



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

## MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2011/2012

Margarida Maria de Melo Costa e Sampaio Leite  
Alterações da barreira cutânea na dermatite atópica  
- o papel da filagrina

março, 2012

# FMUP



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

Margarida Maria de Melo Costa e Sampaio Leite  
Alterações da barreira cutânea na dermatite atópica  
- o papel da filagrina

**Mestrado Integrado em Medicina**

**Área: Dermatologia e Venereologia**

**Trabalho efetuado sob a Orientação de:**  
**Professor Doutor Alberto Joaquim Vieira Mota**  
**E sob a Coorientação de:**  
**Doutor Paulo Filipe de Morais Cardoso**

**Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:**  
**Arquivos de Medicina**

março, 2012

**FMUP**

Eu, Margarida Maria de Melo Costa e Sampaio Leite, abaixo assinado, nº mecanográfico 050801022, estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 19/03/2012

Assinatura: Margarida Maria de Melo Costa e Sampaio Leite

**Nome:** Margarida Maria de Melo Costa e Sampaio Leite

**Endereço electrónico:** med05022@med.up.pt

**Telefone ou Telemóvel:** 914020674

**Número do Bilhete de Identidade:** 13019891

**Título da Dissertação/Monografia** (cortar o que não interessa):

Alterações da barreira cutânea na dermatite atópica - o papel da filagrina

**Orientador:**

Professor Doutor Alberto Joaquim Vieira Mota

**Ano de conclusão:** 2012

**Designação da área do projeto:**

Dermatologia e Venereologia

É autorizada a reprodução integral desta Dissertação/Monografia (cortar o que não interessar) para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projectos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 19/03/2022

Assinatura: Margarida Maria de Melo Costa e Sampaio Leite

## **Dedicatória**

Dedico este trabalho aos meus avós, Ademar, Almerinda, Gilberto e Maria Fernanda.

Nada me faz mais feliz do que saber que têm orgulho em mim. Obrigada.

**Título:**

Alterações da barreira cutânea na dermatite atópica - o papel da filagrina

**Título abreviado:**

Dermatite atópica e filagrina

**Autor:**

Margarida Maria de Melo Costa e Sampaio Leite\*

\*Aluna do 6º ano do Mestrado Integrado da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

**Correspondência:**

Serviço de Dermatologia e Venereologia

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Hospital de São João, E.P.E.

Alameda Professor Hernâni Monteiro, 4200 – 319, Porto, Portugal

Telefone: 225512193

E-mail: med05022@med.up.pt

**Agradecimentos:**

Ao Professor Doutor Alberto Mota e Doutor Paulo Morais, pela disponibilidade com que sempre me receberam e pela sabedoria com que me orientaram na realização deste trabalho.

**Contagem de palavras:**

Resumo: 249

Abstract: 238

Texto principal: 3850

## Resumo

A Dermatite Atópica (DA) é uma dermatose crónica inflamatória frequente em idade pediátrica, apresentando uma prevalência crescente que atinge os 15-20% em algumas séries. Esta afeta significativamente a qualidade de vida dos doentes e das suas famílias, com um elevado impacto socioeconómico.

A recente descoberta da associação entre as mutações do gene da filagrina (*FLG*) e a DA, lançou uma nova luz sobre os mecanismos etiopatogénicos da doença, reconhecendo-se atualmente, que as mutações do gene *FLG* constituem um forte fator de risco para o desenvolvimento de DA.

A filagrina desempenha um papel crucial na função da barreira cutânea, pelo que a sua deficiência provoca a falência desta barreira, permitindo a apresentação anormalmente potenciada de alérgenos e de outros antígenos ou agentes microbianos ao sistema imunológico.

Concomitantemente com a DA podem surgir outras patologias, no contexto da denominada “marcha atópica”, como as alergias alimentares, a asma, a rinite alérgica e a dermatite de contacto alérgica, que complicam ainda mais o prognóstico da doença.

Partindo dos novos conhecimentos é possível ambicionar novas hipóteses terapêuticas e um diagnóstico mais precoce e fiável. A possibilidade de um tratamento direcionado à recuperação da barreira cutânea tornar-se-á cada vez mais uma realidade, numa tentativa de se evitar o desenvolvimento de DA grave e de melhorar a qualidade de vida dos doentes.

Esta revisão pretende sumariar a informação mais recente relativa ao papel da filagrina na patogenia da DA, para que possa constituir um instrumento de atualização, de consulta rápida e sucinta, para profissionais de saúde.

**Palavras-chave:** dermatite atópica, eczema, filagrina, *FLG*, barreira cutânea



## **Abstract**

Atopic dermatitis (AD) is a common chronic inflammatory dermatosis in pediatric patients, with an increasing prevalence around 15-20% in some studies. It affects significantly the quality of life of both patients and their families, with a high socioeconomic impact.

The recent finding of the association between the filaggrin (*FLG*) gene mutations and AD brought a new insight in the etiopathogenesis of the disease, being currently recognized that the *FLG* gene mutations are a strong risk factor for the development of AD.

Filaggrin plays a crucial role in skin barrier function, in such a way that its deficiency causes the failure of this barrier, allowing the abnormally enhanced presentation of allergens, other antigens or microbial agents to the immune system.

Concomitantly with AD, other diseases can arise, in the context of the so-called "atopic march", such as food allergies, asthma, allergic rhinitis and allergic contact dermatitis, which further worsen the prognosis of the disease.

In the light of this new knowledge it is possible to predict the emergence of new therapeutic approaches and an earlier and reliable diagnosis. The possibility of treatment toward skin barrier recovery will become even more a reality, in an attempt to avoid the development of severe AD and improve the quality of life of patients.

The aim of this review is to summarize the more recent data about the role of filaggrin in AD pathogenesis, providing a readily available reference tool for health professionals.

**Key-words:** atopic dermatitis, eczema, filaggrin, *FLG*, skin barrier

## Introdução

A Dermatite Atópica (DA) é uma das dermatoses crónicas inflamatórias mais frequentes, sobretudo em idade pediátrica, com uma prevalência crescente que atinge os 15-20% na Europa Ocidental, Austrália e Estados Unidos [1]. Apesar de não existirem explicações exatas para o aumento da prevalência da DA em alguns países, a “*Hipótese Higiénica*” é proposta como um fator contribuinte. Segundo esta, o aumento da expressão das doenças alérgicas num terreno genético predisposto, resulta da exposição limitada a certos produtos microbianos durante a primeira infância, altura em que o sistema imunitário se encontra em maturação [2].

É intuitivo perceber que a DA afeta a qualidade de vida dos doentes e das suas famílias. De facto, esta doença é responsável por 15-86% das perturbações do sono dos pais de crianças afetadas, e está associada a fraca qualidade do mesmo, bem como a depressão e ansiedade, em todos os elementos do agregado familiar [3].

O impacto da DA pode avaliar-se em custos diretos (relacionados com gastos com medicação, recursos médicos/hospitalares, entre outros) de mais fácil quantificação, e em custos indiretos (relacionados com diminuição da qualidade de vida do doente e dos familiares, a abstenção escolar e a perda de dias de trabalho, por exemplo), de mais difícil mensuração. A título de exemplo, os efeitos socioeconómicos diretos da DA nos EUA podem chegar aos 3,8 biliões de dólares (USD) por ano, quantias que tendem a aumentar, com o aumento da prevalência da doença [4].

A recente descoberta da associação entre mutações do gene da filagrina (*FLG*) e a DA lançou uma nova luz sobre os mecanismos etiopatogénicos da doença [5] e atualmente são inúmeros os estudos sobre o tema.

Com esta revisão pretende-se sumariar a informação mais recente acerca do papel da filagrina na patogenia da DA, de forma a constituir um instrumento de atualização, sucinto e de consulta rápida, para profissionais de saúde.

## Material e Métodos

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica na base de dados eletrónica *MEDLINE* (a 10 de dezembro de 2011), tendo por base a seguinte equação de pesquisa: ("Dermatitis, Atopic"[Mesh]) AND "filaggrin"[Supplementary Concept]. Os limites aplicados foram: *only items with links to full text, Humans, English, Spanish, Portuguese, published in the last 5 years*. Obtiveram-se 105 artigos.

Os artigos foram inicialmente selecionados mediante a leitura do título e do resumo. Cinquenta e seis foram excluídos por falta de conexão direta e/ou de conteúdo que os tornassem relevantes para a presente revisão. Procedeu-se posteriormente à leitura da versão integral de todos os artigos incluídos nesta primeira fase, tendo-se chegado a uma seleção de 49 artigos cujo conteúdo correspondia ao objetivo desta monografia.

Foi ainda realizada uma pesquisa bibliográfica manual nas referências bibliográficas dos artigos incluídos, o que resultou num acréscimo de 20 artigos, aos quais adita 1 artigo publicado numa revista nacional. No total foram consultados 70 artigos.

## **Resultados**

### **- A Dermatite Atópica: manifestações clínicas e diagnóstico**

A DA apresenta um vasto leque de manifestações clínicas e não há acordo quanto à sua definição, surgindo inúmeras propostas de critérios de diagnóstico que carecem validação [6]. Os critérios de diagnóstico britânicos (*The U.K. Working Party's Diagnostic Criteria for Atopic Dermatitis* [7] – Tabela 1), que constituem um aperfeiçoamento dos critérios de diagnóstico inicialmente definidos por Hanifin e Rajka [8], são atualmente os mais validados (19 estudos) para uso em estudos populacionais [6]. Estes podem também ser úteis nos cuidados de saúde primários e na prática clínica, em geral, dada a sua maior facilidade de aplicação [9].

