



5. Hanke CW, Albrecht L, Skov T, Larsson T, Østerdal ML, Spelman L. Efficacy and safety of ingenol mebutate gel in field treatment of actinic keratosis on full face, balding scalp, or approximately 250 cm<sup>2</sup> on the chest: A phase 3 randomized controlled trial. *J Am Acad Dermatol.* 2020;82:642–50.
6. Arruda GO, Miola AC, Miot HA, Schmitt JV. Clinical characteristics of actinic keratoses and their histological correlations: suggestion for a clinical severity scale. *Surg Cosmet Dermatol.* 2022;14:e20220083.
7. Guimarães COZ, Bagatin E, Guadanhim LRS, Sternberg F, Picosse FR, Nunes G, et al. Development and validation of a clinical scale for the evaluation of forearm skinphotoaging. *J Cutan Med Surg.* 2015;19:380–7.
8. Anwar J, Wrone DA, Kimyai-Assadi A, Alam M. The development of actinic keratosis into invasive squamous cell carcinoma: Evidence and evolving classification schemes. *Clin in Dermatol.* 2004;22:189–96.
9. US National Library of Medicine. Risk of squamous cell carcinoma on skin areas treated with ingenol mebutate gel, 0.015% and imiquimod cream, 5%. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01926496>. [Acesso em 8 mar. 2022].
10. Miola AC, Castilho MA, Schmitt JV, Marques MEA, Miot HA, et al. Contribution to characterization of skin field cancerization activity: morphometric, chromatin texture, proliferation, and apoptosis aspects. *An Bras Dermatol.* 2019;94:698–703.

Anna Carolina Miola \*  
e Hélio Amante Miot 

*Departamento de Dermatologia, Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil*

\* Autor para correspondência.

E-mail: [anna.c.miola@unesp.br](mailto:anna.c.miola@unesp.br) (A.C. Miola).

Recebido em 11 de março de 2022; aceito em 16 de abril de 2022

<https://doi.org/10.1016/j.abdp.2022.12.020>  
2666-2752/ © 2022 Publicado por Elsevier España, S.L.U. em nome de Sociedade Brasileira de Dermatologia. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## Prevalência do polimorfismo do gene filagrina (éxon-3) em pacientes com dermatite atópica em população brasileira multirracial<sup>☆,☆☆</sup>



Prezado Editor,

Dermatite atópica (DA) é doença crônica, multifatorial, cujo fenótipo clínico resulta da interação de fatores genéticos e ambientais.<sup>1</sup> A desregulação imunológica e a integridade da barreira cutânea determinam sua gravidade, predispondo a infecções e permeabilidade a antígenos.<sup>2</sup> É motivo comum de atendimento dermatológico, principalmente na infância (< 12 anos), representando 25,8% das consultas dermatológicas.<sup>3</sup>

O gene que codifica a filagrina (FLG) é altamente polimórfico, na região do complexo de diferenciação epidérmica (1q21.3), codificando as proteínas mais importantes envolvidas na homeostase da barreira cutânea. FLG é o principal fator genético associado à DA, e seu éxon-3 transcreve a maior parte da proteína profilagrina. Alterações da barreira cutânea estão presentes em pacientes com DA sem alterações do gene FLG; entretanto, a presença de variantes que levam à perda de função foram associadas a fenótipos clínicos como doença persistente de início precoce, asma e sensibilização alérgica.<sup>1,4</sup> Intensa disparidade étnica na

frequência de variantes que levam à perda de função do gene FLG associadas à DA tem sido observada.<sup>5</sup>

Mais de 60 variantes do gene FLG que levam à perda de função do gene FLG foram identificadas em associação com DA; as mais comuns entre os europeus são c.1537C>T:R501X e 2282del4:5761Cfs\*36 e, entre os africanos subsaarianos, c.9947C>G:S3316\*. Poucos estudos foram realizados em pacientes latino-americanos com DA. Nosso objetivo foi avaliar a frequência de variantes do gene FLG (no éxon-3) entre pacientes com DA para comparar populações brasileiras e internacionais e explorar suas características clínicas.

