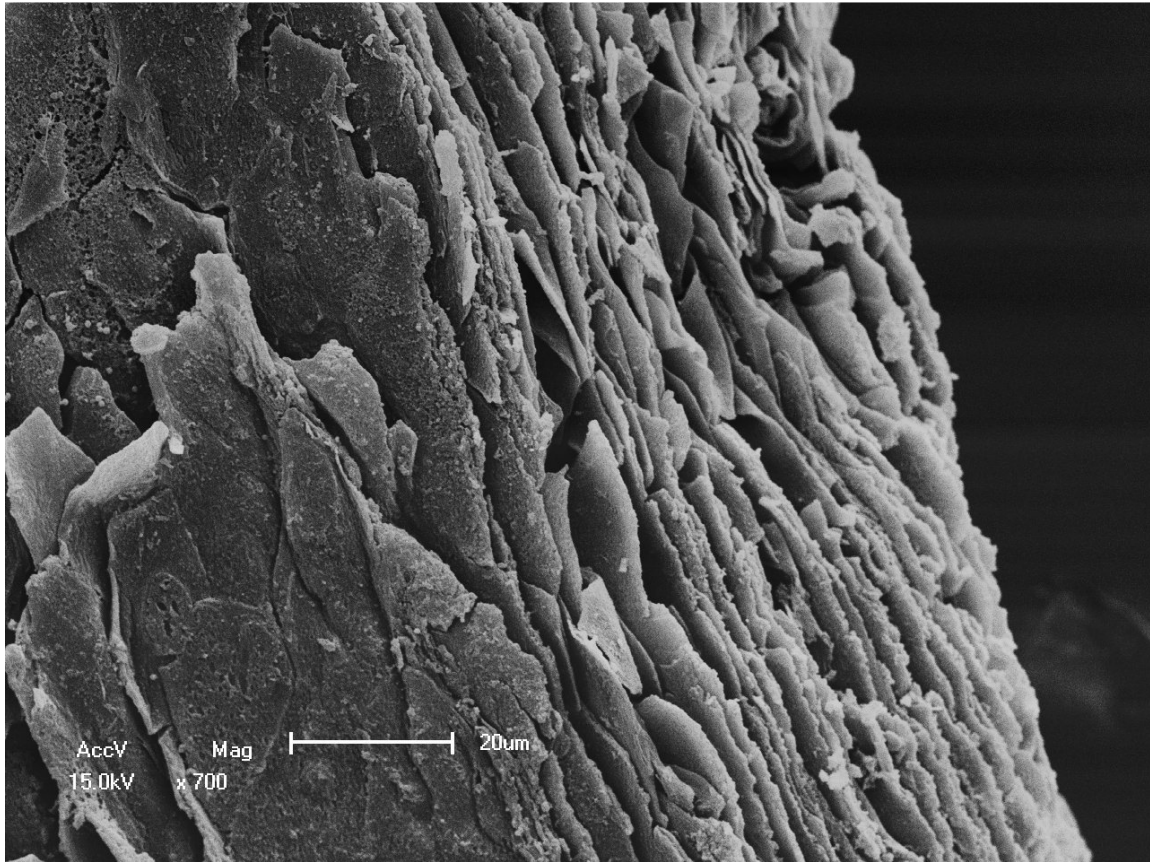


Figura 56 – Visão lateral da membrana colóidio demonstrando várias camadas de corneócitos, perfazendo aproximadamente vinte camadas(MEV – 700x).

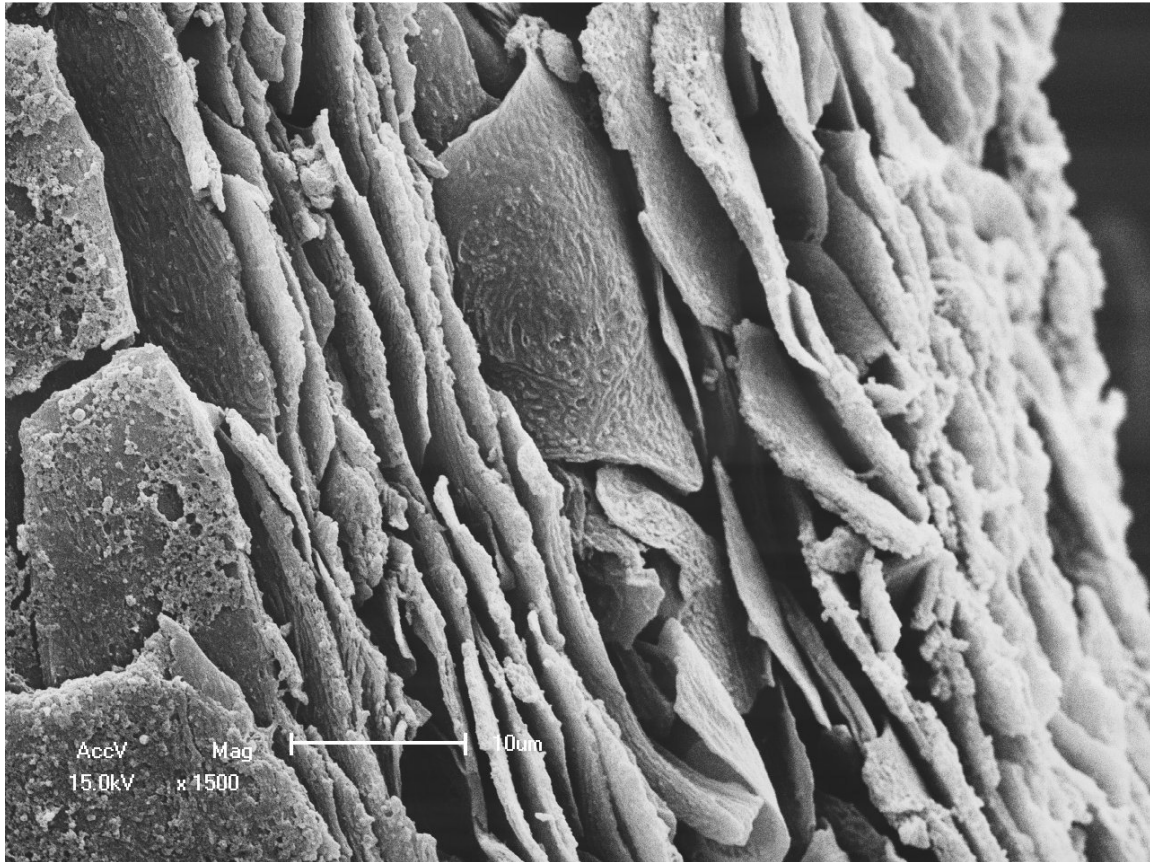


Figura 57 – Visão lateral da membrana colóidio evidenciando detalhes dos corneócitos (MEV – 700x).

10. DISCUSSÃO

O bebê colódio é um fenótipo visto ao nascimento, comum a várias ictioses, cujo diagnóstico definitivo é firmado pela evolução clínica e laboratorial⁽⁶⁾.

