



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

THAINÁ GONÇALVES BITTENCOURT

ASPECTOS GENÉTICOS E EPIDEMIOLÓGICOS ACERCA DA FIBROSE CÍSTICA

Trabalho de conclusão de curso, apresentado no formato de artigo científico ao Centro Universitário de Brasília- UniCEUB como requisito parcial para a conclusão do curso de bacharelado em Biomedicina.

Orientador: Prof. Doutor Bruno Silva Milagres

BRASÍLIA

2015

Aspectos genéticos e epidemiológicos acerca da Fibrose Cística

THAINÁ GONÇALVES BITTENCOURT¹

BRUNO SILVA MILAGRES²

Resumo

A Fibrose Cística (FC) é reconhecida como a doença hereditária mais importante e potencialmente letal. As manifestações clínicas principais são a doença sinopulmonar crônica e a insuficiência pancreática exócrina. A patogenia é causada por mutações no gene “*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*” (CFTR), tais mutações são divididas em seis classes e a mais frequente delas é a F508del, pertencente à classe II. Uma a cada 25.000 pessoas carrega em seu material genético o gene CFTR mutado. O padrão ouro para o diagnóstico é o teste do suor, que apresenta valores elevados em pacientes acometidos pela FC. Além do tratamento paliativo que consiste em fisioterapia respiratória, antibioticoterapia, entre outros; alguns compostos que sugerem benefícios para tratar diretamente o defeito do canal de cloreto presente em pacientes com fibrose cística estão sendo estudados como perspectivas futuras de tratamento.

Palavras-chave: Fibrose cística. Gene CFTR. Mutação. Diagnóstico. Tratamento. Epidemiologia.

Genetics and epidemiological aspects about Cystic Fibrosis

Abstract

The Cystic Fibrosis (CF) is recognized as the most important and potentially lethal hereditary disease. The main clinic appearances are the chronic sinopulmonary disease and the exocrine pancreatic insufficiency. The pathogenesis is caused by mutations in the “*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*” (CFTR) gene, and are divided into six classes, being the most frequent the F508del, which belongs to class II. One in every 25,000 people carry in their genetic material the mutated CFTR gene. The gold standard for the diagnosis is the sweat test, that shows high levels in patients suffering from CF. Besides the palliative treatment consisting of respiratory physiotherapy, antibiotic therapy, among others; some compounds that suggest benefits for directly treating the defective chloride channel present in patients with cystic fibrosis are being studied as future treatment options.

Keywords: Cystic fibrosis. CFTR gene. Mutation. Diagnosis. Treatment. Epidemiology.

¹Graduanda do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília-UniCEUB.

²Doutor em Biologia Celular e Molecular – UFOP, consultor da OPAS – Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública – CGLAB do Ministério da Saúde e professor do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

1. INTRODUÇÃO

A fibrose cística (FC), também chamada de mucoviscidose, foi reconhecida nos últimos 70 anos como a doença hereditária mais importante e potencialmente letal. É uma doença genética herdada por meio de herança autossômica recessiva. Seu acometimento é multissistêmico, glândulas exócrinas são afetadas, comprometendo também diversas células epiteliais, com a inclusão de ductos de suor e pancreáticos, vias aéreas e biliares, intestino e vasos deferente (PEREIRA; KIEHL; SANSEVERINO, 2011; PIZZIGNACCO; MELLO; LIMA, 2008). Dentre as manifestações clínicas encontradas, a doença sinopulmonar crônica e a insuficiência pancreática exócrina são as principais (LIMA et al., 2011).

A patogenia é causada por mutações no gene “*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)*”, localizado no braço longo do cromossomo 7, locus q31. Dentre as possíveis alterações genéticas, a mais relatada é a deltaF508, que é descrita pela deleção de três nucleotídeos inseridos na região do códon 508, o que acarreta a ausência do resíduo de fenilalanina e um defeito intracelular no mecanismo de processamento da proteína de 1.480 aminoácidos codificada pelo gene CFTR (BOBADILLA et al., 2001; PEREIRA; KIEHL; SANSEVERINO, 2011).

O aperfeiçoamento de técnicas voltadas à biologia molecular permitiu a identificação de mais de 1.900 mutações do gene CFTR, de acordo com os dados do *Cystic Fibrosis Mutation Database*. Com base no mecanismo molecular alterado, as mutações genéticas são divididas em seis classes, classificando-se em graves (classes I, II e III) e leves (classes IV, V e VI) (DAL'MASO et al., 2013).

A descoberta do gene da FC, em 1989, corroborou com a busca por tratamentos adequados à fisiopatologia da mesma, o que contribuiu para o aumento na expectativa de vida, que está em torno dos 40 anos em países desenvolvidos. A nível mundial, na década de 40, 70% dos portadores da doença não chegavam ao primeiro ano de vida. No Brasil, a expectativa de vida está próxima à maioridade e tal fato tem sido justificado pelo atraso no diagnóstico (PIZZIGNACCO; MELLO; LIMA, 2008; PEREIRA; KIEHL; SANSEVERINO, 2011).

Levando em consideração os aspectos epidemiológicos da fibrose cística, uma a cada 25.000 pessoas carrega em seu material genético o gene CFTR mutado, que só é expresso quando uma criança adquire o gene defeituoso de ambos os genitores, devido ao fato da doença ser transmitida por herança autossômica recessiva (ANTUNES, 2009).

Na triagem neonatal, por meio do teste do pezinho, é feito a dosagem da tripsina imunorreativa (TIR), que em fibrocísticos se encontra elevada até o primeiro mês de vida. Caso os valores apresentem-se alterados, o exame é repetido, de preferência antes que o neonato atinja o 30º dia de vida. Se o segundo resultado indicar alteração nos valores de tripsina, o diagnóstico é confirmado ou excluído pelo teste do suor, que é tido como padrão ouro para o diagnóstico da doença e aponta-se anormal em cerca de 99% dos pacientes (ROSA et al., 2008).

Por meio do diagnóstico precoce, da abordagem multiprofissional em centros de saúde especializados em fibrose cística e o acesso às medidas de tratamento adequadas, cerca de 50% dos pacientes conseguem atingir à terceira década de vida (RIBEIRO; RIBEIRO; RIBEIRO, 2002).