O diagnóstico da DA baseia-se essencialmente nas suas manifestações clínicas (Figuras 1 e 2). Estas variam com a faixa etária do doente, identificando-se normalmente 3 estádios. Na primeira infância (até aos 2 anos) as lesões de eczema começam por desenvolver-se na região zigomática e no couro cabeludo. Como estão associadas a prurido intenso, o ato de coçar acaba por transformá-las em erosões crostosas. Durante a infância (dos 2 aos 12 anos) as lesões envolvem as pregas cutâneas (antecubitais e poplíteas), a nuca e a face dorsal das pernas. Na adolescência e na vida adulta (maiores de 12 anos) o prurido pode persistir durante o dia e piorar à noite, o que provoca alterações do sono e afeta consideravelmente a qualidade de vida do doente [10].

### **- Patogenia**

Até há alguns anos a patogenia da DA era atribuída principalmente a fatores imunológicos, como o balanço Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub> e a sensibilização mediada pela IgE [11]. Mas, desde que se comprovou a associação da DA com uma alteração genética [5], esta dermatose voltou a captar a atenção do mundo científico.

Sabe-se, desde há muito, que as doenças alérgicas na sua globalidade são hereditárias, tendo a DA uma influência ainda maior de fatores genéticos [12]. Num estudo de 1992, demonstrou-se que o

risco de uma criança desenvolver DA, se um ou ambos os pais sofrerem da doença, é maior que o risco desta desenvolver asma ou rinite alérgica, se um ou ambos os pais sofrerem dessas patologias [13]. No entanto, existem estudos envolvendo gémeos monozigóticos, nos quais se observou uma expressão variável de atopia, o que sugere uma influência por fatores ambientais [14].

Ao longo do tempo, vários trabalhos de investigação foram realizados no sentido de determinar que gene, ou genes, estariam associados à DA. Apesar de mais de 100 estudos referirem uma associação da DA com um gene candidato, a maioria revelou validade insuficiente e uma demasiada heterogeneidade dos fenótipos analisados, o que torna difícil a replicação dessas associações. Desta forma, dos 81 genes testados, 46 tinham pelo menos um estudo com uma associação positiva citada. Destes, 13 (*FLG*, *IL4*, *IL4RA*, *SPINK5*, *CMA1*, *IL13*, *RANTES*, *CD14*, *DEFB1*, *GSTP1*, *IL18*, *NOD1*, *TIMI*) foram positivamente associados em pelo menos um outro estudo independente, sendo que o gene que codifica a filagrina, o *FLG*, mostrou uma mais forte associação à DA [12], a qual tem sido reproduzida e confirmada num grande número de estudos [15].

Os genes que se encontram no locus do complexo de diferenciação epidérmica (região do ADN que codifica as proteínas precursoras do envelope cornificado, as pequenas proteínas ricas em prolina, os membros da família S100 e os precursores da profilagrina) no cromossoma 1q21, são o alvo principal das investigações a genes candidatos e estão, de facto, associados a risco de DA [12].

Reconhece-se, atualmente, que as mutações do gene *FLG* constituem um forte fator de risco para a DA, tendo um indivíduo portador de mutação uma probabilidade 3 vezes superior de manifestar DA [16].

As mutações no gene *FLG* associam-se a DA de início precoce (antes dos 2 anos de idade) e persistente na idade adulta, podendo ser consideradas um indicador de mau prognóstico da doença [17-21]. Segundo Barker *et al.* [17], é expectável que em indivíduos portadores de uma ou mais mutações do gene *FLG*, a DA se inicie precocemente, uma vez que a alteração na formação da barreira cutânea ocorre desde o nascimento, e persista até à idade adulta.

Na investigação de Brown *et al.* [22], constatou-se que 85-100% dos indivíduos portadores de uma ou mais das 6 mutações no gene *FLG* que foram analisadas, podem apresentar alterações cutâneas

características (ictiose, queratose pilar, hiperlinearidade palmar e eczema flexural). Estas, sendo frequentemente assintomáticas, podem integrar fenótipos associados à deficiência em filagrina.

A “*Hipótese Higiénica*”, como explicação para o desenvolvimento da DA, fundamentou-se na observação de que várias doenças atópicas eram menos comuns em crianças com vários irmãos mais velhos, representando os irmãos uma possível fonte de infeções durante a primeira infância. Assim, preconizava-se um efeito protetor da existência de irmãos mais velhos no risco de desenvolvimento de doenças atópicas [23]. Mas, no estudo de Cramer *et al.* [24], verificou-se o efeito precisamente oposto, ou seja, crianças com mutações da filagrina apresentam um risco significativamente maior de virem a desenvolver DA, se tiverem irmãos mais velhos. Tal facto realça os distintos mecanismos patogénicos da doença, que dependem dos diferentes contextos genéticos dos indivíduos.

#### **- Papel da Filagrina na barreira cutânea**

A filagrina é a principal proteína necessária para a formação da camada córnea [25], que constitui a primeira barreira de proteção da pele, afastando substâncias e microrganismos e impedindo a perda de fluidos vitais, sendo formada e continuamente regenerada pelos queratinócitos, durante o processo denominado de queratinização [26]. A filagrina torna-se também essencial para a hidratação desta camada, uma vez que é a proteína precursora dos aminoácidos e de outros derivados conhecidos no seu conjunto pelo fator emoliente natural (FEN) [25].

A diferenciação da epiderme inicia-se com a migração dos queratinócitos da camada basal e termina com a formação do estrato córneo (EC) (o mesmo que *camada córnea*), ocorrendo sequencialmente proliferação, diferenciação e morte celular programada, sendo cada um destes processos caracterizado pela expressão de proteínas específicas [26]. Quando surgem alterações nos genes que codificam estas proteínas, a barreira cutânea fica comprometida na sua composição e função [27] (Figura 3).

Os queratinócitos mais profundos são ricos em queratinas e iniciam a sua migração da camada basal para a camada espinhosa, perdendo a sua atividade mitótica e iniciando a síntese de novas proteínas estruturais e de enzimas. Num estado mais avançado de diferenciação, os queratinócitos adquirem grânulos de querato-hialina, constituídos por profilagrina, a proteína precursora da filagrina, entre outros componentes [5, 26, 27]. A profilagrina é um polipeptídeo inativo, complexo e altamente fosforilado, que sofre desfosforilação e clivagem por proteases, libertando múltiplas cópias de peptídeos funcionais de filagrina [28]. Tal como o seu nome indica (do inglês, *FILAGGRIN: FILament AGGRegating proteIN* [29]), a filagrina agrega os filamentos de queratina em feixes compactados, o que provoca o colapso dos queratinócitos numa forma achatada, característica dos corneócitos do EC. Ocorre também produção de outras proteínas e de vários lípidos insolúveis (ceramidas, por exemplo), sendo que os últimos preenchem os espaços intercelulares e ajudam a formar uma barreira íntegra [26].

Os peptídeos de filagrina são progressivamente degradados por enzimas, originando um *pool* de aminoácidos hidrofílicos, como o ácido urocânico e o ácido pirrolidona carboxílico, cuja mistura constitui o conhecido FEN. Este, além de manter a hidratação do EC, também desempenha um papel na manutenção do pH da pele e na defesa antimicrobiana [28].

### **- A Descoberta da Filagrina**

Já se presumia há alguns anos a existência de uma ligação entre a Ictiose Vulgar (IV) e a profilagrina, mas a sequenciação do gene *FLG*, que codifica a profilagrina, era tecnicamente muito exigente à data [30]. A partir do momento em que a sequenciação se tornou exequível, foi possível demonstrar que as mutações do gene *FLG* causam IV, com um fenótipo intermédio nos heterozigóticos e um mais grave nos homozigóticos ou nos heterozigóticos compostos [31, 32].

Sabendo-se que frequentemente há ocorrência simultânea de IV e DA, demonstrou-se subsequentemente que estas mutações constituem um fator de risco major para a DA e outros distúrbios alérgicos e atópicos [5]. Verificou-se ainda que as mutações referidas são relativamente

comuns na população geral, demonstrando-se que 9% da população europeia é portadora de uma ou duas mutações com perda de função do gene *FLG* [30].

As mutações R501X e 2282del4 foram as inicialmente detetadas e ambas originam codões de terminação prematuros, causando ausência completa de filagrina processada na epiderme [32]. Nos anos seguintes foram detetadas novas mutações no gene *FLG*, não apenas na população europeia mas também em indivíduos de outras etnias ou origens geográficas [31, 33-36]. Atualmente são conhecidas 49 mutações na molécula de profilagrina [21, 37-39] (Figura 4), incluindo as 2 inicialmente detetadas, todas associadas a perda de função. Estas mutações apresentam especificidade para certos grupos étnicos, podendo encontrar-se mutações mais frequentes na população europeia e outras, distintas, mais frequentes na população asiática [38, 40-45].

#### **- Outras patologias associadas a mutações da Filagrina**

Um indivíduo atópico é caracterizado, entre outros aspetos, por testes *prick* positivos ou elevação da IgE específica a alérgenos alimentares e ambientais comuns [11]. O termo “marcha atópica” é comumente utilizado para caracterizar a progressão de manifestações atópicas, desde a DA até à asma e rinite alérgica, durante os primeiros anos de vida, sendo que a DA geralmente constitui a primeira manifestação de atopia, dando início a esta marcha [2].