O bebê colódio auto-limitado é uma variante clínica, como o caso relatado neste trabalho, o qual apresentou descamação da membrana colódio em três semanas, evidenciando então posteriormente uma pele de aspecto normal. O que está de acordo com a literatura e ocorre em pelo menos 10% dos casos de bebê colódio^(17,18).

Na microscopia eletrônica de varredura deste primeiro caso, foi visualizada uma membrana colódio com aproximadamente quinze camadas de corneócitos. A superfície externa de aspecto pétreo, com mínima descamação, demonstrando agregação patológica dos corneócitos em função do distúrbio da queratinização. Na face interna haviam corneócitos de conformação irregular com membranas celulares apresentando projeções vilosas e fendas entre as células. Esses achados ultraestruturais não haviam sido relatados anteriormente.

O paciente portador da Síndrome MEND é o primeiro relatado em nosso país. Apresentou membrana colódio ao nascimento, associado a importantes malformações. Corroborando com a evidência científica publicada apresentava sindactilia, polidactilia e microftalmia⁽²⁴⁾.

No sistema nervoso central, novamente em acordo com achados anteriores, apresentou agenesia de corpo caloso, agenesia de vermix cerebelar, hipoplasia de cerebelo e formação de cisto de Dandy-Walker,

além de hidrocefalia e afilamento de córtex cerebral. Caracterizando bem as malformações neurológicas associadas nesta doença, que constam inclusive de seu acrônimo (**MEND** – Male Emopamil **N**eurological **D**effects)⁽²⁴⁾.

Na microscopia eletrônica de varredura da membrana colóidio deste último paciente evidenciou-se membrana colóidio espessada com aproximadamente 20 camadas de corneócitos. A superfície externa com intensa descamação celular, lembrando a descamação fisiológica, sendo que esses corneócitos permanecem aderidos aos pêlos que emergem. A superfície interna apresenta corneócitos ainda nucleados, achados inéditos pois este tipo de microscopia em membrana colóidio de pacientes com Síndrome MEND ainda não havia sido realizado. Apesar de necessitar de confirmação com outros casos semelhantes, poder-se-ia sugerir o termo membrana colóidio para queratótica.

Nossos achados da microscopia eletrônica de varredura confirmam o que já havia sido relatado, de que pacientes com defecho bebê colóidio auto-limitado tem menor espessura da membrana colóidio e ausência de núcleo nos corneócitos^(25,26).

É importante salientar ainda a diferença clínica entre os dois casos na membrana colóidio, sendo a descamação discreta no auto limitado e exuberante no bebê com Síndrome MEND, essas diferenças são percebidas também no exame ultraestrutural, havendo diferença tanto na face interna, quanto na externa das duas membranas^(27,29).

Nossos achados são de difícil comparação, por haver somente relatos com microscopia eletrônica de transmissão, e há necessidade de examinar vários casos dessa rara afecção, para obter casuística

que permita descrever aspectos ultraestruturais específicos de cada variante clínica.

11. Conclusões

- Os achados de ultra estrutura de um bebê colódio com Síndrome de MEND são distintos dos achados de um bebê colódio auto limitado.
- O bebê colódio auto limitado apresentou membrana colódio com menor espessura, sem descamação na face externa, importante compactação, bem como ausência de núcleo nos corneócitos da face interna.
- Na membrana colódio do paciente com Síndrome de MEND haviam mais camadas de células formando uma membrana espessa, intensa descamação de corneócitos na face externa e corneócitos nucleados na face interna.
- A síndrome de MEND configura fenótipo recente de fetos masculinos afetados com herança recessiva ligada a X.
- A microscopia eletrônica de varredura poderá descrever um padrão ultra-estrutural tridimensional da membrana colódio a ser correlacionado com a classificação clínica.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Shetty, S; Gokul, S. Keratinization and its disorders. Oman Medical Journal, Oman, v. 27, n.5, p.348-57, set. 2012.
2. Weller, R. Ichthyosis. In: Clinical Dermatology. Massashusetts: Blackwell Publishing, 2008. p. 173-175.
3. Marks, R. The stratum corneum barrier. The final frontier. Journal of Nutrition, Bethesda, v. 134, n. 8, p.2017-2021, ago. 2004.
4. Sandilands A. et al. Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease. Journal of Cell Science, Cambridge, v.122, p.1285-1294, 2009.
5. Craiglow BG. Ichthyosis in the Newborn. Seminars in Perinatology, New York, v. 37 n. 1, p. 26-3, fev. 2013.
6. Rodríguez-Pazos, L. et al. Autosomal Recessive Congenital Ichthyosis. Actas Dermo-Sifiliográficas, Madrid, v.104, n.4, p. 270-284, 2013.
7. Hernández-Martin, A. et al. Prevalence of autosomal recessive congenital ichthyosis: A population-based study using the capture-recapture method in Spain. Journal of the American Academy of Dermatology, New York, v. 67, p. 240-244, 2012.
8. Dreyfus, I. et al. Prevalence of inherited ichthyosis in France: a study using capture-recapture method. Orphanet Journal of Rare Diseases, London, v. 9, p.1-7, 2014.
9. Chang, L.; Reyes, M. A case of harlequin ichthyosis treated with isotretinoin. Dermatology Online Journal, Davis, California, v.18, n. 2, fev. 2014.
10. Rajpopat, S. et al. Harlequin Ichthyosis: A Review of Clinical and Molecular Findings in 45 Cases. Archives of Dermatology, Chicago, v.147, n. 6, p. 681-686, jun. 2011.
11. Buyse, L. et al. Collodion baby dehydration: the danger of high transepidermal water loss. British Journal of Dermatology, Oxford, v. 129, n.1, p.86-88, jul. 1993.
12. Martinez, M. et al. Collodion Baby. Aportación de nuevo caso. Anales de Pediatría, Madrid. v. 32, n.3, p.259-6, 1990.