O tratamento da mucoviscidose é baseado em fisioterapia respiratória, antibioticoterapia, suporte nutricional, apoio psicológico, prática regular de exercícios físicos e cuidados de enfermagem. O objetivo principal da fisioterapia respiratória é auxiliar na desobstrução das vias aéreas, permitindo assim, uma melhora na troca gasosa (VERONEZI; SCORTEGAGNA, 2009). Resultados de um estudo com pacientes que carregavam a mutação Gly551Asp mostraram que a correção do defeito do canal subjacente de CFTR é possível, e inclusive, foram observados benefícios clínicos nestes pacientes (RAMSEY et al., 2011).

Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo apresentar as mutações genéticas mais comumente associadas à mucoviscidose, abordar aspectos epidemiológicos da patologia e relatar os parâmetros de diagnóstico e possíveis tratamentos da síndrome.

2. METODOLOGIA

Para a confecção da pesquisa foi feito uma revisão bibliográfica no formato narrativa, que, segundo a autora Rother (2007), são publicações amplas, potencialmente com viés, caracterizadas por apresentar e discutir o desenvolvimento de um determinado assunto seja sob o ponto de vista contextual ou teórico; tal tipo de revisão tem como base a análise de literatura publicada em livros, revistas impressas ou eletrônicas, trabalhos acadêmicos, onde a interpretação e análise crítica são de cunho pessoal do autor. As bases de dados consultadas foram SciELO, LILACS, EBSCO, PUBMED, utilizando-se as palavras-chave: Fibrose cística, gene CFTR, mutação, diagnóstico, tratamento e epidemiologia. O período da busca foi restringido à publicações dos anos 2002-2015. Foram pesquisados artigos nos idiomas português e inglês.

3. DESENVOLVIMENTO

A fibrose cística é uma das doenças genéticas autossômicas recessivas mais comuns em caucasóides (STREIT et al., 2003). As manifestações clínicas decorrentes da mutação genética acometem células de vários órgãos, podendo aparecer precocemente, ou até mesmo na vida adulta. O acometimento do trato respiratório associa-se com a maior morbidade, sendo causa de morte em mais de 90% dos pacientes; são comuns quadros de sinusite, bronquite, pneumonia, bronquiectasia, fibrose e como consequência, falência respiratória (MARQUES; LUDWIG NETO; VELASCO). As manifestações no trato gastrointestinal são, geralmente, secundárias à insuficiência pancreática (IP), propiciando a um quadro de má digestão, má absorção de gorduras, proteínas e hidratos de carbono. Causa também diarreia crônica, com fezes volumosas, gordurosas, pálidas e com odor característico. A fibrose biliar também é frequente em pacientes fibrocísticos. Os achados clínicos que levam a um diagnóstico diferencial para FC são os seguintes: asma, síndrome do lactente chiador, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), tuberculose, pneumonias recidivantes, bronquite crônica não atópica, bronquiectasia, atelectasia, síndromes de má absorção, prolapso retal, íleo meconial, edema, icterícia prolongada no período neonatal, doença do refluxo gastroesofágico, desnutrição, baixa estatura, infertilidade, entre outros. Vale ressaltar que nem todos os indivíduos expressam respostas clínicas semelhantes (RIBEIRO; RIBEIRO; RIBEIRO, 2002).

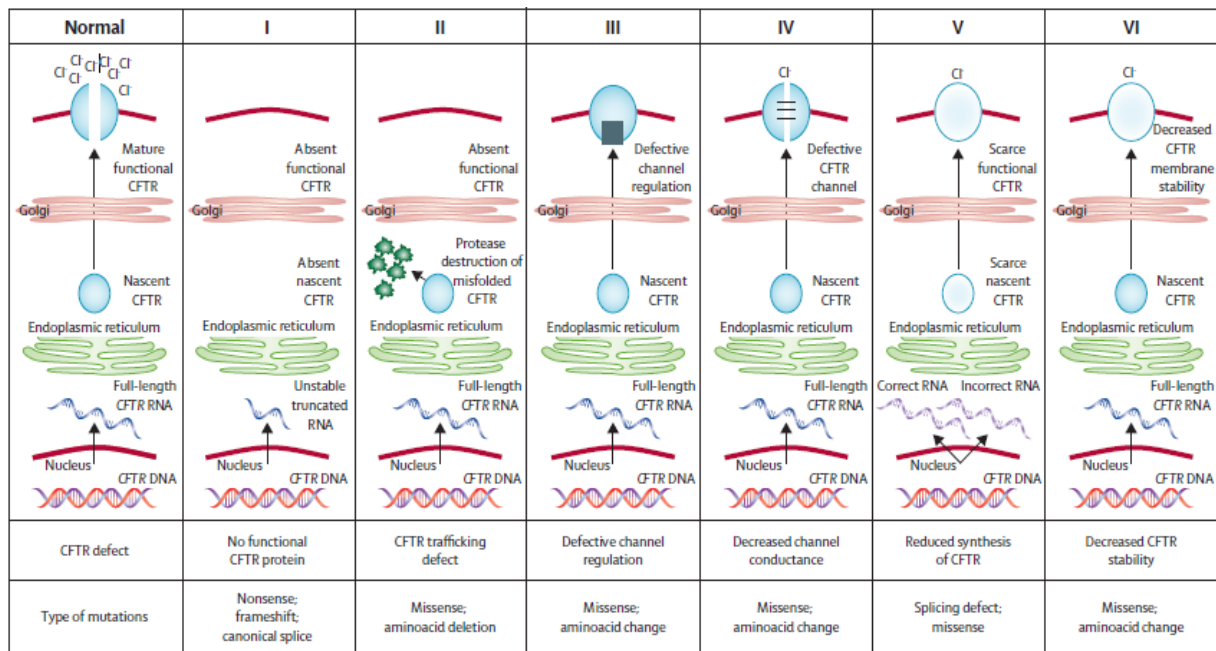
O gene CFTR abrange aproximadamente 190 kb de DNA genômico e possui 27 éxons. A transcrição desse gene corresponde a um RNA mensageiro maduro de 6,5 kb cuja tradução origina uma proteína transmembrana reguladora de transporte iônico composta por 1.480 aminoácidos, com peso molecular de 168 kDa, esta proteína leva o mesmo nome do gene (PEREIRA; KIEHL; SANSEVERINO, 2011).