Foi realizado estudo transversal no ambulatório de dermatologia (FMABC; Santo André, São Paulo). Oitenta pacientes com DA (critérios de Hanifin e Rajka) de ambos os sexos foram incluídos e examinados por dermatologista experiente para avaliar a gravidade da doença (SCORAD, EASI) e coletar amostras de sangue venoso para análise laboratorial e da mucosa oral para análise genética. Os participantes/responsáveis assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

A coleta para análise genética foi realizada por swab da mucosa da região bucinadora dos pacientes e colocado num tubo de ensaio estéril (Oragene Collector OG-500®, DNA Genotek Inc., Kanata, Ontario), que foi submetido ao sequenciamento pelo método de Sanger.

A extração de DNA foi realizada utilizando precipitação com etanol, e um reagente prepIT 2P fornecido pelo kit Oragene.

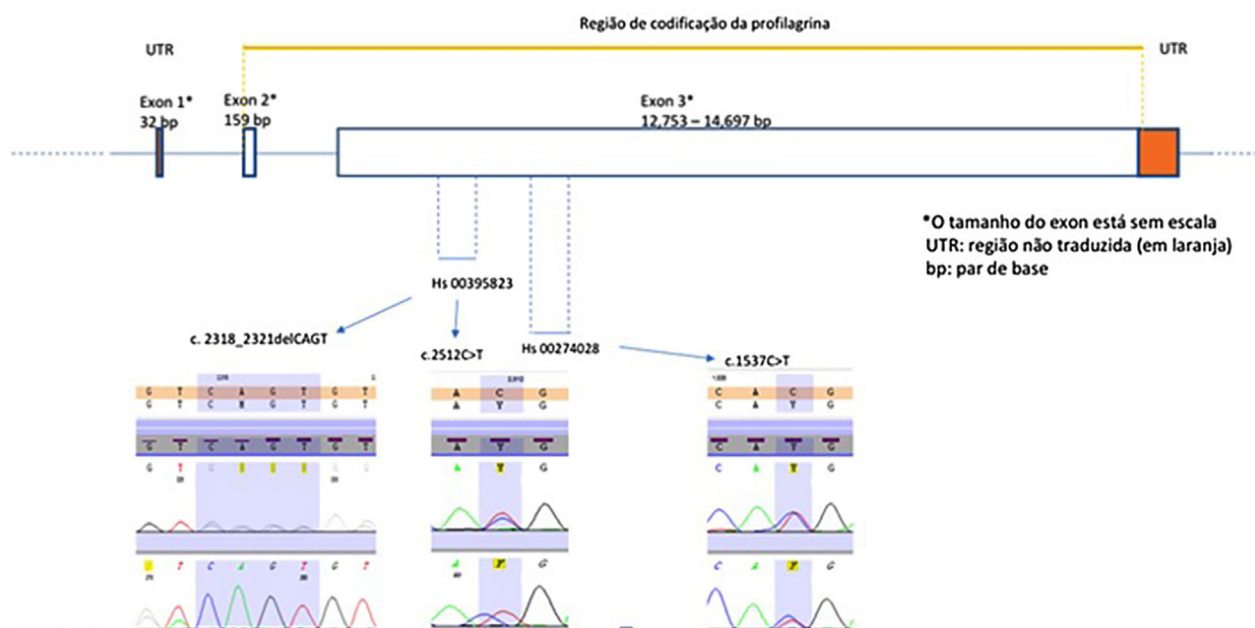
A reação em cadeia da polimerase (PCR) e a análise de seu sequenciamento foram realizadas com foco no éxon-3 para identificar as variantes genéticas mais comuns – c.1537C>T:R501X (rs61816761) e c.2282del4:5761Cfs\*36 (rs558269137) utilizando primers validados da Thermo Fischer Scientific® (Applied Biosystems, Foster City, CA), (Hs00274028 forward: 5'CTA ACA CTG GAT CCC TGG TTC CTA 3' e reverse 5' CTG AGA CAG CAG AGC CAC CAA GA 3' e Hs00395823, forward: 5' CAG ACC TAT CTA CCG ATT GCT CGT 3' e reverse: 5' AAA TCA GGC ACTCGT CAC ACA