13. Larregue, M. et al. Bébé Collodion. Trente-deux nouvelles observations. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, Paris, v.113 n. 9, p. 773-85, 1986.
14. Verma, A; Uttamani, N. Collodion Baby. *Indian Pediatrics*, New Delhi, v. 38, n. 12, p.1428, 2001.
15. Rubio-Gomez, G; Weinstein, M; Pope, E. Development of a disease severity score for newborns with collodion membrane. *Journal of the American Academy of Dermatology*, New York, v. 70, n.3, p. 506-511, mar. 2014.
16. Oji, V. et al. Revised nomenclature and classification of inherited ichthyoses: results of the First Ichthyosis Consensus Conference in Sorèze 2009. *Journal of the American Academy of Dermatology*, New York, v. 63, n. 4, p.607-641, out. 2010.
17. Tanahashi, K. et al. Novel TGM1 Missense Mutation in a Case of Self-healing Collodion Baby. *Acta Dermato Venereologica*, Uppsala, v. 94, n. 5, p. 589-590, set. 2014.
18. Vahlquist, A. et al. Genotypic and Clinical Spectrum of Self-Improving Collodion Ichthyosis: ALOX12B, ALOXE3, and TGM1 Mutations in Scandinavian Patients. *Journal of Investigative Dermatology*, Boston, v. 130, n. 2, p. 438–443, fev. 2010.
19. Raghunath, M. et al. Self-Healing Collodion Baby: a Dynamic Phenotype Explained by a Particular Transglutaminase-1 Mutation. *Journal of Investigative Dermatology*, Boston, v. 120, n. 2, p.224-228, fev. 2003.
20. Has, C. et al. The Conradi-Hünemann-Happle (CDPX2) and emopamil binding protein: novel mutations, and somatic and gonadal mosaicism. *Human Molecular Genetics*, Oxford, v.9, n.13, p.1951-1955, 2000.
21. Kolb-Mäurer, A. et al. Conradi-Hünemann-Happle Syndrome (X-linked Dominant Chondrodysplasia Punctata) Confirmed by Plasma Sterol and Mutation Analysis. *Acta Dermato Venereologica*, Uppsala, v.88, n.1, p.47-51, 2008.
22. Hartman, R.D.; Molho-Pessach, V; Schaffer, J.V. Conradi-Hünemann-Happle syndrome. *Dermatology Online Journal*, Davis, California, v.16, n.11, p.4, 2010.
23. Has, C. et al. Gas Chromatography - Mass Spectrometry and Molecular Genetic Studies in Families with the Conradi-Hünemann-Happle Syndrome. *Journal of Investigative Dermatology*, Boston, v.118, n.5, p.851-858, mai. 2002.

24. Arnold, A. et al. Conradi-Hünemann-Happle syndrome in males vs. MEND syndrome (male EBP disorder with neurological defects). *British journal of dermatology and syphilis*, Oxford, v.166, n.6, p.1309-1313, jun. 2012.
25. Frenck, E. A spontaneously healing collodion baby: a light and electron microscopical study. *Acta Dermato Venereologica*, Uppsala, v.61, n.2, p.168-171, 1981.
26. Dobbeleer, G. et al. Collodion baby skin. Ultrastructural and autoradiographic study. *Journal of Cutaneous Pathology*, San Francisco, v. 9, n.3, p.196-202, jun. 1982.
27. Akiyama, M. et al. Collodion baby: ultrastructure and distribution of cornified cell envelope proteins and keratins. *Dermatology*, Basel, v.195, n.2, p.164-168, 1997.
28. Laiho, E. et al. Clinical and morphological correlations for transglutaminase 1 gene mutations in autosomal recessive congenital ichthyosis. *European Journal of Human Genetics*, London, v.7, n.6, p. 625–632, set. 1999.
29. Langer, K. et al. Collodion baby with transition to mild lamellar ichthyosis. Clinical course, histopathology and ultrastructural findings. *Hautarzt*, Berlin, v.42, n.1, p.34-38, jan. 1991.

13. Artigo Proposto

RESUMO

Descrevemos o caso de um recém-nascido portador da Síndrome de MEND, que apresenta além da membrana colódio, polidactilia, sindactilia, microftalmia, agenesia de corpo caloso, agenesia de vérmix cerebelar, hipoplasia cerebelar e cisto de Dandy Walker. Foi ainda realizada análise através de microscopia eletrônica de varredura da membrana colódio e sequenciamento genético do gene EBP, sendo este responsável pela codificação da enzima ligação do emopamil. Nos achados de microscopia eletrônica evidenciou-se intensa descamação de corneócitos na face externa da membrana colódio, além de corneócitos nucleados na face interna, e várias camadas de células formando uma membrana espessa. O exame do DNA localizou nova mutação no gene EBP no exon 4 c.439C>T,p.R147C. Novos casos necessitam ser buscados, e devem ser relatados para o melhor conhecimento desta doença.

INTRODUÇÃO

A Síndrome MEND (**M**ale **E**mopamil-binding-protein disorder with **N**eurological **D**efects), é um acrônimo na língua inglesa usado para nomear distúrbio masculino na proteína de ligação do emopamil associado a malformações neurológicas. Este termo foi cunhado apenas em 2012⁽¹⁾.

É uma patologia recessiva ligada ao cromossoma X, sem mosaïcismo, diferentemente da Síndrome de Conradi-Hünemann-Happle que é dominante, e na maioria das vezes letal intra útero para os fetos do sexo masculino. Com apenas alguns casos masculinos já relatados que sobreviveram, sempre associados a mosaïcismo⁽²⁾.

A Síndrome MEND ao nascimento apresenta-se como bebê colódio, além de uma ictiose difusa, os pacientes apresentam face

com ponte nasal proeminente, baixa implantação das orelhas e fontanela anterior larga. No sistema nervoso central nota-se a hipoplasia cerebelar e de corpo caloso, hidrocefalia, hipotonia, atraso no desenvolvimento e convulsões. Presença de polidactilia e sindactilia. Sendo portanto uma ictiose sindrômica⁽¹⁾.

Ocasionada por mutações no gene codificador da proteína de ligação do emopamil (EBP), que está localizado no braço curto do cromossoma X. A EBP é uma esterol isomerase e desempenha papel fundamental na biossíntese do colesterol. O bloqueio da biossíntese do colesterol leva a acúmulo de precursores do esterol e baixa concentração de colesterol intracelular, apesar de nível sérico de colesterol normal. As dosagens dos precursores do colesterol apesar de elevadas nestes casos, não se correlacionam diretamente com a gravidade do fenótipo^(3,4,5).

RESULTADOS

Relatamos caso de recém-nascido no extremo sul do Brasil que preenche critérios para a rara Síndrome de MEND. Apresentava membrana colóidica de aspecto ocre recobrindo tronco e membros, durante duas semanas ocorreu a desidratação e descamação gradual desta membrana(Fig.1A,B,C e D). Além disto sofria de sindactilia e polidactilia em mãos e pés(Fig.2A e B).

Nas radiografias simples realizadas não foram visualizadas quaisquer calcificações patológicas nas epífises ósseas, entretanto foi

constatada a presença de calcificações em partes moles(Fig.3A,B e C).

O paciente foi submetido a tomografia computadorizada de crânio que evidenciou várias malformações no sistema nervoso central: agenesia de corpo caloso, hipoplasia de cerebelo, agenesia de vérmix cerebelar e formação de cisto de Dandy Walker. Também foi possível constatar a presença de microftalmia(Fig.4A,B,C e D)

Além disso procedeu-se o sequenciamento genético através de sangue periférico para o gene emopamil binding protein (Gene EBP), tanto no paciente como nos progenitores. Sendo constatada mutação no exon 4 c.439C>T,p.R147C do paciente e da mãe(Fig.5).