A proteína CFTR é encontrada na membrana plasmática apical das células das vias respiratórias, intestinais, e nas células epiteliais exócrinas. A CFTR é essencial para o transporte de íons através da membrana celular e está envolvida na regulação do fluxo de Cl (cloro), Na (sódio) e água. Nos pulmões, esta proteína tem a função de manter a homeostase da camada de líquido na superfície das vias aéreas desempenhando sua função de canal de cloreto e atuando na regulação do canal de sódio epitelial. Se um indivíduo tem mutações genéticas que causam disfunção na proteína CFTR, o canal de cloreto não funciona corretamente e o canal de sódio epitelial não é adequadamente regulado, o que proporciona redução na excreção do cloro e aumento da eletronegatividade intracelular, resultando em

maior fluxo de Na para preservar o equilíbrio eletroquímico e, secundariamente, de água para a célula por ação osmótica. Dessa forma, há desidratação das secreções mucosas e aumento da viscosidade, favorecendo a obstrução dos ductos. Essa anormalidade gera defeitos na defesa inata dos pulmões podendo propiciar um estado pro-inflamatório intrínseco, que resulta em um ciclo progressivo de repetição de lesões pulmonares como obstrução mucosa, infecção e inflamação; culminando em um posterior processo de fibrose (BOYLE; BOECK, 2013; RIBEIRO; RIBEIRO; RIBEIRO, 2002).

Com base no mecanismo molecular alterado, as mutações presentes no gene CFTR são divididas em seis classes. A mutação de classe I é encontrada em aproximadamente 10% dos indivíduos com FC em todo o mundo, devido a essa mutação a proteína CFTR não é sintetizada. São em sua maioria mutações sem sentido que originam códons de parada prematuros, gerando um RNA instável truncado. Mutações de classe II correspondem às mutações mais comuns no gene CFTR, estas provocam um defeito na síntese da CFTR, como resultado, uma quantidade mínima de CFTR funcional atinge a membrana apical. Mutações de classe III são caracterizadas por defeito na maturação da CFTR, causando uma redução significativa do tempo de abertura do canal de cloreto CFTR. As mutações de classe IV geram um defeito na condutância da CFTR, mesmo quando este se encontra aberto, este apresenta função reduzida. Nas classes de mutação III e IV, a proteína CFTR atinge a superfície das células, porém tais mutações impedem o canal de realizar seu trabalho corretamente. Em mutações de classe V, ocorre a redução parcial da função da CFTR. As mutações de classe VI são raras, resultam em degradação gradativa e progressiva da CFTR, contribuindo para quantidades reduzidas de CFTR funcional na superfície celular por causa da diminuição da estabilidade da proteína (Figura 1) (BOYLE; BOECK, 2013; MISHRA; GREAVES; MASSIE, 2005).

Figura 1. Representação das classes de mutação na CFTR.



Fonte: Adaptado de BOYLE; BOECK, 2013.

Os indivíduos homocigotos para as classes I, II e III, normalmente, possuem insuficiência pancreática, diabetes, altas taxas de íleo meconial, mortalidade precoce, declínio mais rápido da função pulmonar, desnutrição acentuada e hepatopatia. Já os pacientes com mutações das classes IV, V e VI possuem manifestações clínicas mais brandas, suficiência pancreática e maior sobrevivência. A mutação mais comum pertencente à classe II é F508del, um par de supressão de três bases que ocasiona a deleção do aminoácido fenilalanina, gerando um subsequente enrolamento incorreto da proteína, e a falha da F508del-CFTR no transporte para a superfície celular. Quase 90% dos indivíduos com FC em todo o mundo possui essa mutação em pelo menos um gene CFTR, e cerca de 50% são homocigotos para a mesma. Essa mutação está associada com uma maior gravidade no quadro clínico da doença (DAL'MASO et al., 2013).

A nível mundial, a mutação mais frequente do gene CFTR é a F508del, com prevalência que varia de 30 a 80%. Considerando a população caucasiana, essa mutação é encontrada em 70 a 88% dos pacientes fibrocísticos. O percentual restante, que varia de 12 a 30%, corresponde aos outros mais de 1.900 tipos de mutações; porém, cada uma delas, se consideradas individualmente, possuem uma frequência muito baixa. As mutações G542X (2,4%), G551D (1,6%), N1303K (1,3%), e W1282X (1,2%) podem apresentar-se relativamente frequentes em função da origem étnica da população. Algumas mutações tem

frequência tão baixa que não chegam a atingir nem 0.1% dos pacientes. A forma como a doença se manifesta nos pacientes e o grau de severidade da mesma não depende só de fatores genéticos, como as classes de mutações do gene CFTR, mas também de fatores ambientais (MARSON et al., 2013).

Através de pesquisas realizadas em cinco estados pertencentes à região sul e sudeste do Brasil, foi obtido uma média aproximada da prevalência de mucoviscidose nessas populações, o resultado estimado foi de 1:9.600 nascimentos. No estado do Rio Grande do Sul, observou-se frequências mais elevadas, que variaram de 1:1.600 a 1:6.700 nascimentos. Desta forma, concluiu-se que 1:20 habitantes do estado era heterozigótico para uma mutação no gene da fibrose cística (ARAÚJO et al., 2005).

Em uma outra pesquisa, foram estudados 77 pacientes independentes com FC nascidos na região sul do Brasil, doze deles possuíam história da patologia na família. Onze regiões do gene CFTR foram amplificadas por meio da técnica PCR para analisar a frequência de algumas mutações. A análise dos resultados permitiu a detecção da F508del em 75(48,7%) de 154 alelos dos pacientes. Vinte e quatro (31,2%) pacientes eram homozigotos para a mutação, enquanto 27 (35,1%) eram heterozigotos, e 26 (33,8%) não eram portadores da alteração DF508. De acordo com a pesquisa realizada, a ocorrência das mutações F508del, G542X, G551D e R553X foi semelhante à frequência estabelecida para o sul da Europa. Tal achado é explicado devido o fato de uma maior predominância na imigração de europeus nessa região, vindo principalmente da Alemanha, Itália e Espanha. Nenhum alelo com as mutações G551D e N1303K foi achado, o que sugere que essas alterações não são muito comuns na região sul do Brasil (STREIT et al., 2003).

Por meio da análise da frequência de F508del através de um estudo com abrangência mundial, foi descoberto que 28.493 (66%) dos 43.077 cromossomos de FC estudados carregavam tal mutação. A frequência da mutação F508del difere entre as populações, variando de 26% na Argélia e Venezuela, 47% no Brasil e 87% na Dinamarca. Através de análise direta da mutação F508del e outras alterações de sequência comum (G542X, N1303 K, e G551D R553X) em pacientes de origem brasileira, foi revelado que essas cinco mutações correspondiam a 56% dos alelos de FC no Brasil e que suas frequências variavam de estado para estado (FAUCZ et al., 2007).