A evidência genética recente revela que as mutações nulas no gene *FLG* são extremamente prevalentes em indivíduos atópicos, sugerindo que o defeito primário causal consiste na falência da função da barreira cutânea, permitindo a apresentação anormalmente potenciada de antígenos, alérgenos e químicos ao sistema imune [5, 19].

Verificou-se que, apesar das mutações do gene *FLG* conferirem um forte risco para o desenvolvimento de DA, estas não têm efeito no desenvolvimento de asma ou na sua gravidade se a DA não se encontrar presente e, assim, estas mutações não se associam a asma de forma isolada [46-48]. Estes resultados diferem dos veiculados em estudos anteriores, como o de Palmer *et al.* [49], o



qual defende que as referidas mutações estão associadas à gravidade da asma, mesmo na ausência de DA, tendo os portadores um maior risco de desenvolverem asma grave.

A filagrina não se expressa na mucosa brônquica [50], sendo que uma das prováveis explicações para a associação entre DA e asma na infância sugere que a presença de mutações no gene *FLG*, condicionando perda da integridade da barreira cutânea, permite a prévia sensibilização por via cutânea a aeroalergénios. Este conhecimento tem implicações terapêuticas relevantes uma vez que, caso seja efetuado um tratamento eficaz da DA, sobretudo um que restaure a barreira cutânea, talvez se possa diminuir a incidência de asma [51].

Foi, igualmente, detetada uma associação significativa entre a presença de mutações no gene *FLG* e o aumento do risco de desenvolvimento de rinite alérgica [48].

As mutações nulas do gene *FLG* também estão significativamente associadas ao eczema das mãos em indivíduos com DA, não existindo a mesma associação em indivíduos sem a doença. A presença conjunta destes dois fatores (DA e mutações nulas) está associada a eczema das mãos de início precoce e persistente [52]. A favor desta associação está ainda a constatação de que a DA é o fator de risco mais frequente para o desenvolvimento de eczema das mãos [53].

Outros estudos sugerem que as mutações nulas do gene *FLG* são fatores de risco para o desenvolvimento de sensibilização ao níquel [54, 55], atribuindo-se esse facto à deficiência em filagrina que, na pele saudável, promove a quelação dos íons de níquel impedindo a sua penetração e a apresentação às células de Langerhans [54].

Além das infeções por *Staphylococcus aureus*, comumente associadas aos doentes com DA [56], o eczema herpético (EH) surge como uma complicação rara, mas grave, que se observa, sobretudo, em formas mais severas da doença. Na maioria dos casos, consiste numa infeção disseminada pelo vírus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) e associa-se a morbilidade significativa, tendo-se caracterizado, no passado, pela possibilidade de casos fatais. Esta entidade pode complicar-se com querato-conjuntivite (que pode culminar em cegueira), envolvimento multiorgânico e meningoencefalite [57]. No estudo de Gao *et al.* [57] comprovou-se que as mutações no gene *FLG*

(principalmente a R501X) conferem um risco acrescido de desenvolvimento de EH no contexto de DA, por permitirem uma penetração facilitada do vírus na pele, com conseqüente resposta Th<sub>2</sub>, a qual diminui a resposta imune inata do hospedeiro. Contudo, o nível reduzido de peptídeos antimicrobianos na pele do doente com DA, como a  $\beta$ -defensina 2, é um outro fator predisponente importante para infecções cutâneas (bacterianas, víricas ou mesmo fúngicas) [58].

Tem havido um aumento paralelo na prevalência de alergias alimentares e de DA nos últimos anos, o que sugere que fatores ambientais comuns sejam importantes agentes causais destas patologias. Na presença de mutações no gene *FLG*, e com o conseqüente aumento da permeabilidade da pele às proteínas exógenas, a exposição cutânea a alérgenos alimentares pode constituir uma forma importante de desenvolvimento de alergias alimentares. No entanto, até à data, não se comprovou que a evicção destes alérgenos previna o desenvolvimento da alergia, assim como não se sabe ao certo se a exposição oral repetida aos mesmos pode promover o desenvolvimento de tolerância imunológica [59].

## Discussão

Existem atualmente dois estudos que não relacionam a presença de mutações no gene *FLG* com a DA. O estudo de Giardina *et al.* [60] detetou uma frequência muito inferior das mutações R501X e 2282del4 na população italiana (semelhantes entre casos e controlos), o que não as permite associar com a DA. Estes achados contrariam a maioria dos estudos efetuados na população europeia, o que poderá sugerir que existem mutações nulas no gene *FLG* na população italiana diferentes das pesquisadas no estudo, ou que estas poderão ter desaparecido desta população por mecanismos de seleção negativa. No estudo de 2011 de Cascella *et al.* [61], foi feita a sequenciação completa do gene *FLG* em doentes italianos com DA, em busca de novas mutações. Identificaram-se 3 novas mutações, R1798X, E3603X e R3638X, as quais, sendo também raras na população italiana, não permitiram estabelecer uma associação significativa com a presença de DA. Os autores concluem que apenas uma pequena percentagem dos doentes italianos com DA é portadora de mutações no gene *FLG* e que, sendo assim, estas não devem ser consideradas um fator de risco major para DA nesta população. Como justificação para a sua ausência propõem uma possível origem étnica diferente ou a ocorrência de seleção negativa.

Apenas um terço dos doentes com DA apresentam mutações com perda de função no gene *FLG*, pelo que a presença destas mutações somente explica as alterações da barreira cutânea num subgrupo de doentes. Haverá por isso outros fatores, além das mutações no gene *FLG*, implicados na alteração da barreira cutânea na DA, tendo sido sugeridos defeitos na dupla camada lipídica do EC como possíveis intervenientes [62].

Sabe-se que a patogénese da DA envolve respostas imunes alteradas, disfunção da barreira cutânea e fatores ambientais, mas atualmente investiga-se qual destes processos ocorre primeiro: será a DA uma lesão primária da barreira cutânea que conduz à inflamação, ou será que a DA se inicia como uma alteração imunológica que depois origina os defeitos da barreira cutânea? [63].

A descoberta de mutações no gene *FLG* sugere que a DA se inicia com uma disfunção epidérmica, mas até à data não existe nenhum estudo que comprove que esta precede a inflamação

[63]. Todavia, as mutações da filagrina, isoladamente, não explicam a progressão para um estado atópico, já que estas mesmas mutações, sendo herdadas de forma semi-dominante, dão origem à IV, uma dermatose não inflamatória [64].

Por outro lado, pensa-se que a inflamação na DA, pode desregular a função epidérmica ao provocar apoptose dos queratinócitos ou através da diminuição de peptídeos antimicrobianos, de lípidos do EC e da síntese de proteínas, incluindo a da própria filagrina [65].

A importância da filagrina na DA tem sido também proposta em doentes sem mutações no gene *FLG* [30]. Isto porque, a inflamação cutânea na DA está associada a expressão aumentada de várias citocinas, como a interleucina (IL) -4 e IL-13, as quais, por sua vez, diminuem a expressão proteica e a do gene *FLG* nos queratinócitos [65]. À IL-25, é também atribuído um papel na DA. Esta IL, produzida nas células dendríticas e nos mastócitos, liga-se a recetores dos queratinócitos promovendo uma diminuição da expressão de filagrina. A IL-25 atua, também, favorecendo a resposta Th<sub>2</sub>, levando à produção de citocinas (IL-4, IL-5, IL-13), ao aumento de IgE e à eosinofilia [66].

Partindo dos novos conhecimentos sobre a patofisiologia da DA é possível ambicionar novas hipóteses terapêuticas, dirigidas aos vários intervenientes neste cenário. Como existem variações inter-individuais nos doentes com DA, no que respeita aos mecanismos de doença e seus desencadeantes, seria benéfico identificar subgrupos e oferecer-lhes uma terapêutica mais individualizada e efetiva. Doentes com defeitos da barreira cutânea determinados geneticamente (mutações no gene *FLG*) ou outros com alterações ao nível da imunidade inata e adaptativa não têm uma origem comum para a sua DA, pelo que pode não ser eficiente tratá-los da mesma forma [67].

A espectroscopia de Raman constitui um método rápido e não invasivo de determinação *in vivo* da composição molecular da pele, através da análise quantitativa de aminoácidos e do conteúdo em água. Este pode ser um método alternativo à deteção das mutações da filagrina por genotipagem, este último um método invasivo, com custos elevados, algo moroso e de acesso por vezes limitado, especialmente em populações em que a arquitetura do gene *FLG* não está totalmente esclarecida [68, 69].

No estudo de Kesic *et al* [25], o uso da espectroscopia de Raman para a quantificação do FEN da pele, traduzindo a função do EC, mostrou que os indivíduos portadores de mutações nulas no gene *FLG* apresentam níveis inferiores de FEN (no EC) e uma maior perda transepidérmica de água, quando comparados com indivíduos sem a mutação. Estes resultados sugerem que a medição destes parâmetros pode ser usada como um marcador do *status* do gene *FLG* [25]. Assim, poder-se-á usar este método para determinar que crianças estão mais suscetíveis ao desenvolvimento de DA, pela análise da sua pele ao nascimento, numa fase em que ainda não possuem sintomas ou sinais da doença, podendo este ser um procedimento de extrema utilidade na deteção precoce da DA associada à deficiência de filagrina e um possível marcador das mutações no gene *FLG* [68]. Partindo deste conhecimento, pode instituir-se precocemente uma terapêutica adequada, com o objetivo de minimizar a deficiência de filagrina e diminuir a sobre-expressão de interleucinas, tais como a IL-4, IL-13 e IL-25. Medidas preventivas, como a evicção de fatores ambientais que aumentam o risco de desenvolvimento de DA tais como os fâneros de gato [70] ou o níquel [54], poderão complementar o tratamento [67].

