



Características genéticas e fenotípicas de crianças e adolescentes com fibrose cística no Sul do Brasil

Katiana Murieli da Rosa^{1,a}, Eliandra da Silveira de Lima^{2,b},
Camila Correia Machado^{3,c}, Thaiane Rispoli^{4,d}, Victória d'Azevedo Silveira^{3,e},
Renata Ongaratto^{2,f}, Talitha Comaru^{2,g}, Leonardo Araújo Pinto^{5,h}

1. Programa de Residência em Pediatria, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS) Brasil.
 2. Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS) Brasil.
 3. Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS) Brasil.
 4. Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS) Brasil.
 5. Centro Infantil, Instituto de Pesquisas Biomédicas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS) Brasil.
- a. <http://orcid.org/0000-0001-7120-3022>
b. <http://orcid.org/0000-0003-2350-9443>
c. <http://orcid.org/0000-0001-5138-3046>
d. <http://orcid.org/0000-0003-4421-8995>
e. <http://orcid.org/0000-0002-3264-0374>
f. <http://orcid.org/0000-0003-0217-3792>
g. <http://orcid.org/0000-0002-3574-6318>
h. <http://orcid.org/0000-0002-3906-5456>

Recebido: 20 novembro 2017.
Aprovado: 12 agosto 2018.

Trabalho realizado na Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS) Brasil.

INTRODUÇÃO

A fibrose cística (FC) é a doença genética autossômica recessiva mais frequente em populações eurodescendentes, causada por variações na sequência do gene que codifica a proteína *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (CFTR).⁽¹⁾ Esse gene localiza-se no braço longo do cromossomo 7 (*locus* 7q31) e é dividido em 27 éxons, dando origem a uma proteína composta de 1.480 aminoácidos.

A prevalência estimada em diversos países é de 1 para cada 2.800–3.500 nascidos vivos.⁽²⁾ No Brasil, cerca de 1 a cada 10 mil nascidos vivos sofre com a doença.⁽³⁾

RESUMO

Objetivos: Caracterizar as principais mutações identificadas na *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (CFTR) em um grupo de crianças e adolescentes de um centro multidisciplinar de tratamento de fibrose cística e sua associação com características clínicas e laboratoriais. **Método:** Estudo transversal descritivo que incluiu pacientes com fibrose cística que possuíam dois alelos identificados com mutação no CFTR. Dados clínicos, antropométricos, laboratoriais e de função pulmonar (espirometria) foram coletados de registros em prontuários e descritos com os resultados de genotipagem da amostra. **Resultados:** Foram incluídos 42 pacientes com fibrose cística. A mutação mais frequente foi a F508del, abrangendo 60 alelos (71,4%). A segunda mutação mais comum foi a G542X (seis alelos, 7,1%), seguida das mutações N1303K e R1162X (ambas com quatro alelos cada uma). Três pacientes (7,14%) apresentaram mutações de classes III e IV, e 22 pacientes (52,38%), homocigose para F508del. Trinta e três pacientes (78,6%) tinham insuficiência pancreática, 11 (26,2%) apresentaram íleo meconial e sete (16,7%) déficit nutricional. Dos pacientes do estudo, 59,52% seriam potenciais candidatos ao uso de fármacos moduladores de CFTR. **Conclusões:** As mutações do CFTR identificadas com mais frequência foram F508del e G542X, as quais são mutações pertencentes às classes II e I, respectivamente, e que, juntamente à classe III, conferem um fenótipo de fibrose cística com mais gravidade. Mais da metade (52,38%) da amostra apresentava F508del em homocigose, população candidata ao novo tratamento com Lumacaftor/Ivacaftor. Aproximadamente 7% dos pacientes apresentavam mutações de classes III e IV, sendo candidatos ao tratamento com Ivacaftor.

Descritores: Fibrose cística; Mutação; Genética; Fenótipo; Criança.