A população brasileira é uma das mais heterogêneas do mundo, composta por índios, descendentes de africanos e europeus e uma alta taxa de miscigenação. Como consequência dessa mistura étnica, é extensa a variedade molecular de alelos do gene CFTR no Brasil. Aparentemente, a alta heterogeneidade da população brasileira foi devido à diferentes ondas

migratórias e um grande número de diferentes sub-populações. Povos vindos da África foram concentrados em estados brasileiros específicos, tais como Minas Gerais (MG). Assim, em MG, havia uma alta proporção de descendentes africanos e europeus (44%) em comparação com o estado do Paraná (PR) (25,5%); a população de MG é constituída por 45,7% dos brasileiros de origem europeia e 9,7% de origem africana (FAUCZ et al., 2009).

A partir de 1875-1950, cerca de 5 milhões de europeus imigraram para o Brasil, estabelecendo-se principalmente nos estados do sul. Destes imigrantes, 80% vieram de Portugal, Itália, Espanha e Alemanha. Embora este grupo europeu fosse proveniente de países diferentes, os descendentes de europeus são relativamente homogêneos, e de acordo com dados dos últimos anos, eles se encontram principalmente no Sul, como em estados do PR e Santa Catarina (SC). SC possui cerca de 86,6% de sua população de origem europeia, o que corresponde à menor taxa de mistura no Brasil (5,3%), e apenas 3,6% composta por afro-brasileiros. No PR, 70,3% da população é de origem europeia, ao passo que 3% é composto por afrodescendentes (IBGE, 2008).

Os brasileiros com origem europeia constituem 49,4% da população total do Brasil, de raça mista 42,3%, 7,4% afro-brasileiros, asiáticos e ameríndios totalizam 0,8%. A mutação F508del mostra grande variação na frequência entre os estados brasileiros. Nos estados PR, SC, Rio Grande do Sul (RS), São Paulo (SP) e MG têm frequências entre 45,5 e 50%; Rio de Janeiro (RJ) e Pará (PA) têm frequências de 28,42% e 22,73% respectivamente (CABELLO et al., 2005).

No RJ, a composição da população é predominantemente de origem africana (52%), seguido por origem europeia (40%) e indígena (8%), o que explica a menor frequência F508del (FAUCZ et al., 2009). Em MG, Raskin et al. (2008) encontraram a mutação F508del em 47,4% dos 310 cromossomos de pacientes eurobrasileiros e em apenas 10,5% dos 76 cromossomos de pacientes brasileiros africanos; corroborando estudos sugerem que a mutação F508del foi introduzida na população europeia após a divergência continental entre grupos.

No caso de MG, assumindo uma taxa de mistura de cerca de 50%, a frequência de F508del que mostrou valores de 10,5% em pacientes brasileiros descendentes de africanos poderia ser explicada por sua mistura com euro-brasileiros. No PA, esses dados diferem significativamente dos visualizados no RJ: origem europeia equivale a 47%, ameríndios 41% e origem africana a 12%, sugerindo que a menor frequência da mutação talvez seja um resultado da mistura de imigrantes europeus com as populações originais da Amazônia (ARAÚJO et al., 2005).

O estado com o menor frequência (apenas 8,68%) é Bahia (BA), sua baixa prevalência pode ser por causa da mistura de afro-brasileiros com descendentes de europeus, principalmente de origem portuguesa (COSTA et al., 2007).

Para pesquisar a presença de um alelo ou um gene para FC, pode-se utilizar a análise de polimorfismo de fragmentos do DNA, que, quando comparados com sondas padrões, podem identificar a sequência dos marcadores de genes através da reação em cadeia da polimerase (PCR). A aplicação dos testes genéticos ainda é restrita por conta do alto custo para a realização desses procedimentos, porém, se tornam necessários em algumas situações, como formas atípicas de doença pulmonar e gastrointestinal, diagnóstico inconclusivo e pacientes com forte suspeita de FC mas com testes do suor negativos. Tendo em vista a grande variedade de mutações que podem acometer o gene CFTR já descritas na literatura, um rastreio que apresente resultado negativo não afasta totalmente a doença, pois um número pequeno de mutações é pesquisado. A confirmação da enfermidade e definição do seu genótipo dá uma ideia sobre a evolução da doença e possíveis complicações, que é útil para ajudar na condução do tratamento (VALENTIM, 2009).

A medida da concentração de cloreto no suor é um teste crucial e definitivo para o diagnóstico da fibrose cística, definido como padrão ouro, possui elevada sensibilidade e especificidade (>95%), sendo de baixo custo e não invasivo. Esse teste é realizado em três etapas: estimulação do suor, coleta e análise do material. Em 1959, Gibson e Cooke publicaram o método de referência para a estimulação do suor das glândulas sudoríparas do antebraço, que consiste na aplicação tópica de pilocarpina através de iontoforese (QPTI). A pilocarpina atua sobre os receptores colinérgicos imitando acetilcolina, ela é então carregada por via transdérmica por força eletromotriz repulsiva usando uma pequena corrente eléctrica, isto é, a iontoforese. Dessa forma, estimula os receptores muscarínicos nas glândulas sudoríparas exócrinas para induzir a secreção de suor; a coleta da amostra é feita com gaze ou papel-filtro. Um outro método, *Wescor Macroduct*, introduzido em 1983, também utiliza pilocarpina através da iontoforese, porém, o suor resultante é recolhido em tubos capilares. O local preferido para a coleta de suor é a superfície flexora do antebraço, podendo ser utilizado também outras regiões do braço, coxa e panturrilha (COAKLEY et al., 2009; COLLIE et al., 2014).

As principais indicações para a realização do teste do suor incluem: elevados níveis de tripsina imunorreativa (TIR) acompanhado de uma ou duas mutações no gene CFTR; sinais clínicos sugestivos de FC e história familiar de casos da doença. O tempo para a coleta não deve ser maior do que 30 minutos e menor do que 20. A quantidade de suor deve ter no

mínimo entre 50 mg e 100 mg (COAKLEY et al., 2006). Diretrizes publicadas recentemente sugerem que o teste de suor pode ser realizado após 2 semanas de idade em crianças com peso superior a 3000g (TACCETTI et al., 2004).