Não existem estudos referentes à prevalência das mutações no gene *FLG* na população portuguesa, apenas se podendo extrapolar dos dados internacionais, o que não fornecerá um resultado exato, nomeadamente no que se refere ao tipo de mutações existentes. No entanto, é possível que a resposta a esta questão possa ser dada em ensaios clínicos que se encontram neste momento a decorrer.

## **Conclusão**

A DA constitui uma patologia muito prevalente, especialmente em idade pediátrica, que pode ser grave e debilitante, principalmente pela sua cronicidade. Apesar de existirem diversos estudos recentes sobre a sua complexa etiopatogenia, que fornecem novos e promissores dados a cada momento, ainda há muito a investigar neste campo.

As mutações da filagrina, apesar de constituírem o defeito genético mais implicado na etiopatogénese da DA, não explicam todos os casos da doença, sendo que, outros genes ou fatores ambientais e imunológicos devem, também, contribuir para o fenótipo, de forma independente ou através da modulação das ações da filagrina.

As mais recentes descobertas têm um grande impacto na classificação da DA e uma inerente aplicação no desenvolvimento de novas terapêuticas (como a criação de análogos da filagrina, do FEN ou de estimuladores da síntese de filagrina), cuja eficácia clínica carece ser testada em ensaios clínicos controlados para se poder aferir o seu potencial terapêutico.

Será também importante desvendar o mapa genético das mutações da filagrina nas diferentes populações. Seguidamente, novos métodos para identificação fácil e rápida de indivíduos portadores de mutações, e por isso em risco de desenvolverem DA, poderão também contribuir para conceber estratégias terapêuticas antecipadas. Desta forma, a possibilidade de um diagnóstico mais precoce e fiável e de um tratamento direcionado, tornar-se-á cada vez mais uma realidade, ambicionando evitar-se o desenvolvimento de DA grave e melhorar a qualidade de vida dos doentes.

## Referências

1. Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CK, Strachan DP, Weiland SK et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet* 2006;368:733-43.
2. Spergel JM. From atopic dermatitis to asthma: the atopic march. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2010;105:99-106.
3. Meltzer LJ, Moore M, Sleep Disruptions in parents of children and adolescents with chronic illnesses: prevalence, causes, and consequences. *J Pediatr Psychol* 2008;33:279-91.
4. Mancini AJ, Kaulback K, Chamlin SL, The socioeconomic impact of atopic dermatitis in the United States: a systematic review. *Pediatr Dermatol* 2008;25:1-6.
5. Palmer CN, Irvine AD, Kwiatkowski AT, Zhao Y, Liao H, Lee SP, et al. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet* 2006;38:441-6.
6. Brenninkmeijer EE, Schram ME, Leeflang MM, Bos JD, Spuls PI. Diagnostic criteria for atopic dermatitis: a systematic review. *Br J Dermatol* 2008;158:754-65.
7. Williams HC, Burney PG, Hay RJ, Archer CB, Shipley MJ, Hunter JJ, et al. The U.K. working party's diagnostic criteria for atopic dermatitis. I. Derivation of a minimum set of discriminators for atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1994;131:383-96.
8. Hanifin JM, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* 1980;92:44-7.
9. Williams HC, Grindlay DJ. What's new in atopic eczema? An analysis of systematic reviews published in 2007 and 2008. Part 1. Definitions, causes and consequences of eczema. *Clin Exp Dermatol* 2009;35:12-5.
10. Rupec RA, Boneberger S, Ruzicka T. What is really in control of skin immunity: lymphocytes, dendritic cells, or keratinocytes? facts and controversies. *Clin Dermatol* 2010;28:62-6.

11. Morais P, Mota A, Azevedo F. Mutações no gene FLG e eczema atópico - o estado da arte. *Trab Soc Port Dermatol Venereol* 2010;68:477-89.
12. Kathleen CB. An update on the genetics of atopic dermatitis: Scratching the surface in 2009. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:16-31.
13. Dold S, Wjst M, Mutius E, Reitmeir P, Stiepel E. Genetic risk for asthma, allergic rhinitis, and atopic dermatitis. *Arch Dis Child* 1992;67:1018-22.
14. Strachan DP, Wong HJ, Spector TD. Concordance and interrelationship of atopic diseases and markers of allergic sensitization among adult female twins. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:901-7.
15. Rodríguez E, Baurecht H, Herberich E, Wagenpfeil S, Brown SJ, Cordell HJ, et al. Meta-analysis of filaggrin polymorphisms in eczema and asthma: Robust risk factors in atopic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123:1361-70.
16. Baurecht H, Irvine AD, Novak N, Illig T, Buhler B, Ring J, et al. Toward a major risk factor for atopic eczema: Meta-analysis of filaggrin polymorphism data. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:1406-12.
17. Barker JN, Palmer CN, Zhao Y, Liao H, Hull PR, Lee SP, et al. Null mutations in the filaggrin gene (FLG) determine major susceptibility to early-onset atopic dermatitis that persists into adulthood. *J Invest Dermatol* 2006;127:564-7.
18. Stemmler S, Parwez Q, Parwez EP, Epplen JT, Hoffjan S. Two common loss-of-function mutations within the filaggrin gene predispose for early onset of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2006;127:722-4.
19. Weidinger S, Rodríguez E, Stahl C, Wagenpfeil S, Klopp N, Illig T, et al. Filaggrin mutations strongly predispose to early-onset and extrinsic atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2006;127:724-6.
20. Brown SJ, Sandilands A, Zhao Y, Liao H, Relton CL, Meggitt SJ, et al. Prevalent and low-frequency null mutations in the filaggrin gene are associated with early-onset and persistent atopic eczema. *J Invest Dermatol* 2007;128:1591-4.
21. Greisenegger EK, Novak N, Maintz L, Bieber T, Zimprich F, Haubenberger D, et al. Analysis of four prevalent filaggrin mutations (R501X, 2282del4, R2447X and S3247X) in Austrian and German patients with atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009;24:607-10.



22. Brown SJ, Relton CL, Liao H, Zhao Y, Sandilands A, McLean WH, et al. Filaggrin haploinsufficiency is highly penetrant and is associated with increased severity of eczema: further delineation of the skin phenotype in a prospective epidemiological study of 792 school children. *Br J Dermatol* 2009;161:884-9.
23. Karmaus W, Botezan C. Does a higher number of siblings protect against the development of allergy and asthma? A review. *J Epidemiol Community Health* 2002;56:209-17.
24. Cramer C, Link E, Horster M, Koletzko S, Bauer CP, Berdel D, et al. Elder siblings enhance the effect of filaggrin mutations on childhood eczema: Results from the 2 birth cohort studies LISApplus and GINIplus. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:1254-60.
25. Kezic S, Kemperman PM, Koster E, Jongh CM, Thio HB, Campbell LE, et al. Loss-of-function mutations in the filaggrin gene lead to reduced level of natural moisturizing factor in the stratum corneum. *J Invest Dermatol* 2008;128:2117-9.
26. Candi E, Schmidt R, Melino G. The cornified envelope: a model of cell death in the skin. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005;6:328-40.
27. Bouwstra JA, Ponc M. The skin barrier in healthy and diseased state. *Biochim Biophys Acta* 2006;1758:2080-95.
28. O'Regan GM, Sandilands A, McLean I, Irvine D. Filaggrin in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:689-93.
29. Steinert PM, Cantieri JS, Teller DC, Lonsdale-Ecclest JD, Dale BA. Characterization of a class of cationic proteins that specifically interact with intermediate filaments. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:4097-101.
30. McGrath JA. Filaggrin and the great epidermal barrier grief. *Australas J Dermatol* 2008;49:67-74.
31. Sandilands A, Kwiatkowski AT, Hull PR, O'Regan GM, Clayton TH, Watson RM, et al. Comprehensive analysis of the gene encoding filaggrin uncovers prevalent and rare mutations in ichthyosis vulgaris and atopic eczema. *Nat Genet* 2007;39:650-4.

32. Smith FJ, Irvine AD, Kwiatkowski AT, Sandilands A, Campbell L, Zhao Y, et al. Loss-of-function mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris. *Nat Genet* 2006;38:337-42.
33. Nomura T, Sandilands A, Akiyama M, Liao H, Evans AT, Sakai K, et al. Unique mutations in the filaggrin gene in Japanese patients with ichthyosis vulgaris and atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:434-40.
34. Morar N, Cookson WO, Harper JI, Moffatt MF. Filaggrin mutations in children with severe atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2007;127:1667-72.
35. Nomura T, Akiyama M, Sandilands A, Nemoto-Hasebe I, Sakai K, Nagasaki A, et al. Specific filaggrin mutations cause ichthyosis vulgaris and are significantly associated with atopic dermatitis in Japan. *J Invest Dermatol* 2008;128:1436-41.
36. Hamada T, Sandilands A, Fukuda S, Sakaguchi S, Ohyama B, Yasumoto S, et al. De novo occurrence of the filaggrin mutation p.R501X with prevalent mutation c.3321delA in a Japanese family with ichthyosis vulgaris complicated by atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2007;128:1323-5.
37. Irvine AD, McLean WH, Leung DY. Filaggrin mutations associated with skin and allergic diseases. *N Engl J Med* 2011;365:1315-27.
38. Chen H, Common JE, Haines RL, Balakrishnan A, Brown SJ, Goh CSM, et al. Wide spectrum of filaggrin-null mutations in atopic dermatitis highlights differences between Singaporean Chinese and European populations. *Br J Dermatol* 2011;165:106-14.
39. Zhang H, Guo Y, Wang W, Shi M, Chen X, Yao Z. Mutations in the filaggrin gene in Han Chinese patients with atopic dermatitis. *Allergy* 2011;66:420-7.
40. Osawa R, Konno S, Akiyama M, Nemoto-Hasebe I, Nomura T, Abe R, et al. Japanese-specific filaggrin gene mutations in Japanese patients suffering from atopic eczema and asthma. *J Invest Dermatol* 2010;130:2834-6.
41. Akiyama M, FLG mutations in ichthyosis vulgaris and atopic eczema: spectrum of mutations and population genetics. *Br J Dermatol* 2010;162:472-7.
42. Ma L, Zhang L, Di ZH, Zhao LP, Lu YN, Xu J, et al. Association analysis of filaggrin gene mutations and atopic dermatitis in Northern China. *Br J Dermatol* 2010;162:225-7.

