



Universidade
Estadual de Goiás



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CIÊNCIAS
APLICADAS A PRODUTOS PARA SAÚDE**

LETICIA DE SOUZA PEREIRA

**INVESTIGAÇÃO DO PERFIL GENOTÍPICO DE INDIVÍDUOS COM
FIBROSE CÍSTICA EM UMA POPULAÇÃO MISCIGENADA DO
CENTRO-OESTE BRASILEIRO**

**Anápolis
202**

LETICIA DE SOUZA PEREIRA

**INVESTIGAÇÃO DO PERFIL GENOTÍPICO DE INDIVÍDUOS COM
FIBROSE CÍSTICA EM UMA POPULAÇÃO MISCIGENADA DO
CENTRO-OESTE BRASILEIRO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde da Universidade Estadual de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres
Coorientadora: Profa. Dra. Tânia Cristina
Dias da Silva Hamu

**Anápolis
2022**

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

PP436 PEREIRA, LETICIA DE SOUZA
i INVESTIGAÇÃO DO PERFIL GENOTÍPICO DE INDIVÍDUOS COM FIBROSE CÍSTICA EM UMA POPULAÇÃO MISCIGENADA DO CENTRO-OESTE BRASILEIRO / LETICIA DE SOUZA PEREIRA; orientador FLÁVIO MONTEIRO AYRES; co-orientador TÂNIA CRISTINA DIAS DA SILVA HAMU. -- Goiânia, 2022.
113 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação Mestrado Acadêmico em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde) -- Câmpus Central - Sede: Anápolis - CET, Universidade Estadual de Goiás, 2022.

1. Mucoviscidose. 2. CFTR. 3. Heterogeneidade Genética. 4. Mutação. 5. Epigenética. I. AYRES, FLÁVIO MONTEIRO, orient. II. HAMU, TÂNIA CRISTINA DIAS DA SILVA, co-orient. III. Título.

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL (BDTD/UEG)

Na qualidade de titular dos direitos de autor / autora, autorizo a Universidade Estadual de Goiás a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UEG), regulamentada pela Resolução, CeA n.1087/2018 sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

Estando ciente que o conteúdo disponibilizado é de inteira responsabilidade do autor / autora.

Dados do autor (a)

Nome Completo: Letícia de Souza Pereira

E-mail: fletoterapeutaleticia@hotmail.com

Dados de trabalho

Título: INVESTIGAÇÃO DO PERFIL GENOTÍPICO DE INDIVÍDUOS COM FIBROSE CÍSTICA EM UMA POPULAÇÃO MISCIGENADA DO CENTRO-OESTE BRASILEIRO

Tipo

() Tese (X) Dissertação () Dissertação e Produto Técnico Tecnológico (PTT) () Tese e Produto Técnico Tecnológico (PTT)

Curso/Programa

Concorda com a liberação do documento:

SIM

NÃO

Assinalar justificativa para o caso de impedimento e não liberação do documento:

- Solicitação de registro de patentes;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Período de embargo é de um ano a partir da data de defesa, prorrogável por mais um ano. Em caso de não autorização, o período de embargo será de até um ano a partir da data de defesa, caso haja necessidade de exceder o prazo, deverá ser apresentado formulário de solicitação para extensão de prazo para publicação devidamente justificado, junto à coordenação do curso.

Assinatura autor (a)

Assinatura do orientador (a)



SERVIÇO PÚBLICO ESTADUAL
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
CÂMPUS ANÁPOLIS DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS HENRIQUE
SANTILLO
COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS APLICADAS A PRODUTOS PARA SAÚDE

ATA DA SESSÃO DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO Nº 048

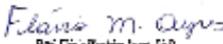
ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO - No dia trinta e um do mês de janeiro de 2022, às 10 h, reuniram-se os componentes da banca Examinadora: Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres – Orientador, Prof. Dr. Miquéias Lopes Pacheco e Profa. Dra. Elizabeth Rodrigues de Moraes, sob a presidência do primeiro, e em sessão realizada por videoconferência. Procederam à avaliação da defesa de dissertação de Mestrado intitulada: “Investigação do perfil genotípico de indivíduos com Fibrose Cística em uma população miscigenada do Centro-Oeste brasileiro” de autoria de Letícia de Souza Pereira, discente do Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde (PPGCAPS) da Universidade Estadual de Goiás. A sessão foi aberta pelo presidente da Banca Examinadora: Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres que fez a apresentação formal dos membros da banca. A palavra a seguir foi concedida a autora da dissertação Letícia Souza Pereira que, em 55 minutos procedeu à apresentação do trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da banca arguiu a examinada, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. A dissertação foi **APROVADA** por unanimidade, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS APLICADAS A PRODUTOS PARA SAÚDE, na área de concentração “Pesquisa e Obtenção de Produtos para Saúde”, na linha de pesquisa- “Monitoramento de Produtos para a Saúde” pela Universidade Estadual de Goiás. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega na secretaria do PPGCAPS, da versão definitiva da dissertação, com as devidas correções. Cumpridas as formalidades de pauta, às 12 horas e 30 minutos, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de dissertação de Mestrado e para constar eu, Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres, presidente da banca, lavrei a presente Ata, que após lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora em três vias de igual teor.



Prof. Dr. Miquéias Lopes Pacheco
Membro externo – Universidade de Lisboa



_ Profa. Dra. Elizabeth Rodrigues de Moraes
Membro externo – UEG



Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres
Presidente da Banca

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde da
Universidade Estadual de Goiás**

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluna: Leticia de Souza Pereira

Orientador: Flávio Monteiro Ayres

Coorientadora: Tânia Cristina Dias da Silva Hamu

Membros:

1. Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres

2. Prof. Dr. Miquéias Lopes-Pacheco

3. Profa. Dra Elizabeth Rodrigues de Moraes

OU

4. Prof. Dr Plínio Lázaro Faleiro Naves

5. Profa. Dra Cibelle Kayenne Martins Roberto Formiga

Data:31/01/2022

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus filhos Andrei e Artur, com eles minha caminhada é mais leve.

Dedico ao meu marido André pelo apoio de sempre.

Finalmente dedico aos meus pais, Iron e Joana, por serem sempre meus pilares.



Agradecimentos

Devo agradecer a muitas pessoas que, de diferentes maneiras, estiveram envolvidas na realização desse trabalho. A finalização do mestrado ocorreu em um período de grandes dificuldades, mas, após vários acontecimentos, poder terminar é uma grande vitória.

Antes de qualquer coisa, agradeço a Deus, por me amparar nesse ano de muita dificuldade e provação e por ter me sustentado e me concedido sabedoria e forças para continuar seguindo meu caminho.

Ao meu marido, André, que sempre me apoiou e me incentivou a trilhar diferentes caminhos, que a todo momento sempre me auxiliou nos pequenos e nas nos grandes obstáculos. Sem ele não teria conseguido, sua ajuda foi desde uma planilha no Excel aos conselhos em momentos de angústia e dificuldades. “Te amo do tamanho do céu inteiro!”

Aos meus filhos, Andrei e Artur, que me ajudaram e sempre compreenderam os momentos de ausência. Até uma mesa de estudos o Artur montou do meu lado. E aos vários momentos que o Andrei cuidou do irmão de diversas maneiras. Como tenho sorte por tê-los em minha vida. “Sou completa com vocês ao meu lado.”

Aos meus pais, Iron e Joana, que sempre me ajudaram de todas as maneiras. Não há como descrever. E essa pandemia veio mostrar que eu ainda não estou preparada para viver longe de vocês!

À minha sogra, Flora, que também me apoiou sempre. A senhora é uma pessoa de um coração enorme.

Nossa, são tantas pessoas a agradecer pela parceria de sempre: Tia Regina, Vera, Terezinha e a equipe do laboratório, principalmente a Clarissa, pela parceria, e a Liz, pelo apoio.

Agradecer à Equipe da Coremu, HUGO, pelo apoio e a compreensão nesse período do mestrado. Vocês me ajudaram de diversas maneiras.

Agradecer à Dra Lusmaia, Dra Lorena, Dra Virginia, Dra Marília, a Dra Raquel, fisioterapeuta, ou seja, a toda a equipe multiprofissional da Fibrose Cística do Hospital das Clínicas, por compartilhar experiências e por me receberem na equipe pelo tempo da pesquisa.

Agradecer ao meu orientador, Flávio Monteiro Ayres, como sou grata pela paciência que você sempre teve, pelas experiências compartilhadas e pelas várias horas de correção em que você explicava suas alterações. Como aprendi com as suas correções e orientações. Muito obrigada!

Agradecer à Universidade Estadual de Goiás pela oportunidade de tempo de aprendizagem e aos diversos mestres que conheci nesse tempo. Vocês são excelentes.

E agradecer imensamente, por último, porém aos mais importantes desse trabalho: os pacientes e familiares por possibilitarem a realização desse estudo. Como vocês são guerreiros. Fico feliz por poder ter compartilhado, mesmo que por pouco, tempo um pouco da história de vocês.

Meu muito obrigada a todos!!!!

RESUMO

A Fibrose Cística (FC) é uma doença autossômica recessiva, causada pela mutação no gene *CFTR*, que ocasiona uma alteração na proteína CFTR, responsável pela condução do cloreto e do bicarbonato em tecidos epiteliais. A doença está associada a uma morbidade acentuada, que varia de acordo com a mutação de cada paciente. As alterações proteicas, estratificadas de acordo com as classes de mutações, estão associadas aos fenótipos da doença, sendo de leve a grave. O presente trabalho teve como objetivo analisar a aplicabilidade de marcadores moleculares do gene *CFTR* na avaliação da FC. Para atingir o objetivo proposto, a dissertação foi estruturada em quatro artigos. O primeiro artigo da dissertação é uma revisão de literatura sobre os aspectos estruturais do gene *CFTR*. As bases de dados utilizadas para a busca foram: PubMed, LILACS (Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciência da Saúde) e MEDLINE (Literatura Internacional em Ciências da Saúde e Biomédica). Os artigos encontrados nas plataformas escolhidas somaram 1.418 artigos, dos quais 24 deles retratavam de fato a estrutura do gene *CFTR*. Foi realizada a descrição da estrutura e morfologia do gene *CFTR* e a associação dos éxons com os respectivos domínios codificados na proteína CFTR, sendo que mutações no gene repercutem na fisiopatologia da FC. No segundo artigo foram descritas as principais mutações encontradas em um centro de referência de FC em Goiânia. Foi um estudo transversal, descritivo, em que os dados foram coletados dos prontuários. O estudo evidenciou uma alta heterogeneidade dos indivíduos analisados, sendo que esse perfil alelotípico e genotípico destoa dos perfis descritos no restante do Brasil e principalmente dos dados em populações pouco miscigenadas. O terceiro artigo trata-se de uma revisão sistemática da literatura, que teve como objetivo pesquisar sobre a associação entre o silenciamento do gene *CFTR* por uma via epigenética, a metilação, que independe do gene mutado em indivíduos com FC. Essa pergunta foi pautada nos indivíduos com sintomas que caracterizam a FC, porém com teste genético negativo ou inconclusivos. As buscas foram realizadas nos bancos: Pubmed, Scopus e Web of Science. Um total de 316 artigos foram selecionados e, após aplicação dos critérios de elegibilidade, foram incluídos quatro artigos. A revisão sistemática permitiu concluir que a via epigenética por metilação não está intrínseca na etiologia da FC. O quarto artigo objetivou avaliar a função pulmonar e o desempenho no teste de caminhada de seis minutos (TC6min) de crianças com FC e correlacionar com as variáveis clínicas. Foi um estudo transversal, analítico, realizado em um centro de referência de Fibrose Cística, na cidade de Goiânia. Dos indivíduos com FC, acompanhados no ambulatório, foram selecionados para participar um total de 20 crianças. A média de idade era

de 10,4 anos, a maioria era do sexo feminino (70%), distância percorrida 489,81 no TC6min. A média do VEF1: 73,76%, CVF: 81,88%. As crianças e adolescentes com fibrose cística dessa amostra percorreram uma distância menor quando comparados a crianças e adolescentes saudáveis. E que as variáveis idade apresentam relação direta, enquanto VEF1 e IMC inversa com a distância.

Palavras-chave: Mucoviscidose; *CFTR*; Heterogeneidade Genética; Mutação; Fenótipo; Epigenética

Abstract

Cystic Fibrosis (CF) is an autosomal recessive disease caused by a mutation in the *CFTR* gene which provides an alteration in the *CFTR* protein that is responsible for the conduction of chloride and bicarbonate in epithelial tissues. This disease is associated with an accented morbidity that varies according to the mutation in each patient. Protein changes which are categorized according to mutation classes and they are associated with disease's phenotypes ranked from mild to severe. This study aims to analyze the applicability *CFTR* gene's molecular markers in the CF's assessment. To reach the main goal of this work, the dissertation is structured in four articles. The first article is a literature review on the structural aspects of the *CFTR* gene. The databases used for the research were: PubMed, LILACS (Latin American and Caribbean Literature in Health Sciences), MEDLINE (International Literature in Health Sciences and Biomedical). From the 1,418 articles found on these platforms 24 of them mentioned the *CFTR* gene's structure. The *CFTR* gene's structure and morphology description and its association of the exons with its respective encoded domains in the *CFTR* protein were performed. Mutations in the gene affect the CF's pathophysiology. The second article describes the main mutations found in a CF referral center in Goiânia. It was a cross-sectional, descriptive study in which data were collected from medical records. The study showed a high heterogeneity of the patients analyzed and, this allelotypic and genotypic profiles differs from the profiles described in other parts of Brazil, mainly from population with little miscegenated data. The third article is a systematic review of the literature which aims to investigate the association among silencing the *CFTR* gene by an epigenetic pathway, methylation, which is independent of the mutated gene in CF patients. This question was based on patients with symptoms that characterize CF, but with a negative or inconclusive genetic test. The research was done in Pubmed, Scopus and Web of Science databases. A total of 316 articles were selected and, after applying the eligibility criteria, four articles were also included. The systematic review allowed us to conclude that the epigenetic pathway by methylation is not intrinsic to the CF's etiology. The fourth article aims to evaluate lung function and its performance in the six-minute walk test of children with CF and to correlate with clinical variables. It was a cross-sectional, analytical study carried out in a reference center for Cystic Fibrosis in the city of Goiânia. A total of 20 children with CF followed up at the outpatient clinic were selected to participate in the study. The medium age was 10.4 years old; they were most female (70%) and the distance covered 489.81meters in the walking test of 6 minutes. The average was FEV1: 73.76%, FVC: 81.88%. The children and adolescents

with cystic fibrosis in this sample covered a shorter distance when compared to healthy children and adolescents. And the age variables have a direct relationship, while FEV1 and BMI are inverse with distance.