Aproximadamente 98% dos pacientes fibrocísticos possuem a concentração de cloreto no suor superior a 60 mmol/L, tais valores podem chegar até 120 mmol/L. Indivíduos normais costumam ter essas concentrações geralmente na média de 10-50 mmol/L, que varia de acordo com a idade. Há uma variedade bem descrita de patologias que são associadas à concentrações elevadas no suor, tais como: insuficiência adrenal, displasia ectodérmica, hipotireoidismo não tratado, algumas doenças ligadas ao armazenamento de glicogênio, síndrome nefrótica, entre outras. Porém, estas condições são geralmente fáceis de se diferenciarem da FC pelos sinais e sintomas. A concentração de cloreto no suor acima de 160 mmol/L é fisiologicamente impossível e sugere erro de laboratório. A causa fisiopatológica mais importante para a obtenção de um teste do suor negativo é o edema, que é comumente visto em lactentes com hipoproteïnemia, podendo ser secundário a deficiência exócrina do pâncreas; o uso de mineralocorticóides também pode diminuir a concentração de eletrólitos no suor (MISHRA; GREAVES; MASSIE, 2005).

Os intervalos de referência de cloreto no suor que são atualmente aceitos para o diagnóstico de FC em crianças são: < 29 mmol/L é considerado normal; 30-59 mmol/L corresponde ao valor limítrofe (podendo o paciente ser portador da FC); e > 60 mmol/L, indicativo de FC. As concentrações entre (30-59 mmol/L) podem representar um dilema no processo do diagnóstico. Deve notar-se que durante a infância, valores de cloreto de 30 mmol/L ou superior, e um nível de cloreto no suor entre 30-59 mmol /l pode ser indicativo de FC. Portanto, as crianças com essas concentrações no suor que são ambíguas precisam de acompanhamento, de uma observação clínica cuidadosa, repetição do teste de suor e de uma extensa análise de possíveis mutações no gene CFTR, podem ser utilizados também parâmetros auxiliares para o diagnóstico, como testes de função pancreática exócrina e a medição da diferença do potencial nasal. Para indivíduos que tenham ultrapassado a infância, os valores de referência são: < 39 mmol/L negativo; 40-59 mmol/L valor limítrofe e > 60 mmol/L, positivo para FC (COLLIE et al., 2014).

Embora a grande maioria dos pacientes com FC apresentem concentrações elevadas de cloreto no suor, há muitos relatos de pacientes com sintomas clínicos sugestivos de CF, mas com valores de eletrólitos normais ou limítrofes. Esses pacientes muitas vezes possuem suficiência pancreática e apresentam um estado nutricional normal, ausência do vaso

deferente no sexo masculino e costumam ser diagnosticados com idade mais avançada (MISHRA; GREAVES; MASSIE, 2005).

Após a triagem neonatal para FC, algumas crianças têm resultados de cloreto no suor persistentemente intermediários sem um fenótipo claro, ou possuem variações de sequência no CFTR de significado incerto. Nos EUA estes pacientes são considerados como tendo a síndrome metabólica CFTR (CRMS). Apesar de todos os avanços voltados para o teste do suor, muitos erros ainda acontecem devido coleta inadequada do suor, erros técnicos e, ocasionalmente, interpretação indevida dos resultados (COLLIE et al., 2014).

O Ministério da Saúde (MS), no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), recomendou a inclusão da dosagem da tripsina imunorreativa (TIR) no Programa Nacional de Triagem Neonatal. Este programa tem como missão, através da triagem neonatal, a detecção de casos suspeitos, confirmação diagnóstica, acompanhamento e tratamento dos casos identificados de algumas doenças congênitas, sendo uma delas, a FC (BRASIL, 2001).

A tripsina imunorreativa é um marcador de insuficiência pancreática e, portanto, pode estar alterado em doenças com mal funcionamento do órgão no período neonatal. O aumento da enzima ocorre devido uma obstrução dos canalículos pancreáticos, fazendo com que a TIR aumente seus níveis sanguíneos, uma vez que é absorvida pelas células pancreáticas. Após o período de 6 semanas retorna a níveis normais (VALENTIM, 2009). Aquelas crianças que apresentam valores de TIR alterados, tendo como base que o valor de referência é < 70 ng/ml, devem ser submetidas a avaliação clínica e ao teste do cloro no suor para confirmação diagnóstica (THERRELL Jr., 2012).

Estudos têm demonstrado que crianças diagnosticadas precocemente com o auxílio dessa triagem têm melhores parâmetros nutricionais e respiratórios, um melhor desenvolvimento intelectual e aumento da expectativa de vida em comparação com aqueles diagnosticados após à ocorrência das manifestações clínicas. Considerando que a concentração de TIR é dependente da idade do recém-nascido, a mesma apresenta um declínio após os 20-21 dias de idade. O principal problema na determinação da TIR é uma porcentagem maior do que o esperado de testes falsos positivos em algumas comunidades. A hipótese é que os valores de referência de TIR podem variar dependendo da etnia do recém-nascido, por exemplo, os neonatos de famílias do norte da África tem maiores valores de TIR, sendo assim, esses resultados poderiam ser considerados como falsos positivos para FC nesta população (CORTÉS, 2014).

Com a associação do sistema de triagem neonatal, que utiliza o teste de tripsina imunorreativa realizado por meio do teste do pezinho, o sistema de saúde pública do Brasil

tem prestado assistência na busca de mutações que acometam o gene CFTR. Porém, devido ao alto custo para a realização destes exames e técnicas, apenas a mutação F508del é rastreada (MARSON et al., 2013).

Outro exame auxiliar para confirmar ou afastar a patologia é a diferença de potencial nasal (DPN). Em 1981 foi demonstrado a alteração da DPN na FC e desde então, este método tem sido utilizado como ferramenta diagnóstica. As medidas da DPN são utilizadas para avaliar a voltagem através do epitélio nasal que está relacionada com o transporte de sódio e cloro através das membranas celulares. A DP basal é negativa ou polarizada em pessoas sem FC, na magnitude de -15 a -25 mV (NG, 2013).

Exames de raio-x (RX) e tomografia funcionam como um elemento a mais para auxílio no diagnóstico e acompanhamento da FC. Os achados radiológicos são compatíveis com uma doença pulmonar obstrutiva crônica, espessamento brônquico, áreas de aeração não uniformes, atelectasias, sinais de hiperinsuflação pulmonar, cifose, aumento do diâmetro ântero-posterior do tórax, evoluindo para os achados clássicos de atelectasias segmentares, lobares, formação de cistos e bronquiectasias, que predominam nos lobos superiores. A tomografia pode demonstrar alterações compatíveis com a doença muito antes destas aparecem no RX simples. As provas de função pulmonar, principalmente a espirometria, são muito úteis no acompanhamento de pacientes fibrocísticos. Porém, a função pulmonar em lactentes ainda não está a disposição da maioria dos centros médicos que tratam os pacientes com FC no Brasil, dessa forma, poderia ser investigada através dos exames de imagem (VALENTIM, 2009).