43. Ching GK, Hon KL, Ng PC, Leung TF. Filaggrin null mutations in childhood atopic dermatitis among the Chinese. *Int J Immunogenet* 2009;36:251-4.
44. Nomura T, Akiyama M, Sandilands A, Nemoto-Hasebe I, Sakai K, Nagasaki A, et al. Prevalent and rare mutations in the gene encoding filaggrin in Japanese patients with ichthyosis vulgaris and atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2008;129:1302-5.
45. Enomoto H, Hirata K, Otsuka K, Kawai T, Takahashi T, Hirota T, et al. Filaggrin null mutations are associated with atopic dermatitis and elevated levels of IgE in the Japanese population: a family and case-control study. *J Hum Genet* 2008;53:615-21.
46. Rogers AJ, Celedón JC, Lasky-Su JA, Weiss ST, Raby BA. Filaggrin mutations confer susceptibility to atopic dermatitis but not to asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:1332-7.
47. Henderson J, Northstone K, Lee SP, Liao H, Zhao Y, Pembrey M, et al. The burden of disease associated with filaggrin mutations: a population-based, longitudinal birth cohort study. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:872-7.
48. Weidinger S, O'Sullivan M, Illig T, Baurecht H, Depner M, Rodriguez E, et al. Filaggrin mutations, atopic eczema, hay fever, and asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:1203-9.
49. Palmer CN, Ismail T, Lee SP, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, et al. Filaggrin null mutations are associated with increased asthma severity in children and young adults. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:64-8.
50. Ying S, Meng Q, Corrigan CJ, Lee TH. Lack of filaggrin expression in the human bronchial mucosa. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:1386-8.
51. Burgess JA, Lowe AJ, Matheson MC, Varigos G, Abramson MJ, Dharmage SC. Does eczema lead to asthma? *J Asthma* 2009;46:429-36.
52. Thyssen JP, Carlsen BC, Menné T, Linneberg A, Nielsen NH, Meldgaard M, et al. Filaggrin null mutations increase the risk and persistence of hand eczema in subjects with atopic dermatitis: results from a general population study. *Br J Dermatol* 2010;163:115-20.
53. Giwercman C, Lerbaek A, Bisgaard H, Menné T. Classification of atopic hand eczema and the filaggrin mutations. *Contact Dermatitis* 2008;59:257-60.

54. Thyssen JP, Johansen JD, Linneberg A, Menné T, Nielsen NH, Meldgaard M, et al. The association between null mutations in the filaggrin gene and contact sensitization to nickel and other chemicals in the general population. *Br J Dermatol* 2010;162:1278-85.
55. Hanifin JM. Filaggrin mutations and allergic contact sensitization. *J Invest Dermatol* 2008;128:1362-4.
56. Agner T. Staphylococcal-mediated worsening of atopic dermatitis: many players involved. *Br J Dermatol* 2010;163:1147.
57. Gao PS, Rafaels NM, Hand T, Murray T, Boguniewicz M, Hata T, et al. Filaggrin mutations that confer risk of atopic dermatitis confer greater risk for eczema herpeticum. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:507-13.
58. Ong PY, Ohtake T, Brandt C, Strickland I, Boguniewicz M, Ganz T, et al. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N Engl J Med* 2002;347:1151-60.
59. Worth A, Sheikh A. Food allergy and atopic eczema. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010;10:226-30.
60. Giardina E, Paolillo N, Sinibaldi C, Novelli G. R501X and 2282del4 filaggrin mutations do not confer susceptibility to psoriasis and atopic dermatitis in Italian patients. *Dermatology* 2008;216:83-4.
61. Cascella R, Cuzzola F, Lepre T, Galli E, Moschese V, Chini L, et al. Full sequencing of the FLG gene in Italian patients with atopic eczema: evidence of new mutations, but lack of an association. *J Invest Dermatol* 2011;131:982-4.
62. Jakasa I, Koster ES, Calkoen F, McLean WH, Campbell LE, Bos JD, et al. Skin barrier function in healthy subjects and patients with atopic dermatitis in relation to filaggrin loss-of-function mutations. *J Invest Dermatol* 2011;131:540-2.
63. Simpson E. Are epidermal defects the key initiating factors in the development of atopic dermatitis? *Br J Dermatol* 2010;163:1147-8.
64. O'Regan GM, Irvine AD. The role of filaggrin in the atopic diathesis. *Clin Exp Allergy* 2010;40:965-72.

65. Howell MD, Kim BE, Gao P, Grant AV, Boguniewicz M, De Benedetto A, et al. Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin skin expression. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:150-5.
66. Hvid M, Vestergaard C, Kemp K, Christensen GB, Deleuran B, Deleuran M. IL-25 in atopic dermatitis: a possible link between inflammation and skin barrier dysfunction? *J Invest Dermatol* 2011;131:150-7.
67. Novak N, Simon D. Atopic dermatitis – from new pathophysiologic insights to individualized therapy. *Allergy* 2011;66:830-9.
68. González FJ, Alda J, Moreno-Cruz B, Martínez-Escanamé M, Ramírez-Elías MG, et al. Use of Raman spectroscopy for the early detection of filaggrin-related atopic dermatitis. *Skin Res Technol* 2011;17:45-50.
69. O'Regan GM, Kemperman PM, Sandilands A, Chen H, Campbell LE, Kroboth K, et al. Raman profiles of the stratum corneum define 3 filaggrin genotype–determined atopic dermatitis endophenotypes. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:574-80.
70. Bisgaard H, Simpson A, Palmer CN, Bønnelykke K, McLean I, Mukhopadhyay S, et al. Gene-environment interaction in the onset of eczema in infancy: filaggrin loss-of-function mutations enhanced by neonatal cat exposure. *PLoS Med* 2008;5:e131.

## Tabelas

**Tabela 1** – Critérios de diagnóstico de Dermatite Atópica de acordo com o *UK Working Party*

(Adaptado de referência [9])

---

Devem apresentar:

- prurido (ou referência pelos pais aos atos de arranhar e esfregar a pele) nos últimos 12 meses

E três ou mais dos seguintes:

- história de envolvimento de pregas cutâneas (antecubital, poplítea, superfície anterior do tornozelo, à volta do pescoço e dos olhos)
  - história pessoal de asma ou febre dos fenos (ou história de doença atópica em familiares de primeiro grau, se a criança tiver mais de 4 anos de idade)
  - história de xerose cutânea generalizada no último ano
  - início antes dos 2 anos (não usado se a criança tiver mais de 4 anos de idade)
  - dermatite flexural visível (incluindo dermatite que afeta a região zigomática, região frontal e áreas externas dos membros em crianças com mais de 4 anos de idade)
-

## Figuras

**Figura 1** – Pormenor da face de uma criança de 3 anos com Dermatite Atópica.



**Legenda:** Notar o envolvimento de toda a face, com descamação cutânea difusa sobre uma base eritematosa. São perceptíveis algumas escoriações na região frontal, provavelmente decorrentes do ato de coçar, secundário ao prurido marcado. *Fotografia gentilmente cedida pelo Dr. Paulo Morais.*

