



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2014/2015

Maria João da Silva Serra
Papel prognóstico da expressão de
P-caderina no cancro da mama

março, 2015

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Maria João da Silva Serra
Papel prognóstico da expressão de
P-caderina no cancro da mama

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Cirurgia

Tipologia: Monografia

Trabalho efetuado sob a Orientação de:

Dr.^a Susy Cabral da Costa

E sob a Coorientação de:

Doutora Joana Cancela de Amorim Falcão Paredes

Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:

Acta Médica Portuguesa

março, 2015

FMUP

Eu, Maria João da Silva Serra, abaixo assinado, nº mecanográfico 200904789, estudante do 6º ano do Ciclo de Estudos 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, 23 / 03 / 2015

Assinatura conforme cartão de identificação:

Maria João da Silva Serra

NOME

Maria João da Silva Serra

CARTÃO DE CIDADÃO OU PASSAPORTE (se estrangeiro)

E-MAIL

TELEFONE OU TELEMÓVEL

13834769

mariajoaoserra92@gmail.com

918903681

NÚMERO DE ESTUDANTE

DATA DE CONCLUSÃO

200904789

2015

DESIGNAÇÃO DA ÁREA DO PROJECTO

Cirurgia

TÍTULO MONOGRAFIA (riscar o que não interessa)

Papel prognóstico da expressão de P-caderina no cancro da mama

ORIENTADOR

Susy Cabral da Costa

COORIENTADOR (se aplicável)

Joana Cancela de Amorim Falcão Paredes

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

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 23/03/2015

Assinatura conforme cartão de identificação: Maria João da Silva Serra

Para a minha mãe Alexandrina
e para os amigos que se tornaram família.

Pelo apoio incondicional,
pela alegria e coragem que despertam em mim,
por me ajudarem a crescer como uma pessoa melhor.

Papel prognóstico da expressão de P-caderina no cancro da mama

The prognostic role of P-cadherin expression in breast cancer

Autores:

Maria João Serra, estudante de Medicina, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto, Portugal.

Susy Costa, Cirurgião, Centro de Mama, Departamento de Cirurgia, Centro Hospitalar de São João/Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto, Portugal.

Joana Paredes, Investigadora Principal, Grupo Cancer Genetics, Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto (Ipatimup), Porto, Portugal. Professora Afiliada, Departamento de Patologia e Oncologia, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto, Portugal.

Autor responsável:

Maria João da Silva Serra

Alameda Professor Hernâni Monteiro, 4200-319, Porto, Portugal.

mariajoaoserra92@gmail.com

Título breve para cabeçalho:

Expressão de P-caderina no cancro da mama

Papel prognóstico da expressão de P-caderina no cancro da mama

Resumo

Introdução: O cancro da mama é o tipo de cancro mais comum e a principal causa de morte por cancro nas mulheres. Mantém-se a necessidade de identificar novos fatores de prognóstico nesta patologia, onde a expressão da P-caderina poderá ter um papel potencial.

Materiais e Métodos: Foi realizada uma pesquisa na base de dados PubMed com duas *queries*, tendo sido selecionados 15 artigos. Foram adicionalmente incluídos 22 artigos referenciados nos primeiros. A redação da presente monografia segue as normas da Acta Médica Portuguesa.

Resultados: A P-caderina é expressa durante a embriogénese e nas células mioepiteliais normais da glândula mamária adulta; no entanto, a sua expressão encontra-se alterada em cerca de 30% dos casos de cancro da mama. É um marcador de mau prognóstico, associando-se a uma menor sobrevida global e específica de doença, a um menor intervalo livre de recidiva loco-regional e à distância e a outros fatores de mau prognóstico. A sua sobreexpressão promove um aumento da motilidade, migração, invasão e sobrevivência das células tumorais, através da secreção de MMP1 e MMP2, conferindo-lhes características de células estaminais, ativando a via PI3K/Akt e conferindo um fenótipo hipóxico/glicolítico e ácido-resistente.

Discussão: Dado o papel crítico da P-caderina no cancro da mama, esta proteína é um potencial alvo de agentes terapêuticos, como o anticorpo monoclonal PF-03732010 e a azurina.

Conclusão: A P-caderina é um fator de mau prognóstico no cancro da mama, e a sua inibição tem efeitos anti-tumorais e antimetastáticos, constituindo assim um potencial alvo terapêutico.

The prognostic role of P-cadherin expression in breast cancer

Abstract

Introduction: Breast cancer is the most common type of cancer and the main cause of death by cancer in women. It is still important to identify new prognostic factors in this disease, where P-cadherin expression may play a potential role.

Material and Methods: A research was made on PubMed database using two queries, which led to the selection of 15 articles. 22 articles referenced on the first ones were additionally included. The present monograph is written according to the rules of Acta Médica Portuguesa.

Results: P-cadherin is expressed during embryogenesis and on normal myoepithelial cells of the adult mammary gland; however, its expression is altered on about 30% of breast cancer cases. It is a poor prognostic marker, associated to a worst global and disease-specific patient survival, to a short loco-regional and distant relapse free interval, and to other poor prognostic factors. P-cadherin expression promotes an increased motility, migration, invasion and survival of breast cancer cells, through the secretion of MMP1 and MMP2, as well as confers stem cell properties, activating the PI3K/Akt signaling pathway and awarding cells with a hypoxic/glycolytic and acid-resistant phenotype.

Discussion: Since P-cadherin has a critical role in breast cancer, this protein is a potential target for therapeutic agents, as the monoclonal antibody PF-03732010 and azurin.

Conclusion: P-cadherin is a poor prognostic factor in breast cancer and its inhibition has anti-tumor and anti-metastatic effects, therefore constituting a potential therapeutic target.

Keywords: P-cadherin; Breast cancer; Prognostic factor; Therapeutic target.

1. Introdução

O cancro da mama é o tipo de cancro mais comum e a principal causa de morte por cancro nas mulheres, sendo diagnosticados cerca de um milhão e meio de casos e ocorrendo meio milhão de mortes por ano em todo o mundo. ⁽¹⁾ No entanto, tem-se observado um declínio sustentado nas taxas de mortalidade por esta doença nas últimas décadas, principalmente devido à implementação de programas de rastreio com mamografias regulares, que permitem a deteção de cancro em estadios mais precoces, e à aplicação de tratamentos progressivamente mais eficazes. ⁽²⁾

Vários fatores indicativos do prognóstico e resposta à terapêutica foram já identificados, nomeadamente a idade do doente, o tamanho do tumor, o grau de envolvimento dos gânglios axilares, o grau histológico, a invasão linfovascular, a expressão de recetores hormonais e do HER2. No entanto, em doentes com combinações semelhantes destes fatores, os tumores podem ter diferentes comportamentos biológicos, resultando numa grande heterogeneidade no prognóstico. ⁽³⁾ Assim, continua a ser importante identificar novos fatores de prognóstico, onde a expressão da P-caderina poderá ter um papel potencial.

As caderinas clássicas são uma família de moléculas que medeiam a adesão intercelular de forma dependente do cálcio, quando localizadas nas junções de tipo aderente, e incluem a E-caderina (epitelial), N-caderina (neuronal), R-caderina (retiniana) e P-caderina (placentária). Estas glicoproteínas encontram-se próximo da superfície apical das células epiteliais polarizadas, onde a E-caderina é a molécula de adesão predominante. ^(4, 5) O nome da P-caderina deve-se à sua elevada expressão na placenta dos ratos, estando ausente na placenta humana. ⁽⁵⁾

O gene que codifica a P-caderina (*CDH3*) localiza-se no cromossoma 16q22.1, 32 kilobases acima do gene que codifica a E-caderina (*CDH1*). ⁽⁶⁾ A P-caderina é constituída por três domínios (extracelular, transmembranar e intracelular), tendo a capacidade de promover interações homotípicas. A função e a força da adesão mediada por esta glicoproteína depende da sua associação dinâmica com as cateninas (um grupo de moléculas citoplasmáticas), que ligam a cauda citoplasmática da caderina ao citoesqueleto de actina, formando-se estruturas caderina-catenina, que assim ficam agrupadas na estrutura juncional (Fig.1). ^(7, 8)

Inserir Figura nº 1 aqui.

Na glândula mamária normal adulta, a P-caderina é expressa nas células mioepiteliais, contribuindo para a organização desta camada celular e sendo necessária para a manutenção da sua integridade. ^(9, 10) No entanto, esta molécula tem sido detetada como alterada em vários tumores humanos. No cancro da mama, a P-caderina encontra-se sobreexpressa em 30-40% de todos os casos diagnosticados, estando significativamente associada a um mau prognóstico. ⁽¹¹⁻¹³⁾

Assim, o objetivo desta monografia é a de reunir a informação atualmente conhecida sobre o papel da P-caderina no desenvolvimento do cancro da mama e, sobretudo, das suas implicações no prognóstico desta patologia.