A pesquisa por tratamentos pulmonares para fibrocísticos sempre teve como alvo o muco viscoso ou infecção crônica das vias respiratórias. A expectativa gira em torno de que se estes componentes fossem tratados em conjunto, o ciclo progressivo de obstrução das vias aéreas, a inflamação e os danos pulmonares poderiam ser interrompidos (BOYLE; BOECK, 2013). O tratamento paliativo da FC abrange fisioterapia respiratória que deve ser realizada de duas a três vezes por dia para auxiliar na desobstrução das vias aéreas, permitindo assim, uma melhora na troca gasosa; antibioticoterapia, suporte nutricional adequado ao quadro clínico do paciente, apoio psicológico ao paciente, prática regular de exercícios físicos e cuidados gerais de enfermagem. O transplante pulmonar é a última opção terapêutica para os pacientes fibrocísticos (VERONEZI; SCORTEGAGNA, 2009).

Desde a descoberta do gene CFTR, são levantadas discussões de potenciais estratégias para tratar o defeito do canal de cloreto presente em pacientes com FC (BOYLE; BOECK, 2013). Resultados obtidos por meio de um estudo com indivíduos que possuíam a mutação

Gly551Asp apontaram que a correção direta do defeito no canal CFTR é possível e foram detectados benefícios clínicos em indivíduos com a mutação em questão (RAMSEY et al., 2011).

As mutações de classe I, por ocasionarem ausência na estabilidade da proteína CFTR, são as mais desafiadoras de se tratar. Para corrigir a função da CFTR em pacientes com estas mutações é necessária a substituição do gene CFTR defeituoso através de terapia gênica ou alteração no processo de confecção da proteína; ambas estratégias estão sendo consideradas. Tendo em vista que a maioria dos pacientes com mutações dessa classe possuem códons de parada prematuros, a *PTC Therapeutics* realizou um estudo com um pequeno composto molecular de Ataluren®, que permite a leitura através desses códons. A leitura bem sucedida permitiria a formação de CFTR de comprimento total, com restauração da sua funcionalidade. Ataluren® se apresentou eficaz, porém, foi verificado que antibióticos aminoglicosídeos têm a capacidade de inibir competitivamente essa substância e estão sendo considerados mais testes (IKPA; BIJVELDS; JONGE, 2014).

Uma pequena molécula conhecida como Ivacaftor®, aumenta o tempo de abertura da CFTR na superfície da célula em mutações de classe III, e assim, aumenta o fluxo de cloreto através do canal CFTR. Esta droga foi originalmente identificada como um potencializador da função da proteína CFTR em cultura de células do epitélio respiratório que carregavam uma única mutação Gly551Asp (encontrada em 3 - 4% dos indivíduos com FC). Pacientes tratados com Ivacaftor® em durante um período de tempo apresentaram uma redução de 55% na incidência de exacerbações pulmonares, um ganho de peso médio entre 2 e 7 kg, melhoria pronunciada na qualidade de vida e redução média da concentração de cloreto no suor. Estudos in vitro de Ivacaftor® sugerem potencial benefício em outras mutações; como Ser1251Asn, Ser549Asn, e Gly178Arg (BOYLE; BOECK, 2013).

Algumas mutações de classe IV podem ser sensíveis ao Ivacaftor®, uma destas é R117H, que está presente em cerca de 2% dos indivíduos com FC em todo o mundo. Ainda que a maioria dos pacientes com mutações de classe III e VI apresentem uma melhora clínica com a terapia de Ivacaftor®, esse grupo seria responsável por menos de 15% dos indivíduos com fibrose cística. Mutações de classe II, por serem as mais frequentes, são as mais importantes para se segmentar. Embora Ivacaftor® aumente o tempo de abertura e de condutância de cloreto para a CFTR-F508del in vitro, a droga por si só não é suficiente para fornecer benefícios clínicos em pacientes homozigóticos para F508del pois essa alteração impede a CFTR de atingir a superfície da célula (DAVIS, 2015).

Lumacaftor® e VX-661® são dois novos medicamentos que têm demonstrado em culturas de células que podem aumentar a quantidade da proteína comprometida pela mutação F508del levada para a superfície celular. No entanto, mesmo quando levada à superfície da célula, esta pode não ter uma função plenamente otimizada como um canal de cloreto. Com Lumacaftor® ou VX-661® para ajudar o movimento de CFTR-F508del à superfície da célula, e Ivacaftor® para aumentar o tempo de abertura do canal e condutância do cloreto, a melhoria do defeito nessa proteína pode ser possível (BOYLE; BOECK, 2013).

Estudos in vitro de Lumacaftor® e Ivacaftor® em epitélios respiratórios que possuem a mutação F508del em suas células, têm mostrado que Lumacaftor® sozinho aumenta o transporte de cloreto mediado pela CFTR em cerca de 15%, e que com a adição de Ivacaftor®, o transporte aumenta em quase 30%. Esta combinação de drogas está sob investigação em um estudo de indivíduos com a mutação F508del; onde os resultados iniciais sugerem um benefício na função pulmonar em indivíduos homocigotos para a mutação. Atualmente alguns corretores identificados parecem agir em estágios diferentes do processo de tráfico da proteína, podendo ter um efeito potencializado sobre o aumento de CFTR na superfície da célula se utilizados em conjunto (CAI et al., 2011; WAINWRIGHT et al., 2015).

Atualmente, todas as seis classes de mutações possuem estudos em andamento voltados para o tratamento da patologia. O número de pacientes que tem se mostrado suscetíveis a apresentarem benefícios com o Ivacaftor® está crescendo, e esse número pode aumentar ainda mais se o tratamento corretor eficaz em pacientes com F508del for encontrado (LOWE, 2014).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sabendo-se que o gene CFTR pode sofrer mais de 1.900 mutações, os testes genéticos para pesquisa de alterações que comprometam o funcionamento da proteína CFTR se torna difícil. Sendo assim, na maioria dos países não é possível identificar um grande espectro de mutações que acarretam à FC e isso se deve também ao custo elevado para a realização destas técnicas. Entretanto, com os dados epidemiológicos apresentados ao longo deste trabalho, foi possível compreender que a frequência das mutações genéticas no gene CFTR variam de acordo com a localização geográfica. Dessa forma, seria importante que os centros de saúde especializados no diagnóstico e tratamento para a patologia realizassem um rastreio específico para cada região de acordo com as mutações mais frequentes.