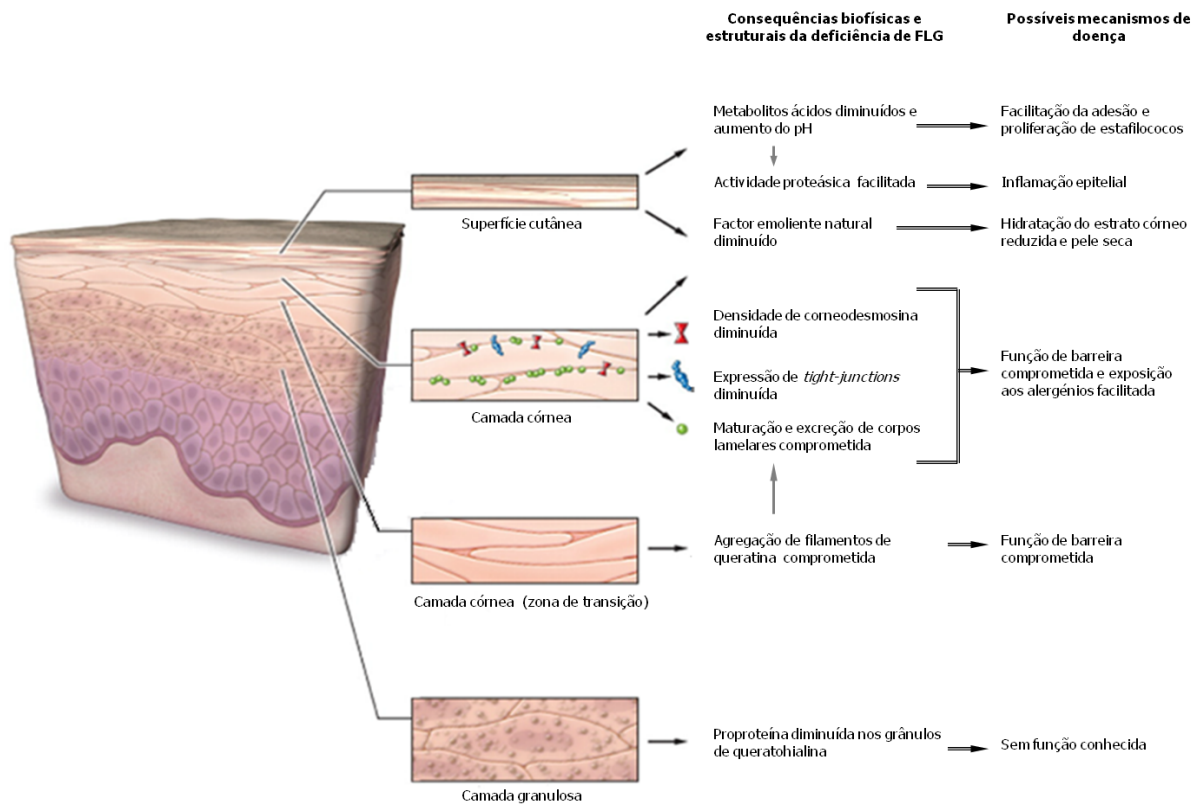
**Figura 2** - Pormenor do abdómen de uma criança de 3 anos com Dermatite Atópica.



**Legenda:** O prurido intenso é incómodo e, inclusivamente, leva esta criança a beliscar-se numa tentativa de alívio do seu sofrimento. São visíveis pápulas e placas eritematosas, crostas e escoriações, mais pronunciadas nos antebraços e dorso das mãos. *Fotografia gentilmente cedida pelo Dr. Paulo Morais.*



**Figura 3** – Deficiência em filagrina e mecanismos prováveis de doença

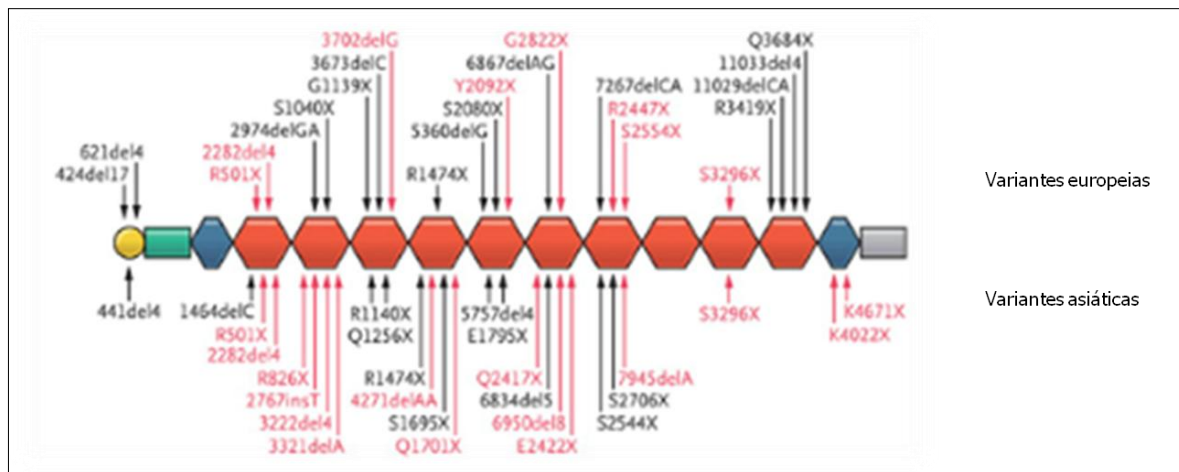


**Legenda:** A deficiência em filagrina resulta em inúmeras alterações na camada córnea, de diferenciação, estruturais, biofísicas e funcionais, que provavelmente têm uma relação direta com a patogénese da Ictiose Vulgar e da Dermatite Atópica. Na camada granulosa, a proproteína profilagrina é armazenada em grânulos de queratohialina, num estado funcionalmente inerte. Na interface da zona de transição da camada córnea com a camada granulosa, a agregação comprometida de filamentos de queratina provoca uma alteração da excreção de corpos lamelares, com consequente compromisso da função de barreira. Na camada córnea, a deficiência de filagrina está associada a múltiplas alterações estruturais, incluindo a diminuição da densidade de corneodesmosina, a expressão diminuída de *tight-junctions* e, mais importante, ao compromisso da maturação e excreção de corpos lamelares. Estas alterações podem ser mediadas pelo pH aumentado e pela diminuição da concentração de metabolitos ácidos, resultantes da degradação da filagrina. Todas estas alterações contribuem para o compromisso da função de barreira e facilitam a apresentação antigénica às células dendríticas da epiderme. Por fim, na superfície cutânea, os níveis diminuídos de fator emoliente natural conduzem à perda de hidratação e favorecem a secura cutânea. Além disso, os níveis diminuídos de ácido urocânico e ácido pirrolidona

carboxílico, facilitam a adesão e proliferação de *Staphylococcus aureus*. O aumento do pH da pele favorece a atividade de várias proteases que clivam pró-formas de IL-1, contribuindo possivelmente para a inflamação epitelial e destruição da barreira cutânea adicional. *FLG* – gene da filagrina.

(Adaptado de referência [37])

**Figura 4** – Diferentes mutações da filagrina



**Legenda:** As 49 mutações do gene da filagrina, com destaque para as variantes europeias e asiáticas.

As mutações a vermelho são as mais frequentes nestas populações e a preto encontram-se as mutações raras ou específicas de determinada família. (Adaptado de referência [37])

## **Anexo 1 – Permissão para uso de material**



# The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

## Permission to Use NEJM Material in a Thesis or Dissertation

This permission applies only to copyrighted material that the Massachusetts Medical Society owns, and not to copyrighted text or illustrations from other sources.

All content reproduced from copyrighted material owned by the Massachusetts Medical Society (MMS) remains the full and exclusive copyrighted property of the MMS. The right to grant to a third party is reserved solely by the MMS.

Copyrighted MMS content may not be used in any manner that implies endorsement, sponsorship, or promotion of any entity, product or service by the MMS or its publications. The MMS cannot authorize use of authors' names on promotional materials; such approval must be obtained directly from authors.

The *New England Journal of Medicine* (and its logo design) are registered trademarks of the Massachusetts Medical Society. We do not grant permission for our logo, cover, or brand identity to be used in materials produced by other organizations. NEJM does not issue grants of permission for blanket use of its material. Non-exclusive grants are issued for identified content to be used in a specific manner. We do provide worldwide rights.

## **MODIFICATIONS/ADAPTATIONS**

Grants of permission are issued for the material to be used as originally published by MMS. MMS does not approve adaptations or modifications.

Formatting and stylistic changes and any explanatory material or figure legends used by the requestor must accurately reflect the material as originally published in the *New England Journal of Medicine*.

\*This grant covers the right to use the material in print and electronic formats. Figures/Tables that contain text, may be translated.

## **Anexo 2 – Normas de publicação**

# Instruções aos Autores

Estas instruções seguem os "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (disponível em URL: [www.icmje.org](http://www.icmje.org)).

**Os ARQUIVOS DE MEDICINA publicam investigação original nas diferentes áreas da medicina, favorecendo investigação de qualidade, particularmente a que descreva a realidade nacional.**

Os manuscritos são avaliados inicialmente por membros do corpo editorial e a publicação daqueles que forem considerados adequados fica dependente do parecer técnico de pelo menos dois revisores externos. A revisão é feita anonimamente, podendo os revisores propor, por escrito, alterações de conteúdo ou de forma ao(s) autor(es), condicionando a publicação do artigo à sua efectivação.

Todos os artigos solicitados serão submetidos a avaliação externa e seguirão o mesmo processo editorial dos artigos de investigação original.

Apesar dos editores e dos revisores desenvolverem os esforços necessários para assegurar a qualidade técnica e científica dos manuscritos publicados, a responsabilidade final do conteúdo das publicações é dos autores.

Todos os artigos publicados passam a ser propriedade dos ARQUIVOS DE MEDICINA. Uma vez aceites, os manuscritos não podem ser publicados numa forma semelhante noutros locais, em nenhuma língua, sem o consentimento dos ARQUIVOS DE MEDICINA.

Apenas serão avaliados manuscritos contendo material original que não estejam ainda publicados, na íntegra ou em parte (incluindo tabelas e figuras), e que não estejam a ser submetidos para publicação noutros locais. Esta restrição não se aplica a notas de imprensa ou a resumos publicados no âmbito de reuniões científicas. Quando existem publicações semelhantes à que é submetida ou quando existirem dúvidas relativamente ao cumprimento dos critérios acima mencionados estas devem ser anexadas ao manuscrito em submissão.

Antes de submeter um manuscrito aos ARQUIVOS DE MEDICINA os autores têm que assegurar todas as autorizações necessárias para a publicação do material submetido.