Mutações no CFTR conferem um caráter multissistêmico à doença, caracterizado por manifestações pulmonares, gastrointestinais e nas glândulas sudoríparas.⁽⁴⁾

A expectativa de vida de pacientes com FC vem melhorando substancialmente, de modo que, atualmente, mais da metade tem alcançado a idade adulta.⁽²⁾ Essa melhoria deve-se, entre outros fatores, ao incremento de tratamentos inovadores e ao avanço da assistência interdisciplinar ao paciente com FC.⁽⁵⁾ Recentemente, terapias específicas ao canal CFTR capazes de corrigir o defeito básico têm sido desenvolvidas e aprovadas para uso em vários países. Essas drogas-alvo têm a

Endereço para correspondência:

Leonardo Araújo Pinto. Centro Infantil, Instituto de Pesquisas Biomédicas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Avenida Ipiranga, 6.690, 2º andar, Jardim Botânico, CEP 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

Tel.: 55 51 3320-3000. E-mail: leonardo.pinto@puccrs.br

Apoio financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

perspectiva de transformar a terapêutica da FC, tornando a prescrição de medicamentos mais precisa.⁽⁶⁾

Alguns protocolos incluem a avaliação genética complementar à triagem neonatal e ao diagnóstico clínico da FC, permitindo identificar pacientes elegíveis às terapias mutação-específicas.⁽⁷⁾ As variantes identificadas no CFTR são divididas em seis classes de mutações, baseadas nos seus efeitos funcionais.⁽⁴⁾ A relação entre o genótipo e as consequências clínicas de todas as variantes, entretanto, precisa ser mais bem entendida.

Este estudo teve o objetivo de relatar as principais mutações do CFTR identificadas em um grupo de crianças e adolescentes acompanhados em um centro multidisciplinar de tratamento da FC no Sul do Brasil e associar tais mutações às características clínicas e laboratoriais específicas.

MÉTODO

Trata-se de um estudo transversal descritivo. Foram incluídos pacientes em acompanhamento em um centro de referência do Sul do Brasil. Os sujeitos com história clínica sugestiva que foram incluídos tiveram o diagnóstico confirmado por exames laboratoriais (teste de eletrólitos no suor) e possuíam a identificação de duas mutações no CFTR. A Figura 1 apresenta o fluxograma da inclusão dos indivíduos no estudo.

O centro de referência conta com uma equipe multidisciplinar formada por médicos, nutricionistas, fisioterapeutas e psicólogos, que acompanha regularmente mais de 100 pacientes (crianças e adultos). Os pacientes realizam acompanhamento periódico com exame clínico (com avaliação do estado nutricional e índice de massa corporal — IMC), exames laboratoriais (albumina, glicemia, função hepática e elastase fecal conforme indicação) e espirometria (volume expiratório forçado no primeiro segundo — VEF1). Além disso, ocorre a análise de cultura de escarro ou de *swab* de orofaringe rotineiramente, para identificação de colonização por *Pseudomonas aeruginosa* (PA). A análise molecular do CFTR é feita para todos os pacientes com diagnóstico clínico (com base nos sintomas e cloro no suor > 60), mas sem diagnóstico genético definitivo, na seguinte ordem: genotipagem F508del, kits de pesquisa de mutações e sequenciamento, sendo interrompida a investigação quando houver dois alelos identificados.

A genotipagem da mutação F508del, por ser a mais frequente na população com FC, deu-se para os pacientes com diagnóstico clínico. Os indivíduos heterozigotos, ou os que não apresentavam essa mutação, realizaram um painel de mutações com kits comerciais de 32 ou 97 mutações. Nos casos em que a alteração genética ainda não havia sido identificada nos dois alelos, executou-se o sequenciamento