A membrana colódio foi analisada através de microscopia eletrônica de varredura. Na face externa visualizou-se intensa descamação de corneócitos, folículos pilosos proeminentes com corneócitos acompanhando o crescimento do pêlo(Fig.6A,B,C e D). Na face interna a presença de corneócitos ainda nucleados é bem evidente, e finalmente na face lateral visualiza-se várias camadas de corneócitos, caracterizando uma membrana espessa(Fig.7.A,B,C e D).

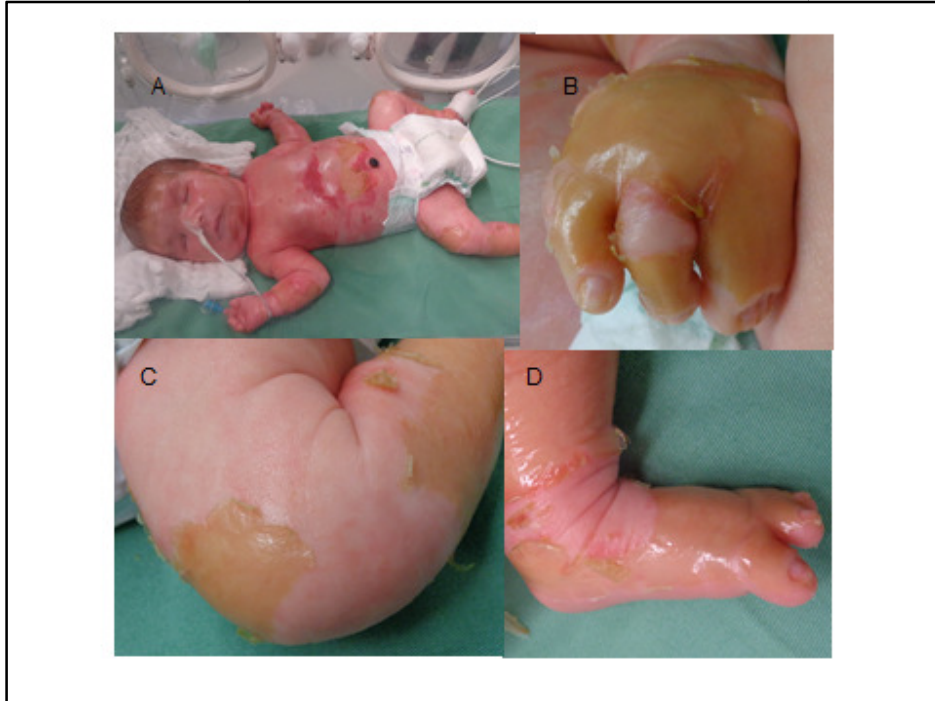


Figura 1- A. recém-nascido apresentando no corpo várias áreas ainda cobertas por membrana colóidio e fissuras no abdome. B. mão esquerda recoberta por membrana colóidio. C. coxa e perna direitas parcialmente recobertas por membrana colóidio. D. pé e perna esquerdos apresentando membrana colóidio.



Figura 2- A. após descamação da membrana colóidio identificada claramente polidactilia e sindactilia no pé. B. detalhe da sindactilia na mão.



Figura 3- A.radiografia simples panorâmica demonstrando a ausência de calcificações patológicas nas epífises distais dos membros inferiores. B. radiografia simples da mão esquerda também com ausência de calcificações nas epífises distais. C. radiografia simples de pés sem calcificações patológicas em epífises ósseas, mas com calcificações em partes moles.

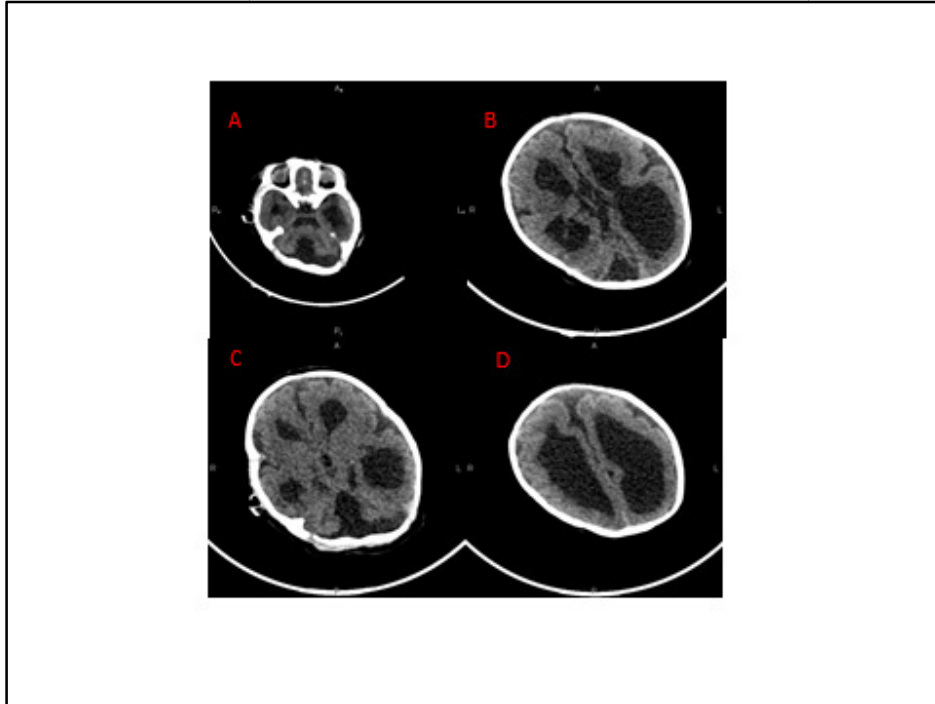


Figura 4- Imagens de tomografia computadorizada helicoidal. A. globos oculares pequenos caracterizando a microftalmia. B. agenesia de corpo caloso. C. hipoplasia de cerebelo, agenesia de vérmix cerebelar, e formação de cisto de Dandy Walker. D. importante hidrocefalia e afinamento da cortical cerebral.