De acordo com uma avaliação efectuada sobre o material apresentado à revista os editores dos ARQUIVOS DE MEDICINA prevêm publicar aproximadamente 30% dos manuscritos submetidos, sendo que cerca de 25% serão provavelmente rejeitados pelos editores no primeiro mês após a recepção sem avaliação externa.

## TIPOLOGIA DOS ARTIGOS PUBLICADOS NOS ARQUIVOS DE MEDICINA

### Artigos de investigação original

Resultados de investigação original, qualitativa ou quantitativa.

O texto deve ser limitado a 2000 palavras, excluindo referências e tabelas, e organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 4 tabelas e/ou figuras (total) e até 15 referências.

Todos os artigos de investigação original devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

### Publicações breves

Resultados preliminares ou achados novos podem ser objecto de publicações breves.

O texto deve ser limitado a 1000 palavras, excluindo referências e tabelas, e organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

As publicações breves devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

### Artigos de revisão

Artigos de revisão sobre temas das diferentes áreas da medicina e dirigidos aos profissionais de saúde, particularmente com impacto na sua prática.

Os ARQUIVOS DE MEDICINA publicam essencialmente artigos de revisão solicitados pelos editores. Contudo, também serão avaliados artigos de revisão submetidos sem solicitação prévia, preferencialmente revisões quantitativas (Meta-análise).

O texto deve ser limitado a 5000 palavras, excluindo referências e tabelas, e apresentar um máximo de 5 tabelas e/ou figuras (total). As revisões quantitativas devem ser organizadas em introdução, métodos, resultados e discussão.

As revisões devem apresentar resumos não estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada, devendo ser estruturados no caso das revisões quantitativas.

### Comentários

Comentários, ensaios, análises críticas ou declarações de posição acerca de tópicos de interesse na área da saúde, designadamente políticas de saúde e educação médica.

O texto deve ser limitado a 900 palavras, excluindo referências e tabelas, e incluir no máximo uma tabela ou figura e até 5 referências.

Os comentários não devem apresentar resumos.

### Casos clínicos

Os ARQUIVOS DE MEDICINA transcrevem casos publicamente apresentados trimestralmente pelos médicos do Hospital de S. João numa selecção acordada com o corpo editorial da revista. No entanto é bem vinda a descrição de casos clínicos verdadeiramente exemplares, profundamente estudados e discutidos. O texto deve ser limitado a 1200 palavras, excluindo referências e tabelas, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

Os casos clínicos devem apresentar resumos não estruturados em português e em inglês, com um máximo de 120 palavras cada.

### Séries de casos

Descrições de séries de casos, tanto numa perspectiva de tratamento estatístico como de reflexão sobre uma experiência particular de diagnóstico, tratamento ou prognóstico.

O texto deve ser limitado a 1200 palavras, excluindo referências e tabelas, organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

As séries de casos devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

### Cartas ao editor

Comentários sucintos a artigos publicados nos ARQUIVOS DE MEDICINA ou relatando de forma muito objectiva os resultados de observação clínica ou investigação original que não justifiquem um tratamento mais elaborado.

O texto deve ser limitado a 400 palavras, excluindo referências e tabelas, e incluir no máximo uma tabela ou figura e até 5 referências.

As cartas ao editor não devem apresentar resumos.

### Revisões de livros ou software

Revisões críticas de livros, software ou sítios da internet.

O texto deve ser limitado a 600 palavras, sem tabelas nem figuras, com um máximo de 3 referências, incluindo a do objecto da revisão.

As revisões de livros ou software não devem apresentar resumos.

## FORMATAÇÃO DOS MANUSCRITOS

A formatação dos artigos submetidos para publicação nos ARQUIVOS DE MEDICINA deve seguir os "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals".

Todo o manuscrito, incluindo referências, tabelas e legendas de figuras, deve ser redigido a dois espaços, com letra a 11 pontos, e justificado à esquerda.

Aconselha-se a utilização das letras Times, Times New Roman, Courier, Helvetica, Arial, e Symbol para caracteres especiais.

Devem ser numeradas todas as páginas, incluindo a página do título.

Devem ser apresentadas margens com 2,5 cm em todo o manuscrito. Devem ser inseridas quebras de página entre cada secção.

Não devem ser inseridos cabeçalhos nem rodapés.

Deve ser evitada a utilização não técnica de termos estatísticos como aleatório, normal, significativo, correlação e amostra.

Apenas será efectuada a reprodução de citações, tabelas ou ilustrações de fontes sujeitas a direitos de autor com citação completa da fonte e com autorizações do detentor dos direitos de autor.

#### Unidades de medida

Devem ser utilizadas as unidades de medida do Sistema Internacional (SI), mas os editores podem solicitar a apresentação de outras unidades não pertencentes ao SI.

#### Abreviaturas

Devem ser evitados acrónimos e abreviaturas, especialmente no título e nos resumos. Quando for necessária a sua utilização devem ser definidos na primeira vez que são mencionados no texto e também nos resumos e em cada tabela e figura, excepto no caso das unidades de medida.

#### Nomes de medicamentos

Deve ser utilizada a Designação Comum Internacional (DCI) de fármacos em vez de nomes comerciais de medicamentos. Quando forem utilizadas marcas registadas na investigação, pode ser mencionado o nome do medicamento e o nome do laboratório entre parêntesis.

#### Página do título

Na primeira página do manuscrito deve constar:

- 1) o título (conciso e descritivo);
- 2) um título abreviado (com um máximo de 40 caracteres, incluindo espaços);
- 3) os nomes dos autores, incluindo o primeiro nome (não incluir graus académicos ou títulos honoríficos);
- 4) a filiação institucional de cada autor no momento em que o trabalho foi realizado;
- 5) o nome e contactos do autor que deverá receber a correspondência, incluindo endereço, telefone, fax e e-mail;
- 6) os agradecimentos, incluindo fontes de financiamento, bolsas de estudo e colaboradores que não cumpram critérios para autoria;
- 7) contagens de palavras separadamente para cada um dos resumos e para o texto principal (não incluindo referências, tabelas ou figuras).

#### Autoria

Como referido nos "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals", a autoria requer uma contribuição substancial para:

- 1) concepção e desenho do estudo, ou obtenção dos dados, ou análise e interpretação dos dados;
- 2) redacção do manuscrito ou revisão crítica do seu conteúdo intelectual;
- 3) aprovação final da versão submetida para publicação.

A obtenção de financiamento, a recolha de dados ou a supervisão geral do grupo de trabalho, por si só, não justificam autoria.

É necessário especificar na carta de apresentação o contributo de cada autor para o trabalho. Esta informação será publicada.

Exemplo: José Silva concebeu o estudo e supervisionou todos os aspectos da sua implementação. António Silva colaborou na concepção do estudo e efectuou a análise dos dados. Manuel Silva efectuou a recolha de dados e colaborou na sua análise. Todos os autores contribuíram para a interpretação dos resultados e revisão dos rascunhos do manuscrito.

Nos manuscritos assinados por mais de 6 autores (3 autores no caso das cartas ao editor), tem que ser explicitada a razão de uma autoria tão alargada.

É necessária a aprovação de todos os autores, por escrito, de quaisquer modificações da autoria do artigo após a sua submissão.

#### Agradecimentos

Devem ser mencionados na secção de agradecimentos os colaboradores que contribuíram substancialmente para o trabalho mas que não cumpram os critérios para autoria, especificando o seu contributo, bem como as fontes de financiamento, incluindo bolsas de estudo.

#### Resumos

Os resumos de artigos de investigação original, publicações breves, revisões quantitativas e séries de casos devem ser estruturados (introdução, métodos, resultados e conclusões) e apresentar conteúdo semelhante ao do manuscrito.

Os resumos de manuscritos não estruturados (revisões não quantitativas e casos clínicos) também não devem ser estruturados.

Nos resumos não devem ser utilizadas referências e as abreviaturas devem ser limitadas ao mínimo.

#### Palavras-chave

Devem ser indicadas até seis palavras-chave, em português e em inglês, nas páginas dos resumos, preferencialmente em concordância com o Medical Subject Headings (MeSH) utilizado no Index Medicus. Nos manuscritos que não apresentam resumos as palavras-chave devem ser apresentadas no final do manuscrito.

#### Introdução

Deve mencionar os objectivos do trabalho e a justificação para a sua realização.

Nesta secção apenas devem ser efectuadas as referências indispensáveis para justificar os objectivos do estudo.

#### Métodos

Nesta secção devem descrever-se:

- 1) a amostra em estudo;
- 2) a localização do estudo no tempo e no espaço;
- 3) os métodos de recolha de dados;
- 4) análise dos dados.

As considerações éticas devem ser efectuadas no final desta secção.

#### Análise dos dados

Os métodos estatísticos devem ser descritos com o detalhe suficiente para que possa ser possível reproduzir os resultados apresentados.

Sempre que possível deve ser quantificada a imprecisão das estimativas apresentadas, designadamente através da apresentação de intervalos de confiança. Deve evitar-se uma utilização excessiva de testes de hipóteses, com o uso de valores de p, que não fornecem informação quantitativa importante.

Deve ser mencionado o software utilizado na análise dos dados.

#### Considerações éticas e consentimento informado

Os autores devem assegurar que todas as investigações envolvendo seres humanos foram aprovadas por comissões de ética das instituições em que a investigação tenha sido desenvolvida, de acordo com a Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial ([www.wma.net](http://www.wma.net)).

Na secção de métodos do manuscrito deve ser mencionada esta aprovação e a obtenção de consentimento informado, quando aplicável.