DOI referente ao artigo:

<https://doi.org/10.1016/j.abd.2022.04.005>

☆ Como citar este artigo: Laczynski CMM, Machado Filho CDS, Miot HA, Christofolini DM, Rodart IF, Criado PF. Prevalence of filaggrin gene polymorphism (exon-3) in patients with atopic dermatitis in a multiracial Brazilian population. *An Bras Dermatol.* 2023;98:240–3.

☆☆ Trabalho realizado no Centro Universitário FMABC, Santo André, SP, Brasil.



**Figura 1** Gene *FLG* incluindo distribuição dos éxons, tamanho dos éxons, introns, indicação de região de codificação da profilagrina, posição dos *primers* e eletroferogramas das três mais frequentes variantes patogênicas encontradas em nossa amostra.

CAG AA 3'). Essa estratégia possibilitou investigar outras variantes em áreas vizinhas ao *loci* alvo, mas não cobriu toda a região de codificação do éxon-3 (fig. 1). Os produtos de PCR foram purificados com esferas de DNA (Agencourt – AMPure XP-Beckman Coulter, Brea, CA). As amostras purificadas juntamente com 10  $\mu$ L desses *primers* foram utilizadas para a reação de sequenciamento. O ciclo de sequenciamento foi realizado com o kit Big Dye Terminator v3.1 (Thermo Fisher Scientific). Os produtos de sequenciamento foram submetidos à eletroforese capilar no ABI 3500 DNA Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA). Os dados de sequenciamento foram avaliados com o software Seq A(14) – Applied Biosystems, Foster City, CA. O PROVEAN (Protein Variation Effect Analyzer) v1.1 foi usado para prever se uma variação de sequência de proteína causada por uma substituição *missense* afetaria a função da proteína (disponível em <https://provean.jcvi.org/index.php>).

A prevalência de cada variante identificada foi comparada ao banco de dados público brasileiro de variantes genômicas (ABraOm; hg38 – <https://abraom.ib.usp.br/>) com 1.171 amostras da população da mesma região e um banco de dados internacional (gnomAD; v3.1.2 – <https://gnomad.broadinstitute.org/>) com 76.156 indivíduos não aparentados de diferentes etnias. A significância estatística foi definida como  $p \leq 0,001$ .<sup>6</sup>

Dados demográficos principais, gravidade clínica, eosinofilia e níveis de IgE estão na tabela 1. A maioria dos pacientes apresentava DA moderada e grave (79%), níveis elevados de IgE (98%) e eosinofilia (68%).

Os resultados da análise genética da amostra de DA e a comparação com os dois controles populacionais estão na tabela 2. Vinte e seis variantes genéticas do éxon-3 do gene *FLG* foram detectadas em 60 pacientes (75%; 95%IC: 65%–85%). Homozigose e heterozigose composta não foram identificadas.

**Tabela 1** Características principais clínicas, demográficas e laboratoriais da amostragem de DA (n = 80)

Variáveis	Valores
Sexo, n (%)	
Feminino	40 (50)
Masculino	40 (50)
Idade (anos), média (DP)	16 (12)
Fototipo, n (%)	
I–II	24 (30)
III–IV	51 (64)
V–VI	5 (6)
Etnia, n (%)	
Caucasiana	54 (68)
Asiática	1 (1)
Africana	25 (31)
Gravidade da DA, n (%)	
Leve	17 (21)
Moderada	45 (56)
Grave	18 (23)
SCORAD, média (DP)	36 (17)
EASI, média (DP)	13.5 (10.2)
Níveis elevados de IgE <sup>a</sup> , n (%)	79 (98)
Eosinófilos >5%, n (%)	46 (68)

DA, dermatite atópica; IgE, imunoglobulina sérica E; DP, desvio padrão; SCORAD, Scoring Atopic Dermatitis; EASI, Eczema Area Severity Index.