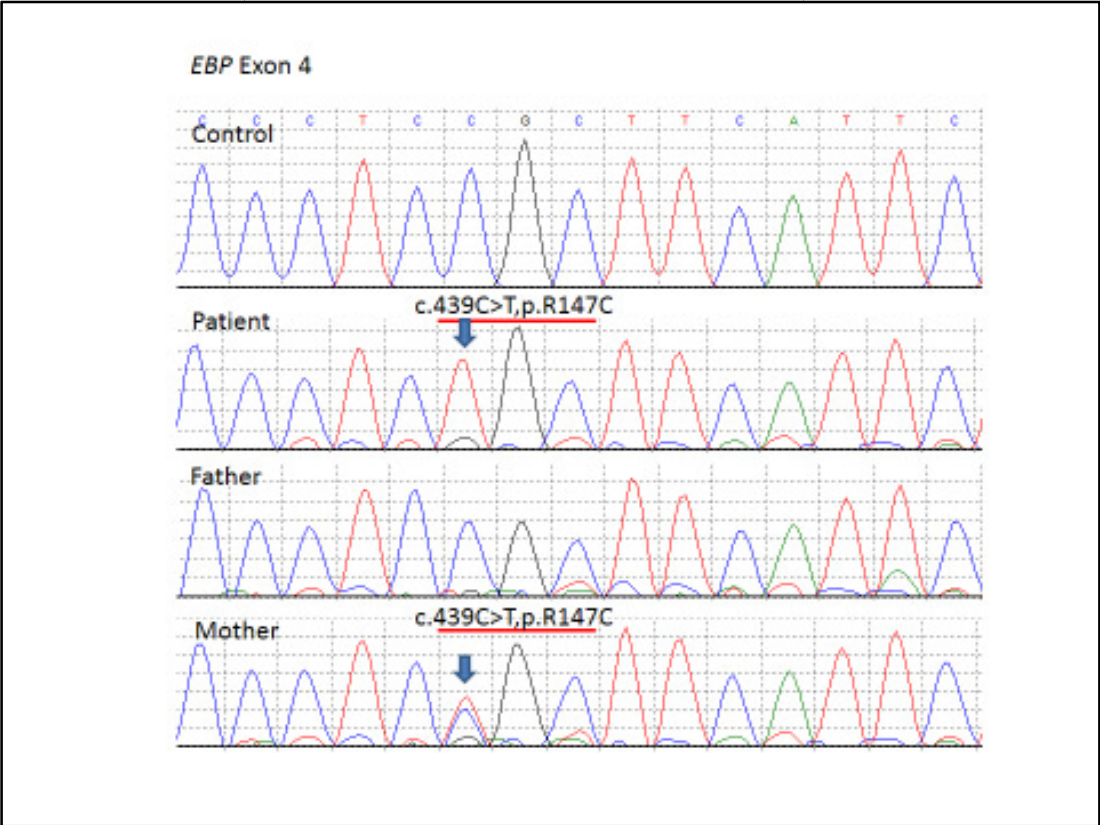


Figura 5 – Sequenciamento do Gene *EBP* com mutação no exon 4 c.439C>T,p.R147C do paciente e da mãe.

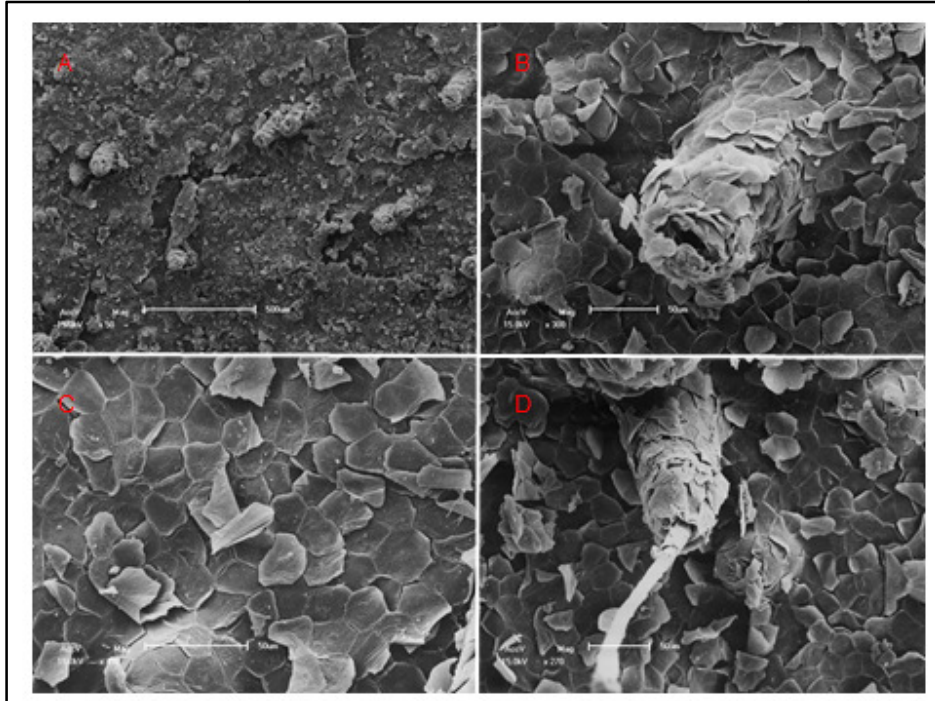


Figura 6- A.face externa com intensa descamação de corneócitos e visualização das projeções dos folículos pilosos (MEV – 50x). B. membrana colódio, face externa demonstrando corneócitos aderidos aos folículos pilosos(MEV – 300x). C. membrana colódio, face externa com intensa descamação de corneócitos (MEV – 450x). D. face externa com pêlo emergindo acompanhado por camadas de corneócitos (MEV – 50x).

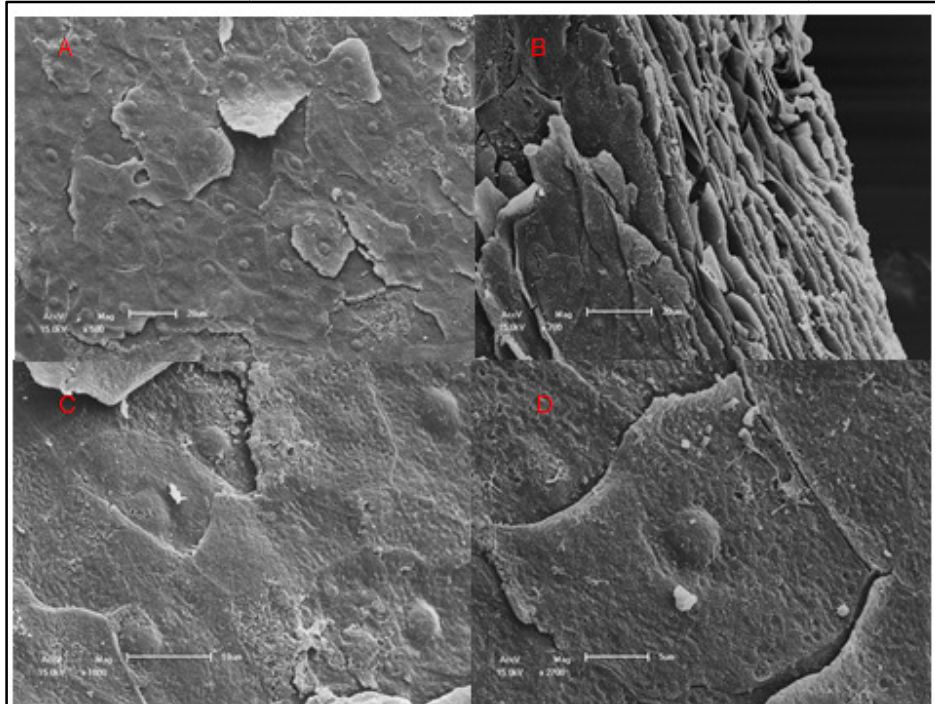


Figura 7- A.membrana colóidio, face interna demonstrando corneócitos ainda nucleados(MEV – 500x). B. visão lateral da membrana colóidio demonstrando várias camadas de corneócitos, perfazendo aproximadamente vinte camadas (MEV – 700x). C. membrana colóidio, face interna demonstrando corneócitos ainda nucleados(MEV – 1800x). D. núcleo bem evidente no centro do corneócito (MEV – 2700x).