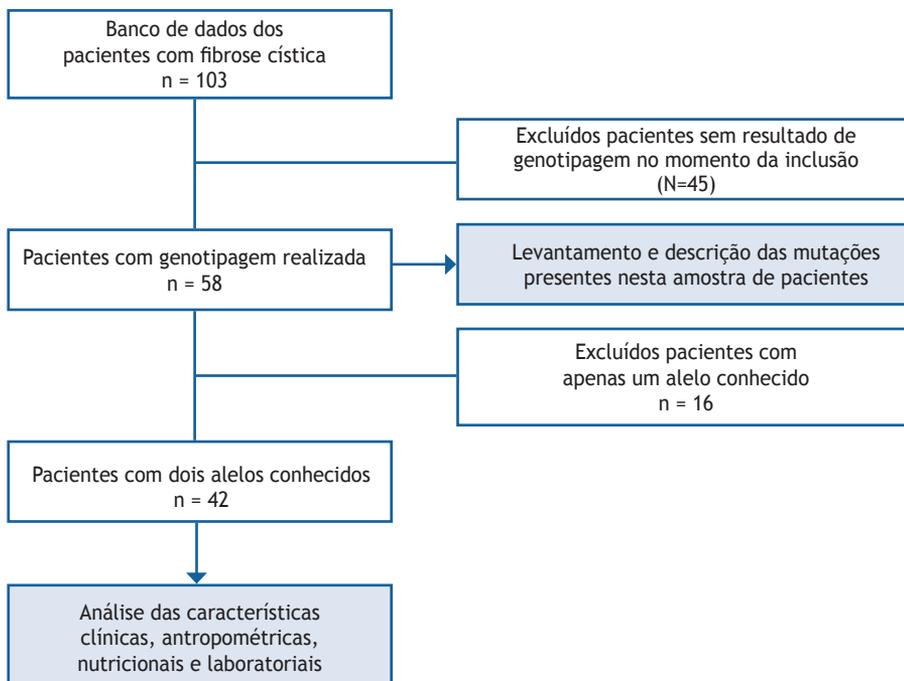


Figura 1. Fluxograma da inclusão dos pacientes no estudo.

completo do CFTR. As análises foram feitas por diferentes laboratórios conforme a disponibilização pelo sistema de saúde ou plano de saúde privado.

Todos os dados coletados (idade, valor da dosagem da tripsina imunorreativa — IRT, cloreto no suor, genótipo, colonização, espirometria e características clínicas) foram obtidos com base nas informações registradas no prontuário dos pacientes. Concomitantemente, realizou-se revisão da literatura a respeito do fenótipo descrito para as mutações mais frequentes encontradas em nossa amostra.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS) e está registrado sob o número 49692115.7.0000.5336.

RESULTADOS

Do total de 103 pacientes com FC acompanhados no centro multidisciplinar, 58 (56,3%) tinham genotipagem realizada. Destes, 42 (72,4%) foram incluídos no estudo por apresentarem os dois alelos do CFTR conhecidos. A Tabela 1 contém dados referentes ao teste do suor e idade dos pacientes, e a Tabela 2 exibe as características clínicas, nutricionais e de função pulmonar conforme a identificação das mutações em cada um dos alelos. A mutação mais frequente foi a de classe II, representada por F508del (p.Phe508del), presente em 38 pacientes (90,48%) e abrangendo 71,43% (60 alelos) do total de alelos identificados. Entre os pacientes nos quais foi identificada a alteração para p.Phe.508del, 57,89% eram homocigotos para

a mutação. A segunda mutação mais comum foi a de classe I, com a mutação G542X (p.Gly542X) presente em seis alelos (7,14%), seguida das mutações N1303K (p.Asn1303Lys) e R1162X (p.Arg1162X), também de classe I, em quatro alelos (4,76%) cada uma delas.

Dos 42 pacientes analisados, 11 (26,2%) possuíam íleo meconial, nos quais foram identificadas as mutações F508del, G542X e R1162X. Todos eles apresentavam a mutação F508del, e sete (63,6%) pacientes eram homocigotos para essa mutação. Três pacientes (27,3%) apontavam como segundo alelo a mutação G542X, e um paciente tinha a mutação R1162X.

Em relação ao estado nutricional, sete pacientes (16,7%) tinham déficit, caracterizado por IMC abaixo do limite inferior da normalidade antes ou depois do diagnóstico da doença, nos quais foram identificadas as mutações F508del, R1162X e R347X, dos quais todos continham a mutação F508del. Destes, quatro eram homocigotos para F508del, dois apresentaram R1162X e um a mutação R347X.

Os pacientes foram colonizados por diferentes tipos de bactérias: *Staphylococcus aureus* (SA), *Pseudomonas aeruginosa* (PA), *Burkholderia cepacia* (BC), *Haemophilus influenzae* e *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). A bactéria mais comum foi SA, estando presente em 28 dos 42 pacientes analisados. PA foi vista em 14 pacientes, dos quais todos apresentavam o alelo F508del e nove deles (64,3%) eram homocigotos para essa mutação. BC esteve presente em quatro pacientes, os quais

Tabela 1. Mutações de *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (CFTR), valores de cloreto no teste do suor (Cl suor) e idade atual dos pacientes com fibrose cística (FC).