<sup>a</sup> De acordo com os valores de referência para cada faixa etária: 0–1 ano: até 15,0 UI/mL; 1–2 anos: 1,0 a 19,0 UI/mL; 2–3 anos: até 32 UI/mL; 4–9 anos: até 101,0 UI/mL; acima de 15 anos: 1,0 a 183,0 UI/mL; mediana: 98,44.

**Tabela 2** Variantes do gene *FLG* (éxon 3) em 80 pacientes brasileiros com dermatite atópica e sua prevalência de acordo com os bancos de dados populacionais AbraOM (da mesma população brasileira) e com o gnomAD (de populações latinas, afro-americanas, europeias e internacionais)

Variante	Zigosidade	dbSNP	Consequência proteica	DA, n (%)	AbraOM (Brasil)	gnomAD			
						Latina/miscigenada	Europeia	Afro-americana	Internacional
c.1396A>G	HT	rs2011331	T454A	38 (47,50)	33,09%	39,36%	16,02%	47,84%	30,25%
c.1468C>T	HT	rs11584340	P478S	39 (48,75)	25,06%	35,76%	15,90%	13,81%	20,34%
c.1476T>C	HT	rs561848191	Sinônimo	2 (2,50)	<0,01%	0,01%	<0,01%	0,53%	0,14%
c.1521G>A	HT	rs75530805	Sinônimo	1 (1,25)	NA	<0,01%	<0,01%	<0,01%	<0,01%
c.1521G>C	HT	rs75530805	Sinônimo	21 (26,25)	1,49%	0,60%	<0,01%	5,1%	1,47%
c.1530G>C	HT	rs13376095	E498D	3 (3,75)	0,05%	0,22%	<0,01%	2,62%	0,74%
c.1537C>T	HT	rs61816761	R501X <sup>a</sup>	3 (3,75)	0,08%	<0,01%	<0,01%	<0,01%	<0,01%
c.1591C>A	HT	rs12036682	H519N	1 (1,25)	0,03%	0,05%	0,06%	<0,01%	0,58%
c.1665T>G	HT	rs152285733	Sinônimo	8 (10,00)	NA	NA	NA	NA	NA
c.1712A>G	HT	rs546475787	H559R	6 (7,50)	<0,01%	<0,01%	<0,01%	<0,01%	<0,01%
c.1737A>C	HT	rs71625187	Sinônimo	25 (31,25)	NA	<0,01%	<0,01%	<0,01%	<0,01%
c.1777A>T	HT	rs145627745	T581S	31 (38,75)	0,09%	0,49%	1,37%	0,27%	0,79%
c.1800T>C	HT	rs152285598	Sinônimo	14 (17,50)	NA	NA	NA	NA	NA
c.2167C>T	HT	rs115087788	R711C	1 (1,25)	<0,01%	0,20%	<0,01%	0,82%	0,25%
c.2210C>T	HT	rs3120655	T725I	13 (16,25)	8,07%	3,53%	0,17%	34,83%	9,98%
c.2217C>A	HT	rs7512779	H727Q	2 (2,50)	1,96%	<0,01%	<0,01%	<0,01%	<0,01%
c.2261C>A	HT	rs3120654	S742Y	13 (16,25)	8,03%	3,47%	0,13%	34,77%	10,06%
c.2271T>C	HT	rs150144110	s745 =	1 (1,25)	0,01%	<0,01%	<0,01%	0,19%	<0,01%
c.2299G>A	HT	rs74129461	E755K	23 (28,75)	23,40%	34,96%	15,90%	7,73%	18,57%
c.2282del4CAGT#	HT	rs558269137	S761Cfs*36#	3 (3,75)	0,06%	<0,01%	2,19%	<0,01%	1,26%
c.2319A>C	HT	rs11204979	Sinônimo	2 (2,50)	0,82%	0,59%	<0,01%	5,41%	1,57%
c.2377G>C	HT	rs148739675	D781H	1 (1,25)	0,21%	0,07%	<0,01%	0,66%	0,19%
c.2396C>T	HT	rs77032592	S787F	1 (1,25)	0,56%	0,28%	<0,01%	3,26%	0,94%
c.2512C>T	HT	rs115746363	R826X <sup>a</sup>	2 (2,50)	0,13%	<0,01%	<0,01%	0,72%	0,21%
c.2544T>C	HM	rs3120653	Sinônimo	37(46,25)	33,60%	<0,01%	<0,01%	0,02%	<0,01%