Keywords: Mucoviscidosis; *CFTR*; Genetic Heterogeneity; Mutation; Phenotype; epigenetics

Tabelas, Figuras e Anexos

• Introdução

Figura 1: Gene <i>CFTR</i> e do	20
Figura 2: A estrutura da proteína CFTR.....	21
Figura 3: A estrutura tridimensional da proteína CFTF.....	21
Quadro 1: Distribuição das cinco mutações mais frequentes no Brasil e outros locais do mundo	22
Figura 4: Classes de mutações	23
Figura 5: Papel do <i>CFTR</i> nas vias aéreas saudáveis e mecanismos moleculares que causam disfunção do CFTR na fibrose cística	24
Tabela 2: Novas Terapias para Fibrose Cística.....	27

• Artigo 1 - Gene *CFTR* e Fibrose Cística: Uma Revisão de Literatura

Figura 1: Defeitos nas etapas de ação da proteína.....	38
Figura 2: representação da associação entre o mRNA processado e os domínios funcionais da proteína CFTR.....	39
Tabela 1: Associação do éxon com o domínio codificado na proteína CFTR.....	40

• Artigo 2 - Caracterização das Mutações dos Indivíduos Com Fibrose Cística no Centro-Oeste Brasileiro: Um Estudo Transversal

Fluxograma 1: Seleção dos indivíduos do estudo.....	47
Tabela I: Caracterização da amostra.....	48
Gráfico I: Comparação entre as mutações encontradas no Estudo, no Brasil e no mundo.....	49
Tabela II: Caracterização das variáveis clínicas pulmonares e Índice de Massa Corporal.....	50

• Artigo 3 - Aspectos epigenéticos da fibrose cística por via de metilação: uma revisão sistemática

Figura 1: Fluxograma das avaliações dos artigos.....	63
Tabela 1 - Risco de viés para estudos caso-controle usando a escala Newcastle-Ottawa.....	63
Tabela 2 – Tabela 2: Descrição dos principais achados em cada artigo	65

• **Artigo 4** - Avaliação da função pulmonar e do teste de caminhada de 6 minutos em com Fibrose Cística

Tabela 1: Caracterização da amostra.....78

Tabela 2: Comparação das variáveis clínicas segundo o sexo.....78

Tabela 3: Comparação entre as médias de acordo com a classificação das mutações..... 79

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

ABC - *ATP-binding cassette*

ATP - adenosina trifosfato

CFTR – gene *CFTR* (no português Reguladora de Condutância Transmembrana de Fibrose Cística)

CFTR – proteína CFTR

Cl⁻ – cloreto

CpG - Dinucleotídeo Citosina-Guanina

CVF - Capacidade Vital Forçada

DNA – ácido desoxirribonucleico

DP - Desvio Padrão

ENAC – Canal de Sódio Epitelial (do inglês *epithelial sodium channel*)

f – frequência

FC – Fibrose Cística

CG - Citosina-Guanina

HCO₃⁻ – bicarbonato

HGNC - *Hugo Gene Nomenclature Committee*

IMC - Índice de massa corporal

IRT - tripsinogênio imunorreativo

Kb – kilobases

Kg - quilograma

LILACS - Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciência da Saúde

MRSA - *Staphylococcus Aureus* Resistente à Meticilina,

MEDLINE - Literatura Internacional em Ciências da Saúde e Biomédica

mRNA – RNA mensageiro

NBD – domínio de ligação a nucleotídeos

NCBI- *National Center for Biotechnology Information*

NOS - *Newcastle-Ottawa Scale*

OMS - Organização Mundial de Saúde

pb – pares de bases

pH – potencial hidrogeniônico

RNA – ácido ribonucleico

SAME - Serviço de Arquivamento Médico e Estatístico

SPSS - *Statistical Package for Social Sciences*

TC 6' – Teste de Caminhada de Seis Minutos

TMD – Domínio transmembranar

UEG - Universidade Estadual de Goiás

UTR - *untranslated region*

VEF1 – Volume expiratório forçado no primeiro segundo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
1.1 Fibrose Cística.....	18
1.2 Gene <i>CFTR</i>.....	19
1.3 Proteína <i>CFTR</i>.....	20
1.4 Aspectos Clínicos.....	23
1.5 Diagnóstico.....	26
1.6 Tratamento.....	26
2 OBJETIVOS.....	28
2.1 Objetivo Geral.....	28
2.2 Objetivos Específicos.....	28
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
3.1 Dados para descrever a estrutura do gene <i>CFTR</i>.....	29
3.2 Caracterização das mutações presentes na região centro-oeste.....	29
3.3 Dados para o levantamento sobre a metilação do gene <i>CFTR</i>.....	30
3.4 Dados para o Teste de caminhada de 6 minutos.....	30
3.5 Análise dos Dados.....	31
4. RESULTADOS.....	32
4.1 Gene <i>CFTR</i> e fibrose cística: uma revisão de literatura.....	33
4.2 Caracterização das mutações dos indivíduos com fibrose cística no centro-oeste brasileiro: um estudo transversal.....	44

4.3 Aspectos epigenéticos da fibrose cística por via de metilação: uma revisão sistemática.....	59
4.4 Avaliação da função pulmonar e do teste de caminhada de 6 minutos em indivíduos com fibrose cística.....	75
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	90
REFERÊNCIAS.....	92
ANEXOS.....	98
APÊNDICE.....	108

1. INTRODUÇÃO

1.1 Fibrose Cística

Fibrose cística (FC) é uma doença hereditária autossômica recessiva. Afeta cerca de 100.000 pessoas em todo o mundo, com média de 1.000 novos casos diagnosticados por ano no mundo, e mais da metade da população com FC tem 18 anos ou mais (CUTTING, 2014; CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION, 2020). No Brasil, o número de registros de novos casos vem crescendo: em 2018 foram 290 novos registros de FC, totalizando 5417 de casos registrados (REBRAFC, 2018).

A expectativa média de vida para a população com FC na Europa, a partir dos cálculos atuais, é de aproximadamente 40 anos (ZOLIN et al., 2017). Já nos EUA, em 2018, a média prevista de sobrevida era de 47,4 anos. No Brasil, houve um aumento significativo da idade de óbito, no período de 2007 a 2017. Isso ocorre devido a melhor diagnóstico e melhora no tratamento clínico (HASIAK; VICENTE; FERREIRA, 2021). Em relação aos dados de 2018, não foi possível obter uma mediana de sobrevida desses indivíduos com FC, no Brasil (REBRAFC, 2018). Porém, ocorreu nos últimos anos um aumento da mediana de idade de óbitos, sendo que em 1999 a mediana foi de 6,5 anos e em 2017 foi de 61,5 anos nas mulheres e 10,5 anos e 50,5 anos nos homens (HASIAK; VICENTE; FERREIRA, 2021). Quando analisado o Sistema de Informação sobre Mortalidade no DATASUS, em 2019, há descrito um total de 248 óbitos relacionados a FC, desses, 16 óbitos foram notificados na região Centro-Oeste, porém esses dados podem estar subnotificados (DATASUS, 2021).

A incidência da FC é diversificada devido a aspectos étnicos de cada população mundial. É de aproximadamente 1 em 2.500 nos caucasianos, com uma frequência de portadores de 1 a cada 25 pessoas (ROWNTREE; HARRIS, 2003; DAVIES, 2007). Já nos Estados Unidos, ocorre a doença em 1 a cada 3500 recém-nascidos (LEGRYS, 2002; FARRELL et al., 2008). No Brasil, há uma proporção estimada de 1:7.576 nascidos vivos, levando-se em consideração as diferenças regionais devido à alta miscigenação da nossa população (ATHANAZIO et al., 2017). Segundo o Registro Brasileiro de 2018, a maior distribuição de indivíduos com FC é na região Sudeste (REBRAFC, 2018).

Com o aprimoramento dos métodos de diagnósticos e tratamento dos indivíduos com FC, o Brasil possui, atualmente, um plano de cobertura de triagem neonatal para essa doença e há centros de referência nos principais estados para o acompanhamento dos indivíduos (ATHANAZIO et al., 2017; REBRAFC, 2017). A FC foi incluída no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) em 2001 e, em 2014, atingiu uma cobertura de 84% dos nascidos

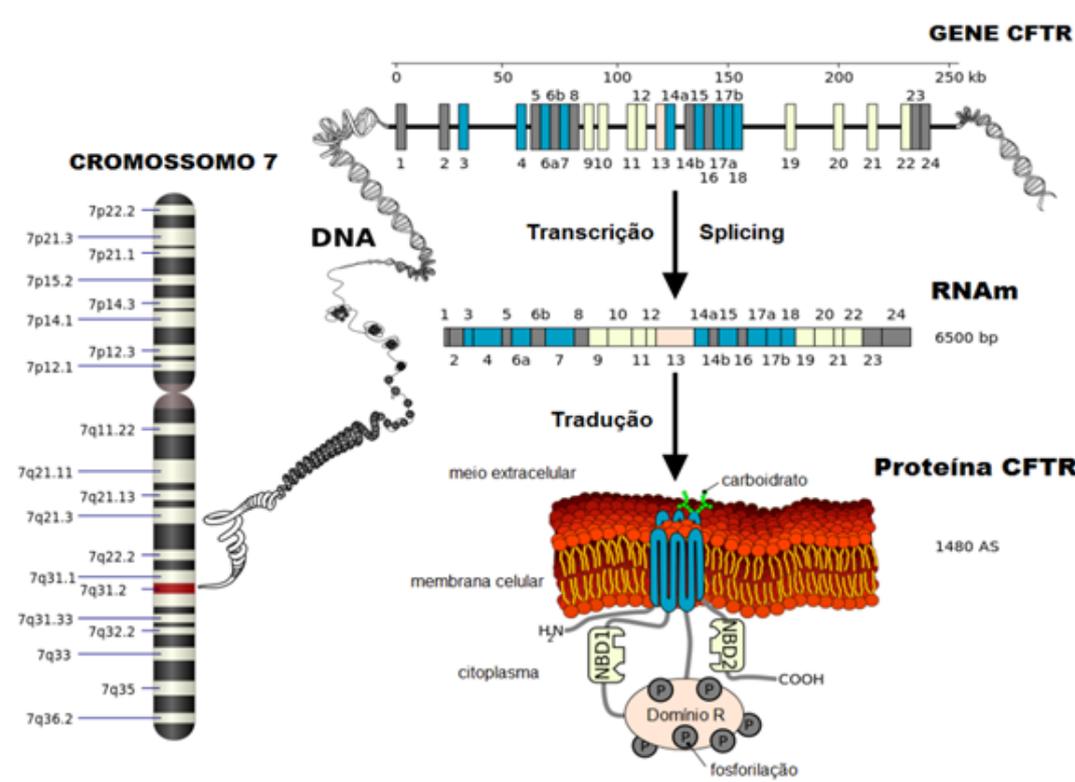
vivos da rede pública (BRASIL, 2016). Porém, acredita-se que há muito mais pessoas sem diagnóstico e tratamento adequado em algumas regiões brasileiras.

Há evidências do impacto do diagnóstico precoce nos desfechos clínicos e funcionais dos indivíduos com FC (MARTIN et al., 2012). Atualmente, a expectativa de vida desses indivíduos vem aumentando gradativamente devido ao diagnóstico precoce, aos cuidados especializados com uma equipe multiprofissional e tratamentos mais específicos (CONWAY et al., 2014). Medidas para controlar a doença, prevenir o declínio clínico, nutricional e da função pulmonar são essenciais para o aumento da sobrevida dos indivíduos (VANDEVANTER et al., 2016).

A FC é reconhecida, inicialmente, como uma doença grave e com mortalidade alta, nos primeiros anos de vida. Devido aos estudos sobre a doença, a cada década, observa-se uma maior sobrevida dos indivíduos (CHAKR et al., 2006). Atualmente, devido ao progresso no conhecimento dos tratamentos nutricionais, antimicrobianos e o impacto do tratamento multidisciplinar, a sobrevida é maior, até nos casos mais graves (DAVIES, 2007).