Discussão

A Síndrome de MEND é uma enfermidade que apenas recentemente foi definida como uma síndrome em separado da Síndrome de Conradi-Hünemann-Happle.

Nosso caso apresentava várias características fenotípicas coincidentes com publicações anteriores além da membrana colóidio como: sindactilia, polidactilia e microftalmia. No sistema nervoso central, novamente em acordo com achados anteriores, apresentou agenesia de corpo caloso, agenesia de vermix cerebelar, hipoplasia de cerebelo e formação de cisto de Dandy-Walker, além de hidrocefalia e afinamento de córtex cerebral.

Na microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi constatado que esta membrana colóidio é espessa tendo pelo menos vinte camadas. Além disso na sua face externa visualiza-se intensa descamação de corneócitos e na face interna a presença de corneócitos ainda nucleados. Estes achados de MEV são inéditos e ajudam a entender a falta de elasticidade que sofre a pele destes bebês.

O sequenciamento de DNA do gene EBP este paciente demonstrou nova mutação capaz de causar este quadro.

Apesar de rara, devido à gravidade desta enfermidade novos casos necessitam ser buscados, e devem ser relatados para o melhor conhecimento desta doença, acumulando conhecimento que propicie a correlação entre aspectos ultraestruturais e clínicos.

Referências Artigo

1. Arnold, A. et al. Conradi-Hünemann-Happle syndrome in males vs. MEND syndrome (male EBP disorder with neurological defects). *British journal of dermatology and syphilis*, Oxford, v.166, n.6, p.1309-1313, jun. 2012.
2. Has, C. et al. The Conradi-Hünemann-Happle (CDPX2) and emopamil binding protein: novel mutations, and somatic and gonadal mosaicism. *Human Molecular Genetics*, Oxford, v.9, n.13, p.1951-1955, 2000.
3. Has, C. et al. Gas Chromatography - Mass Spectrometry and Molecular Genetic Studies in Families with the Conradi-Hünemann-Happle Syndrome. *Journal of Investigative Dermatology*, Boston, v.118, n.5, p.851-858, mai. 2002.
4. Kolb-Mäurer, A. et al. Conradi-Hünemann-Happle Syndrome (X-linked Dominant Chondrodysplasia Punctata) Confirmed by Plasma Sterol and Mutation Analysis. *Acta Dermato Venereologica*, Uppsala, v.88, n.1, p.47-51, 2008.
5. Hartman, R.D.; Molho-Pessach, V; Schaffer, J.V. Conradi-Hünemann-Happle syndrome. *Dermatology Online Journal*, Davis, California, v.16, n.11, p.4, 2010.

14. Anexos

Artigo Aceito – Anais Brasileiros de Dermatologia

Microscopia eletrônica de varredura da membrana colódio de um bebê colódio
autolimitado
**Scanning electron microscopy of the collodion membrane from a selfhealing
collodion baby**

Autores

HIRAM LARANGEIRA DE ALMEIDA JR.:

Livre Docente Prof.Assistente Universidade
Federal de Pelotas

Henrique Isaacsson:

Mestre em Cirurgia pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Prof.Assistente de Urologia UniversidadeFederal de Pelotas

Isabelle Maffei Guarenti:

Mestre em Saúde e Comportamento Universidade Católica de Pelotas
Médica Dermatologista
Abreviatura do nome do autor para indexação: Guarenti IM

Ricardo Marques e Silva:

Engenheiro de Materiais
Mestrando em Engenharia de Materiais
Abreviatura do nome do autor para indexação: Marques e Silva R

Luis Antônio Suita de Castro:

Mestre EMBRAPACPACT Pelotas

Descritores (Palavras-chave)

Keywords

Ictiose; Queratinócitos; Microscopia Eletrônica de Varredura Ichthyosis; Keratinocytes;
Microscopy, Electron, Scanning

Resumo

Bebê colódio autolimitado é um subtipo bem estabelecido de bebê colódio. Examinamos um recém-nascido, o qual apresentava membrana brilhante cobrindo o corpo, a qual após ser eliminada foi examinada com microscopia eletrônica de varredura. A superfície externa mostra queratina compacta, sem eliminação fisiológica de corneócitos. A visão lateral mostra uma camada córnea bem espessa. O exame da superfície interna demonstra corneócitos inferiores com contorno poligonal, com grandes aumentos projeções vilosas são vistas na membrana celular.

Abstract

Selfhealing collodion baby is a well established subtype of this condition. We examined a male newborn, who was covered by a collodion membrane. The shed membrane was examined with scanning electron microscopy. The outer surface shows a very compact keratin without the normal elimination of corneocytes. The lateral view of the specimen shows a very thick horny layer. The inner surface shows the structure of lower corneocytes with polygonal contour. With higher magnifications villous projections were seen in the cell membrane.

Trabalho submetido em (Article's submission in): 29/5/2014 11:59:09

Instituição (Affiliation): Laboratório de Microscopia Eletrônica UFPEL; EMBRAPA CACT Pelotas; Programa de Pós-graduação em Saúde e Comportamento UCPEL. Correspondência (Correspondence): Rua. Gonçalves Chaves, 457 CEP: 96015560 Pelotas RS.

Introduction

The term Collodion Baby, coined by Hallopeu in 1884¹, is not a specific disease, it describes a transient appearance at birth and neonatal life. Affected children are covered by a taut, cellophane-like transparent membrane which is perforated by the lanugo and scalp hair. This condition can partially impair some vital functions in the first days of life, such as suction and breathing^{2,3}. It is very rare with an estimated incidence in a large French survey of 0,11 per million inhabitants⁴. This membrane with variable flexibility may lead to ectropion, eclabion and distortion of nose and ears⁵. The tips of the fingers are often tapered and hands are held in partial flexion. The membrane wrinkles causing fluid loss and thermoregulation abnormalities^{5,6}, therefore increasing the risk of infection. These newborns should be monitored carefully in intensive care units and receive appropriate and supportive treatment, because morbidity and mortality rates are high^{4,6}. Usually this membrane is peeled off in two weeks, but it can take several weeks to completely shed. Most collodion babies later develop one of the several types of autosomal recessive congenital ichthyoses (ARCI), such as lamellar ichthyosis (LI) or congenital ichthyosiform erythroderma⁶. Selfhealing or selfimproving collodion baby is a well established subset of this condition⁵. Typically the membrane is eliminated with minimal residual desquamation, 10% of collodion babies are selfhealing. The molecular defect is already identified, these patients have mutations in the TGM1 gene^{7,8}, which regulates the expression of transglutaminase 1, an enzyme involved in epidermal differentiation. We could not find in the literature any report of scanning electron microscopy (SEM) of the collodion membrane. Methods We examined a male newborn, who was covered by a collodion membrane (Figure 1). Fissures were observed in the trunk, a light ectropion and eclabion were observed. After elimination of the membrane the skin assumed a normal appearance. The case was classified as selfimproving collodion baby. The shed membrane was routinely processed for scanning electron microscopy, in order to examine its three-dimensional ultrastructural aspects.