Pacientes (n)	Alelo 1	Classe mutação alelo 1	Alelo 2	Classe mutação alelo 2	Cl Suor (mEq/L)	Idade atual (anos)
22	F508del	II	F508del	II	86,51 ± 26,54	9,01 ± 7,20
5	F508del	II	G542X	I	84,66 ± 16,50	11,262 ± 7,3
3	F508del	II	N1303K	II	67,9 ± 0,00*	13,56 ± 3,66
3	F508del	II	R1162X	I	102 ± 19,09	6,66 ± 2,57
1	F508del	II	D1152H	IV	28	3,4
1	F508del	II	3272-26A>G	V	89	11,8
1	F508del	II	R347H	IV	88	2,11
1	F508del	II	G85E	II	76	9,7
1	F508del	II	R1066C	II	-	20
1	G542X	I	G551D	III	-	20,5
1	P205S	IV	3132delTG	I	92	13,1
1	N1303K	II	1078delT	I	79	7,6
1	711+5G>A	I	R1162X	I	-	17,1

Dados apresentados em média e desvio padrão; *apenas 1/3 dos pacientes teve esse dado coletado.

possuíam mutações F508del (3/8 alelos), R1162X (2/8 alelos) e N1303K, 711+5G>A, 1078delT.

No que se refere à função pulmonar, dos 22 pacientes homocigotos para a alteração de classe II p.Phe508del, 12 realizaram espirometria, com valores de VEF1 variando de 24 a 100% do previsto. Os menores valores foram observados nos pacientes com idade acima de 18 anos, demonstrando queda da função pulmonar com o avanço da idade. Dos três pacientes heterocigotos para as duas mutações F508del/N1303K, foi realizada em um deles a espirometria com valor de VEF1 de 77%, sendo esse paciente também colonizado por SA. Dos cinco pacientes heterocigotos para duas mutações F508del/G542X, três apresentaram VEF1 variando entre 72 e 110%, sendo todos maiores de 15 anos, um colonizado por PA e os outros dois por SA. Dos dois pacientes heterocigotos para duas mutações F508del/R1162X, o VEF1 correspondeu a 46 e a 54% em percentil, tendo esses pacientes idade entre 5 e 10 anos. Nos casos de mutações que só apareceram uma vez (F508del/3272-26A>G, F508del/G85E, F508del/R1066C, F508del/G551D, P205S/3132delTG, N1303K/1078delT, 711+5G>A/R1162X), o valor de VEF1 variou de 43 a 104% do previsto.

DISCUSSÃO

Associações genótipo-fenótipo na FC, genes modificadores, fatores epigenéticos e influências ambientais ajudam a entender o amplo espectro de manifestações da doença, que podem variar entre

envolvimento único a multissistêmico e de doença leve a grave.⁽⁸⁾

Nessa amostra de pacientes com FC, F508del foi a mutação mais frequente, afetando mais de 50% dos indivíduos em homocigose. Essa mutação de classe II, responsável pelo processamento incorreto da proteína CFTR, presente em aproximadamente 70% da população caucasiana com FC⁽⁹⁾, é considerada uma mutação grave, exibindo o fenótipo clássico da doença. Indivíduos homocigotos para essa mutação geralmente apresentam teste do suor com cloreto elevado (média de 98 mEq/L), sintomas respiratórios precoces, função pulmonar diminuída, insuficiência pancreática e atraso no crescimento⁽¹⁰⁾. É a mutação causadora de FC mais estudada e conhecida.

Outras três mutações foram observadas com mais frequência em nossa amostra: G542X, R1162X e N1303K. A mutação G542X (classe I), caracterizada por uma alteração que acarreta na ausência da proteína CFTR, foi a segunda mais prevalente nessa amostra de pacientes (seis alelos, 7,14%) e tem frequência estimada entre 2,7 e 8,5% no Brasil.^(11,12) Essa mutação é responsável por alta incidência de íleo meconial.⁽¹³⁾ Em nossa amostra, a maioria dos pacientes que apresentavam um alelo da mutação G542X tinha insuficiência pancreática (66,7%). Um estudo que avaliou variáveis clínicas em 148 pacientes com essa mutação verificou que todos possuíam insuficiência pancreática, o que denota a sua gravidade.⁽¹⁴⁾ Pacientes com a mutação R1162X

Tabela 2. Genotipagem e características clínicas dos pacientes com fibrose cística.