1.2 Gene *CFTR*

O gene responsável pela FC foi isolado por clonagem posicional, usando as técnicas de “*chromosome walking*” e “*chromosome jumping*”. O gene está localizado no braço longo do cromossomo 7, *locus* 7q31.2. A sequência desse gene apresenta 250 Kb de comprimento, possuindo 27 éxons. Esses éxons apresentam tamanhos que variam de 38 pb (éxon 6a) a 723 pb (éxon 13), com média de 200 pb. Enquanto os 26 íntrons variam de 1,1 Kb (íntron 6a) a 40 Kb (íntron 3) (Figura 1) (ROMMENS et al., 1988; RIORDAN et al., 1989). O gene denominado Regulador da Condutância da Transmembrana da Fibrose Cística (*CFTR- Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*) contém 4.560 pares de nucleotídeos, codificando uma glicoproteína final com 1.480 aminoácidos, denominada proteína CFTR (ROWNTREE; HARRIS, 2003). Essa proteína expressa, em condições normais, nas células epiteliais que revestem as vias respiratórias, trato gastrointestinal, ducto biliar e pancreático, glândulas sudoríparas e parte dos órgãos reprodutivos.

Figura 1: Gene *CFTR* e proteína CFTR

Fonte: GONÇALVES, 2017; Imagem adaptada ZIELENSKI e TSUI, 1995.

O mecanismo preciso da regulação do gene *CFTR* ainda não foi totalmente elucidado. É provável que muitos mecanismos estão envolvidos na expressão gênica nos tecidos epiteliais e a regulação temporal específica exibida por este gene (MCCARTHY; HARRIS, 2005).

1.3 Proteína CFTR

A proteína CFTR é um membro da superfamília de transportadores ABC (*ATP-binding cassette*). Essa proteína transmembranar utiliza a energia resultante da hidrólise de ATP para transportar cloreto e bicarbonato através de membranas (ELBORN, 2016). A proteína CFTR possui dois domínios transmembranares (TMDs; [TMs] 1-6 em TMD1 e TM7-TM12 em TMD2), que formam o poro do canal, cada um seguido por um domínio citosólico de ligação de nucleotídeo (NBD1 e NBD2), responsáveis pela abertura do canal. Há um domínio regulatório (Domínio R) único, localizado entre dois complexos TMD-NBD, responsável pela atividade do canal via fosforilação. As caudas amino e carboxo-terminal são orientadas para o citoplasma e atuam como mediadores da interação entre CFTR e uma variedade de proteínas ligantes (Figura 2) (HWANG et al., 2018).

Figura 2: A estrutura da proteína CFTR.

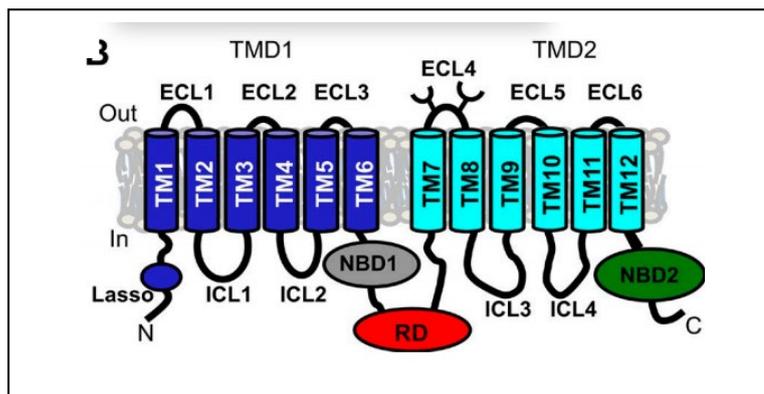


Imagem adaptada HWANG et al., 2018.

Figura 3: A estrutura tridimensional da proteína CFTR

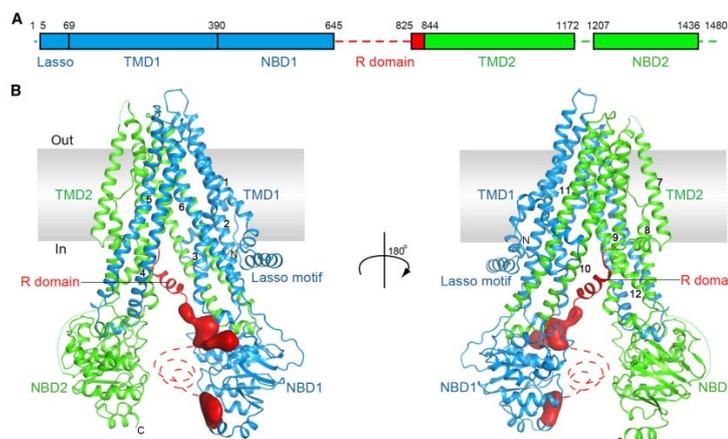


Imagem do estudo de LIU et al., 2017

A mutação do gene *CFTR* pode interromper o papel fisiológico da proteína CFTR, desde o controle da transcrição, defeito no processamento da proteína, até o ancoramento estável da proteína na membrana celular (BERGERON, CANTIN, 2019). Dessa forma, a alteração nas concentrações de cloreto intracelular, devido a disfunção proteica, acarretou alterações na concentração de sódio, para manter o equilíbrio eletrolítico na célula. Essa alteração ocasiona uma mudança na composição do muco secretado pelas células, aumentando a viscosidade, causando, assim, obstrução dos ductos, principalmente pancreático e pulmonar (SCHINDEL et al., 2012; ATHANAZIO et al., 2017).

Atualmente, existem mais de 2.000 mutações identificadas (CFTR2, 2021). Das mutações descritas na literatura, 40% causam a substituição de um único aminoácido, mutações de sentido trocado. As mutações que causam alteração no processamento de RNA totalizam 36%, sendo mutações sem sentido, *frameshift* e mutações em sítios de *splicing*. Podem ocorrer, também, grandes rearranjos de *CFTR* e alterações nas regiões promotora

(CUTTING, 2014). No gene *CFTR*, as mutações estão situadas em toda a região codificadora do gene e na região promotora (RATJEN, 2009). Também podem ocorrer mutações intrônicas localizadas perto dos limites do éxon, especificamente em locais de splicing. No entanto, essas variantes não são exploradas atualmente na investigação diagnóstica de rotina (MORRIS-ROSENDAHL et al., 2020).

A mutação mais conhecida é a F508del, que promove a deleção de 3 pb no éxon 10 e ocasiona a perda da fenilalanina no códon 508, sem mudança da matriz de leitura (BERNARDINO et al., 2000). É associado a sintomas mais graves da doença, sendo responsável por 70% dos alelos de FC na população mundial (DRUMM; ZIADY; DAVIS, 2012). Porém, a distribuição das mutações no gene *CFTR* altera de acordo com a região e miscigenação da população (Tabela 1). No Brasil, devido à alta miscigenação da população, a frequência alélica das mutações são diferentes de acordo com cada região (BERNARDINO et al., 2000; GODINHO, 2008)

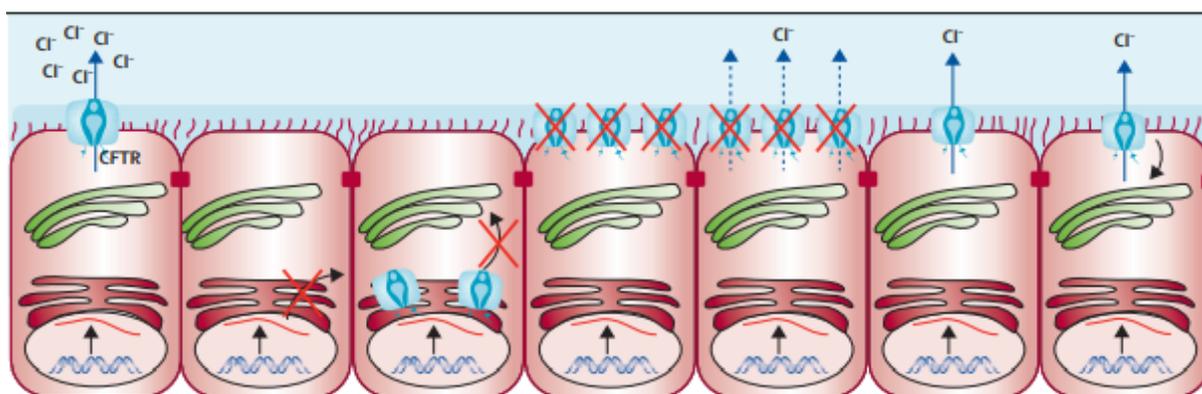
Quadro 1: Distribuição das cinco mutações mais frequentes no Brasil em outros locais do mundo

	Brasil	Europa	EUA	Canadá	Austrália
1°	F508del	F508del	F508del	F508del	F508del
2°	G542X	G542X	G542X	621+1G->T	G551D
3°	3120+1G->A	N1303K	G551D	G542X	R117H
4°	R334W	G551D	R117H	G551D	G542X
5°	R1162W	W1282X	N1303K	711+1G->T	1717-1G->A

Dados das fontes: (REBRAFC,2018; ZOLIN et al., 2017; CYSTIC FIBROSIS CANADA, 2018; AUSTRALIAN; CYSTIC FIBROSIS, 2020).

As mutações são classificadas em seis, de acordo com as alterações celulares e moleculares causadas na proteína CFTR, sendo as classes I, II e III as com fenótipos mais graves e as IV, V e VI com fenótipos mais brandos (Figura 2) (RATJEN, 2009). Há uma outra classificação com a divisão em sete classes, sendo a nova classe caracterizada por não haver transcrição do mRNA, ou seja, ausência da proteína CFTR associada a um fenótipo mais severo da doença. A classificação das mutações auxilia na conduta quanto ao tratamento a ser utilizado na FC (DE BOECK; AMARAL, 2016).

Figura 4: Classes de mutações e suas alterações na função da proteína



	Classe I	Classe II	Classe III	Classe IV	Classe V	Classe VI
Alteração no <i>CFTR</i>	Não há proteína	Não há transporte	Atividade anormal do canal	Redução da condutância	Redução da síntese da proteína	Redução da Estabilidade
Tipos de Mutações	G542X, S4X	F508del, G85E	S549A	R334W	V232D, 3272-26->G,	c.120del23
Terapia corretiva	Resgate da Síntese	Resgate do Transporte	Restaurar atividade do canal	Restaurar condutância do canal	Corrigir <i>splicing</i>	Promover estabilidade

Adaptação da imagem DE BOECK; AMARAL, 2016.

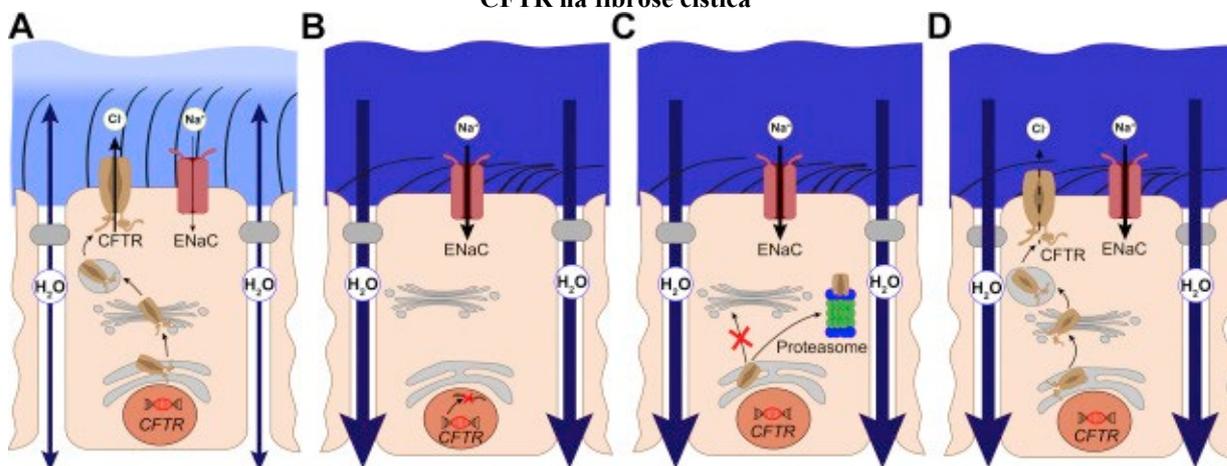
1.4 Aspectos Clínicos

O fenótipo apresentado na FC é bastante heterogêneo, podendo ocorrer desde alterações leves a quadros graves da doença (DRUMM; ZIADY; DAVIS, 2012). A evolução da doença pode ocorrer de forma complexa, devido a uma resposta inflamatória exacerbada, sendo que a inflamação pode ocorrer mesmo na ausência de infecção e iniciar muito precocemente nos indivíduos com FC. Entretanto, infecções bacterianas crônicas, sem dúvida, desempenham um papel importante na progressão da doença pulmonar (KONSTAN MW; BERGER M., 1997).

A proteína CFTR controla a expressão de ENaC – canal de sódio epitelial (do inglês - *epithelial sodium channel*). Portanto, a ausência da proteína CFTR funcional leva a um aumento da expressão de ENaC e concomitante aumento da absorção de sódio que, em paralelo, resulta em maior absorção de água e desidratação da superfície epitelial (DANIELLE X. MORALES, SARA E. GRINESKI, 2018). Essa redução do volume líquido, principalmente nas vias aéreas, gera o espessamento das secreções, predispondo à colonização bacteriana. O influxo de neutrófilos para conter a infecção bacteriana pode levar a uma liberação excessiva de conteúdo, como citocinas e elastase neutrófila, que podem causar

danos ao epitélio e lesar a estrutura das vias aéreas (JUNDI; GREENE, 2015; BRAGONZI et al., 2018).

Figura 5: Papel do CFTR nas vias aéreas saudáveis e mecanismos moleculares que causam disfunção do CFTR na fibrose cística



(A) CFTR Funcional é expresso na superfície apical das células epiteliais das vias aéreas junto com o ENaC. A regulação coordenada de CFTR e ENaC permite a hidratação adequada da superfície das vias aéreas e a depuração mucociliar eficaz. (B-D) na FC, diferentes mutações causam disfunção por meio de diferentes mecanismos moleculares. Uma consequência comum da disfunção de CFTR e absorção desequilibrada de sódio / fluido mediada por ENaC é a desidratação da superfície das vias aéreas e a depuração mucociliar prejudicada, preparando o cenário para a obstrução do muco das vias aéreas, infecção crônica e inflamação em indivíduos com FC (GENTZSCH; MALL, 2018).