2. Materiais e Métodos

Para a elaboração deste trabalho, uma pesquisa na base de dados PubMed foi realizada, em Novembro de 2014, com duas *querys*: “*P-cadherin expression AND breast cancer*”, limitada às línguas inglesa e portuguesa e a artigos *free full text*, que permitiu encontrar 458 artigos, tendo sido selecionados 25 (seleção por título e resumo); “*Breast cancer [ti] AND prognostic factors*”, limitada à língua inglesa e portuguesa, nos últimos 10 anos, revisões e *free full text*, a qual gerou 65 resultados, dos quais foram selecionados 7 (seleção por título e resumo). Após a leitura completa de todos os artigos selecionados, 15 foram utilizados na redação da monografia. Foram adicionalmente incluídos 22 artigos considerados relevantes, que se encontravam referenciados nos primeiros artigos selecionados.

Assim, um total de 37 artigos foram utilizados para redação da presente monografia, seguindo as normas da Acta Médica Portuguesa.

3. Resultados

Durante o desenvolvimento da glândula mamária, verifica-se expressão de P-caderina nas células *cap*, que se encontram nas extremidades terminais dos ductos (*terminal end buds*) e que representam o ponto de crescimento para o desenvolvimento dos ductos e dos seus descendentes diferenciados, as células mioepiteliais. No entanto, as células luminais e as células do corpo destas extremidades não têm expressão de P-caderina, mas são tipicamente positivas para a E-caderina, sendo esta expressão diferencial importante para a integridade do tecido mamário. ^(14, 15) Na glândula mamária normal adulta, a P-caderina é expressa no mioepitélio, enquanto a E-caderina está presente nestas células e também nas células luminais epiteliais. A adesão mediada pela P-caderina, ou os sinais derivados das suas interações intercelulares, são determinantes importantes no controlo do crescimento da glândula mamária e na manutenção de um estado indiferenciado da glândula mamária normal. ^(9, 14, 15)

Durante o final da gravidez e o período de lactação, verifica-se também expressão de P-caderina nas células luminais mamárias, mas a nível citoplasmático, o que sugere a sua secreção. De facto, um fragmento solúvel da P-caderina (sP-cad) foi identificado no leite humano, que corresponde ao domínio extracelular da glicoproteína, mas cuja função neste contexto ainda não está esclarecida. ⁽¹⁶⁾

No âmbito do cancro da mama, vários estudos têm identificado a P-caderina como um marcador de mau prognóstico, uma vez que a sua expressão em tumores está significativamente associada a uma menor sobrevida global e sobrevida específica de doença, assim como a um menor intervalo livre de recidiva loco-regional e à distância. A sua expressão tem também sido associada a outros fatores de mau prognóstico, nomeadamente a tumores de elevado grau histológico, com expressão de Ki-67, de EGFR (*epidermal growth factor receptor*), citoqueratina 5 (CK5), vimentina, p53 e HER2, e negativamente associada a idade na altura do diagnóstico, expressão de recetores hormonais (de estrogénio – RE – e progesterona – RP) e expressão de Bcl2. ^(11, 12, 17, 18) Relativamente à relação existente entre a expressão de P-caderina e a metastização para os gânglios axilares, têm sido descritos alguns resultados contraditórios, surgindo como uma correlação significativa nalguns estudos ⁽¹⁷⁾, mas não noutros ⁽¹¹⁾. Curiosamente, nunca se verificou uma associação significativa com o tamanho do tumor. ^(11, 12, 17, 18)

Recentemente, estudos do perfil de expressão genética no cancro da mama permitiram distinguir cinco subtipos moleculares principais (luminal A, luminal B, HER2, tipo-basal, tipo-normal), os quais curiosamente também diferem entre si relativamente às suas características clínicas, resposta ao tratamento e prognóstico. ⁽³⁾ O carcinoma tipo-basal caracteriza-se pela expressão de CK5, citoqueratina 17 (CK17) e pela expressão de genes típicos das células basais epiteliais, incluindo a P-caderina ⁽¹⁹⁾, e pode ser reconhecido por imunohistoquímica através da expressão de P-caderina, p63 e CK5. ⁽²⁰⁻²²⁾ Este subtipo de tumores geralmente não apresenta expressão de RE, RP ou HER2 (fenótipo triplo negativo) e tem um prognóstico desfavorável. ⁽³⁾ Curiosamente, foi demonstrado que a maioria dos carcinomas da mama hereditários com mutação do BRCA1 não expressam RE nem RP, mas sim marcadores basais, como a CK5/6 ou P-caderina ^(23, 24); em concordância, muitos carcinomas tipo-basal esporádicos apresentam disfunção do BRCA1. ⁽²⁵⁾ Assim, supõe-se que o BRCA1 pode regular o fenótipo basal,

reprimindo genes como os que codificam a CK5, CK17 ou a P-caderina; conseqüentemente, no caso de cancro da mama com mutação do BRCA1, a ausência desta repressão leva a que estes genes se expressem. ⁽⁵⁾ Além de estar presente nos carcinomas tipo-basal, a P-caderina também foi identificada como sendo um importante marcador de carcinomas com sobreexpressão de HER2, que são, como os primeiros, tumores com mau prognóstico. ⁽¹²⁾

Embora ainda não se tenha identificado uma correlação significativa entre a P-caderina e algum subtipo histológico de cancro da mama, a maioria dos tumores positivos para a P-caderina são carcinomas ductais invasores, carcinomas metaplásicos ou carcinomas medulares. ^(11, 12, 26) A P-caderina é também marcadamente expressa em cancro da mama do tipo inflamatório (CMI), uma forma agressiva e localmente avançada desta doença, em que predominam os subtipos basal e HER2. A expressão de P-caderina é maior não só nos CMI basais (comparativamente aos cancros basais não inflamatórios) mas também nos CMI luminais. ⁽²⁷⁾

Têm sido identificados vários mecanismos que promovem a expressão aberrante de P-caderina. Os fatores de transcrição relacionados com células estaminais β -catenina, p63 e *CCAAT/enhancer-binding protein β* (C/EBP β), induzem a ativação do promotor do gene *CDH3*, levando à sobreexpressão de P-caderina. ⁽²⁸⁻³⁰⁾ O gene *CDH3* é reprimido pelo BRCA1, como referido anteriormente ⁽⁵⁾, e também por estrogénios, sendo que a expressão de P-caderina requer um ambiente celular sem sinalização pelo RE α . ⁽³¹⁾ Nessa situação ocorre uma remodelação da cromatina no promotor do *CDH3*, com exposição de locais de transcrição específicos a reguladores capazes de induzir uma expressão inapropriada de P-caderina. ⁽³⁰⁾ Foi também identificada uma correlação significativa entre a sobreexpressão de P-caderina e a hipometilação do promotor do gene *CDH3*. ⁽¹¹⁾ Além disso, este gene está sobreexpresso em condições de hipoxia, assim como em resposta à acidose láctica, o que é sugerido pelo aumento da expressão de P-caderina membranar em resposta à estabilização de HIF-1 α em células de cancro da mama. ⁽³²⁾

O comportamento da P-caderina difere dependendo do modelo de célula tumoral e do contexto em causa. ⁽⁴⁾ No caso do cancro da mama, a P-caderina comporta-se como um oncogene e, quando sobreexpressa, aumenta a motilidade e migração celular e promove a capacidade de invasão. ⁽⁵⁾ Curiosamente, a P-caderina só é capaz de induzir invasão num contexto celular em que há expressão de uma caderina funcional endógena, como a E-caderina; além disso, o domínio justamembranar (JMD) da cauda citoplasmática da P-caderina (ao qual se liga a p120-catenina) é também necessário para esta indução. Deste modo, há dois principais possíveis mecanismos implicados: a P-caderina compete com a caderina endógena e interrompe a sua interação com a p120-catenina e a β -catenina, desestabilizando os complexos anti-invasão caderina/catenina pré-existentes; ou a P-caderina poderá gerar um sinal pró-invasão específico através do seu JMD, que se sobrepõe aos sinais supressivos mediados pelas caderinas endógenas. ^(4, 31) Além disso, ainda num contexto celular positivo para a E-caderina, a presença de P-caderina é capaz de provocar a secreção de fatores pró-invasores, como as metaloproteases 1 e 2 (MMP1 e MMP2), que levam à clivagem da glicoproteína gerando o fragmento solúvel sP-cad, o qual tem atividade pró-invasora. ⁽³³⁾ A invasão promovida pela sobreexpressão de P-caderina deve-se também à ativação das tirosina-cínases não-recetores intracelulares FAK e Src, que regulam várias vias de sinalização

envolvidas na adesão, migração, invasão, sobrevivência, proliferação, diferenciação celular e angiogênese.⁽³⁴⁾

Recentemente verificou-se que a P-caderina pode ser classificada como um marcador de células estaminais no cancro da mama. Esta glicoproteína confere às células tumorais características de células estaminais (tumorigenicidade, formação de mamosferas e crescimento numa matriz tridimensional) que podem estar ligadas ao comportamento agressivo do cancro da mama tipo-basal. Neste mesmo estudo estabeleceu-se uma associação positiva entre a expressão de P-caderina e os marcadores de células estaminais CD44, CD24 e CD49f (integrina $\alpha 6$) em linhas celulares de cancro da mama, e a inibição da P-caderina permitiu sensibilizar as células cancerígenas à morte induzida por radioterapia.⁽³⁵⁾