n	Alelo 1	Alelo 2	IM	IP	IMC (percentil)	PA	VEF1 (% do previsto)
22	F508del	F508del	31,82% (7)	77,3% (17)	47,27 ± 33,29	40,9% (9)	71,91 ± 25,48
5	F508del	G542X	60% (3)	60% (3)	58,2 ± 27,14	20% (1)	89 ± 19,31
3	F508del	N1303K	0	100% (3)	53 ± 39,23	33,33% (1)	77 ± 0,00*
3	F508del	R1162X	33,33% (1)	66,66% (2)	70,66 ± 28,99	33,33% (1)	50 ± 5,65
1	F508del	D1152H	não	não	26	não	-
1	F508del	3272-26A>G	não	sim	75	sim	73
1	F508del	R347H	não	sim	91	não	-
1	F508del	G85E	não	sim	99	não	104
1	F508del	R1066C	não	sim	92	sim	78
1	G542X	G551D	não	sim	40	não	82
1	P205S	3132delTG	não	sim	21	não	43
1	N1303K	1078delT	não	sim	51	não	29
1	711+5G>A	R1162X	não	sim	79	não	103

IM: íleo meconial; IP: insuficiência pancreática com confirmação laboratorial; IMC: índice de massa corporal; PA: colonização por *Pseudomonas aeruginosa*; VEF1: volume expiratório forçado no primeiro segundo; *apenas 1/3 dos pacientes teve este dado coletado.

Dados apresentados em média e desvio padrão ou percentual e número absoluto.

(classe I) apresentam teste do suor com cloreto elevado (média de 103 mEq/L), doença pulmonar de leve a moderada e insuficiência pancreática. A mutação de classe II N1303K está entre as mais comuns⁽¹⁰⁾ entre os pacientes com FC, com frequência superior a 1% e grande variação entre diferentes países e etnias.⁽¹⁵⁻¹⁷⁾ Considerada uma mutação grave, seu fenótipo está relacionado a severas consequências no pâncreas, podendo causar insuficiência pancreática e diabetes mellitus.^(15,16,18) No tocante ao fenótipo pulmonar, a gravidade da doença indica grande variabilidade entre as diferentes mutações.^(15,18) Nessa amostra, os pacientes identificados com a mutação N1303K em um dos seus alelos tinham insuficiência pancreática.

Outras mutações encontradas, presentes em um paciente cada uma delas, foram as revisadas a seguir. A mutação 3132del TG (classe I) é rara e estudos populacionais em andamento⁽¹⁰⁾ auxiliarão a determinar o seu fenótipo de doença. A mutação 711+5G>A (classe I) é mais frequente em americanos de origem hispânica e no Nordeste da Itália. Um estudo que incluiu dois pacientes que possuíam essa mutação associada a F508del mostrou que esses pacientes tinham colonização crônica por PA e SA, doença hepática e pancreatite mais frequentemente.⁽¹⁹⁾

A mutação G551D, de classe III, em que ocorre o bloqueio da passagem do cloreto pelo canal da proteína CFTR, está associada à doença pulmonar, à insuficiência pancreática, à infecção por PA e ao teste do suor com valores aumentados. De 2.915 pacientes analisados com média de idade de 20 anos com essa mutação e outra mutação qualquer para FC, a função pulmonar, expressa pelo valor preditivo da espirometria (VEF1%), em crianças menores de 10 anos varia de 73 a 128% e entre 10 e 20 anos de 49 a 121%. Noventa por cento (n = 2.480) dos pacientes apresentaram insuficiência pancreática, e 59% (n = 1.205), colonização por PA.⁽¹⁰⁾

Dos pacientes com FC, 0,7% possuem pelo menos uma cópia da mutação G85E (classe II).^(20,21) Pacientes com genótipo G85E/F508del são semelhantes aos homocigotos para F508del em termos de média de idade ao diagnóstico, média de valores de cloreto no suor, relação peso/altura, espirometria (VEF1) e colonização por PA.⁽²²⁾

A mutação P205S (classe IV, caracterizada por alterações na condução do cloreto através do canal da proteína CFTR) é associada a um fenótipo leve da doença, caracterizando-se por suficiência pancreática^(10,23) e ausência de sintomas gastrointestinais na maioria dos pacientes.⁽²³⁾ Estes apresentam teste do suor com cloreto de em média 84 mEq/L. Cerca de 50% dos pacientes apresentam

colonização por PA ou outros patógenos,⁽¹⁰⁾ mas em geral demonstram boa evolução.