Entretanto, a proteína CFTR também conduz bicarbonato e a disfunção da proteína altera o pH do líquido da superfície das vias aéreas, sendo que o pH é relacionado com a inativação bacteriana. Assim, é possível que a disfunção de CFTR resulte em múltiplas consequências para a hidratação, depuração mucociliar, imunidade inata prejudicada, e pode predispor ao aumento da inflamação. O acúmulo de muco, inflamação e infecções ocorrem de forma cíclica na fisiopatologia da FC, o que resulta em lesão do tecido pulmonar, fibrose e redução das áreas de troca gasosa (ELBORN, 2016).

Porém, esse comprometimento não acontece apenas nas vias aéreas: pode ocorrer, também, alterações nos sistemas gastrointestinais, glândulas sudoríparas e sistema geniturinário, o que resulta em um vasto conjunto de manifestações e complicações observadas nos indivíduos com FC. Porém, 85% da mortalidade nos indivíduos com FC resulta de comprometimentos pulmonares (WHEATLEY, WILKINS, 2011).

A presença de secreções espessas gera obstrução das pequenas vias aéreas, porém há controvérsias na literatura de que o acúmulo de muco gera uma resposta inflamatória ou a resposta inflamatória acentua o acúmulo de muco. Concomitante a isso, estes dois processos podem ocorrer com ou sem a presença de patógenos. A inflamação, presente inclusive nos

pulmões desde o nascimento, leva à formação de bronquiectasias e lesão pulmonar progressivas, culminando com insuficiência respiratória grave. Clinicamente, o comprometimento pulmonar pode manifestar-se por bronquiolite, bronquite, atelectasias, bronquiectasias, pneumotórax, hemoptise, pneumonias recorrentes, *cor pulmonale* e insuficiência respiratória. Inicialmente, a limitação ao fluxo expiratório desencadeia uma doença obstrutiva, porém, com a progressão da doença respiratória, o distúrbio associa uma restrição ventilatória devido à fibrose, gerando uma disfunção mista, o que resulta em limitação nas atividades de vida diária (ANDRADE et al., 2005). Outro fator associado à piora do quadro pulmonar são as infecções recorrentes que se iniciam nos primeiros anos de vida (CANTIN et al., 2015), sendo os microrganismos mais encontrados: *Staphylococcus aureus* (59%), *Pseudomonas aeruginosa* (42,3%) e *Haemophilus influenzae* (8%) (ATHANAZIO et al., 2017). A presença dessas bactérias podem se alterar no decorrer da vida, sendo *Staphylococcus aureus* e *Haemophilus influenzae* na infância e adolescência, enquanto *Pseudomonas aeruginosa* para adultos (LIPUMA, 2010). No Brasil, os dados dos microrganismos identificados mais prevalentes, em 2018, foram *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*- sensível e *Staphylococcus aureus* resistente (MRSA), com variações de acordo com a faixa etária (REBRAFC, 2018).

Além das repercussões pulmonares, podem ocorrer repercussões em órgãos como o fígado, causando cirrose, e pâncreas, com disfunção exócrina, diabetes e pancreatite. No intestino, as obstruções intestinais podem acontecer ao nascimento, íleo meconial, ou obstruções intestinais distais. Já no trato reprodutor masculino, pode ocorrer a infertilidade (CUTTING, 2014).

As repercussões no trato gastrointestinal são, na maioria dos casos, secundárias à insuficiência pancreática, devido às enzimas pancreáticas insuficientes, causando, assim, má digestão, distensão abdominal, absorção inadequada de nutrientes, com dificuldade de ganho de peso e carência de vitaminas lipossolúveis, proteínas e má absorção de gorduras (CHAKR et al., 2006). Complicações mais graves e complexas podem ocorrer como síndrome da obstrução intestinal, íleo meconial, prolapso retal, esteatose hepática e complicações biliares (SABHARWAL, 2016).

Outra complicação metabólica nos indivíduos com FC é a diabetes. A intolerância à glicose é uma manifestação extrapulmonar comum. Apresentam sintomas como astenia, dificuldade de manter o peso e desidratação. A incidência de diabetes aumenta à medida que há um aumento da expectativa de vida entre os indivíduos com FC, pela fibrose e destruição do tecido pancreático (KAYANI; MOHAMMED; MOHIADDIN, 2018).

O déficit nutricional está associado, também, a alterações na força muscular periférica (YATAR et al., 2015). Essa redução na força muscular está associada a uma maior perda de massa muscular periférica, o que contribui para a intolerância ao exercício nessa população e tem impacto direto nas atividades realizadas diariamente por esses indivíduos. Destaca-se que a força muscular periférica está relacionada com a função pulmonar e a capacidade física dos indivíduos com FC (ROVEDDER et al., 2019).

A tríade clássica da FC é caracterizada pela doença pulmonar crônica, a insuficiência pancreática e as altas concentrações de cloreto no suor. Há uma perda excessiva de eletrólitos pelo suor, com depósitos de cristais de sal na pele. Os portadores de FC podem apresentar sudorese excessiva, provocando desidratação grave (PENAFORTES et al., 2013).

1.5 Diagnóstico

O programa de triagem neonatal foi ampliado para rastreamento de FC no âmbito do Sistema Único de Saúde, no ano de 2001, sendo responsável por diagnóstico precoce e a otimização quanto ao tempo de tratamento e redução de sequelas de várias doenças. Na FC, o diagnóstico é realizado com a dosagem do tripsinogênio imunorreativo (IRT), considera-se positivo valores acima de 70 ng/ml após duas coletas. Caso após a segunda coleta o valor permanecer elevado, um teste de eletrólitos no suor deve ser realizado (BRASIL, 2016).

O teste do suor é o padrão ouro para o diagnóstico de FC. Foi desenvolvido em 1959, sendo utilizado até os dias de hoje para o diagnóstico de FC. A dosagem de cloreto ≥ 60 mmol/l, em duas amostras, confirmam o diagnóstico da doença. Valores de cloreto entre 30 a 59 mmol/l são classificados com inconclusivos e pesquisa de mutações devem ser realizadas (ATHANAZIO et al., 2017).

O sequenciamento do gene *CFTR* deve ser realizado nos casos confirmados pelo método quantitativo do cloreto e nos casos em que as dosagens de cloreto foram intermediárias como método. A identificação da mutação é importante para o prognóstico e quanto ao planejamento do tratamento. No Brasil, há uma evolução quanto a proporção de genotipagem: em 2018, 80,84% dos indivíduos com FC realizaram o estudo genético (REBRAFC, 2018).

1.6 Tratamento

O tratamento da FC é baseado no controle dos sintomas e a correção das disfunções orgânicas. Por ser uma doença com manifestações clínicas multissistêmica, é necessário um atendimento amplo e integral realizado por uma equipe multiprofissional e interdisciplinar,

em centros de referências. Há a necessidade de uma assistência terapêutica complexa, sendo que os tratamentos diários dos indivíduos com FC tendem a dispendir um período longo e há uma média de sete componentes no esquema terapêutico, dificultando, assim a adesão ao tratamento (SAWICKI; SELLERS; ROBINSON, 2009).

As taxas de adesões aos tratamentos podem ser consideradas baixas ou insuficientes mais nas modalidades nutricionais e a fisioterapia respiratória. A faixa etária de menor seguimento ao tratamento são em jovens (BONFIM et al., 2020). Entretanto, há grande importância na conscientização do seguimento ao tratamento multiprofissional, por reduzir os números de internações, tempo de permanência hospitalar e quadros de exacerbação da doença (BONFIM et al., 2020).

A sobrevida do paciente está relacionada com diagnóstico precoce a partir da triagem neonatal, o tratamento direcionado aos sintomas dos indivíduos, associado à medicina de precisão, com fármacos de indicações específicas para os mecanismos de ação da proteína CFTR e medicamentos moduladores, que estão relacionados ao melhor tratamento (ALVES; BUENO, 2018)

Os medicamentos moduladores permitem que a função CFTR seja restaurada, parcialmente. Existem quatro medicamentos moduladores: ivacaftor, lumacaftor/ivacaftor, tezacaftor/ivacaftor e o mais novo modulador elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor, ainda sem registro na ANVISA. Esses medicamentos permitem que a função CFTR seja restaurada, parcialmente, sendo medicamentos potencializadores, que aumentam a condutância do canal e corretores, que melhoram o tráfego de CFTR para a superfície celular (Tabela 2) (GRAMEGNA et al., 2020).

Tabela 2: Novas terapias para Fibrose Cística

Princípio Ativo	Efeitos	Mutações Indicadas
Ivacaftor	Restaurar atividade do canal – potenciador	G551D, G1244E, G1349D, G178R, G551S, S1251N, S1255P, S549N ou S549R. R117H (que possui defeitos de <i>gating</i> e condutância). Nos EUA, outras 38 mutações já foram aprovadas.
Lumacaftor / Ivacaftor	Lumacaftor – Corretor Ivacaftor - potenciador	Homozigoto para F508del
Tezacaftor / Ivacaftor e Ivacaftor	Tezacaftor – Corretor Ivacaftor - potenciador	Homozigoto para F508del ou heterozigoto ou homozigoto com as 26 mutações aprovadas (Brasil) e nos EUA 154 mutações específicas.
Elexacaftor / Tezacaftor / Ivacaftor	Elexacaftor – corretor Tezacaftor / Ivacaftor – potencializa a função da proteína CFTR	Heterozigoto para F508del ou uma das 177 mutações especificadas

Adaptado: (ANVISA, 2020; CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION, 2022)

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar o perfil genotípico com valor prognóstico de indivíduos com fibrose cística, em uma população miscigenada do centro-oeste brasileiro.

2.2 Objetivos Específicos

ARTIGO 1

- Descrever a estrutura do gene que codifica a proteína CFTR.

ARTIGO 2

- Descrever as principais mutações dos indivíduos acompanhados em Goiânia.

ARTIGO 3

- Identificar as evidências sobre o papel da metilação na etiologia da Fibrose Cística.

ARTIGO 4

- Avaliar a função pulmonar e a distância percorrida no teste de caminhada de seis minutos em crianças com fibrose cística e correlacionar com variáveis clínicas
-

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Artigo 1 - Dados para descrever a estrutura do gene *CFTR*

Para a busca de dados sobre o gene os descritores utilizados foram: Regulador de Condutância Transmembrana - *CFTR*; estrutura do gene *CFTR*, fibrose cística e cystic fibrosis, gene *CFTR*, *struture* gene *CFTR*. Os idiomas para seleção das referências foram o inglês, o português e o espanhol. As bases de dados utilizadas para a busca foram: PubMed, LILACS (Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciência da Saúde), MEDLINE (Literatura Internacional em Ciências da Saúde e Biomédica). Não houve delimitação de tempo para seleção dos artigos. Os artigos encontrados nas plataformas escolhidas somaram 1.418 artigos, dos quais 24 deles retratavam, de fato, a estrutura do gene *CFTR*.

Os dados genômicos foram buscados nos bancos: National Center for Biotechnology Information - NCBI (ncbi.nlm.nih.gov), a partir do gene codificado pelo número 1.080; Gene Nomenclature Committee - HGNC (genenames.org), com número de identificação HGNC:1884; e Ensembl (ensembl.org), com número de identificação do gene ENSG0000001626. As buscas foram restritas ao gene *CFTR* em humanos.

3.2 Artigo 2 - Caracterização das mutações presentes na região centro-oeste

Para a caracterização das principais mutações da cidade de Goiânia foi realizado um estudo transversal, retrospectivo, descritivo. Os dados das mutações foram coletados dos prontuários dos indivíduos acompanhados em um centro de referência em fibrose cística em Goiânia, Goiás. A coleta foi realizada entre outubro de 2020 a dezembro de 2020. Os critérios de inclusão foram: 1- indivíduos regularmente acompanhados em um Centro de Referência de FC em Goiânia; 2- análise do gene *CFTR* por sequenciamento. Os critérios de exclusão foram: 1- ausência de diagnóstico conclusivo de FC; 2- registro incompletos nos prontuários. O grupo amostral foi composto por conveniência, por se tratar de uma doença rara. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Goiás e está registrado sob o número CAAE: 56605216.3.0000.5083, sendo parte de um projeto maior intitulado “Investigação clínico, laboratorial, funcional e de mutações no gene *CFTR* em indivíduos com fibrose cística das cidades de Goiânia e Anápolis, Goiás”.

Os prontuários foram solicitados ao Serviço de Arquivamento Médico e Estatístico (Same), do Hospital das Clínicas (HC). Para a coleta das informações foi formulada uma ficha de extração de dados com as informações (APENDICE 1): idade, sexo, naturalidade, cor/etnia, tripsinogênio imunorreativo (IRT), dosagem de cloreto, genotipagem, índice de

massa corporal (IMC), os medicamentos, os valores da espirometria, colonização bacteriana e as informações quanto os atendimentos fisioterapêuticos. Os dados foram tabulados no programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 23.0, para análise de frequências e porcentagens para as variáveis categóricas, médias, desvio padrão, mínimo e máximo para as variáveis numéricas.