O reconhecimento da laminina pelas células cancerígenas tem efeitos promotores tumorais significativos. Nesse sentido, foi demonstrado que a P-caderina é necessária para a expressão apropriada das subunidades de integrina $\alpha 6$ e $\beta 4$. Estas formam um heterodímero que, quando ativado pela laminina, leva à ativação das cínases Src e FAK e à subsequente ativação da via PI3K/Akt, promovendo a sobrevivência e invasão das células tumorais. Além disso, é possível que a atividade de cínase FAK/Src possa também contribuir para a existência de características de células estaminais/progenitoras. Assim, esta resposta oncogénica pode ser mais um mecanismo capaz de justificar o mau prognóstico associado aos casos de cancro da mama com sobreexpressão de P-caderina.⁽¹³⁾

A expressão aberrante de P-caderina está também associada a um fenótipo hipóxico/glicolítico e ácido-resistente em carcinomas da mama, representado por marcadores como o HIF-1 α , GLUT1, CAIX, MCT1 e CD147. Nesse sentido, o ambiente hipóxico em tumores da mama pode selecionar um conjunto de células cancerígenas com propriedades de células estaminais, com expressão aumentada de P-caderina. Esta, por sua vez, está aparentemente envolvida numa via de sinalização que interfere com a reprogramação metabólica das células cancerígenas, o que pode ser responsável pela agressividade tumoral, assim como pela sua capacidade de sobrevivência, em comparação com células com baixa expressão de P-caderina. Posteriormente, este processo pode resultar em recidivas tumorais e metástases em doentes com cancro da mama.⁽³²⁾

4. Discussão

Como descrito anteriormente, a adesão e as vias de sinalização mediadas pela P-caderina têm um papel crítico na regulação da sobrevivência das células tumorais e no potencial de invasão e metastização do cancro da mama. De facto, o silenciamento da P-caderina em células de cancro da mama inoculadas em ratos permitiu inibir significativamente o crescimento tumoral *in vivo* ⁽⁴⁾, pelo que esta glicoproteína pode vir a ser um potencial alvo terapêutico.

Nesse sentido, foi desenvolvido um anticorpo monoclonal pela Pfizer dirigido contra a P-caderina (PF-03732010), o qual demonstrou ser muito eficaz em termos anti-tumorais e anti-metastáticos contra diversos modelos de cancro com sobreexpressão de P-caderina, reduzindo as metástases para os gânglios linfáticos e o número de células tumorais circulantes, com inibição significativa da infiltração de células tumorais para os pulmões. Este anticorpo suprimiu ainda a expressão de β -catenina, ciclina D1, vimentina, Bcl-2 e survivina, e aumentou a expressão de caspase-3. ⁽³⁶⁾ Recentemente, este anticorpo foi testado num ensaio clínico (fase I), mas o desenvolvimento do estudo foi terminado, dado que não se observou atividade anti-tumoral ou modulação farmacocinética (*clinical trial*: NCT00557505). Algumas das possíveis limitações que podem justificar os resultados inconclusivos são o uso de doses relativas muito inferiores comparativamente às usadas nos ensaios pré-clínicos em modelos animais, assim como a participação de doentes com todos os tipos de cancros sólidos e com doença muito avançada.

Outro agente terapêutico potencial é a azurina, uma pequena proteína de cobre produzida pela bactéria *Pseudomonas aeruginosa* que pode atuar como um agente anticancerígeno, exercendo citotoxicidade *in vitro* contra várias linhas celulares derivadas de cancro e promovendo a regressão tumoral em ratos com xenotransplantes. Esta proteína diminui a expressão de P-caderina na membrana celular, assim como os níveis de sP-cad, e inibe a invasão celular promovida pela P-caderina no cancro da mama em doses subletais. Este fenómeno está associado a uma diminuição da atividade da MMP2 e a uma diminuição na sinalização pela FAK e Src, provavelmente mediando o efeito anti-invasor observado. Além disso, foi verificado que um peptídeo derivado da azurina, p28, inibe também a angiogénese induzida pelo cancro e o crescimento tumoral, através da inibição da fosforilação do VEGFR-2, FAK e Akt. Assim, a azurina promove alguns dos efeitos mediados pelo anticorpo monoclonal PF-03732010, e constitui assim uma nova alternativa terapêutica para o cancro da mama com sobreexpressão de P-caderina. ⁽³⁷⁾

Na tentativa de explorar a ausência de associação entre a expressão de P-caderina e o tamanho do tumor, está atualmente a decorrer um estudo retrospectivo envolvendo 81 casos de tumores da mama T1a (de 1mm até 5mm) ou T1b (maiores que 5mm até 10mm), tratados e seguidos no Centro Hospitalar São João, no período entre 1999 e 2007. Este estudo tem por objetivo identificar se existe uma associação entre a expressão da P-caderina nestes tumores e a sua agressividade, relativamente à invasão ganglionar e prognóstico. Foi feita a recolha de dados dos processos clínicos dos doentes, com avaliação das características dos tumores, terapêutica efetuada, recidivas loco regionais e à distância e sobrevida. O estudo da expressão da P-caderina envolve uma seleção de material com revisão histológica a partir de blocos de

parafina e posterior estudo imunohistoquímico adicional (no Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto - IPATIMUP).

5. Conclusão

A P-caderina é um fator de mau prognóstico no cancro da mama, associada a uma pobre sobrevida global e específica de doença, a um menor intervalo livre de recidiva loco-regional e à distância e ainda a outros fatores de mau prognóstico. ^(11, 12, 17, 18) Por outro lado, a sua inibição tem efeitos anti-tumorais e antimetastáticos em modelos animais, sem qualquer indicação adversa. ⁽⁴⁾ Assim, a P-caderina surge como um potencial alvo terapêutico para o cancro da mama com sobreexpressão desta glicoproteína, sendo o anticorpo monoclonal PF-03732010 e a proteína azurina agentes terapêuticos promissores. ^(36, 37)

6. Referências

1. Bastos J, Barros H, Lunet N. [Breast cancer mortality trend in Portugal (1955-2002)]. *Acta medica portuguesa*. 2007;20(2):139-44.
2. Weigel MT, Dowsett M. Current and emerging biomarkers in breast cancer: prognosis and prediction. *Endocrine-related cancer*. 2010;17(4):R245-62.
3. Schnitt SJ. Classification and prognosis of invasive breast cancer: from morphology to molecular taxonomy. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2010;23 Suppl 2:S60-4.
4. Albergaria A, Ribeiro AS, Vieira AF, Sousa B, Nobre AR, Seruca R, et al. P-cadherin role in normal breast development and cancer. *The International journal of developmental biology*. 2011;55(7-9):811-22.
5. Paredes J, Correia AL, Ribeiro AS, Albergaria A, Milanezi F, Schmitt FC. P-cadherin expression in breast cancer: a review. *Breast cancer research : BCR*. 2007;9(5):214.
6. Bussemakers MJ, van Bokhoven A, Voller M, Smit FP, Schalken JA. The genes for the calcium-dependent cell adhesion molecules P- and E-cadherin are tandemly arranged in the human genome. *Biochemical and biophysical research communications*. 1994;203(2):1291-4.
7. Shapiro L, Fannon AM, Kwong PD, Thompson A, Lehmann MS, Grubel G, et al. Structural basis of cell-cell adhesion by cadherins. *Nature*. 1995;374(6520):327-37.
8. Green KJ, Getsios S, Troyanovsky S, Godsel LM. Intercellular junction assembly, dynamics, and homeostasis. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2010;2(2):a000125.
9. Paredes J, Milanezi F, Viegas L, Amendoeira I, Schmitt F. P-cadherin expression is associated with high-grade ductal carcinoma in situ of the breast. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2002;440(1):16-21.
10. Chanson L, Brownfield D, Garbe JC, Kuhn I, Stampfer MR, Bissell MJ, et al. Self-organization is a dynamic and lineage-intrinsic property of mammary epithelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(8):3264-9.
11. Paredes J, Albergaria A, Oliveira JT, Jeronimo C, Milanezi F, Schmitt FC. P-cadherin overexpression is an indicator of clinical outcome in invasive breast carcinomas and is associated with CDH3 promoter hypomethylation. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2005;11(16):5869-77.
12. Turashvili G, McKinney SE, Goktepe O, Leung SC, Huntsman DG, Gelmon KA, et al. P-cadherin expression as a prognostic biomarker in a 3992 case tissue microarray series of breast cancer. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2011;24(1):64-81.
13. Vieira AF, Ribeiro AS, Dionisio MR, Sousa B, Nobre AR, Albergaria A, et al. P-cadherin signals through the laminin receptor alpha6beta4 integrin to induce stem cell and invasive properties in basal-like breast cancer cells. *Oncotarget*. 2014;5(3):679-92.
14. Radice GL, Ferreira-Cornwell MC, Robinson SD, Rayburn H, Chodosh LA, Takeichi M, et al. Precocious mammary gland development in P-cadherin-deficient mice. *The Journal of cell biology*. 1997;139(4):1025-32.
15. Radice GL, Sauer CL, Kostetskii I, Peralta Soler A, Knudsen KA. Inappropriate P-cadherin expression in the mouse mammary epithelium is compatible with normal mammary gland function. *Differentiation; research in biological diversity*. 2003;71(6):361-73.
16. Soler AP, Russo J, Russo IH, Knudsen KA. Soluble fragment of P-cadherin adhesion protein found in human milk. *Journal of cellular biochemistry*. 2002;85(1):180-4.
17. Gamallo C, Moreno-Bueno G, Sarrío D, Calero F, Hardisson D, Palacios J. The prognostic significance of P-cadherin in infiltrating ductal breast carcinoma. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2001;14(7):650-4.