A mutação 3272-26A>G (classe V, dá-se pela quantidade insuficiente de proteína CFTR normal presente na superfície celular) é associada ao fenótipo leve da doença. Pacientes com um alelo 3272-26A>G e outro de classe I-III possuem manifestações clínicas de menor gravidade (diagnóstico tardio, melhor função pulmonar e menor incidência de PA) quando comparados aos pacientes com duas mutações de classe I-III.^(24,25)

A mutação R347H (classe IV) está relacionada com insuficiência pancreática e infecção por PA. De 161 pacientes analisados com média de idade de 23 anos com essa mutação mais outra qualquer para FC, a função pulmonar, expressa pelo valor preditivo da espirometria (VEF1%), em crianças menores de 10 anos oscilou de 95 a 139%, entre indivíduos de 10-20 anos de 78 a 131% e naqueles acima de 20 anos de 34 a 107%.⁽¹⁰⁾

A mutação R1066C (classe II) representa 5% das mutações para FC em Portugal e 1% na Espanha, locais onde um estudo avaliou 28 pacientes com essa mutação. É uma mutação severa, similar ao observado em homocigotos para F508del.⁽²⁶⁾

A presença da mutação D1152H (classe IV) combinada com outra mutação causadora de FC não manifesta a doença em todos os pacientes. Indivíduos que possuem essa mutação associada à outra sabidamente causadora de FC devem realizar acompanhamento com *check-up* regular, mesmo aqueles assintomáticos.⁽¹⁰⁾ A média dos valores de cloreto no teste do suor é de 45 mEq/L, e a maioria dos pacientes possui pâncreas suficiente. A idade média no momento do diagnóstico é de 33 anos. Segundo estudos clínicos, quando concomitante com outras mutações, a D1152H costuma causar sintomas pulmonares, no entanto estes são pouco severos e associados à sobrevivência prolongada.⁽²⁷⁾ A mutação 1078delT (classe I) pode se manifestar fenotipicamente por insuficiência pancreática,⁽¹⁰⁾ podendo seus portadores também apresentarem quadros de cirrose e doença pulmonar leve.^(10,28,29)

Atualmente, o desenvolvimento de drogas que melhoram a função CFTR tem mostrado resultados promissores no curso da doença, podendo contribuir para o aumento da expectativa de vida de pacientes com FC. Dois moduladores sistêmicos de CFTR foram avaliados em ensaios clínicos com pacientes com FC e aprovados pela agência americana Food and Drug Administration (FDA).

O Ivacaftor (VX-770) é um fármaco potencializador do regulador de CFTR, aumentando a função iônica

na superfície celular, melhorando a obstrução das vias aéreas por conta da maior retenção de água e do aumento na depuração do muco. Esse fármaco pode ser utilizado em pacientes que tenham uma entre 33 mutações de classes III e IV — entre elas, as mutações G551D, R347H e 1152H, presentes em três (7,14%) pacientes deste estudo.⁽³⁰⁻³³⁾

Lumacaftor (VX-809) é um corretor CFTR, aumentando a quantidade de proteína localizada na superfície da célula, tendo seu efeito somado ao Ivacaftor, cujo efeito potencializa os canais de cloro.⁽³³⁾ Um estudo publicado em 2014, em que foram incluídos pacientes de 24 centros de fibrose cística na Austrália, Bélgica, Alemanha, Nova Zelândia e Estados Unidos, mostrou que a associação do Ivacaftor/Lumacaftor não tem efeitos significativos para os pacientes heterozigotos para a mutação de classe II (p.Phe508del), porém os pacientes homozigotos para a mutação tiveram redução na frequência das exacerbações e melhoria do VEF1.⁽³⁴⁾

Recentemente, o FDA aprovou o medicamento que combina Tezacaftor (VX-661) e Ivacaftor como uma terapia para pacientes com FC com 12 anos de idade ou mais que carregam duas cópias da

mutação F508del ou para pacientes heterozigotos para essa mutação associado a uma segunda mutação que resulte na função residual de CFTR. O Tezacaftor ajuda a proteína CFTR a se deslocar para a superfície celular, em que o Ivacaftor ajuda o canal iônico CFTR a permanecer aberto por períodos mais longos. Resultados de dois estudos de fase 3 mostraram que o tratamento com essa medicação melhorou significativamente a função pulmonar e outras medidas de saúde em comparação com placebo, com um perfil de segurança favorável. Em nossa amostra de pacientes, 27 (64,2%) deles teriam potencial benefício com uso desse fármaco.