3.3 Artigo 3 - Dados para o levantamento sobre a metilação do gene *CFTR*

A revisão sistemática de literatura foi registrada no PROSPERO, com o código CRD42020146776. A busca foi realizada nos seguintes bancos de dados: *Pubmed*, *Scopus* e *WEB of Science*, sem limite de idioma ou data de publicação. A data da última busca dos artigos foi em setembro de 2020 e utilizou, nas buscas, os termos: Fibrose Cística com suas variações, Epigenética e Metilação, com as variações.

Foram incluídos os artigos que investigassem as evidências do silenciamento do gene *CFTR* relacionados a fibrose cística. Os critérios de inclusão foram estudos caso-controle relacionados a epigenética e FC, com rastreamento para regiões de hipermetilação do gene *CFTR* e seus genes modificadores genéticos. Como critérios de exclusão: (a) ausência de avaliação da região de hipermetilação no gene *CFTR*; (b) avaliação da região de hipermetilação em outros genes não relacionados ao *CFTR*. A triagem dos estudos elegíveis foi realizada em três etapas: (a) leitura dos títulos; (b) leitura dos resumos; e (c) triagem dos textos completos. Cada etapa foi realizada por dois revisores independentes e, em caso de divergência entre os revisores, uma avaliação final foi realizada por um terceiro revisor independente mais experiente na temática investigada.

3.4 Artigo 4 - Coleta do Teste de caminhada de seis minutos e função pulmonar

Trata-se de um estudo transversal prospectivo analítico. Aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Goiás e está registrado sob o número do parecer: 3.256.001/2019.

O estudo foi realizado no centro de referência de Fibrose Cística em Goiânia, Goiás, no período de fevereiro de 2019 a março de 2019, sendo suspensas as avaliações devido ao início da pandemia do Covid-19.

Os participantes da pesquisa foram crianças e adolescentes portadores de FC, que obedeceram aos seguintes critérios de inclusão: diagnóstico de FC confirmado por dois testes do suor maior ou igual a 60 mmol/l e/ou duas mutações patogênicas da FC; e os pais ou

responsáveis concordarem em participar da pesquisa. Critérios de exclusão: indivíduos em agudização da doença no momento da avaliação clínica.

Foram coletados pela equipe médica, por meio de uma ficha de registro clínicos, os seguintes dados: os dados sociodemográficos (idade - anos, sexo e etnia), clínicos (mutações, insuficiência pancreática) e nutricionais (peso - Kg, IMC). Para análise da função pulmonar, foi realizado espirometria e as recomendações estavam em consonância com a *American Thoracic Society*, foram coletados VEF1, CVF e VEF1/CVF (AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2002). Após essa avaliação inicial e a liberação pela equipe médica, foi realizado o teste de caminhada de 6 minutos, executado no mesmo dia da consulta ambulatorial.

3.5 Análise dos Dados

Na organização e análise dos dados, foi utilizado o programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* - SPSS (versão 23.0).

Os dados foram analisados em termos descritivos, com a finalidade de caracterização, sendo que para as variáveis contínuas calculou-se a medida de posição média e as medidas de dispersão: desvio padrão, mínimo e máximo. As variáveis categóricas foram analisadas quanto à frequência e porcentagem. Também foram feitos cálculos inferenciais como Teste t para comparação das médias. O teste de correlação de Pearson, para as correlações o valor de r -entre 0,7 e 1 foi considerada correlação forte, 0,31 a 0,69 moderada e 0 a 0,30 correlação fraca e o nível significância estatística adotado foi $p < 0,05$.

3.6 Aspectos Éticos

A elaboração do Artigo 2 foi aprovado pela Comissão de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Goiás – UFG, número do parecer 2.017.126, CAEE: 56605216.3.0000.5083 (Anexo). Por se tratar de análise de prontuários foi solicitado a dispensa do TCLE (Anexo).

Para a elaboração do artigo 4, o protocolo do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Goiás – UFG, número do parecer: 3.256.001, sendo parte de uma pesquisa maior “Avaliação dos Marcadores Inflamatórios, Microbiológicos e Funcionais de Crianças e Adolescentes com Fibrose Cística e Efeitos da Suplementação com a Curcumina”. Os aspectos éticos da resolução nº466/12 foram levados em consideração durante a coleta e exposição dos dados. O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), termo de assentimento (TALE) e o TCLE para responsável foram devidamente utilizados.



4. RESULTADOS

Os resultados obtidos foram descritos na forma de artigo científico compondo cada capítulo desta dissertação:

- **Capítulo 1 – GENE *CFTR* e FIBROSE CÍSTICA: UMA REVISÃO DE LITERATURA.**
 - **Capítulo 2 – CARACTERIZAÇÃO DAS MUTAÇÕES DOS INDIVÍDUOS COM FIBROSE CÍSTICA EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA DE GOIÂNIA: UM ESTUDO TRANSVERSAL.**
 - **Capítulo 3 – O PAPEL DA EPIGENÉTICA NA FIBROSE CÍSTICA – UMA REVISÃO SISTEMÁTICA.**
 - **Capítulo 4 – AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PULMONAR E DO TESTE DE CAMINHADA DE 6 MINUTOS EM INDIVÍDUOS COM FIBROSE CÍSTICA.**
-

CAPÍTULO 1 - *GENE CFTR* e FIBROSE CÍSTICA: UMA REVISÃO DE LITERATURA*

* Publicado na Revista Visão Acadêmica

31

GENE *cftr* e FIBROSE CÍSTICA: UMA REVISÃO DE LITERATURA

cftr GENE AND CYSTIC FIBROSIS: A LITERATURE REVIEW

Leticia de Souza PEREIRA¹, Jheinniffer Thaís Souza SILVA², Clarissa Dal Molin dos SANTOS², Tania Cristian Dias da Silva HAMU³, Lucieli Boschetti VINHAL⁴, Flávio Monteiro AYRES⁵

- 1 - Discente do Programa de Mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde; Universidade Estadual de Goiás (UEG); Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO;
- 2 - Discente do Curso de Fisioterapia; Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO;
- 3 - Doutora em Ciências da Saúde; Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO.
- 4 - Fisioterapeuta, Mestre em Terapia Intensiva; Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO.
- 5 - Doutor em Ciências Médicas e Dentais; Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO.

RESUMO:

A Fibrose Cística é uma doença autossômica recessiva, causada por uma alteração no gene *cftr*, que é responsável pela produção da proteína CFTR, responsável pelo transporte de Cl⁻ na membrana celular. O objetivo desta revisão visa descrever os aspectos estruturais do gene *cftr*, considerando-se que a compreensão do gene relacionado com a etiologia da FC é importante para discutir as repercussões clínicas da doença. Foi realizado o levantamento bibliográfico em três bases de dados: PubMed, LILACS e MEDLINE e as buscas nos bancos genômicos NCBI, HGNC e Ensembl. Os artigos encontrados descrevem a estrutura e morfologia do gene *cftr* e a associação dos éxons com os respectivos domínios codificados na proteína CFTR, evidenciando em como as alterações no gene repercutem na fisiopatologia da Fibrose Cística.

Palavras-chave: gene *cftr*, estrutura do gene *cftr*.

ABSTRACT

Cystic Fibrosis is autosomal recessive disease, with etiology is caused by a change in the *cftr* gene, which is responsible for the production of the CFTR protein, consequently for transporting Cl⁻ in the cell membrane. The purpose of this review is to compile the available data regarding the structural aspects of the *cftr* gene relating to the protein defect in CF. A bibliographic survey was conducted in three databases: PubMed, LILACS e MEDLINE. The articles found describes the structure and morphology of the *cftr* gene and the relation between the exons and the respective domains encoded in the CFTR protein, bring light for how changes in the gene affects the physiology of Cystic Fibrosis.

Keywords: *cftr* gene, *cftr* gene structure.

1. INTRODUÇÃO

A Fibrose Cística (FC) é uma doença grave, autossômica recessiva, com alta incidência em populações de origem caucasiana. Segundo a Fundação Americana de FC, mais de 30.000 pessoas vivem com a doença nos Estados Unidos e mais de 70.000 no

GENE *CFTR* e FIBROSE CÍSTICA: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Cftr GENE AND CYSTIC FIBROSIS: A LITERATURE REVIEW

Letícia de Souza PEREIRA^{1*}, Jheinniffer Thaís Souza SILVA^{2*}, Clarissa Dal Molin dos SANTOS², Tania Cristiana Dias da Silva HAMU³, Lucieli Boschetti VINHAL⁴, Flávio Monteiro AYRES⁵

* Igual contribuição para a autoria do artigo;

1-Discente do Programa de Mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde; Universidade Estadual de Goiás (UEG); Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO;

2-Discente do Curso de Fisioterapia; Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO;

3-Doutora em Ciências da Saúde; Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO.

4-Fisioterapeuta, Mestre em Terapia Intensiva; Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO.

5-Doutor em Ciências Médicas e Dentais; Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO.

Autor para correspondência: fisioterapeutaleticia@hotmail.com

RESUMO

A Fibrose Cística é uma doença autossômica recessiva, causada por uma alteração no *gene CFTR*, que é responsável pela produção da proteína CFTR, responsável pelo transporte de Cl⁻ na membrana celular. O objetivo desta revisão visa descrever os aspectos estruturais do *gene CFTR*, considerando-se que a compreensão do gene relacionado com a etiologia da FC é importante para discutir as repercussões clínicas da doença. Foi realizado o levantamento bibliográfico em três bases de dados: PubMed, LILACS e MEDLINE e as buscas nos bancos genômicos NCBI, HGNC e Ensembl. Os artigos encontrados descrevem a estrutura e morfologia do *gene CFTR* e a associação dos éxons com os respectivos domínios codificados na proteína CFTR, evidenciando em como as alterações no gene repercutem na fisiopatologia da Fibrose Cística. Descritores: *gene CFTR*, estrutura do *gene CFTR*.

ABSTRACT

Cystic Fibrosis is autosomal recessive disease, with etiology is caused by a change in the *CFTR* gene, which is responsible for the production of the CFTR protein, consequently for transporting Cl⁻ in the cell membrane. The purpose of this review is to compile the available data regarding the structural aspects of the *CFTR* gene relating to the protein defect in CF. A bibliographic survey was conducted in thee databases: PubMed, LILACS e MEDLINE. The articles found describes the structure and morphology of the *CFTR* gene and the relation between the exons and the respective domains encoded in the CFTR protein, bring light for how changes in the gene affects the physiology of Cystic Fibrosis.

Descriptors: *CFTR* gene, *CFTR* gene structure.

1. INTRODUÇÃO

A Fibrose Cística (FC) é uma doença grave, autossômica recessiva, com alta incidência em populações de origem caucasiana. Segundo a Fundação Americana de FC, mais

de 30.000 pessoas vivem com a doença nos Estados Unidos e mais de 70.000 no mundo, sendo que 1.000 novos casos são diagnosticados por ano. Mais da metade da população com FC vive 18 anos ou mais e os avanços nas últimas décadas possibilitaram o aumento da sobrevida (CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION, 2019).

Os relatos da doença datam do século XVIII e XIX, com descrições no folclore europeu sobre crianças com suor salgado (RIBEIRO, RIBEIRO, RIBEIRO, 2002). “Infeliz da criança que, quando beijada na fronte, apresenta sabor salgado. Ela está fadada a morrer precocemente” - essa frase é citada como umas das referências às crianças que morriam precocemente (FIRMINDA, MARQUES, COSTA, 2011). Relatos de crianças com doença de íleo meconial, doenças celíacas com alterações pancreáticas e disfunções pulmonares continuaram sendo descritas, entretanto, apenas em 1938, Dorothy Andersen, após um estudo minucioso de análise clínica e anatomopatológicas, descreveu cientificamente a doença (RIBEIRO; RIBEIRO; RIBEIRO, 2002; FIRMINDA, MARQUES, COSTA, 2011; FARRELL et al., 2017).

Na década de 40, a denominação “Mucoviscidose” foi proposta a partir das descrições sobre as secreções espessas e bloqueio dos ductos (QUINTON, 1999). Em 1946, apresentaram-se as primeiras evidências de que a doença era genética e seguia um padrão de herança autossômica recessiva (ANDERSEN, HODGES, 1946). Em 1959, Gibson & Cooke desenvolveram o teste do suor que é utilizado até os dias de hoje para o diagnóstico de FC (GIBSON, COOKE, 1959). A pesquisa sobre os fundamentos bioquímicos da fibrose cística progrediu mais lentamente que os trabalhos clínicos, mas o ritmo se intensificou na primeira metade da década de 1980, descrevendo a relação entre as concentrações de cloreto, sódio e os tecidos (QUINTON, 1999).

À medida que as pesquisas bioquímicas progrediram, ocorreu em 1989 a descoberta do gene responsável pela FC no cromossomo 7q31.2. O gene foi isolado por clonagem posicional, usando as técnicas de “*chromosome walking*” e “*chromosome jumping*” (ROMMENS et al., 1989). Esse avanço permitiu o maior detalhamento do conhecimento da doença em relação aos canais de cloreto defeituosos, bem como das respectivas sequências de aminoácidos presentes nos domínios da proteína ancorada na membrana celular. Nesse contexto, o gene e a proteína foram denominados *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* (CFTR), do inglês Reguladora de Condutância Transmembrana na Fibrose Cística (GOETZINGER, 2017).

Considerando-se que a compreensão do gene relacionado com a etiologia da FC é importante para discutir as repercussões clínicas da doença, a presente revisão visa descrever os aspectos estruturais do *gene CFTR*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo é uma Revisão de Literatura para o levantamento de dados sobre os aspectos estruturais do gene *CFTR*. Para as buscas de dados, os descritores utilizados foram: “Regulador de Condutância Transmembrana - *CFTR*”; “estrutura do gene *CFTR*”, “fibrose cística” e “cystic fibrosis”, “*gene CFTR*”, “*struture gene CFTR*”. Os idiomas para seleção das referências foram o inglês, o português e o espanhol. As bases de dados utilizadas para a busca foram: PubMed, LILACS (Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciência da Saúde) e MEDLINE (Literatura Internacional em Ciências da Saúde e Biomédica). Não houve delimitação de tempo para seleção dos artigos. Os artigos encontrados nas plataformas escolhidas somaram 1.418 artigos, dos quais 24 deles retratavam de fato, a estrutura do gene *CFTR*.