dbSNP (rs), referência SNP número nas bases de dados internacionais (posição cromossômica); HT, heterozigose; HM, homozigose; DA, dermatite atópica; NA, não achada.

<sup>a</sup> Mutação com perda de função (patog nica).

Variantes do gene *FLG* com perda de função da filigrina foram observadas em oito pacientes com DA (10%; 95% IC 3%–17%). Duas variantes prevalentes no mundo (c.1537C>T:R501X e 2282delCAGT:S761Cfs\*36) foram observadas em seis pacientes (7,5%). Outra variante patog nica (c.2512C>T:R826X) foi identificada em dois pacientes (2,5%). Essas três variantes patog nicas foram mais prevalentes na amostra de DA que nos controles brasileiros (p < 0,001). A variante 2282delCAGT:S761Cfs\*36   comum em europeus, enquanto c.2512C>T:R826X   comum entre afro-americanos.

Foram encontradas oito variantes sin nimas do gene *FLG*, quatro delas amplamente distribuídas no Brasil e no mundo. Entretanto, quatro delas (c.1665T>G:rs152285733, c.1737A>C: sin nimo, c.1521G>A: sin nimo e c.1800T>C: sin nimo) foram observadas como mais comuns na amostra de DA do que no mundo (p < 0,001). A variante c.1476T>C: sin nimo, rara na popula o brasileira e internacional (p < 0,001),   comum entre afro-americanos. O sin nimo c.2544T>C, considerado comum entre pacientes com DA

e controles regionais,   extremamente raro no mundo (p < 0,001).

Catorze variantes *missense* foram detectadas; duas delas (c.1712A>G:H559R, c.1777A>T:T581S) foram mais comuns entre pacientes com DA que controles regionais e internacionais (p < 0,001).

Nenhuma variante do gene *FLG* foi associada   gravidade clínica da DA, eosinofilia ou IgE sérica elevada (p > 0,1).

Esses resultados reforçam o alto polimorfismo do éxon-3 do gene *FLG* e sua associa o étnica, dificultando a generaliza o dos resultados gen micos em rela o aos fenótipos de DA, especialmente em popula es altamente miscigenadas.<sup>5,7,8</sup>

Segundo a literatura, variantes nulas eram esperadas em 14%–42% dos pacientes com DA, e dessas, 20 encontradas em  xon-3. Além disso, varia es foram relatadas do gene *FLG* entre pacientes com DA de diferentes  tnias.<sup>8</sup>

A popula o brasileira   multirracial após 500 anos de miscigena o entre indivíduos da Europa Ocidental, África e Ameríndia.<sup>9</sup> As variantes c.2512C>T:R826X e 2282delCAGT:S761Cfs\*36 nos pacientes com DA corroboram essas

ancestralidades, embora a variante c.2544T>C: sinônimo seja uma característica dessa região.

Considerando associação epidemiológica com o desenvolvimento da doença, variantes do gene *FLG* *per se* não explicam completamente a variação na gravidade da DA, eosinofilia ou níveis elevados de IgE, reforçando os aspectos multifatoriais da doença.<sup>1,8,10</sup>

Por fim, identificamos variantes nulas do gene *FLG* (no éxon-3) (c.1537C>T:501X, c.2282del4:5761Cfs\*36 e c.2512C>T:R826X) em 10% dos pacientes brasileiros com DA, mesmo sem associação com as principais características clínicas da DA.

## Suporte financeiro

Fundo de Apoio à Dermatologia do Estado de São Paulo – Sebastião Sampaio (FUNADERSP).