Em suma, as mutações identificadas com mais frequência foram F508del e G542X, as quais têm perfil maior de gravidade. Em nossa amostra, 22 pacientes (52,38%) seriam potenciais candidatos ao uso do composto Lumacaftor-Ivacaftor, que mostrou ser efetivo em sujeitos com mais de 6 anos de idade homozigotos para a mutação F508del. Além disso, três pacientes (7,14%) seriam candidatos ao uso de Ivacaftor, fármaco que pode ser usado em indivíduos que apresentam 33 mutações de classe III ou IV, entre elas, G551D, R347H e 1152H, presentes nesses pacientes.

REFERÊNCIAS

1. Elborn JS. Cystic fibrosis. *Lancet*. 2016;388(10059):2519-31. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00576-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00576-6)
2. Spoonhower KA, Davis PB. Epidemiology of Cystic Fibrosis. *Clin Chest Med*. 2016;37(1):1-8. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2015.10.002>
3. Grupo Brasileiro de Estudos de Fibrose Cística. Portal [Internet]. [acessado em abr. 2018]. Disponível em: <http://www.portalgbefc.org.br>
4. Egan ME. Genetics of Cystic Fibrosis: Clinical Implications. *Clin Chest Med*. 2016;37(1):9-16. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2015.11.002>
5. Ikpa PT, Bijvelds MJ, de Jonge HR. Cystic fibrosis: toward personalized therapies. *Int J Biochem Cell Biol*. 2014;52:192-200. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2014.02.008>
6. Mayer-Hamblett N, Boyle M, VanDevanter D. Advancing clinical development pathways for new CFTR modulators in cystic fibrosis. *Thorax*. 2016;71(5):454-61. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2015-208123>
7. Sosnay PR, Raraigh KS, Gibson RL. Molecular Genetics of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator: Genotype and Phenotype. *Pediatr Clin North Am*. 2016;63(4):585-98. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2016.04.002>
8. Brennan ML, Schrijver I. Cystic Fibrosis: A Review of Associated Phenotypes, Use of Molecular Diagnostic Approaches, Genetic Characteristics, Progress, and Dilemmas. *J Mol Diagn*. 2016;18(1):3-14. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2015.06.010>
9. Cystic Fibrosis Mutation Database. Portal [Internet]. [acessado em abr. 2018]. Disponível em: <http://www.genet.sickkids.on.ca/>
10. Clinical and Functional Translation of CFTR2. Portal [Internet]. [acessado em abr. 2018]. Disponível em: <https://www.cftr2.org/>
11. Araújo FG, Novaes FC, Santos NPC, Martins VC, Souza SM, Santos SEB, et al. Prevalence of deltaF508, G551D, G542X, and R553X mutations among cystic fibrosis patients in the North of Brazil. *Braz J Med Biol Res*. 2005;38(1):11-5. <https://doi.org/S0100-879X2005000100003>
12. Coutinho CA, Marson FA, Ribeiro AF, Ribeiro JD, Bertuzzo CS. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mutations at a referral center for cystic fibrosis. *J Bras Pneumol*. 2013;39(5):555-61. <https://doi.org/10.1590/S1806-37132013000500005>
13. Dupuis A, Keenan K, Ooi CY, Dorfman R, Sontag MK, Naehrlich L, et al. Prevalence of meconium ileus marks the severity of mutations of the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) gene. *Genet Med*. 2016;18(4):333-40. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.79>
14. Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium. Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med*. 1993;329(18):1308-13. <https://doi.org/10.1056/NEJM199310283291804>
15. Osborne L, Santis G, Schwarz M, Klinger K, Dörk T, McIntosh I, et al. Incidence and expression of the N1303K mutation of the cystic fibrosis (CFTR) gene. *Hum Genet*. 1992;89(6):653-8.
16. Gonçalves LCS. Fibrose Cística: Estudo das Variações de Sequência do Gene CFTR na População Pediátrica Portuguesa [dissertação]. Porto: Faculdade de Ciências da Universidade do Porto; 2013.
17. Saraiva-Pereira ML, Fitarelli-Kiehl M, Sanseverino MTV. A Genética na Fibrose Cística. *Rev HCPA*. 2011;31(2):160-7.
18. Farhat R, Puisseuseau G, El-Seedy A, Pasquet MC, Adolphe C, Corbani S, et al. N1303K (c.3909C>G) Mutation and Splicing: Implication of Its c.[744-33GATT(6); 869+11C>T] Complex Allele in CFTR Exon 7 Aberrant Splicing. *Biomed Res Int*. 2015;2015:138103. <https://doi.org/10.1155/2015/138103>
19. Rendine S, Calafell F, Cappello N, Gagliardini R, Caramia G, Riggio N, et al. Genetic history of cystic fibrosis mutations in Italy. I. Regional distribution. *Ann Hum Genet*. 1997;61(Pt 5):411-24. <https://doi.org/10.1046/j.1469-1809.1997.6150411.x>