Os dados genômicos foram buscados nos bancos: National Center for Biotechnology Information - NCBI (ncbi.nlm.nih.gov), a partir do gene codificado pelo número: 1.080; Hugo Gene Nomenclature Committee - HGNC (genenames.org), com número de identificação HGNC:1884; e Ensembl (ensembl.org), com número de identificação do gene ENSG00000001626. As buscas foram restritas ao gene *CFTR* em humanos.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

Os genes são constituídos por uma sequência de ácidos nucleicos que codificam um produto final, podendo ser RNA ou polipeptídeo (JOAQUIM; CHARBEL, 2010). A estrutura de um gene é didaticamente dividida em regiões transcritas e não transcritas, sendo que as regiões não transcritas constituem as regiões promotoras do gene, que determinarão os mecanismos regulatórios. Enquanto as regiões transcritas são constituídas pela sequência de DNA codificante e pelo silenciador (KLUG et al., 2010). O *CFTR* é um gene grande que abrange 250 quilobases (Kb) de DNA genômico, que encompassam 27 éxons. O DNA complementar (cDNA) contém 4.560 pares de nucleotídeos, codificando uma glicoproteína final com 1.480 aminoácidos (VOGEL, MOTUSLSKY, 2000).

A região promotora, ou região reguladora, é uma sequência de DNA que o aparato de transcrição reconhece e à qual se liga para determinar o ponto de início da transcrição. Em

eucariotos, a região promotora é dividida em promotor regulador e promotor cerne (KANEHISA; GOTO, 2000). Funcionalmente, a região reguladora reconhece o gene a ser transcrito, enquanto o cerne se presta sequencialmente à ligação do complexo transcricional. Cada uma das regiões promotoras é modulada por fatores específicos de transcrição, que podem ativar ou reprimir a transcrição do gene. Variações nas sequências de nucleotídeos dos promotores são comumente encontradas como, por exemplo, as repetições dos dinucleotídeos de Citosina-Fosfato-Guanina ou ilhas CpG (PANDEY; MANN, 2000).

As regiões ricas em ilhas CpG são sequências e podem se ser encontradas próximas aos sítios de início de transcrição de alguns genes, sendo suscetíveis a reações de metilação catalisadas por enzimas DNA metiltransferases (DNMT). Esse mecanismo epigenético é responsável por uma via de regulação do silenciamento da expressão gênica (GREENBERG, BOURC'HIS, 2019). LEWANDOWSKA et al., (2010) analisaram a metilação da região promotora de *CFTR*, com um total de 58 dinucleotídeos CpG em uma região *upstream* e *downstream* de aproximadamente 1,7 kb. Com exceção do dinucleotídeo hipermetilável GC na posição -1.512, outros dinucleotídeos GC não foram metilados nas posições mais proximais do promotor. Por esses dados, a região promotora do gene *CFTR*, mesmo quando inativa, geralmente não é metilada. Além das regiões hipermetiláveis ricas em ilhas CpG, outras modificações na arquitetura da cromatina são associadas com a ativação ou inativação dos promotores. Por isso, uma combinação de modificações epigenéticas contribui para os múltiplos mecanismos reguladores do promotor do gene *CFTR* (BLACKLEDGE et al., 2007).

O *CFTR* foi um dos primeiros genes com evidência de elementos reguladores externos ao promotor. Nesse caso, um elemento regulador de 10 kb foi identificado no primeiro íntron do gene, sendo que essa estrutura de elemento regulador também foi descrita em outros genes (NUTHALL et al., 1999; ROWNTREE et al., 2001). Embora necessário para direcionar os níveis basais de expressão gênica, o promotor do *CFTR* é relativamente fraco e parece não ter elementos de controle específicos do tecido (OTT et al., 2009).

Um outro aspecto peculiar da sequência regulatória do *CFTR* é a conhecida ausência de TATA *box* e de qualquer descrição de CAT *box* (GGCCAATCT), duas sequências de consenso *upstream*, comumente descritas em eucariotos (SWAHN; HARRIS, 2019). Por outro lado, os sítios de início da transcrição do gene *CFTR*, ou sítios potencialmente com essa finalidade, foram identificados em três locais de ligação putativos para o fator de transcrição Sp1 (GGGCGG). Porém, vários locais de ligação em potencial para o fator de transcrição Ap1 (GGAGTCAG) são controversos na literatura (SMITH, 1996; KAHRE, 2004). A região promotora do *CFTR* contém também um importante elemento de ação *cis* na posição -632. O

somatório de elementos de ação *cis* do gene deve atuar de forma cooperada para regular o início e a velocidade da transcrição, catalisada pela enzima RNA polimerase II (TUCKER; DAVID; CHRISTOPHER, 1992).

A regulação da expressão do gene *CFTR* é complexa e envolve a interação de vários fatores e elementos reguladores diferentes. O gene *CFTR* é flanqueado no lado de 5' pelo ASZ1 (repetição de anquirina, SAM e zíper básico de leucina) e 3' pela Proteína de Ligação à Cortactina 2 - CTTNBP2. A expressão do gene acontece principalmente pelo ancoramento da proteína CFTR na membrana apical de células epiteliais especializadas do intestino, tecidos reprodutivos, glândulas e vias aéreas (TERLIZZI et al., 2018). A CFTR faz parte da superfamília de transportadores ABC (*ATP-binding cassette*, do inglês cassete ligante de ATP) e tem função relacionada ao transporte de íons cloreto. Conforme descrito na Figura 1, mutações do gene *CFTR* podem interromper o papel fisiológico da proteína CFTR, desde o controle da transcrição até o ancoramento estável da proteína na membrana celular (OATES, SCHECHTER, 2016).

Figura 1: Defeitos nas etapas de ação da proteína

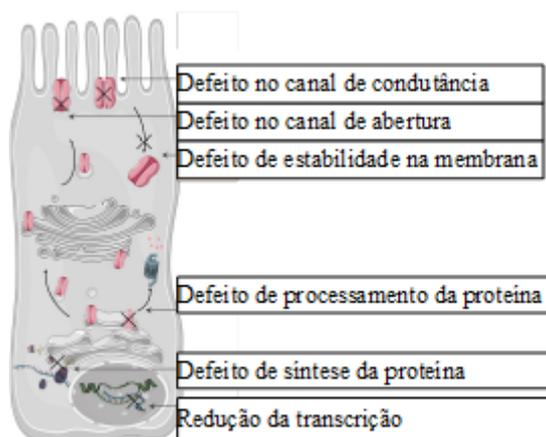


Figura modificada de: PRANKE et al, 2019.

Quanto à região transcrita do *CFTR*, os 27 éxons apresentam tamanhos que variam de 38 pb (éxon 6a) a 723 pb (éxon 13), com média de 200 pb, enquanto os 26 íntrons variam de 1,1 Kb (íntron 6a) a 40 Kb (íntron 3) (MCCARTHY; ANN, 2005; STREIT, 2003). A região gênica com maior impacto na limitação funcional da proteína CFTR é o éxon 10, por ser o sítio com o maior acúmulo de mutações não-sinônimas, como ilustrado na Figura 2 (KUHNL; FAUCZ, 2005). Adicionalmente, erros podem ocorrer no corte entre éxons e íntrons, ou na ligação entre os éxons durante o processamento do pré-mRNA. Por exemplo, uma baixa

eficiência no processamento pode resultar na deleção do transcrito do éxon 9 e, conseqüente, expressão de um severo fenótipo da FC (DELANEY et al., 1994).

Figura 2: Representação da associação entre o mRNA processado e os domínios funcionais da proteína CFTR.

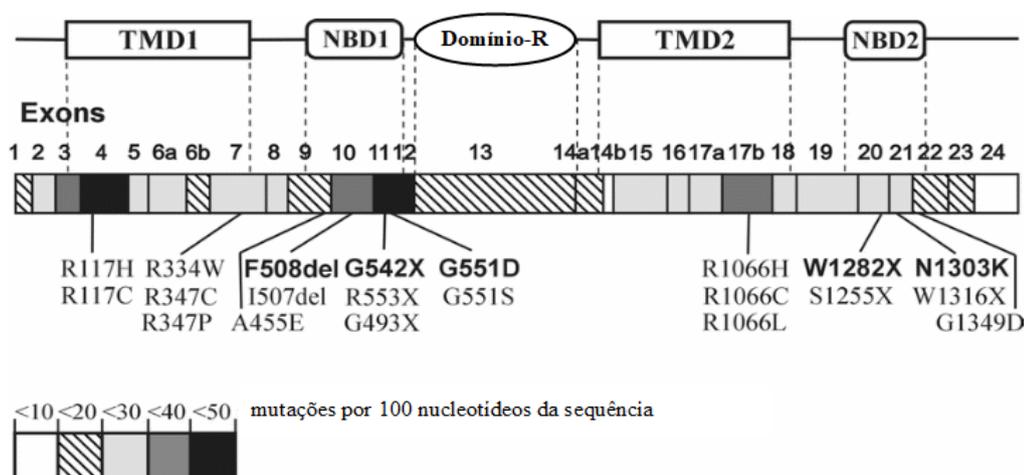


Figura modificada de KAHRE, 2004.

Enquanto o éxon 1 tem função regulatória, os demais 26 éxons codificam a sequência de aminoácidos constituintes da proteína CFTR (NUTHALL et al., 1999; ROWNTREE et al., 2001). Parte desses éxons codifica sequências de aminoácidos que se organizam sob conformação terciária e/ou quaternária específica para a estabilização de domínios estreitamente relacionados com a função da proteína (Tabela 1), sendo esses domínios intercalados por regiões de ligação flexíveis (BERG et al., 2014). Os éxons do *CFTR* codificam: os Domínios Transmembranares 1 e 2 (TMD1 e TMD2), os Domínios Ligantes de Nucleotídeos 1 e 2 (NBD1 e NBD2), além de um Domínio Regulador (Domínio R).

Após as sequências que transcrevem os domínios funcionais da proteína, o gene se encerra com uma terceira e última região estrutural que cumpre a função de término da transcrição. Apesar de a sequência nucleotídica do DNA demarcar onde a transcrição deve ser finalizada, o sinal funcional de término da transcrição reside no RNA recém-sintetizado. Por isso, a transcrição do gene só termina após a região de término ter sido copiada para o RNA (PIERCE, 2011). O término da transcrição, entretanto, é um tema preterido em relação à regulação da transcrição em 5' UTR. Erros no término da transcrição podem acarretar em inclusão de cistrons adicionais, codificantes de proteínas disfuncionais (PROUDFOOT, 2016). Devido aos dados sobre a região de término da transcrição no *CFTR* permanecerem escassos, os dados aqui apresentados representam apenas a estrutura geral dos genes.

Tabela 1: Associação do éxon com o domínio codificado na proteína CFTR.

Identificação do Éxon	Domínio Codificado	Função do Domínio
3 a 7	TMD1	Formação do poro do canal de cloreto
9 a 12	NBD1	Abertura do Canal/Fechamento do Canal
13 a 14a	Domínio R	Fosforilação para ativação da proteína
14a a 18	TMD2	Formação do poro do canal de cloreto
19 a 23	NBD2	Abertura do Canal/Fechamento do Canal

Adaptado de: ZIELENSKI ; TSUI, 1995.

Embora tenham se passado 30 anos desde a identificação do *CFTR*, os mecanismos reguladores desse gene não foram totalmente elucidados. É provável que muitos mecanismos estejam envolvidos na diferenciação do tecido e regulação específica temporal exibida por esse gene. As razões para esse lento progresso incluem a escassez de tipos de células primárias apropriadas para avaliar a expressão de *CFTR* e os desafios técnicos que surgem nas análises globais de grandes genes que são regulados por múltiplos elementos de ação *cis* interativas (TABCHARANI et al., 1991; VANKEERBERGHEN; CUPPENS; CASSIMAN, 2002).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os artigos que descrevem a estrutura e morfologia do gene *CFTR* foram publicados predominantemente na década de 1990. Mesmo com a posterior execução de estudos robustos, muitas lacunas permanecem por serem elucidadas, em especial quanto aos aspectos da fisiologia molecular do *CFTR*. Não obstante, a presente revisão descreve os aspectos estruturais desse gene, incluindo os marcos regulatório para início e fim da transcrição. Os demais elementos do gene, com as respectivas correlações entre éxons e domínios proteicos funcionais, também foram apresentados. Em conjunto, esses dados embasam a compreensão de como alterações no gene *CFTR* repercutem na fisiopatologia da Fibrose Cística.