18. Peralta Soler A, Knudsen KA, Salazar H, Han AC, Keshgegian AA. P-cadherin expression in breast carcinoma indicates poor survival. *Cancer*. 1999;86(7):1263-72.
19. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406(6797):747-52.
20. Matos I, Dufloth R, Alvarenga M, Zeferino LC, Schmitt F. p63, cytokeratin 5, and P-cadherin: three molecular markers to distinguish basal phenotype in breast carcinomas. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2005;447(4):688-94.
21. Paredes J, Lopes N, Milanezi F, Schmitt FC. P-cadherin and cytokeratin 5: useful adjunct markers to distinguish basal-like ductal carcinomas in situ. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2007;450(1):73-80.
22. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AH, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer*. 2007;109(1):25-32.
23. Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO, Begin LR, Goffin JR, Wong N, et al. Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 2003;95(19):1482-5.
24. Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L, Penault-Llorca F, van der Vijver M, Parry S, et al. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2005;11(14):5175-80.
25. Turner NC, Reis-Filho JS, Russell AM, Springall RJ, Ryder K, Steele D, et al. BRCA1 dysfunction in sporadic basal-like breast cancer. *Oncogene*. 2007;26(14):2126-32.
26. Reis-Filho JS, Milanezi F, Paredes J, Silva P, Pereira EM, Maeda SA, et al. Novel and classic myoepithelial/stem cell markers in metaplastic carcinomas of the breast. *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM / official publication of the Society for Applied Immunohistochemistry*. 2003;11(1):1-8.
27. Ben Hamida A, Labidi IS, Mrad K, Charafe-Jauffret E, Ben Arab S, Esterni B, et al. Markers of subtypes in inflammatory breast cancer studied by immunohistochemistry: prominent expression of P-cadherin. *BMC cancer*. 2008;8:28.
28. Faraldo MM, Teuliere J, Deugnier MA, Birchmeier W, Huelsken J, Thiery JP, et al. beta-Catenin regulates P-cadherin expression in mammary basal epithelial cells. *FEBS letters*. 2007;581(5):831-6.
29. Shimomura Y, Wajid M, Shapiro L, Christiano AM. P-cadherin is a p63 target gene with a crucial role in the developing human limb bud and hair follicle. *Development*. 2008;135(4):743-53.
30. Albergaria A, Ribeiro AS, Pinho S, Milanezi F, Carneiro V, Sousa B, et al. ICI 182,780 induces P-cadherin overexpression in breast cancer cells through chromatin remodelling at the promoter level: a role for C/EBPbeta in CDH3 gene activation. *Human molecular genetics*. 2010;19(13):2554-66.
31. Paredes J, Stove C, Stove V, Milanezi F, Van Marck V, Derycke L, et al. P-cadherin is up-regulated by the antiestrogen ICI 182,780 and promotes invasion of human breast cancer cells. *Cancer research*. 2004;64(22):8309-17.
32. Sousa B, Ribeiro AS, Nobre AR, Lopes N, Martins D, Pinheiro C, et al. The basal epithelial marker P-cadherin associates with breast cancer cell populations harboring a glycolytic and acid-resistant phenotype. *BMC cancer*. 2014;14(1):734.
33. Ribeiro AS, Albergaria A, Sousa B, Correia AL, Bracke M, Seruca R, et al. Extracellular cleavage and shedding of P-cadherin: a mechanism underlying the invasive behaviour of breast cancer cells. *Oncogene*. 2010;29(3):392-402.
34. Luo M, Guan JL. Focal adhesion kinase: a prominent determinant in breast cancer initiation, progression and metastasis. *Cancer letters*. 2010;289(2):127-39.
35. Vieira AF, Ricardo S, Ablett MP, Dionisio MR, Mendes N, Albergaria A, et al. P-cadherin is coexpressed with CD44 and CD49f and mediates stem cell properties in basal-like breast cancer. *Stem cells*. 2012;30(5):854-64.

36. Zhang CC, Yan Z, Zhang Q, Kuszpit K, Zasadny K, Qiu M, et al. PF-03732010: a fully human monoclonal antibody against P-cadherin with antitumor and antimetastatic activity. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2010;16(21):5177-88.

37. Bernardes N, Ribeiro AS, Abreu S, Mota B, Matos RG, Arraiano CM, et al. The bacterial protein azurin impairs invasion and FAK/Src signaling in P-cadherin-overexpressing breast cancer cell models. *PLoS one*. 2013;8(7):e69023.

7. Legendas de figuras

Figura 1. Complexo de adesão célula-célula mediado pela P-caderina. Representação esquemática da P-caderina (azul claro), com os seus domínios extracelular, transmembranar e intracelular, nas junções de tipo aderente. O domínio extracelular da P-caderina interage com o mesmo domínio da P-caderina de células adjacentes, para mediar a adesão celular dependente de cálcio (preto). O domínio intracelular é constituído por um domínio justamembranar (JMD), que se liga à p120-catenina (vermelho), e por um domínio de ligação às cateninas (CBD), que se liga à β -catenina (amarelo), a qual, por sua vez, se liga à α -catenina (verde), que estabelece uma ligação direta com o citoesqueleto de actina (roxo).

Figuras e Legendas

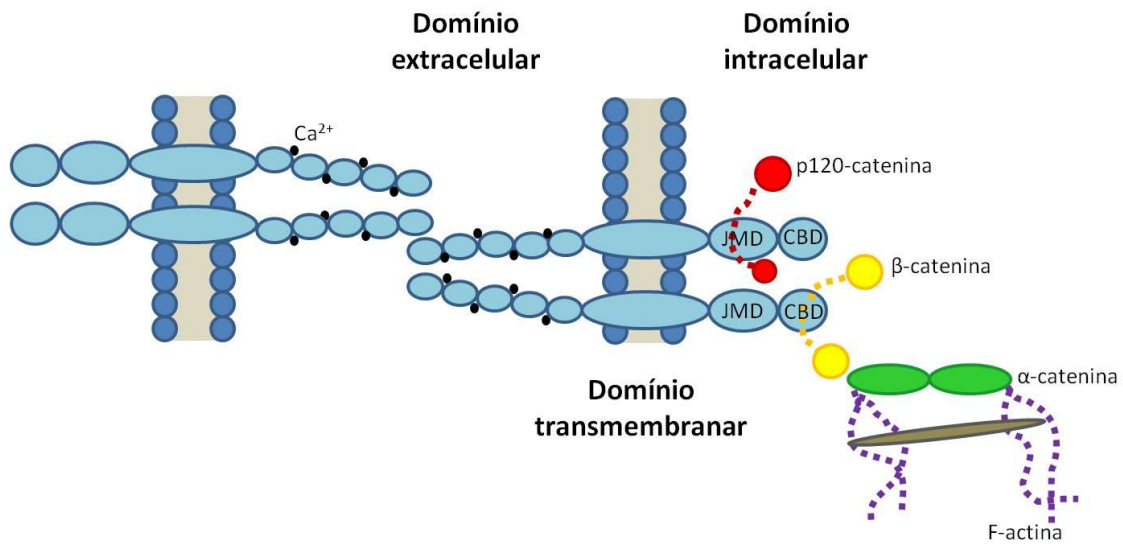


Figura 1. Complexo de adesão célula-célula mediado pela P-caderina. Representação esquemática da P-caderina (azul claro), com os seus domínios extracelular, transmembranar e intracelular, nas junções de tipo aderente. O domínio extracelular da P-caderina interage com o mesmo domínio da P-caderina de células adjacentes, para mediar a adesão celular dependente de cálcio (preto). O domínio intracelular é constituído por um domínio justamembranar (JMD), que se liga à p120-catenina (vermelho), e por um domínio de ligação às cateninas (CBD), que se liga à β-catenina (amarelo), a qual, por sua vez, se liga à α-catenina (verde), que estabelece uma ligação direta com o citoesqueleto de actina (roxo).

Agradecimentos

Findo este trabalho, gostaria de agradecer a todas as pessoas que me de alguma forma me ajudaram a concretizá-lo.