Tendo em vista que o quadro clínico varia de acordo com os tipos de mutação a qual o paciente é acometido, o diagnóstico precoce e a associação do genótipo ao fenótipo proporciona um tratamento mais direcionado, que pode contribuir para um aumento na expectativa de vida.

Para maximizar os efeitos das terapias modificadoras da CFTR, é preciso aumentar a porcentagem de pacientes totalmente genotipados. Os avanços obtidos nessa área de estudo sugere que nos próximos anos presenciaremos o marco mais promissor no tratamento da FC.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, E.T. Epidemiologia. In: LUDWIG NETO, N. (Org.). **Fibrose cística: enfoque multidisciplinar**. Florianópolis: HIJG/IOESC, 2009, p. 25-42.

ARAÚJO, F.G.; NOVAES, F.C.; SANTOS, N.P.C.; MARTINS, V.C.; SOUZA, S.M.; SANTOS, S.E.B.; SANTOS, A.K.C.R. Prevalence of $\Delta F508$, G551D, G542X, and R553X mutations among cystic fibrosis patients in the North of Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 38, n. 1, p. 11-15, jan. 2005.

BOBADILLA, J.L.; MACEK Jr., M.; FINE, J.P.; FARRELL P.M. Cystic fibrosis: A Worldwide analysis of CFTR mutations – Correlation with incidence data and application to screening. **Human Mutation**, New York, v. 19, n. 6, p. 575-606, jun. 2002.

BOYLE, M.P.; BOECK, K. A new era in the treatment of cystic fibrosis: correction of the underlying CFTR defect. **The Lancet Respiratory Medicine**, Kidlington, v. 1, n. 2, p. 158-163, abr. 2013.

BRASIL. **Portaria nº 822 de 06 de junho de 2001**. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2001/prt0822_06_06_2001.html> Acesso em: 16 maio 2015.

CABELLO, G.M.K.; CABELLO, P.H.; OTSUKI, K.; GOMBAROVITS, M.E.; LLERENA JR., J.C.; FERNANDES, O. Molecular analysis of 23 exons of the CFTR gene in brazilian patients leads to the finding of rare cystic fibrosis mutations. **Human Biology**, Burlington, v. 77, n. 1, p. 125–135, fev. 2005.

CAI, Z.W.; LIU, J.; LI, H.Y.; SHEPPARD, D.N. Targeting F508del-CFTR to develop rational new therapies for cystic fibrosis. **Acta Pharmacologica Sinica**, New York, v. 32, n. 6, p. 693-701, jun. 2011.

COAKLEY, J.; SCOTT, S.; DOERY, J.; GREAVES, R.; TALSMA, P.; WHITHAM, E.; WINSHIP, J. Australian Guidelines for the Performance of the Sweat Test for the Diagnosis of Cystic Fibrosis. **The Clinical Biochemist Reviews**, Perth, v. 27, n. 2, p. 1-7, maio. 2006.

COAKLEY, J.; SCOTT, S.; MACKAY, R.; GREAVES, R.; JOLLY, L.; MASSIE, J.; MISHRA, A.; BRANSDEN, A.; DOERY, J.C.G.; CHIRIANO, A.; ROBINS, H. Sweat

testing for cystic fibrosis: standards of performance in Australasia. **Annals of Clinical Biochemistry**, London, v. 46, n. 4, p. 332-337, jul. 2009.

COLLIE, J.T.B.; MASSIE, R.J.; JONES, O.A.H.; LeGRYS, V.A.; GREAVES R.F. Sixty-Five years since the new york heat wave: Advances in sweat testing for Cystic Fibrosis. **Pediatric Pulmonology**, Philadelphia, v. 49, n. 2, p. 106-117, fev. 2014.

CORTÉS, E.; ROLDÁN, A.M.; PALAZÓN-BRU, A.; RIZO-BAEZA, M.M.; MANERO, H.; GIL-GUILLÉN, V.F. Differences in immunoreactive trypsin values between type of feeding and ethnicity in neonatal cystic fibrosis screening: a cross-sectional study. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, London, v. 9, n.166, p. 2-7, nov. 2014.

COSTA, F.M.M.; SANTANA, M.A.; LEMOS, A.C.M.; GALVÃO-COSTA, B.; ACOSTA, A.X. Low frequency of the $\Delta F508$ mutation of the CFTR gene in a highly admixed population in Bahia, Brazil. **Human Biology**, Burlington, v. 79, n. 3, p. 293–297, jun. 2007.

DAL'MASO, V.B.; MALLMANN, L.; SIEBERT, M.; SIMON, L.; PEREIRA, M.L.S.; DALCIN, P.T.R. Contribuição da análise molecular do gene regulador da condutância transmembrana na fibrose cística na investigação diagnóstica de pacientes com suspeita de fibrose cística leve ou doença atípica. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Brasília, v. 39, n. 2, p. 181-189, mar./abr. 2013.

DAVIS, P.B. Another beginning for Cystic Fibrosis therapy. **The New England Journal of Medicine**, Massachusetts, 17 maio 2015. DOI: 10.1056/NEJMe1504059.

FAUCZ, F.R.; GIMENEZ, J.; RAMOS, M.D.; PEREIRA-FERRARI, L.; ESTIVILL, X.; RASKIN, S.; CASALS, T.; CULPI, L. Cystic fibrosis in a southern brazilian population: characteristics of 90% of the alleles. **Clinical Genetics**, Copenhagen, v. 72, n. 3 , p. 218–223, set. 2007.

FAUCZ, F.R.; SOUZA, D.A.S.; OLANDOSKI, M.; RASKIN, S. CFTR allelic heterogeneity in Brazil: historical and geographical perspectives and implications for screening and counseling for cystic fibrosis in this country. **Journal of Human Genetics**, London, v. 55, n. 2, p. 71–76, fev. 2010.

IBGE. (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) Brazilian census. Síntese de indicadores sociais: Uma análise das condições de vida da população brasileira (Rio de Janeiro: IBGE, 2008).

IKPA, P.T.; BIJVELDS, M.J.C.; JONGE, H.R. Cystic fibrosis: Toward personalized therapies. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, Amsterdam, v. 52, n. 7, p. 192-200, jul. 2014.