AGRADECIMENTOS

As críticas e os comentários da Professora Thais Cidália Vieira Gigonzac contribuíram valiosamente para o amadurecimento deste manuscrito. O PPGCAPS/UEG foi contemplado com fomento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES (Processo Nº 88887.121795/2016.1).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOUT Cystic Fibrosis. Cystic Fibrosis Foundation. Disponível em: <<https://www.cff.org/What-is-CF/About-Cystic-Fibrosis>>. Acessado em: 13, jul., 2020.
- ANDERSEN, D. H.; HODGES, R. G. Celiac syndrome: V. Genetics of Cystic Fibrosis of the Pancreas With a Consideration of Etiology. **The American Journal of Diseases of Children**. v.72, n. 1, p.62–80, 1946.
- BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L.; GATTO JÚNIOR, G. **Bioquímica**. 7ª Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2014.
- BLACKLEDGE, N. P.; CARTER, E. J; EVANS, J. R.; LAWSON, V.; ROWNTREE, R. K.; HARRIS, A. CFTR mediates insulator function at the CFTR locus. **Biochemical Journal**. v. 408, n. 2, p. 267-275, 2007.
- DELANEY, S. J.; KOOPMAN, P.; LOVELOCK, P. K., WAINWRIGHT, B. J. Alternative splicing of the first nucleotide binding fold of CFTR in mouse testes is associated with specific stages of spermatogenesis. **Genomics**. v. 20, n. 3, p. 517-18, 1994.
- FARRELL, P. M.; WHITE, T. B.; DERICHS, N.; CASTELLANI, C.; ROSENSTEIN, B. J. Cystic Fibrosis Diagnostic Challenges over 4 Decades: Historical Perspectives and Lessons Learned. **Journal of Pediatrics**, v. 181, p. S16–S26, 2017.
- FIRMINDA, M. C.; MARQUES, B.L.; COSTA, C. H. Fisiopatologia e Manifestações Clínicas da Fibrose Cística. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 10, n. 4, 2011.
- GIBSON, L. E.; COOKE, R. E. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. **Pediatrics**. n. 23, p. 545-9, 1959.
- GOETZINGER, K. R. Cystic Fibrosis. **Obstetric Imaging: Fetal Diagnosis and Care: Second Edition**, p. 579- 581.e1, 2017.
- JOAQUIM, L. M.; CHARBEL, N. H. A genética em transformação: crise e revisão do conceito de gene. **Scientiae Studia**. v. 8, n. 1, p. 93-128, 2010.
- KAHRE, T. **Cystic fibrosis in Estonia**. 2004. Dissertation – Department of Biotechnology, Institute of Molecular and Cell Biology, University of Tartu, Estonia.
- KANEHISA, M.; GOTO, S. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. **Nucleic acids research**. v. 28, n. 1, p. 27-30, 2000.
-

KLUG, W. S.; CUMMINGS, M. R.; SPENCER, C.A.; PALLADINO, M. A. **Conceitos de genética**. Artmed Editora. 2010.

KUHN, A.; FAUCZ, F. R. Análise da variabilidade genética do éxon 10 do gene CFTR. **Estudos de Biologia**. v. 27, n. 58, p. 11-19, 2005.

LEWANDOWSKA, M. A.; COSTA, F. F.; BISCHOF, J. M.; WILLIAMS, S. H.; SOARES, M. B.; HARRIS, A. Multiple mechanisms influence regulation of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene promoter. **American journal of respiratory cell and molecular biology**. v. 43, n. 3, p. 334-41, 2010.

MAXIM V. C.; GREENBERG, M. V. C.; BOURC'HIS, D. The diverse roles of DNA methylation in mammalian development and disease. **Nature Reviews**. v. 20, p. 590-607, 2019.

MCCARTHY, V. A.; ANN, H. The CFTR gene and regulation of its expression. **Pediatric Pulmonology**. v. 40, n. 1, p. 1-8, 2005.

NUTHALL, H. N.; MOULIN, D. S.; HUXLEY, C.; HARRIS, A. Analysis of DNase-I-hypersensitive sites at the 3' end of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene (CFTR). **Biochemical Journal**. v. 341, n. 3, p. 601–611, 1999.

OATES, G. R.; SCHECHTER, M. S. Socioeconomic status and health outcomes: cystic fibrosis as a model. **Expert Review of Respiratory Medicine**, [s. l.], v. 10, n. 9, p. 967–977, 2016.

OTT, C. J.; BLACKLEDGE, N. P.; LEIR, S.H.; HARRIS, A. Novel regulatory mechanisms for the CFTR gene. **Biochemical Society Transactions**. v. 37, n. 4, p. 843–848, 2009.

PANDEY, A.; MANN, M. Proteomics to study genes and genomes. **Nature**. v. 405, n. 6788, p. 837-846, 2000.

PIERCE, B. A. **Genética: Um Enfoque Conceitual**. 3ª Ed. Editora Guanabara Koogan, 2011.

PRANKE, I.; GOLEC, A.; HINZPETER, A.; EDELMAN, A.; SERMET-GAUDELUS, I. Emerging Therapeutic Approaches for Cystic Fibrosis. From Gene Editing to Personalizer Medicine. **Frontiers in Pharmacology**. v.10, 2019.

PROUDFOOT, N. J. Transcriptional termination in mammals: Stopping the RNA polymerase II juggernaut. **Science**. v.352, n. 6291, 2016.

QUINTON, P. M. Physiological basis of cystic fibrosis: A historical perspective. **Physiological Reviews**, v. 79, n. 1 SUPPL. 1, 1999.

RIBEIRO, J. D.; RIBEIRO, M. Â. G. d. O.; RIBEIRO, A. F. Controvérsias na fibrose cística - Do pediatra ao especialista. **Jornal de Pediatria**, v. 78, n. SUPPL. 2, p. 171–186, 2002.

ROMMENS, J. M.; IANNUZZI, M. C.; KEREM, B.; DRUMM, M. L.; MELMER, G.; DEAN, M.; ROZMAHEL, R.; COLE, J. L.; KENNEDY, D.; HIDAKA, N.; MARTHA

ZSIGA, M.; BUCHWALD, M.; JOHN R. RIORDAN, J. R.; TSUI, L.; COLLINS, F. S. Identification of the cystic fibrosis gene: Chromosome walking and jumping. **Obstetrical and Gynecological Survey**, v. 245, n. 3, p. 174–175, 1989.

ROWNTREE, R. K.; VASSAUX, G.; MCDOWELL, T.L.; HOWE, S.; MCGUIGAN, A.; PHYLLACTIDES, M.; HUXLEY, C.; HARRIS, A. An element in intron 1 of the CFTR gene augments intestinal expression in vivo. **Human Molecular Genetics**. v. 10, p. 1455–64, 2001.

SMITH, N. A. A regulatory element in Intron 1 of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 271, n. 17, p. 9947–54, 1996.

STREIT, C. **Estudos moleculares em pacientes com fibrose cística do sul do Brasil**. 2003. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica) - Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SWAHN, H.; HARRIS, A. Cell-selective regulation of CFTR gene expression: relevance to gene editing therapeutics. **Genes**. n. 10, p. 235-48, 2019.

TABCHARANI, J. A.; CHANG, X. B.; RIORDAN, J. R.; HANRAHAN, J. W. Phosphorylation-regulated Cl⁻ channel in CHO cells stably expressing the cystic fibrosis gene. **Nature**. v. 352, n. 6336, p. 628-631, 1991.

TERLIZZI, V.; LUCARELLI, M.; SALVATORE, D.; ANGIANI, A.; BISOGNO, A.; BRAGGION, C.; BUZZETTI, R.; CARNOVALE, V.; CASCIARO, R.; CASTALDO, G.; CIRILLI, N.; COLLURA, M.; COLOMBO, C.; DI LULLO, A. M.; ELCE, A.; LUCIDI, V.; MADARENA, E.; PADOAN, R.; QUATTRUCCI, S.; RAIA, V.; SEIA, M.; TERMINI, L.; ZARRILLI, F. Clinical expression of cystic fibrosis in a large cohort of Italian siblings. **BMC pulmonary medicine**. v.18, n.1, 2018.

TUCKER, S. J.; DAVID, T.; CHRISTOPHER, F. H. Identification and developmental expression of the *Xenopus laevis* cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. **Human molecular genetics**. v. 1, n. 2, p. 77-82, 1992.

VANKEERBERGHEN, A.; CUPPENS, H.; CASSIMAN, J. J. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an intriguing protein with pleiotropic functions. **Journal of Cystic Fibrosis**. v.1, n. 1, 2002.

VOGEL, F.; MOTULSKY, A. G. **Genética Humana: Problemas e Abordagens**. 3^a Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2000.

ZIELENSKI, J.; TSUI, L. Cystic fibrosis: genotypic and phenotypic variations. **The Annual Review of Genetics**. v. 29, p. 777-807, 1995.

CAPÍTULO 2 - CARACTERIZAÇÃO DAS MUTAÇÕES DOS INDIVÍDUOS COM FIBROSE CÍSTICA EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA DE GOIÂNIA: UM ESTUDO TRANSVERSAL*

CHARACTERIZATION OF MUTATIONS IN PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS IN A REFERENCE CENTER IN GOIÂNIA: A CROSS-SECTIONAL STUDY

*Submetido para o Periódico *Genetic And Molecular Biology*

Letícia de Souza Pereira¹, Clarissa Dal Molin dos Santos², Tânia Cristina Dias da Silva Hamu³, Flávio Monteiro Ayres⁴

1- Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde; Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO, Brasil; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-4207-8175>

2- Graduanda em Fisioterapia; Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO, Brasil; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6676-1414>

3- Professora da Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8776-5991>

4- Professor da Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO, Brasil. ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-1170-6933>

Autor para correspondência: Letícia de Souza Pereira. e-mail: fisioterapeutaleticia@hotmail.com. Endereço: Avenida Oeste, 56-250, Setor Aeroporto, Goiânia, Goiás. CEP: 74075-110. Telefone Celular: (62) 9 91376030.

Trabalho realizado no Programa de Pós-Graduação Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis (GO) Brasil.

AGRADECIMENTOS: À equipe de Fibrose Cística do Hospital das Clínicas, especialmente à fisioterapeuta Raquel G. de Paula, e a Dr Lusmaia Damaceno Camargo Costa.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Letícia Souza Pereira: concepção e desenho do estudo; análise dos dados; redação/revisão do manuscrito; aprovação da versão final do manuscrito. Clarissa Dal Molin, Tânia Cristina da Sila Hamu e Flávio Monteiro Ayres: redação/revisão do manuscrito; aprovação da versão final do manuscrito. Flávio Monteiro Ayres: aprovação da versão final do manuscrito.

RESUMO

Objetivo: identificar as mutações do gene *CFTR* mais prevalentes em indivíduos com fibrose cística (FC) em um centro de referência em Goiânia. **Métodos:** é um estudo transversal, descritivo, em que os dados foram coletados de prontuários em um centro de referência para pessoas com fibrose cística. Foram excluídos os indivíduos com o diagnóstico inconclusivo de FC e com registros incompletos nos prontuários. Dos 61 prontuários analisados, foram incluídos na análise 48 prontuários. **Resultados:** A maioria dos indivíduos eram do sexo

feminino (54,2%), de naturalidade predominantemente dos municípios do Centro-Oeste (71,7%), pardos. A mutação com maior frequência foi a F508del (48,4%), em heterozigose. Quanto à classe, 58,3% são da classe II. Entretanto, 17 variantes alélicas foram descritas, sendo que três desses alelos não apresentam relatos na literatura. **Conclusão:** os resultados dessa análise descritiva mostraram uma grande heterogeneidade alélica nos pacientes acompanhados em Goiânia e esse perfil alelotípico e genotípico se destoa dos perfis descritos em algumas regiões do Brasil e destoa, principalmente, dos dados em populações pouco miscigenadas. Foram encontradas três mutações A349P, Q685Nfs*38, e S364Mfs*7 sem descrição na literatura e nos bancos de dados *CFTR2*.

Descritores: Heterogeneidade Genética, Mutação, Fenótipo, Mucoviscidose.

ABSTRACT

Objective: To identify the most prevalent *CFTR* gene mutations in patients with cystic fibrosis (CF) in the Brazilian Midwest. Methods: This is a cross-sectional, descriptive study in which data were collected from medical records of a reference center for people with cystic fibrosis. Patients with an inconclusive diagnosis for CF and with incomplete medical records were excluded. Of the 61 records analyzed, 48 were included in the analysis. Results: Most patients were female (54.2%), predominantly from the Midwest cities (71.7%), miscigenated race. The most frequent mutation was F508del (48.4%), in heterozygosity. As for class, 58.3% are class II. However, 17 allelic variants have been described. Three of these alleles are not reported in the literature. Conclusion: the results of this descriptive analysis showed a great allelic heterogeneity in the patients followed up in Goiânia and this allelotypic and genotypic profile differs from the profiles described in some regions of Brazil and differs, mainly, from the data in little miscegenated populations. Three mutations A349P, Q685Nfs*38, and S364Mfs*7 were found without description in the literature and *CFTR2* databases.

Descriptors: Genetic Heterogeneity, Mutation, Phenotype, Mucoviscidosis.

INTRODUÇÃO

A Fibrose Cística (FC) é uma doença grave autossômica recessiva, causada pela mutação no gene *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR)*, localizado no locus 7q31.2^{1, 2}. As mais de 2.000 mutações conhecidas na FC são agrupadas em classes ou tipos, que compreendem mecanismos, desde o controle da transcrição até o ancoramento estável da proteína na membrana celular, causando o comprometimento fisiológico da proteína *CFTR*^{3, 4, 5}.

A proteína *CFTR* é um canal iônico que regula o volume de líquido nas superfícies epiteliais pelas concentrações de cloreto e sódio⁶. Conforme o comprometimento na função da proteína *CFTR*, o paciente apresenta alterações da viscosidade das secreções e consequente acometimento de múltiplos sistemas por obstrução dos ductos⁴. A tríade sintomatológica

clássica é caracterizada por doença pulmonar crônica, insuficiência pancreática e as altas concentrações de cloreto no suor⁷.