Em primeiro lugar, agradeço à Dr.^a Susy por ter aceitado orientar-me neste projeto, e especialmente pela sua disponibilidade, amabilidade, paciência e dedicação sempre que precisei de ajuda.

Agradeço também à Doutora Joana Paredes, pela prontidão com que aceitou ser minha co-orientadora, pelas decisões que me ajudou a tomar, pela segurança que me transmitiu e pelas suas orientações preciosas, que me permitiram concretizar este trabalho.

Agradeço ainda aos profissionais do Centro de Mama do Centro Hospitalar de São João com quem me cruzei, pela amabilidade com que me acolheram durante as muitas horas em que lá estive a trabalhar no projeto inicial.

Um obrigada especial, do fundo do coração, à minha maravilhosa mãe – pelo amor incondicional, paciência e apoio incansáveis, por estar sempre presente, por me ajudar a renovar a coragem face a todos os desafios e por acreditar em mim em todos os momentos.

Obrigada a todos os meus familiares que carinhosamente me têm acompanhado, ajudado e encorajado nesta caminhada, e por nunca duvidarem de mim.

Agradeço ainda aos meus amigos mais próximos, por terem ouvido todos os meus desabafos, pela partilha de conhecimentos e dicas, por me compreenderem e acalmarem nos momentos de maior ansiedade, por todo o carinho e sobretudo pela leal amizade, alegre, sincera e genuína que comigo partilham.

ANEXOS

Normas de Publicação da Acta Médica Portuguesa



Acta Médica Portuguesa's Publishing Guidelines

Conselho Editorial ACTA MÉDICA PORTUGUESA
Acta Med Port 2015, 26 Janeiro 2015

1. MISSÃO

Publicar trabalhos científicos originais e de revisão na área biomédica da mais elevada qualidade, abrangendo várias áreas do conhecimento médico, e ajudar os médicos a tomar melhores decisões.

Para atingir estes objectivos a Acta Médica Portuguesa publica artigos originais, artigos de revisão, casos clínicos, editoriais, entre outros, comentando sobre os factores clínicos, científicos, sociais, políticos e económicos que afetam a saúde. A Acta Médica Portuguesa pode considerar artigos para publicação de autores de qualquer país.

2. VALORES

- Promover a qualidade científica.
- Promover o conhecimento e actualidade científica.
- Independência e imparcialidade editorial.
- Ética e respeito pela dignidade humana.
- Responsabilidade social.

3. VISÃO

Ser reconhecida como uma revista médica portuguesa de grande impacto internacional.

Promover a publicação científica da mais elevada qualidade privilegiando o trabalho original de investigação (clínico, epidemiológico, multicêntrico, ciência básica).

Constituir o fórum de publicação de normas de orientação.

Ampliar a divulgação internacional.

Lema: "Primum non nocere, primeiro a Acta Médica Portuguesa"

4. INFORMAÇÃO GERAL

A Acta Médica Portuguesa é a revista científica com revisão pelos pares (*peer-review*) da Ordem dos Médicos. É publicada continuamente desde 1979, estando indexada na PubMed / Medline desde o primeiro número. Desde 2010 tem Factor de Impacto atribuído pelo Journal Citation Reports - Thomson Reuters.

A Acta Médica Portuguesa segue a política do livre acesso. Todos os seus artigos estão disponíveis de forma integral, aberta e gratuita desde 1999 no seu site www.actamedicaportuguesa.com e através da Medline com interface PubMed.

A taxa de aceitação da Acta Médica Portuguesa, em

2014, foi de aproximadamente de 20% dos mais de 700 manuscritos recebidos anualmente.

Os manuscritos devem ser submetidos *online* via "Submissões Online" <http://www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/about/submissions#online> Submissions.

A Acta Médica Portuguesa rege-se de acordo com as boas normas de edição biomédica do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), do Committee on Publication Ethics (COPE), e do EQUATOR Network Resource Centre Guidance on Good Research Report (desenho de estudos).

A política editorial da Revista incorpora no processo de revisão e publicação as Recomendações de Política Editorial (*Editorial Policy Statements*) emitidas pelo Conselho de Editores Científicos (Council of Science Editors), disponíveis em <http://www.councilscienceeditors.org/i4a/pages/index.cfm?pageid=3331>, que cobre responsabilidades e direitos dos editores das revistas com arbitragem científica. Os artigos propostos não podem ter sido objecto de qualquer outro tipo de publicação. As opiniões expressas são da inteira responsabilidade dos autores. Os artigos publicados ficarão propriedade conjunta da Acta Médica Portuguesa e dos autores.

A Acta Médica Portuguesa reserva-se o direito de comercialização do artigo enquanto parte integrante da revista (na elaboração de separatas, por exemplo). O autor deverá acompanhar a carta de submissão com a declaração de cedência de direitos de autor para fins comerciais.

Relativamente à utilização por terceiros a Acta Médica Portuguesa rege-se pelos termos da licença *Creative Commons* 'Atribuição – Uso Não-Comercial – Proibição de Realização de Obras Derivadas (by-nc-nd)'.

Após publicação na Acta Médica Portuguesa, os autores ficam autorizados a disponibilizar os seus artigos em repositórios das suas instituições de origem, desde que mencionem sempre onde foram publicados.

5. CRITÉRIO DE AUTORIA

A revista segue os critérios de autoria do "International Committee of Medical Journal Editors" (ICMJE).

Todos designados como autores devem ter participado significativamente no trabalho para tomar responsabilidade

pública sobre o conteúdo e o crédito da autoria.

Autores são todos que:

1. Têm uma contribuição intelectual substancial, directa, no desenho e elaboração do artigo
2. Participam na análise e interpretação dos dados
3. Participam na escrita do manuscrito, revendo os rascunhos; ou na revisão crítica do conteúdo; ou na aprovação da versão final
4. Concordam que são responsáveis pela exactidão e integridade de todo o trabalho

As condições 1, 2, 3 e 4 têm de ser reunidas.

Autoria requer uma contribuição substancial para o manuscrito, sendo pois necessário especificar em carta de apresentação o contributo de cada autor para o trabalho.

Ser listado como autor, quando não cumpre os critérios de elegibilidade, é considerado fraude.

Todos os que contribuíram para o artigo, mas que não encaixam nos critérios de autoria, devem ser listados nos agradecimentos.

Todos os autores, (isto é, o autor correspondente e cada um dos autores) terão de preencher e assinar o “Formulário de Autoria” com a responsabilidade da autoria, critérios e contribuições; conflitos de interesse e financiamento e transferência de direitos autorais / *copyright*.

O autor Correspondente deve ser o intermediário em nome de todos os co-autores em todos os contactos com a Acta Médica Portuguesa, durante todo o processo de submissão e de revisão. O autor correspondente é responsável por garantir que todos os potenciais conflitos de interesse mencionados são correctos. O autor correspondente deve atestar, ainda, em nome de todos os co-autores, a originalidade do trabalho e obter a permissão escrita de cada pessoa mencionada na secção “Agradecimentos”.

6. COPYRIGHT / DIREITOS AUTORAIS

Quando o artigo é aceite para publicação é mandatório o envio via *e-mail* de documento digitalizado, assinado por todos os Autores, com a partilha dos direitos de autor entre autores e a Acta Médica Portuguesa.

O(s) Autor(es) deve(m) assinar uma cópia de partilha dos direitos de autor entre autores e a Acta Médica Portuguesa quando submetem o manuscrito, conforme minuta publicada em anexo:

Nota: Este documento assinado só deverá ser enviado quando o manuscrito for aceite para publicação.

Editor da Acta Médica Portuguesa

O(s) Autor(es) certifica(m) que o manuscrito intitulado: _____ (ref.

AMP _____) é original, que todas as afirmações apresentadas como factos são baseados na investigação do(s) Autor(es), que o manuscrito, quer em parte quer no todo, não infringe nenhum *copyright* e não viola nenhum direito da privacidade, que não foi publicado em parte ou no todo e que não foi submetido para publicação, no todo ou em parte, noutra revista, e que os Autores têm o direito ao *copyright*.

Todos os Autores declaram ainda que participaram no trabalho, se responsabilizam por ele e que não existe, da parte de qualquer dos Autores conflito de interesses nas afirmações proferidas no trabalho.

Os Autores, ao submeterem o trabalho para publicação, partilham com a Acta Médica Portuguesa todos os direitos a interesses do *copyright* do artigo.

Todos os Autores devem assinar

Data: _____

Nome (maiúsculas): _____

Assinatura: _____

7. CONFLITOS DE INTERESSE

O rigor e a exactidão dos conteúdos, assim como as opiniões expressas são da exclusiva responsabilidade dos Autores. Os Autores devem declarar potenciais conflitos de interesse. Os autores são obrigados a divulgar todas as relações financeiras e pessoais que possam enviesar o trabalho.

Para prevenir ambiguidade, os autores têm que explicitamente mencionar se existe ou não conflitos de interesse.