LIMA, C.S.P.; ORTEGA, M.M.; MARSON, F.A.L.; ZULLI, R.; RIBEIRO, A.F.; BERTUZZO, C.S. Mutações do gene cystic fibrosis transmembrane conductance regulator e deleções dos genes glutationa S-transferase em pacientes com fibrose cística no Brasil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Brasília, v. 38, n. 1, p. 50-56, jan./fev. 2012.

LOWE, J.A. Discovery heralds new approach to the treatment of Cystic Fibrosis. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington Dc, v. 57, n. 23, p. 9774–9775, dez. 2014.

MARQUES, C.; LUDWIG NETO, N.; VELASCO, T.S.A. Doença pulmonar. In: LUDWIG NETO, N. (Org.). **Fibrose cística: enfoque multidisciplinar**. Florianópolis: HIJG/IOESC, 2009, p. 191- 212.

MARSON, F.A.L.; BERTUZZO, C.S.; RIBEIRO, M.A.G.O.; RIBEIRO, A.F.; RIBEIRO, J.D. Screening for F508del as a first step in the molecular diagnosis of cystic fibrosis. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Brasília, v. 39, n. 3, p. 306-316, maio/jun. 2013.

MISHRA, A.; GREAVES, R.; MASSIE, J. The relevance of sweat testing for the diagnosis of Cystic Fibrosis in the genomic era. **The Clinical Biochemist Reviews**, Perth, v. 26, n. 4, p. 135-153, nov. 2005.

NG, R.T.Y. **Fibrose Cística: Avaliação diagnóstica através da Diferença de Potencial Nasal e sua correlação com duas mutações genéticas**. 93 f. Dissertação (Mestrado) apresentada ao Programa de pós graduação em ciências médicas da UNICAMP, Campinas, 2013.

PEREIRA, M.L.S.; KIEHL, M.F.; SANSEVERINO, M.T.V. A genética na fibrose cística. **Revista do Hospital das Clínicas de Porto Alegre**, Porto Alegre, v. 31, n. 2, p. 160-167, jul. 2011.

PIZZIGNACCO, T.P.; MELLO, D.F.; LIMA, R.G. A experiência da doença na fibrose cística: caminhos para o cuidado integral. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 638-644, jun. 2011.

RAMSEY, B.W.; DAVIES, J.; McELVANEY, N.G.; TULLIS, E.; BELL, S.C.; DREVÍNEK, P.; GRIESE, M.; McKONE, E.F.; WAINWRIGHT, C.E.; KONSTAN, M.W.; MOSS, R.; RATJEN, F.; SERMET-GAUDELUS, I.; ROWE, S.M.; DONG, Q.; RODRIGUEZ, S.; YEN, K.; ORDOÑEZ, C.; ELBORN, J.S. A CFTR potentiator in patients with Cystic Fibrosis and the G551D mutation. **The New England Journal of Medicine**, Massachusetts, v. 365, n. 18, p.1663-1672, nov. 2011.

RASKIN, S.; PEREIRA-FERRARI, L.; REIS, F. C.; ABREU, F.; MAROSTICA, P.; ROZOV, T.; CARDIERI, J.; LUDWIG, N.; VALENTIN, L.; ROSARIO-FILHO, N.A.; NETO, E.C.; LEWIS, E.; GIUGLIANI, R.; DINIZ, E.M.A.; CULPI, L.; PHILLIP III, J.A.; CHAKRABORTY, R. Incidence of cystic fibrosis in five different states of Brazil as determined by screening of p.F508del, mutation at the CFTR gene in newborns and patients. **Journal of Cystic Fibrosis**, Amsterdam, v. 7, n. 1, p. 15-22, jan. 2008.

RIBEIRO, J.D.; RIBEIRO, M.O.; RIBEIRO, A.F. Controvérsias na fibrose cística – do pediatra ao especialista. **Jornal de Pediatria**, Porto Alegre, v. 78, supl. 2, p. 171-186, nov./dez. 2002.

ROSA, F.R.; DIAS, F.G.; NOBRE, L.N.; MORAIS, H.A. Fibrose cística: uma abordagem clínica e nutricional. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 21, n. 6, p. 725-737, nov./dez. 2008.

ROTHER, E.T. Revisão sistemática x Revisão narrativa. **Acta Paulista de Enfermagem**, São Paulo, v. 20 n. 2, abr./jun. 2007.

STREIT, C.; NETO, A.C.B.; SILVA, F.A.; GIUGLIANI, R.; PEREIRA, M.L.S. CFTR gene: molecular analysis in patients from South Brazil. **Molecular Genetics and Metabolism**, Orlando, v. 78, n. 4, p. 259–264, abr. 2003.

TACCETTI, G.; FESTINI, F.; BRACCINI, G.; CAMPANA, S.; MARTINO, M. Sweat testing in newborns positive to neonatal screening for cystic fibrosis. **Archives of Disease in Childhood Fetal Neonatal Ed.**, London, v. 89, n. 5, p. 463-464, set. 2004.

THERRELL Jr., B.L.; HANNON, W.H.; OFFMAN, G.; OJODU, J.; FARELL, P.M. Immunoreactive trypsinogen (IRT) as a biomarker for cystic fibrosis: Challenges in newborn dried blood spot screening. **Molecular Genetics and Metabolism**, Orlando, v. 106, n. 1, p. 1-6, maio. 2012.

VALENTIM, L. Diagnóstico. In: LUDWIG NETO, N. (Org.). **Fibrose cística: enfoque multidisciplinar**. Florianópolis: HIJG/IOESC, 2009, p. 43- 58.

VERONEZI, J.; SCORTEGAGNA, D. Adesão ao tratamento em pacientes com fibrose cística. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Brasília, v. 35, n. 3, p. 290-291, mar. 2009.

WAINWRIGHT, C.E.; ELBORN, J.S.; RAMSEY, B.W.; MARIGOWDA, G.; HUANG, G.; CIPOLLI, M.; COLOMBO, C.; DAVIES, J.C.; BOECK, K.; FLUME, P.A.; KONSTAN, M.W.; McCOLLEY, S.A.; McCOY, K.; McKONE, E.F.; MUNCK, A.; RATJEN, F.; ROWE, S.M.; WALTZ, D.; BOYLE, M.P. Lumacaftor–Ivacaftor in patients with Cystic Fibrosis homozygous for Phe508del CFTR. **The New England Journal of Medicine**, Massachusetts, 17 maio 2015. DOI: 10.1056/NEJMoa1409547.