20. Castellani C, Cuppens H, Macek M Jr., Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros.* 2008;7(3):179-96. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2008.03.009>
21. Chalkley G, Harris A. A cystic fibrosis patient who is homozygous for the G85E mutation has very mild disease. *J Med Genet.* 1991;28(12):875-7.
22. Vertex Pharmaceuticals Incorporated. *A Quick Guide to the G85E Mutation.* Vertex Pharmaceuticals Incorporated; 2016.
23. Chillón M, Casals T, Nunes V, Giménez J, Pérez Ruiz E, Estivill X. Identification of a new missense mutation (P205S) in the first transmembrane domain of the CFTR gene associated with a mild cystic fibrosis phenotype. *Hum Mol Genet.* 1993;2(10):1741-2.
24. Amaral MD, Pacheco P, Beck S, Farinha CM, Penque D, Nogueira P, et al. Cystic fibrosis patients with the 3272-26A>G splicing mutation have milder disease than F508del homozygotes: a large European study. *J Med Genet.* 2001;38(11):777-83.
25. Kanavakis E, Tzetzis M, Antoniadou T, Trager-Synodinos J, Kattamis C, Doudounakis S, et al. Mild cystic fibrosis phenotype in patients with the 3272-26A > G mutation. *J Med Genet.* 1995;32(5):406-7.
26. Liang MH, Wong LJ, Klein D, Shapiro B, Bowman CM, Hsu E, et al. Cystic fibrosis in a Puerto Rican female homozygous for the R1066C mutation. *J Med Genet.* 1998;35(1):84-5.
27. Burgel PR, Fajac I, Hubert D, Grenet D, Stremmler N, Roussey M, et al. Non-classic cystic fibrosis associated with D1152H CFTR mutation. *Clin Genet.* 2010;77(4):355-64. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2009.01294.x>
28. Duguépéroux I, De Braekeleer M, Participating Centres to the French National Cystic Fibrosis Registry. Genotype-phenotype relationship for five CFTR mutations frequently identified in western France. *J Cyst Fibros.* 2004;3(4):259-63. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2004.07.004>
29. Moullier P, Jehanne M, Audrézet MP, Mercier B, Verlingue C, Quéré I, et al. Association of 1078 del T cystic fibrosis mutation with severe disease. *J Med Genet.* 1994;31(2):159-61.
30. Patel S, Sinha IP, Dwan K, Echevarria C, Schechter M, Southern KW. Potentiators (specific therapies for class III and IV mutations) for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;26(3):CD009841. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009841.pub2>
31. Simon RH, Sisson TH. *Cystic fibrosis: Investigational therapies.* UpToDate. 2017.
32. Athanazio RA, Silva Filho LVRF, Vergara AAV, Ribeiro AF, Riedi CA, Procianny EFA, et al. Diretrizes brasileiras de diagnóstico e tratamento da fibrose cística. *J Bras Pneumol.* 2017;43(3):219-45. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37562017000000065>
33. Wainwright CE, Elborn S, Ramsey BW, Marigowda G, Huang X, Cipolli M, et al. Lumacaftor-ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del CFTR. *N Engl J Med.* 2015;373(3):220-31. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1409547>
34. Boyle MP, Bell SC, Konstan MW, McColley Sa, Rowe SM, Rietschel E, et al. A CFTR corrector (lumacaftor) and a CFTR potentiator (ivacaftor) for treatment of patients with cystic fibrosis who have a phe508del CFTR mutation: a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet Respir Med.* 2014;2(7):527-38. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(14\)70132-8](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(14)70132-8)