Essa informação não influenciará a decisão editorial mas antes da submissão do manuscrito, os autores têm que assegurar todas as autorizações necessárias para a publicação do material submetido.

Se os autores têm dúvidas sobre o que constitui um relevante interesse financeiro ou pessoal, devem contactar o editor.

8. CONSENTIMENTO INFORMADO e APROVAÇÃO ÉTICA

Todos os doentes (ou seus representantes legais) que possam ser identificados nas descrições escritas, fotografias e vídeos deverão assinar um formulário de consentimento informado para descrição de doentes, fotografia e vídeos. Estes formulários devem ser submetidos com o manuscrito.

A Acta Médica Portuguesa considera aceitável a omissão de dados ou a apresentação de dados menos específicos para identificação dos doentes. Contudo, não aceitaremos a alteração de quaisquer dados.

Os autores devem informar se o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética da instituição de acordo com a declaração de Helsínquia.

9. LÍNGUA

Os artigos devem ser redigidos em português ou em inglês. Os títulos e os resumos têm de ser sempre em português e em inglês.

10. PROCESSO EDITORIAL

O autor correspondente receberá notificação da recepção do manuscrito e decisões editoriais por *email*.

Todos os manuscritos submetidos são inicialmente revistos pelo editor da Acta Médica Portuguesa. Os manuscritos são avaliados de acordo com os seguintes critérios: originalidade, actualidade, clareza de escrita, método de

estudo apropriado, dados válidos, conclusões adequadas e apoiadas pelos dados, importância, com significância e contribuição científica para o conhecimento da área, e não tenham sido publicados, na íntegra ou em parte, nem submetidos para publicação noutros locais.

A Acta Médica Portuguesa segue um rigoroso processo cego (*single-blind*) de revisão por pares (*peer-review*, externos à revista). Os manuscritos recebidos serão enviados a peritos das diversas áreas, os quais deverão fazer os seus comentários, incluindo a sugestão de aceitação, aceitação condicionada a pequenas ou grandes modificações ou rejeição. Na avaliação, os artigos poderão ser:

- a) aceites sem alterações;
- b) aceites após modificações propostas pelos consultores científicos;
- c) recusados.

Estipula-se para esse processo o seguinte plano temporal:

- Após a recepção do artigo, o Editor-Chefe, ou um dos Editores Associados, enviará o manuscrito a, no mínimo, dois revisores, caso esteja de acordo com as normas de publicação e se enquadre na política editorial. Poderá ser recusado nesta fase, sem envio a revisores.

- Quando receberem a comunicação de aceitação, os Autores devem remeter de imediato, por correio electrónico, o formulário de partilha de direitos que se encontra no *site* da Acta Médica Portuguesa, devidamente preenchido e assinado por todos os Autores.

- No prazo máximo de quatro semanas, o revisor deverá responder ao editor indicando os seus comentários relativos ao manuscrito sujeito a revisão, e a sua sugestão de quanto à aceitação ou rejeição do trabalho. O Conselho Editorial tomará, num prazo de 15 dias, uma primeira decisão que poderá incluir a aceitação do artigo sem modificações, o envio dos comentários dos revisores para que os Autores procedam de acordo com o indicado, ou a rejeição do artigo.

Os Autores dispõem de 20 dias para submeter a nova versão revista do manuscrito, contemplando as modificações recomendadas pelos peritos e pelo Conselho Editorial. Quando são propostas alterações, o autor deverá enviar, no prazo máximo de vinte dias, um *e-mail* ao editor respondendo a todas as questões colocadas e anexando uma versão revista do artigo com as alterações inseridas destacadas com cor diferente.

- O Editor-Chefe dispõe de 15 dias para tomar a decisão sobre a nova versão: rejeitar ou aceitar o artigo na nova versão, ou submetê-lo a um ou mais revisores externos cujo parecer poderá, ou não, coincidir com os resultantes da primeira revisão.

- Caso o manuscrito seja reenviado para revisão externa, os peritos dispõem de quatro semanas para o envio dos seus comentários e da sua sugestão quanto à aceitação ou recusa para publicação do mesmo.

- Atendendo às sugestões dos revisores, o Editor-Chefe poderá aceitar o artigo nesta nova versão, rejeitá-lo ou voltar a solicitar modificações. Neste último caso, os Autores

dispõem de um mês para submeter uma versão revista, a qual poderá, caso o Editor-Chefe assim o determine, voltar a passar por um processo de revisão por peritos externos.

- No caso da aceitação, em qualquer das fases anteriores, a mesma será comunicada ao Autor principal. Num prazo inferior a um mês, o Conselho Editorial enviará o artigo para revisão dos Autores já com a formatação final, mas sem a numeração definitiva. Os Autores dispõem de cinco dias para a revisão do texto e comunicação de quaisquer erros tipográficos. Nesta fase, os Autores não podem fazer qualquer modificação de fundo ao artigo, para além das correcções de erros tipográficos e/ou ortográficos de pequenos erros. Não são permitidas, nomeadamente, alterações a dados de tabelas ou gráficos, alterações de fundo do texto, etc.

- Após a resposta dos Autores, ou na ausência de resposta, após o decurso dos cinco dias, o artigo considera-se concluído.

- Na fase de revisão de provas tipográficas, alterações de fundo aos artigos não serão aceites e poderão implicar a sua rejeição posterior por decisão do Editor-Chefe.

Chama-se a atenção que a transcrição de imagens, quadros ou gráficos de outras publicações deverá ter a prévia autorização dos respectivos autores para dar cumprimento às normas que regem os direitos de autor.

11. PUBLICAÇÃO FAST-TRACK

A Acta Médica Portuguesa dispõe do sistema de publicação *Fast-Track* para manuscritos urgentes e importantes desde que cumpram os requisitos da Acta Médica Portuguesa para o *Fast-Track*.

- a) Os autores para requererem a publicação *fast-track* devem submeter o seu manuscrito em <http://www.actamedicaportuguesa.com/> “submeter artigo” indicando claramente porque consideram que o manuscrito é adequado para a publicação rápida. O Conselho Editorial tomará a decisão sobre se o manuscrito é adequado para uma via rápida (*fast-track*) ou para submissão regular;

- b) Verifique se o manuscrito cumpre as normas aos autores da Acta Médica Portuguesa e que contém as informações necessárias em todos os manuscritos da Acta Médica Portuguesa.

- c) O Gabinete Editorial irá comunicar, dentro de 48 horas, se o manuscrito é apropriado para avaliação *fast-track*. Se o Editor-Chefe decidir não aceitar a avaliação *fast-track*, o manuscrito pode ser considerado para o processo de revisão normal. Os autores também terão a oportunidade de retirar a sua submissão.

- d) Para manuscritos que são aceites para avaliação *fast-track*, a decisão Editorial será feita no prazo de 5 dias úteis.

- e) Se o manuscrito for aceite para publicação, o objectivo será publicá-lo, online, no prazo máximo de 3 semanas após a aceitação.

12. REGRAS DE OURO ACTA MÉDICA PORTUGUESA

- a) O editor é responsável por garantir a qualidade da

revista e que o que publica é ético, actual e relevante para os leitores.

b) A gestão de reclamações passa obrigatoriamente pelo editor-chefe e não pelo bastonário.

c) O peer review deve envolver a avaliação de revisores externos.

d) A submissão do manuscrito e todos os detalhes associados são mantidos confidenciais pelo corpo editorial e por todas as pessoas envolvidas no processo de peer-review.

e) A identidade dos revisores é confidencial.

f) Os revisores aconselham e fazem recomendações; o editor toma decisões.

g) O editor-chefe tem total independência editorial.

h) A Ordem dos Médicos não interfere directamente na avaliação, selecção e edição de artigos específicos, nem directamente nem por influência indirecta nas decisões editoriais.

i) As decisões editoriais são baseadas no mérito de trabalho submetido e adequação à revista.

j) As decisões do editor-chefe não são influenciadas pela origem do manuscrito nem determinadas por agentes exteriores.

k) As razões para rejeição imediata sem peer review externo são: falta de originalidade; interesse limitado para os leitores da Acta Médica Portuguesa; conter graves falhas científicas ou metodológicas; o tópico não é coberto com a profundidade necessária; é preliminar de mais e/ou especulativo; informação desactualizada.

l) Todos os elementos envolvidos no processo de peer review devem actuar de acordo com os mais elevados padrões éticos.

m) Todas as partes envolvidas no processo de peer review devem declarar qualquer potencial conflito de interesses e solicitar escusa de rever manuscritos que sintam que não conseguirão rever objectivamente.

13. NORMAS GERAIS

ESTILO

Todos os manuscritos devem ser preparados de acordo com o "AMA Manual of Style", 10th ed. e/ou "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals".

Escreva num estilo claro, directo e activo. Geralmente, escreva usando a primeira pessoa, voz activa, por exemplo, "Analisámos dados", e não "Os dados foram analisados". Os agradecimentos são as excepções a essa directriz, e deve ser escrito na terceira pessoa, voz activa; "Os autores gostariam de agradecer". Palavras em latim ou noutra língua que não seja a do texto deverão ser colocadas em itálico.