Results

The inner and the outer surface of the collodion membrane were examined, since it was also positioned inverted in the stub for ultrastructural examination. The outer surface shows a compact keratin and perforation by vellus hairs (Figures 2 a and b). With higher magnification the compact aspect became more evident (Figure 2 c), in which the normal elimination of corneocytes was not observed. The physiologic elimination of corneocytes, also known as desquamation insensibilis, can be easily seen on the surface of normal skin for comparison (Figure 2 d). The examination of the lateral view of the specimen shows a very thick horny layer (Figure 3), which does not show the normal

basket weave aspect, which is also observed with SEM (Figure 3 inset). The examination of the inner surface shows at a magnification of 700 times probably the structure of lower corneocytes, which have a polygonal contour (Figure 4). With higher magnifications (2,700 to 4,000 times) villous projections could be seen in the cell membrane (Figure 5), as well as the irregular cell outline and some intercellular clefts.

Discussion

Our results contribute to the description of three-dimensional aspects of the collodion membrane, which is formed by multiple layers of corneocytes and compact keratine. The outer surface shows the keratine without the normal elimination of corneocytes, confirming the abnormal keratinization. The inner surface shows the lower corneocytes, which have a villous membrane, differently of the normal eliminated corneocytes, whose showed a smooth surface. These findings are hard to compare, since only reports with transmission electron microscopy (TEM) could be found in the literature review. TEM examines cross sections and not three-dimensional structures. With TEM lipid inclusions, abnormal lamellar granules and normal desmosomes were described. These ultrastructural aspects of a self-healing collodion baby need to be compared with further cases and with other forms of collodion baby.

Referências

1. Hallopeu H, Watelet . Sur une forme atténuée de la maladie dite ichtyose fetale. *Ann Dermatol Syphilol* 1884;3:149-152.
2. Goldsmith L, Katz S, Gilchrist B, Paller A, Leffel D, Wolff K. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 8th Ed. New York: MacGraw Hill; 2012.
3. Tüzün Y, İşçimen A, Pehlivan O. Collodion Baby Review. *J Turk Acad Dermatol* 2008; 2 (2): 82-201r.
4. Dreyfus I, Chouquet C, Ezzedine K, Henner S, Chiavérini C, Maza A, et al. Prevalence of inherited ichthyosis in France: a study using capture-recapture method. *Orphanet J Rare Dis* 2014; 69(1):1
5. Craiglow BG. Ichthyosis in the newborn. *Semin Perinatol* 2013;37(1):263-1.
6. Rodríguez Pazos L, Ginarte M, Vega A, Toribio J. Autosomal recessive congenital ichthyosis. *Actas Dermosifiliogr* 2013;104(4):270-84.
7. Raghunath M, Hennies HC, Ahvazi B, Vogel M, Reis A, Steinert PM, et al. Self-healing collodion baby: a dynamic phenotype explained by a particular transglutaminase 1 mutation. *J Invest Dermatol* 2003;120(2):224-8.
8. Terrinoni A, Serra V, Codispoti A, Talamonti E, Bui L, Palombo R, et al. Novel transglutaminase 1 mutations in patients affected by lamellar ichthyosis. *Cell Death Dis* 2012 Oct 25;3:e416
9. Akiyama M, Shimizu H, Yoneda K, Nishikawa T. Collodion baby: ultrastructure and distribution of cornified cell envelope proteins and keratins. *Dermatology* 1997;195(2):164-8.
10. "Selbstheilende" Form eines Kollodiumbabys Transiente Verhornungsstörung oder Minimalform einer lamellären Ichthyose? Ergezinger K, Hamm H, Erhard H, Kolde G, von Stockhausen HB. *Monatssch Kinderheilkunde* 1998;146:1070-1073.



Figure 1 Clinical aspects with covering membrane on the trunk and face, with light ectropion and no eclabium.

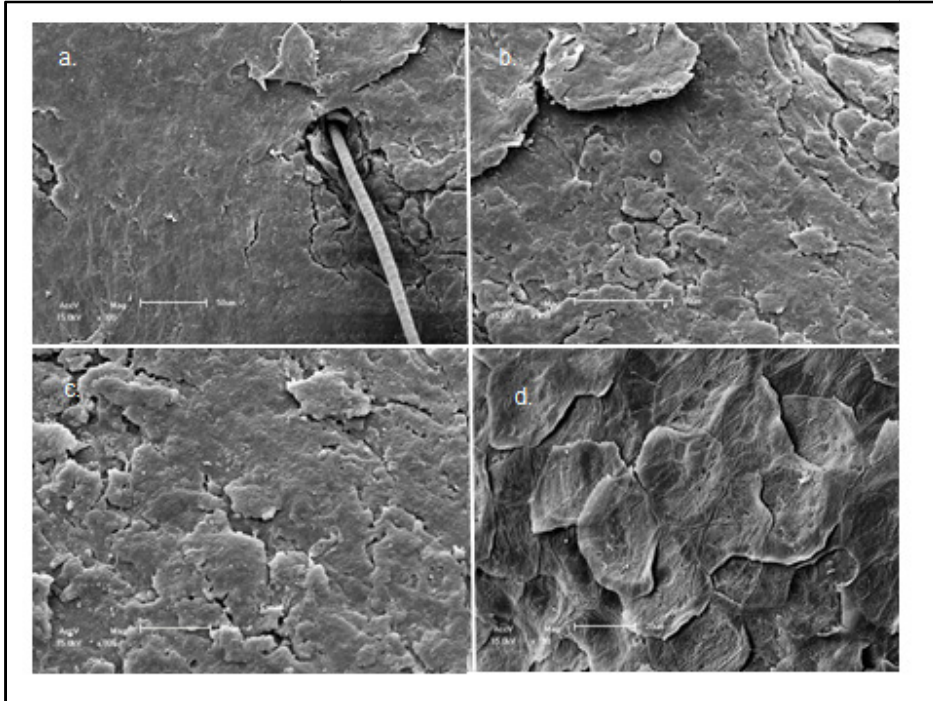


Figure 2 Scanning electron microscopy of outer surface a. compact membrane with a perforating vellous hair (x 300). b. compact membrane without released corneocytes (x 450). c. detail of the membrane with stony aspect (x 800). d. comparison with normal control releasing corneocytes (x 700).