## Contribuição dos autores

Cristina Marta Maria Laczynski: Concepção e desenho, aquisição, análise e interpretação dos dados.

Carlos D’Apparecida Santos Machado Filho: Revisão crítica do conteúdo intelectual.

Hélio Amante Miot: Revisão crítica do conteúdo intelectual.

Denise Maria Christofolini: Revisão crítica do conteúdo intelectual.

Itatiana Ferreira Rodart: Processamento do material genético, análise e interpretação dos dados e revisão do conteúdo intelectual.

Paulo Ricardo Coelho: Revisão crítica do conteúdo intelectual.

Todos os autores leram e aprovaram a versão final do manuscrito.

## Conflito de interesses







Nenhum.

## Agradecimentos

Aos pacientes que consentiram em participar deste estudo, ao Prof. Caio Parente Barbosa, do Departamento de Genética do Centro Universitário FMABC, a Juliana Zangirolami Raimundo, do Departamento de Bioestatística do Centro Universitário FMABC, e a Larissa K. Martinez Meirinho Magalhães, do Departamento de Dermatologia do Centro Universitário FMABC.

## Referências

- Mu Z, Zhang J. The Role of Genetics, the Environment, and Epigenetics in Atopic Dermatitis. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1253:107–40.
- Czarnowicki T, Krueger JG, Guttman-Yassky E. Skin barrier and immune dysregulation in atopic dermatitis: an evolving story with important clinical implications. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2014;2:371–9.
- Miot HA, Penna GO, Ramos AMC, Penna MLF, Schmidt SM, Luz FB, et al. Profile of dermatological consultations in Brazil (2018). *An Bras Dermatol*. 2018;93:916–28.
- Drislane C, Irvine AD. The role of filaggrin in atopic dermatitis and allergic disease. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2020;124:36–43.
- Hertz A, Azulay-Abulafia L, Nascimento APD, Ohara CY, Kuschnir FC, Porto LC. Analysis of filaggrin 2 gene polymorphisms in patients with atopic dermatitis. *An Bras Dermatol*. 2020;95:173–9.
- Miola AC, Miot HA. p-value and effect-size in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras*. 2021;20:e20210038.
- 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.
- Blakeway H, Van-de-Velde V, Allen VB, Kravvas G, Palla L, Page MJ, et al. What is the evidence for interactions between filaggrin null mutations and environmental exposures in the aetiology of atopic dermatitis? A systematic review. *Br J Dermatol*. 2020;183:443–51.
- Pena SD, Di Pietro G, Fuchshuber-Moraes M, Genro JP, Hutz MH, Kehdy FSG, et al. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. *PLoS One*. 2011;6:e17063.
- Ota M, Sasaki T, Ebihara T, Yokosawa E, Murakami Y, Matsunaka H, et al. Filaggrin-gene mutation has minimal effect on the disease severity in the lesions of atopic dermatitis. *J Dermatol*. 2021;48:1688–99.

Cristina Marta Maria Laczynski  <sup>a,\*</sup>,  
 Carlos D’Apparecida Santos Machado Filho  <sup>a</sup>,  
 Hélio Amante Miot  <sup>b</sup>, Denise Maria Christofolini  <sup>c</sup>,  
 Itatiana Ferreira Rodart  <sup>c</sup>  
 e Paulo Ricardo Criado  <sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Disciplina de Dermatologia, Centro Universitário FMABC, Santo André, SP, Brasil*

<sup>b</sup> *Departamento de Dermatologia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil*

<sup>c</sup> *Departamento de Genética, Centro Universitário FMABC, Santo André, SP, Brasil*

\* Autor para correspondência.

E-mail: [crislacz@hotmail.com](mailto:crislacz@hotmail.com) (C.M. Laczynski).

Recebido em 21 de fevereiro de 2022; aceito em 23 de abril de 2022

<https://doi.org/10.1016/j.abdp.2022.12.019>

2666-2752/ © 2022 Sociedade Brasileira de Dermatologia.

Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este é um artigo Open

Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).