#### Resultados

Os resultados devem ser apresentados, no texto, tabelas e figuras, seguindo uma sequência lógica.

Não deve ser fornecida informação em duplicado no texto e nas tabelas ou figuras, bastando descrever as principais observações referidas nas tabelas ou figuras.

Independentemente da limitação do número de figuras propostos para cada tipo de artigo, só devem ser apresentados gráficos quando da sua utilização resultarem claros benefícios para a compreensão dos resultados.

#### Apresentação de dados numéricos

A precisão numérica utilizada na apresentação dos resultados não deve ser superior à permitida pelos instrumentos de avaliação.

Para variáveis quantitativas as medidas apresentadas não deverão ter mais do que uma casa decimal do que os dados brutos.

As proporções devem ser apresentadas com apenas uma casa decimal e no caso de amostras pequenas não devem ser apresentadas casas decimais.

Os valores de estatísticas teste, como t ou  $\chi^2$ , e os coeficientes de correlação devem ser apresentados com um máximo de duas casas decimais.

Os valores de p devem ser apresentados com um ou dois algarismos significativos e nunca na forma de p=NS, p<0,05 ou p>0,05, na medida em que a informação contida no valor de P pode ser importante. Nos casos em



que o valor de  $p$  é muito pequeno (inferior a 0,0001), pode apresentar-se como  $p < 0,0001$ .

#### Tabelas e figuras

As tabelas devem surgir após as referências. As figuras devem surgir após as tabelas.

Devem ser mencionadas no texto todas as tabelas e figuras, numeradas (numeração árabe separadamente para tabelas e figuras) de acordo com a ordem em que são discutidas no texto.

Cada tabela ou figura deve ser acompanhada de um título e notas explicativas (ex. definições de abreviaturas) de modo a serem compreendidas e interpretadas sem recurso ao texto do manuscrito.

Para as notas explicativas das tabelas ou figuras devem ser utilizados os seguintes símbolos, nesta mesma sequência:

\*, †, ‡, §, ||, ¶, \*\*, ††, ‡‡.

Cada tabela ou figura deve ser apresentada em páginas separadas, juntamente com o título e as notas explicativas.

Nas tabelas devem ser utilizadas apenas linhas horizontais.

As figuras, incluindo gráficos, mapas, ilustrações, fotografias ou outros materiais devem ser criadas em computador ou produzidas profissionalmente.

As figuras devem incluir legendas.

Os símbolos, setas ou letras devem contrastar com o fundo de fotografias ou ilustrações.

A dimensão das figuras é habitualmente reduzida à largura de uma coluna, pelo que as figuras e o texto que as acompanha devem ser facilmente legíveis após redução.

Na primeira submissão do manuscrito não devem ser enviados originais de fotografias, ilustrações ou outros materiais como películas de raios-X. As figuras, criadas em computador ou convertidas em formato electrónico após digitalização devem ser inseridas no ficheiro do manuscrito.

Uma vez que a impressão final será a preto e branco ou em tons de cinzento, os gráficos não deverão ter cores. Gráficos a três dimensões apenas serão aceites em situações excepcionais.

A resolução de imagens a preto e branco deve ser de pelo menos 1200 dpi e a de imagens com tons de cinzento ou a cores deve ser de pelo menos 300 dpi.

As legendas, símbolos, setas ou letras devem ser inseridas no ficheiro da imagem das fotografias ou ilustrações.

Os custos da publicação das figuras a cores serão suportados pelos autores.

Em caso de aceitação do manuscrito, serão solicitadas as figuras nos formatos mais adequados para a produção da revista.

#### Discussão

Na discussão não deve ser repetida detalhadamente a informação fornecida na secção dos resultados, mas devem ser discutidas as limitações do estudo, a relação dos resultados obtidos com o observado noutras investigações e devem ser evidenciados os aspectos inovadores do estudo e as conclusões que deles resultam.

É importante que as conclusões estejam de acordo com os objectivos do estudo, mas devem ser evitadas afirmações e conclusões que não sejam completamente apoiadas pelos resultados da investigação em causa.

#### Referências

As referências devem ser listadas após o texto principal, numeradas consecutivamente de acordo com a ordem da sua citação. Os números das referências devem ser apresentados entre parentesis. Não deve ser utilizado software para numeração automática das referências.

Pode ser encontrada nos "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" uma descrição pormenorizada do formato dos diferentes tipos de referências, de que se acrescentam alguns exemplos:

##### 1. Artigo

• Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increase risk for pancreaticobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996;124:980-3.

##### 2. Artigo com Organização como Autor

• The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 64:282-4.

##### 3. Artigo publicado em Volume com Suplemento

• Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1:275-82.

##### 4. Artigo publicado em Número com Suplemento

payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996;23 (1 Suppl 2):89-97.

##### 5. Livro

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers;1996.

##### 6. Livro (Editor(s) como Autor(es))

Norman IJ, Redfern SJ, editores. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone;1996.

##### 7. Livro (Organização como Autor e Editor)

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute;1992.

##### 8. Capítulo de Livro

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press;1995. p. 465-78.

##### 9. Artigo em Formato Electrónico

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1 (1): [24 screens]. Disponível em: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Devem ser utilizados os nomes abreviados das publicações, de acordo com o adoptado pelo Index Medicus. Uma lista de publicações pode ser obtida em <http://www.nlm.nih.gov>.

Deve ser evitada a citação de resumos e comunicações pessoais.

Os autores devem verificar se todas as referências estão de acordo com os documentos originais.

#### Anexos

Material muito extenso para a publicação com o manuscrito, designadamente tabelas muito extensas ou instrumentos de recolha de dados, poderá ser solicitado aos autores para que seja fornecido a pedido dos interessados.

#### Conflitos de interesse

Os autores de qualquer manuscrito submetido devem revelar no momento da submissão a existência de conflitos de interesse ou declarar a sua inexistência.

Essa informação será mantida confidencial durante a revisão do manuscrito pelos avaliadores externos e não influenciará a decisão editorial mas será publicada se o artigo for aceite.

#### Autorizações

Antes de submeter um manuscrito aos ARQUIVOS DE MEDICINA os autores devem ter em sua posse os seguintes documentos que poderão ser solicitados pelo corpo editorial:

- consentimento informado de cada participante;
- consentimento informado de cada indivíduo presente em fotografias, mesmo quando forem efectuadas tentativas de ocultar a respectiva identidade;
- transferência de direitos de autor de imagens ou ilustrações;
- autorizações para utilização de material previamente publicado;
- autorizações dos colaboradores mencionados na secção de agradecimentos.

#### SUBMISSÃO DE MANUSCRITOS

Os manuscritos submetidos aos ARQUIVOS DE MEDICINA devem ser preparados de acordo com as recomendações acima indicadas e devem ser acompanhados de uma carta de apresentação.

**Carta de apresentação**

Deve incluir a seguinte informação:

- 1) Título completo do manuscrito;
- 2) Nomes dos autores com especificação do contributo de cada um para o manuscrito;
- 3) Justificação de um número elevado de autores, quando aplicável;
- 4) Tipo de artigo, de acordo com a classificação dos ARQUIVOS DE MEDICINA;
- 5) Fontes de financiamento, incluindo bolsas;
- 6) Revelação de conflitos de interesse ou declaração da sua ausência;
- 7) Declaração de que o manuscrito não foi ainda publicado, na íntegra ou em parte, e que nenhuma versão do manuscrito está a ser avaliada por outra revista;
- 8) Declaração de que todos os autores aprovaram a versão do manuscrito que está a ser submetida;
- 9) Assinatura de todos os autores.

É dada preferência à submissão dos manuscritos por e-mail (submit@arquivosdemedicina.org).

O manuscrito e a carta de apresentação devem, neste caso, ser enviados em ficheiros separados em formato word. Deve ser enviada por fax (225074374) uma cópia da carta de apresentação assinada por todos os autores.

Se não for possível efectuar a submissão por e-mail esta pode ser efectuada por correio para o seguinte endereço:

ARQUIVOS DE MEDICINA  
Faculdade de Medicina do Porto  
Alameda Prof. Hernâni Monteiro  
4200 – 319 Porto, Portugal

Os manuscritos devem, então, ser submetidos em triplicado (1 original impresso apenas numa das páginas e 2 cópias com impressão frente e verso), acompanhados da carta de apresentação.

Os manuscritos rejeitados ou o material que os acompanha não serão devolvidos, excepto quando expressamente solicitado no momento da submissão.

**CORRECÇÃO DOS MANUSCRITOS**

A aceitação dos manuscritos relativamente aos quais forem solicitadas alterações fica condicionada à sua realização.

A versão corrigida do manuscrito deve ser enviada com as alterações sublinhadas para facilitar a sua verificação e deve ser acompanhada duma carta respondendo a cada um dos comentários efectuados.

Os manuscritos só poderão ser considerados aceites após confirmação das alterações solicitadas.

**MANUSCRITOS ACEITES**

Uma vez comunicada a aceitação dos manuscritos, deve ser enviada a sua versão final em ficheiro de Word<sup>®</sup>, formatada de acordo com as instruções acima indicadas.

No momento da aceitação os autores serão informados acerca do formato em que devem ser enviadas as figuras.

A revisão das provas deve ser efectuada e aprovada por todos os autores dentro de três dias úteis. Nesta fase apenas se aceitam modificações que decorram da correcção de gralhas.

Deve ser enviada uma declaração de transferência de direitos de autor para os ARQUIVOS DE MEDICINA, assinada por todos os autores, juntamente com as provas corrigidas.