Os componentes do manuscrito são: Página de Título, Resumo, Texto, Referências, e se apropriado, legendas de figuras. Inicie cada uma dessas secções em uma nova página, numeradas consecutivamente, começando com a página de título.

Os formatos de arquivo dos manuscritos autorizados incluem o *Word* e o *WordPerfect*. Não submeta o manuscrito em formato PDF.

SUBMISSÃO

Os manuscritos devem ser submetidos online, via "Submissão Online" da Acta Médica Portuguesa <http://www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/about/submissions#onlineSubmissions>.

Todos os campos solicitados no sistema de submissão *online* terão de ser respondidos.

Após submissão do manuscrito o autor receberá a confirmação de recepção e um número para o manuscrito.

Na primeira página/ página de título:

a) Título em **português e inglês**, conciso e descritivo

b) Na linha da autoria, liste o Nome de todos os Autores (primeiro e último nome) com os títulos académicos e/ou profissionais e respectiva afiliação (departamento, instituição, cidade, país)

c) Subsídio(s) ou bolsa(s) que contribuíram para a realização do trabalho

d) Morada e *e-mail* do Autor responsável pela correspondência relativa ao manuscrito

e) Título breve para cabeçalho

Na segunda página

a) Título (sem autores)

b) Resumo em **português e inglês**. Nenhuma informação que não conste no manuscrito pode ser mencionada no resumo. Os resumos não podem remeter para o texto, não podendo conter citações nem referencias a figuras.

c) Palavras-chave (*Keywords*). Um máximo de 5 *Keywords* em inglês utilizando a terminologia que consta no Medical Subject Headings (MeSH), <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>, devem seguir-se ao resumo.

Na terceira página e seguintes:

■ Editoriais:

Os Editoriais serão apenas submetidos por convite do Editor. Serão comentários sobre tópicos actuais. Não devem exceder as 1.200 palavras nem conter tabelas/figuras e terão um máximo de 5 referências bibliográficas. Não precisam de resumo.

■ Perspectiva:

Artigos elaborados apenas por convite do Conselho Editorial. Podem cobrir grande diversidade de temas com interesse nos cuidados de saúde: problemas actuais ou emergentes, gestão e política de saúde, história da medicina, ligação à sociedade, epidemiologia, etc.

Um Autor que deseje propor um artigo desta categoria deverá remeter previamente ao Editor-Chefe o respectivo resumo, indicação dos autores e título do artigo para avaliação.

Deve conter no máximo 1200 palavras (excluindo as referências e as legendas) e até 10 referências bibliográficas. Só pode conter uma tabela ou uma figura. Não precisa de resumo.

■ Artigos Originais:

O texto deve ser apresentado com as seguintes secções: Introdução (incluindo Objectivos), Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Agradecimentos (se aplicável), Referências, Tabelas e Figuras.

Os Artigos Originais não deverão exceder as 4.000 palavras, excluindo referências e ilustrações. Deve ser acompanhado de ilustrações, com um máximo de 6 figuras/tabelas e 60 referências bibliográficas.

O resumo dos artigos originais não deve exceder as 250 palavras e serão estruturados (com cabeçalhos: Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusão).

A Acta Médica Portuguesa, como membro do ICMJE, exige como condição para publicação, o registo de todos os ensaios num registo público de ensaios aceite pelo ICMJE (ou seja, propriedade de uma instituição sem fins lucrativos e publicamente acessível, por ex. clinicaltrials.gov). Todos os manuscritos reportando ensaios clínicos têm de seguir o CONSORT *Statement* <http://www.consort-statement.org/>.

Numa revisão sistemática ou meta-análise de estudos randomizados siga as PRISMA *guidelines*.

Numa meta-análise de estudos observacionais, siga as MOOSE *guidelines* e apresente como um ficheiro complementar o protocolo do estudo, se houver um.

Num estudo de precisão de diagnóstico, siga as STARD *guidelines*.

Num estudo observacional, siga as STROBE *guidelines*.

Num *Guideline* clínico incentivamos os autores a seguir a GRADE *guidance* para classificar a evidência.

■ Artigos de Revisão:

Destinam-se a abordar de forma aprofundada, o estado actual do conhecimento referente a temas de importância. Estes artigos serão elaborados a convite da equipa editorial, contudo, a título excepcional, será possível a submissão, por autores não convidados (com ampla experiência no tema) de projectos de artigo de revisão que, julgados relevantes e aprovados pelo editor, poderão ser desenvolvidos e submetidos às normas de publicação.

Comprimento máximo: 3500 palavras de texto (não incluindo resumo, legendas e referências). Não pode ter mais do que um total de 4 tabelas e / ou figuras, e não mais de 50-75 referências.

O resumo dos artigos de revisão não deve exceder as 250 palavras e serão estruturados (com cabeçalhos: Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusão).

■ Caso Clínico:

O relato de um caso clínico com justificada razão de publicação (raridade, aspectos inusitados, evoluções atípicas, inovações terapêuticas e de diagnóstico, entre outras). As secções serão: Introdução, Caso Clínico, Discussão, Bibliografia.

O texto não deve exceder as 1.000 palavras e 15 refe-

rências bibliográficas. Deve ser acompanhado de figuras ilustrativas. O número de tabelas/figuras não deve ser superior a 5.

Inclua um resumo não estruturado que não exceda 150 palavras, que sumarie o objectivo, pontos principais e conclusões do artigo.

■ Imagens em Medicina (Imagem Médica):

A Imagem em Medicina é um contributo importante da aprendizagem e da prática médica. Poderão ser aceites imagens clínicas, de imagiologia, histopatologia, cirurgia, etc. Podem ser enviadas até duas imagens por caso.

Deve incluir um título com um máximo de oito palavras e um texto com um máximo de 150 palavras onde se dê informação clínica relevante, incluindo um breve resumo do historial do doente, dados laboratoriais, terapêutica e condição actual. Não pode ter mais do que três autores e cinco referências bibliográficas. Não precisa de resumo.

Só são aceites fotografias originais, de alta qualidade, que não tenham sido submetidas a prévia publicação. Devem ser enviados dois ficheiros: um com a qualidade exigida para a publicação de imagens e outra que serve apenas para referência em que o topo da fotografia deve vir indicado com uma seta. Para informação sobre o envio de imagens digitais, consulte as «Normas técnicas para a submissão de figuras, tabelas ou fotografias».

■ Guidelines / Normas de orientação:

As sociedades médicas, os colégios das especialidades, as entidades oficiais e / ou grupos de médicos que desejem publicar na Acta Médica Portuguesa recomendações de prática clínica, deverão contactar previamente o Conselho Editorial e submeter o texto completo e a versão para ser publicada. O Editor-Chefe poderá colocar como exigência a publicação exclusiva das recomendações na Acta Médica Portuguesa.

Poderá ser acordada a publicação de uma versão resumida na edição impressa cumulativamente à publicação da versão completa no *site* da Acta Médica Portuguesa.

■ Cartas ao Editor:

Devem constituir um comentário a um artigo da Acta Med Port ou uma pequena nota sobre um tema ou caso clínico. Não devem exceder as 400 palavras, nem conter mais de uma ilustração e ter um máximo de 5 referências bibliográficas. Não precisam de resumo.

Deve seguir a seguinte estrutura geral: Identificar o artigo (torna-se a referência 1); Dizer porque está a escrever; fornecer evidência (a partir da literatura ou a partir de uma experiência pessoal) fornecer uma súmula; citar referências.

A(s) resposta(s) do(s) Autor(es) devem observar as mesmas características.

Uma Carta ao editor discutindo um artigo recente da Acta Med Port terá maior probabilidade de aceitação se for submetida quatro semanas após a publicação do artigo.

Abreviaturas: Não use abreviaturas ou acrónimos no título nem no resumo, e limite o seu uso no texto. O uso de acrónimos deve ser evitado, assim como o uso excessivo e desnecessário de abreviaturas. Se for imprescindível recorrer a abreviaturas não consagradas, devem ser definidas na primeira utilização, por extenso, logo seguido pela abreviatura entre parênteses. Não coloque pontos finais nas abreviaturas.

Unidades de Medida: As medidas de comprimento, altura, peso e volume devem ser expressas em unidades do sistema métrico (metro, quilograma ou litro) ou seus múltiplos decimais.

As temperaturas devem ser dadas em graus Celsius (°C) e a pressão arterial em milímetros de mercúrio (mm Hg).

Para mais informação consulte a tabela de conversão “Units of Measure” no *website* da AMA Manual Style.

Nomes de Medicamentos, Dispositivos ou outros Produtos: Use o nome não comercial de medicamentos, dispositivos ou de outros produtos, a menos que o nome comercial seja essencial para a discussão.

IMAGENS

Numere todas as imagens (figuras, gráficos, tabelas, fotografias, ilustrações) pela ordem de citação no texto.

Inclua um título/legenda para cada imagem (uma frase breve, de preferência com não mais do que 10 a 15 palavras).