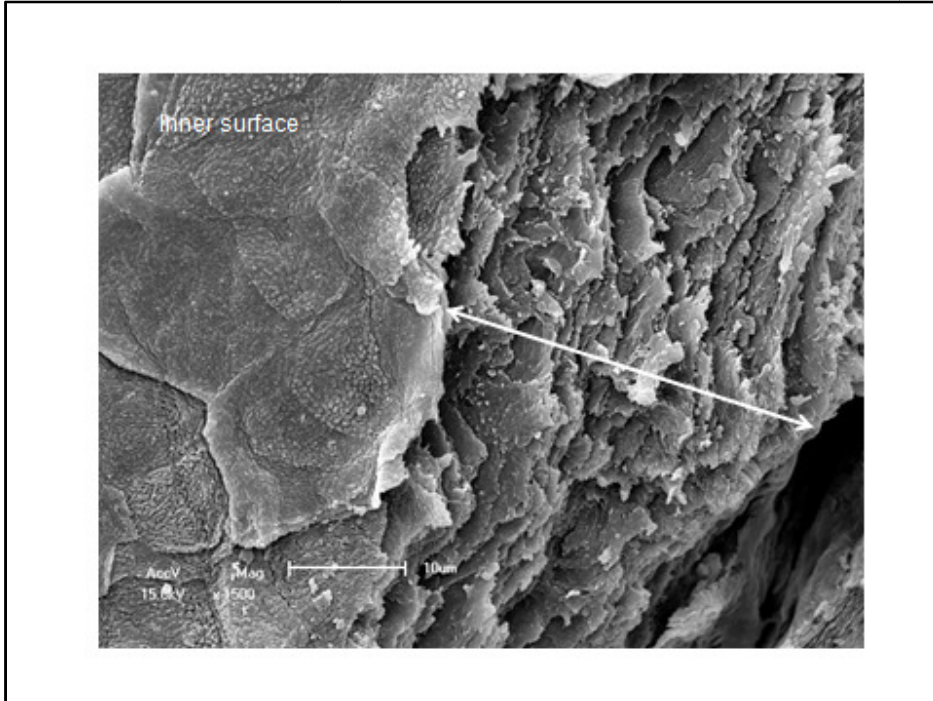


Figure 3 Scanning electron microscopy lateral view of the collodion membrane showing multilayered corneocytes (x 1,500). Inset with normal skin showing the "basket weave" aspect of the horny layer (x 1,200).

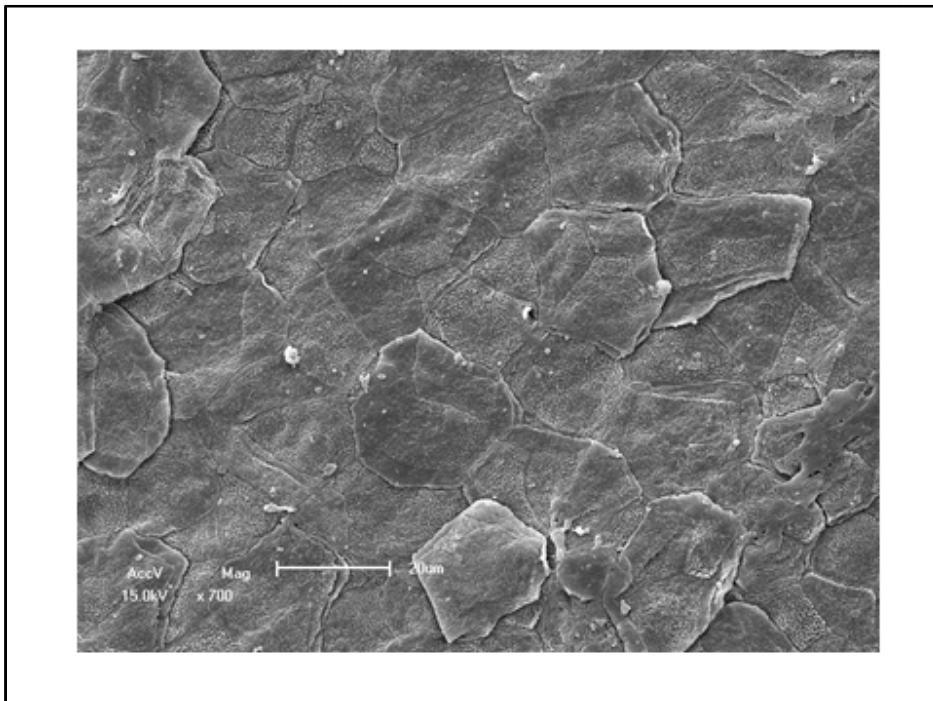


Figure 4 Scanning electron microscopy general view of the inner surface showing irregular lower corneocytes (x 700)

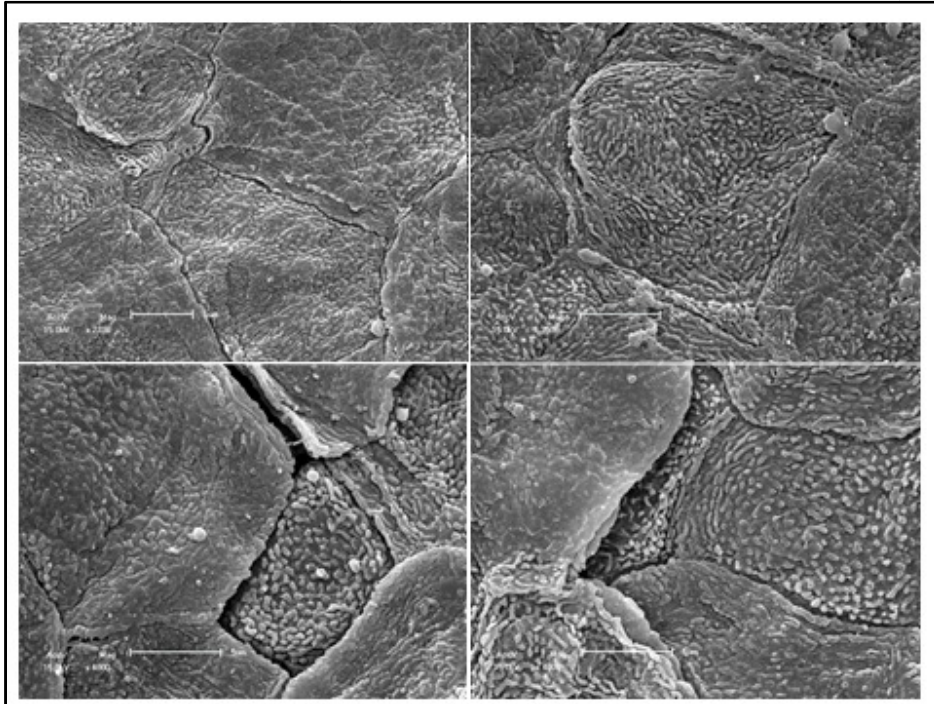


Figure 5 Scanning electron microscopy detail of the lower corneocytes showing irregular cell outline, intercellular clefts and villous projections (x2,700 to 4,000).