A publicação de imagens a cores é gratuita.

No manuscrito, são aceitáveis os seguintes formatos: BMP, EPS, JPG, PDF e TIF, com 300 *dpis* de resolução, pelo menos 1200 *pixels* de largura e altura proporcional.

As Tabelas/Figuras devem ser numeradas na ordem em que são citadas no texto e assinaladas em numeração árabe e com identificação, figura/tabela. Tabelas e figuras devem ter numeração árabe e legenda. Cada Figura e Tabela incluídas no trabalho têm de ser referidas no texto, da forma que passamos a exemplificar:

Estes são alguns exemplos de como uma resposta imunitária anormal pode estar na origem dos sintomas da doença de Behçet (Fig. 4).

Esta associa-se a outras duas lesões cutâneas (Tabela 1).

Figura: Quando referida no texto é abreviada para Fig., enquanto a palavra Tabela não é abreviada. Nas legendas ambas as palavras são escritas por extenso.

Figuras e tabelas serão numeradas com numeração árabe independentemente e na sequência em que são referidas no texto.

Exemplo: Fig. 1, Fig. 2, Tabela 1

Legendas: Após as referências bibliográficas, ainda no ficheiro de texto do manuscrito, deverá ser enviada legenda detalhada (sem abreviaturas) para cada imagem. A imagem tem que ser referenciada no texto e indicada a sua localização aproximada com o comentário “Inserir Figura nº 1... aqui”.

Tabelas: É obrigatório o envio das tabelas a preto e

branco no final do ficheiro. As tabelas devem ser elaboradas e submetidas em documento *word*, em formato de tabela simples (*simple grid*), sem utilização de tabuladores, nem modificações tipográficas. Todas as tabelas devem ser mencionadas no texto do artigo e numeradas pela ordem que surgem no texto. Indique a sua localização aproximada no corpo do texto com o comentário “Inserir Tabela nº 1... aqui”. Neste caso os autores autorizam uma reorganização das tabelas caso seja necessário.

As tabelas devem ser acompanhadas da respectiva legenda/título, elaborada de forma sucinta e clara.

Legendas devem ser auto-explicativas (sem necessidade de recorrer ao texto) – é uma declaração descritiva.

Legenda/Título das Tabelas: Colocada por cima do corpo da tabela e justificada à esquerda. Tabelas são lidas de cima para baixo. Na parte inferior serão colocadas todas as notas informativas – notas de rodapé (abreviaturas, significado estatístico, etc.) As notas de rodapé para conteúdo que não caiba no título ou nas células de dados devem conter estes símbolos *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡, §§, ||||, ¶¶.

Figuras: Os ficheiros «figura» podem ser tantos quantas imagens tiver o artigo. Cada um destes elementos deverá ser submetido em ficheiro separado, obrigatoriamente em versão electrónica, pronto para publicação. As figuras (fotografias, desenhos e gráficos) não são aceites em ficheiros *word*.

Em formato TIF, JPG, BMP, EPS e PDF com 300 *dpis* de resolução, pelo menos 1200 *pixels* de largura e altura proporcional.

As legendas têm que ser colocadas no ficheiro de texto do manuscrito.

Caso a figura esteja sujeita a direitos de autor, é responsabilidade dos autores do artigo adquirir esses direitos antes do envio do ficheiro à Acta Médica Portuguesa.

Legenda das Figuras: Colocada por baixo da figura, gráfico e justificada à esquerda. Gráficos e outras figuras são habitualmente lidos de baixo para cima.

Só são aceites imagens de doentes quando necessárias para a compreensão do artigo. Se for usada uma figura em que o doente seja identificável deve ser obtida e remetida à Acta Médica Portuguesa a devida autorização. Se a fotografia permitir de forma óbvia a identificação do doente, esta poderá não ser aceite. Em caso de dúvida, a decisão final será do Editor-Chefe.

• **Fotografias:** Em formato TIF, JPG, BMP e PDF com 300 *dpis* de resolução, pelo menos 1200 *pixels* de largura e altura proporcional.

• **Desenhos e gráficos:** Os desenhos e gráficos devem ser enviados em formato vectorial (AI, EPS) ou em ficheiro bitmap com uma resolução mínima de 600 dpi. A fonte a utilizar em desenhos e gráficos será obrigatoriamente Arial.

As imagens devem ser apresentadas em ficheiros separados submetidos como documentos suplementares, em condições de reprodução, de acordo com a ordem em que

são discutidas no texto. As imagens devem ser fornecidas independentemente do texto.

AGRADECIMENTOS (facultativo)

Devem vir após o texto, tendo como objectivo agradecer a todos os que contribuíram para o estudo mas não têm peso de autoria. Nesta secção é possível agradecer a todas as fontes de apoio, quer financeiro, quer tecnológico ou de consultoria, assim como contribuições individuais. Cada pessoa citada nesta secção de agradecimentos deve enviar uma carta autorizando a inclusão do seu nome.

REFERÊNCIAS

Os autores são responsáveis pela exactidão e rigor das suas referências e pela sua correcta citação no texto.

As referências bibliográficas devem ser citadas numericamente (algarismos árabes formatados sobrescritos) por ordem de entrada no texto e ser identificadas no texto com algarismos árabes. **Exemplo:** “Dimethylfumarate has also been a systemic therapeutic option in moderate to severe psoriasis since 1994¹³ and in multiple sclerosis.¹⁴”

Se forem citados mais de duas referências em sequência, apenas a primeira e a última devem ser indicadas, sendo separadas por traço.⁵⁻⁹

Em caso de citação alternada, todas as referências devem ser digitadas, separadas por vírgula.^{12,15,18}

As referências são alinhadas à esquerda.

Não deverão ser incluídos na lista de referências quaisquer artigos ainda em preparação ou observações não publicadas, comunicações pessoais, etc. Tais inclusões só são permitidas no corpo do manuscrito (ex: P. Andrade, comunicação pessoal).

As abreviaturas usadas na nomeação das revistas devem ser as utilizadas pelo National Library of Medicine (NLM) *Title Journals Abbreviations* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>

Notas: Não indicar mês da publicação.

Nas referências com 6 ou menos Autores devem ser nomeados todos. Nas referências com 7 ou mais autores devem ser nomeados os 6 primeiros seguidos de “et al”.

Seguem-se alguns exemplos de como devem constar os vários tipos de referências.

Artigo:

Apelido Iniciais do(s) Autor(es). Título do artigo. Título das revistas [abreviado]. Ano de publicação; Volume: páginas.

1. Com menos de 6 autores

Miguel C, Mediavilla MJ. Abordagem actual da gota. *Acta Med Port.* 2011;24:791-8.

2. Com mais de 6 autores

Norte A, Santos C, Gamboa F, Ferreira AJ, Marques A, Leite C, et al. Pneumonia Necrotizante: uma complicação rara. *Acta Med Port.* 2012;25:51-5.

Monografia:

Autor/Editor AA. Título: completo. Edição (se não for a primeira). Vol.(se for trabalho em vários volumes). Local de publicação: Editor comercial; ano.

1. Com Autores:

Moore, K. *Essential Clinical Anatomy*. 4th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins; 2011.

2. Com editor:

Gilstrap LC 3rd, Cunningham FG, VanDorsten JP, editors. *Operative obstetrics*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 2002.

Capítulo de monografia:

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. *The genetic basis of human cancer*. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

Relatório Científico/Técnico:

Lugg DJ. Physiological adaptation and health of an expedition in Antarctica: with comment on behavioural adaptation. Canberra: A.G.P.S.; 1977. Australian Government Department of Science, Antarctic Division. ANARE scientific reports. Series B(4), Medical science No. 0126

Documento electrónico:

1. CD-ROM

Anderson SC, Poulsen KB. Anderson's electronic atlas of hematology [CD-ROM]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.

2. Monografia da Internet

Van Belle G, Fisher LD, Heagerty PJ, Lumley TS. *Biostatistics: a methodology for the health sciences* [e-book]. 2nd ed. Somerset: Wiley InterScience; 2003 [consultado 2005 Jun 30]. Disponível em: Wiley InterScience electronic collection

3. Homepage/Website

Cancer-Pain.org [homepage na Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01; [consultado 2002 Jul 9]. Disponível em: <http://www.cancer-pain.org/>.

PROVAS TIPOGRÁFICAS

Serão da responsabilidade do Conselho Editorial, se os Autores não indicarem o contrário. Neste caso elas deverão ser feitas no prazo determinado pelo Conselho Editorial, em função das necessidades editoriais da Revista. Os autores receberão as provas para publicação em formato PDF para correcção e deverão devolvê-las num prazo de 48 horas.

ERRATA E RETRACÇÕES

A Acta Médica Portuguesa publica alterações, emendas ou retracções a um artigo anteriormente publicado. Alterações posteriores à publicação assumirão a forma de errata.

NOTA FINAL

Para um mais completo esclarecimento sobre este assunto aconselha-se a leitura do *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* do International Committee of Medical Journal Editors, disponível em <http://www.ICMJE.org>.