O alelo mutante F508del do gene CFTR é o mais prevalente em todo o mundo, variando entre diferentes regiões geográficas e distintos grupos étnicos⁸. Devido à alta miscigenação, no Brasil, há uma elevada heterogeneidade alélica do gene CFTR. Essa variação ocorre também entre as regiões geográficas⁹. Nesse contexto, o presente estudo levou em consideração a necessidade de estudos epidemiológicos bioquímicos regionalizados para preencher lacunas de relatos em um cenário mais amplo. Portanto, o objetivo desse estudo foi identificar as mutações do gene CFTR mais prevalentes em indivíduos com fibrose cística de uma população, em um centro de referência de Goiânia.

MÉTODOS

Este estudo é transversal e descritivo. Os dados das mutações foram coletados dos prontuários entre outubro de 2020 a dezembro de 2020, em um centro de referência em Goiânia (Goiás, Brasil) para pessoas com fibrose cística. Os critérios de inclusão foram: 1- indivíduos regularmente acompanhados em um Centro de Referência de FC em Goiânia; 2- análise do gene CFTR por sequenciamento. Como critério de exclusão foram: 1- ausência de diagnóstico conclusivo de FC; 2- registro incompletos nos prontuários. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Goiás e está registrado sob o número CAAE: 56605216.3.0000.5083.

Os indivíduos acompanhados no ambulatório de FC são avaliados com uma frequência trimestral ou de acordo com os sintomas de agudização de cada paciente. Nas avaliações, as informações são registradas em uma ficha padronizada pela equipe médica, contendo as informações quanto aos sintomas clínicos, medicações, exames laboratoriais em geral, avaliação respiratória, gastrointestinal e as condutas. A equipe multiprofissional que acompanha os indivíduos também registra as informações no prontuário em fichas separadas.

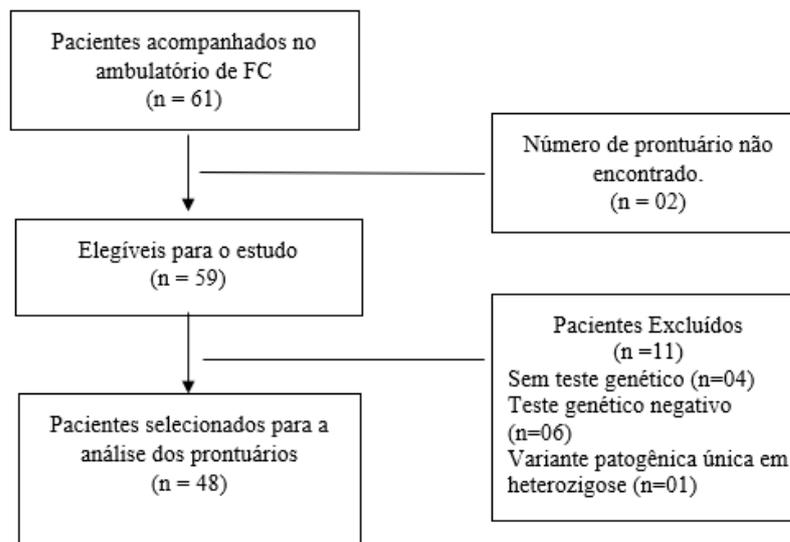
Inicialmente foram solicitados os prontuários no Serviço de Arquivamento Médico e Estatístico (Same). Para a coleta das informações, foi formulada uma ficha de extração de dados com as informações: idade, sexo, naturalidade, cor/etnia, tripsinogênio imunorreativo (IRT), dosagem de cloreto, genotipagem, índice de massa corporal (IMC), os medicamentos, os valores da espirometria, colonização bacteriana e as informações quanto os atendimentos

fisioterapêuticos. Quanto à classificação do índice de massa corporal (IMC) coletada em prontuário, a interpretação foi baseada no z-score para crianças menores de 5 anos¹⁰, para crianças maiores de 5 anos e adolescentes até 19 anos¹¹, e na classificação do IMC preconizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para adultos¹². A gravidade dos distúrbios ventilatórios foi baseada nos laudos das espirometrias, descritas em prontuários, e categorizados com base nos documentos da Sociedade Brasileira de Pneumologia¹³. Todos os dados coletados foram obtidos através dos registros nos prontuários. As análises genéticas foram coletadas com base nos laudos anexados ao prontuário e nas descrições realizadas pela equipe médica, sendo realizadas por diferentes laboratórios. Os dados foram tabulados no programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 23.0, para análise de frequências e porcentagens para as variáveis categóricas, médias, desvio padrão, mínimo e máximo para as variáveis contínuas.

RESULTADOS

Dos 61 indivíduos em acompanhamento no ambulatório de fibrose cística, 48 prontuários foram avaliados, conforme mostra o fluxograma 1. Quanto aos indivíduos excluídos, seis indivíduos apresentam um padrão de herança não mendeliano, ou seja, não autossômico recessivo, por apresentarem os sintomas, mas sem mutações. Um (01) paciente foi excluído por apresentar uma variante alélica com mutação patogênica e a outra variante alélica selvagem. Outros seis indivíduos, foram excluídos, por apresentarem diagnóstico conclusivo pelos sintomas clínicos e teste do suor positivo com cloreto ≥ 60 mmol/l porém, sem alelos mutados tenham sido detectados pelo sequenciamento do gene CFTR.

Fluxograma 1: Seleção dos indivíduos do estudo



Fonte: Elaborado pela autora.

As características gerais dos indivíduos podem ser observadas na Tabela 1. Os indivíduos com FC são a maioria do sexo feminino, com a média de idade 13,35 anos, idade mínima de 1 ano e máxima de 43 anos. Quanto à naturalidade, 29 indivíduos (72,5%) são da região do Estados de Goiás (Goiânia, Aparecida de Goiânia e demais municípios) e os demais são divididos entre a região Norte 15% (n=6), Nordeste 7,5% (n=3), Sudeste 2,5% (n=1) e outra nacionalidade 2,5% (n=1).

Tabela 1: Caracterização da amostra (n=48)

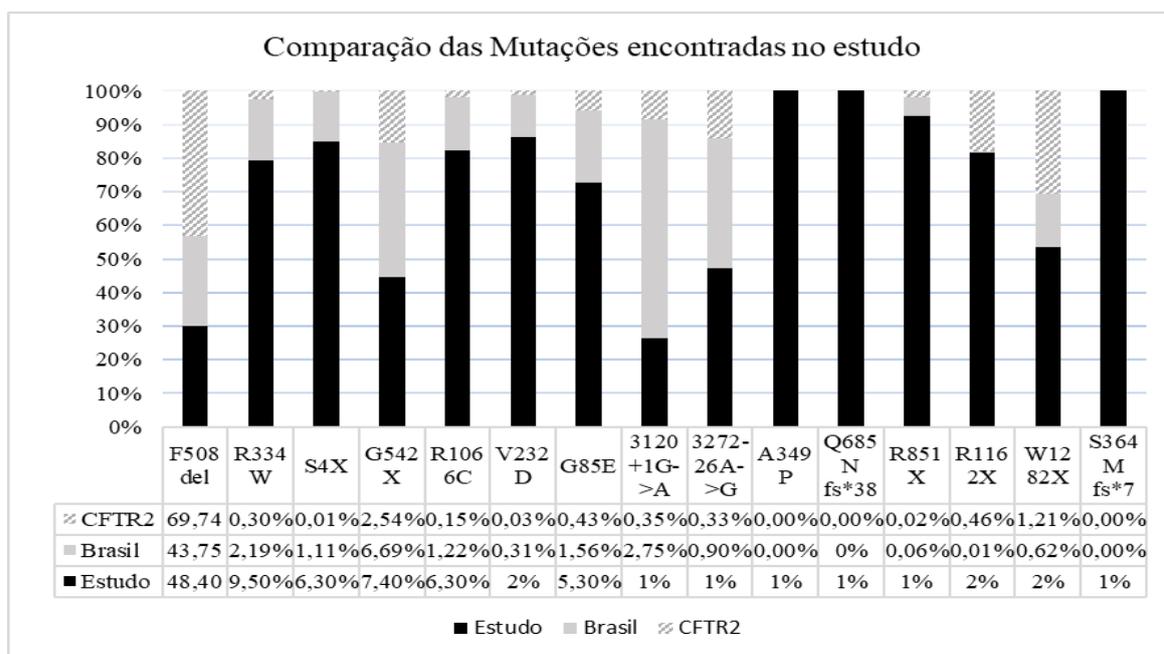
Dados dos participantes da pesquisa	Valores	
Sexo -f (%)		
Feminino	26	(54,2%)
Masculino	22	(45,8%)
Idade (em anos) Méd (DP)	13,35	(±8,45)
Cor/etnia – f (%)		
Branco	5	(11,6%)
Negro	1	(2,3%)
Pardo	17	(39,5%)
Amarelo	1	(2,3%)
Não declarado	24	(44,2%)
Histórico Familiar de FC– f (%)		
Sim	7	(14,6%)
Não	35	(72,9%)
Sem relatos no prontuário	6	(12,5%)
Idade do Diagnóstico – f (%)		
Teste do Pezinho	16	(37,2%)
1ª ano de vida	12	(27,9%)
2 a 5 anos de vida	4	(9,3%)
Acima de 5 anos	11	(25,6%)
IRT Méd (DP)	171,5	(±107,9)
Mínimo - Máximo		48,6 - 449,1
Valor Cloreto Méd (DP)	100,1	(±31,7)
Mínimo - Máximo		50 - 200

Fonte: elaborado pela autora.

Quanto à distribuição dos resultados com base na frequência da mutação F508del, 20 indivíduos (41,7%) apresentam a mutação F508del em heterozigose, 13 indivíduos (27,1%) F508del em homozigose e as demais mutações têm as frequências distribuídas nos genótipos de 15 indivíduos (31,3%).

A frequência total do alelo F508del foi de 48,4%. Ao todo, 17 diferentes variantes alélicas foram detectadas nos 48 indivíduos analisados, além do F508del. A comparação entre as frequências das mutações de Goiânia, do Brasil e do banco de CFTR2 foi feita no Gráfico 1, demonstrando a alta variabilidade alélica em Goiânia. Não foram representadas na tabela as variantes classificadas como deleção do éxon 12, a mutação intrônica e a 7T/TG11-9T/TG10.

Gráfico I: Comparação entre as mutações encontradas no Estudo, no Brasil e no mundo*.



*Dados retirados da frequência brasileira do Registro Brasileiro de FC⁹ e frequência mundial CFTR2¹⁴.

No presente estudo, foi realizada a categorização das mutações em classes: a Classe I teve uma frequência de 19 alelos (19,8%); a classe II com 56 alelos (58,3%) representada, na maioria, pela F508del; já a classe IV com 7 alelos (7,3%); e a Classe V com 4 (4,2%). As mutações A349P, Q685Nfs*38, R851X e S364Mfs*7 não foram agrupadas quanto às classes de mutações por não haver na literatura descrição sobre a deficiência proteica de CFTR.

Quando realizada a análise cruzada dos dados das classes de mutações com os distúrbios ventilatórios, o IMC e insuficiência pancreática, indivíduos classes consideradas leves ou brandas apresentaram sintomas mais graves, foram G85E/R334W e F508del/R334W.

Sobre a colonização bacteriana descrita nos prontuários, a mais frequente foi por *Staphylococcus aureus*, em 17 indivíduos (41,5%), seguida da *Pseudomonas aeruginosa* em nove indivíduos (22%) e dois indivíduos (8,7%) estavam colonizados por *Klebsiella pneumoniae*. Dos indivíduos analisados, três (7,3%) tiveram infecções crônicas por *S. Aureus* e *Pseudomonas*. Dos indivíduos infectados, 11 indivíduos eram homozigotos para F508del, sendo mais prevalentes as bactérias *Staphylococcus aureus* (9,8%) e *Pseudomonas aeruginosa* (9,8%). Dos 13 indivíduos heterozigotos para F508del, a bactéria mais frequente foi *Staphylococcus aureus* (24,4%).

As variáveis clínicas quanto à função pulmonar Volume expiratório Forçado em 1 segundo (VEF1) apresentaram a média 62,84% ($\pm 22,04$), Capacidade Vital Forçada com a média 72,37($\pm 16,60$) e a relação VEF1/CVF 80,76%. Quando realizado a referência cruzada dos valores de função pulmonar e a distribuição das mutações (tabela 2), os três casos com distúrbios mais graves eram um com mutação F508del em homozigose, o S364M*7/G85E e G85E/R334W.

Tabela 2: Distribuição dos distúrbios ventilatórios e as mutações

	Distúrbio Ventilatório					Total
	Sem alteração	Distúrbio ventilatório obstrutivo leve	Distúrbio ventilatório obstrutivo moderado	Distúrbio ventilatório muito acentuado	Distúrbio ventilatório misto	
Homozigoto F508del	1	3	1	1	0	6
Heterozigoto F508del	3	5	5	0	1	14
Outras Variantes	2	2	1	2	1	8
Total	6	10	7	3	2	28

Fonte: elaborado pela autora

Desses indivíduos com distúrbios ventilatórios mais severos, seis (14,6%) utilizam oxigênio em domicílio e cinco têm indicação para transplante pulmonar. As mutações presentes foram F508del em Homozigose, S364M*7/G85E, G85E/R334W, F508del/R334W, F508del/S4X e S4X/3272-26A->G.

Sobre o estado nutricional dos indivíduos em relação ao Índice de Massa Corporal (IMC), verificou-se o valor mínimo de IMC 11,2 e máximo 28,6, com uma média de 17,84 (DP±3,98). Quando realizada a referência cruzada dos dados do IMC com a distribuição entre homozigoto e heterozigoto F508del e outras variantes com quadros de desnutrição mais acentuados, foram um indivíduo com mutação F508del/R33W e S364M*7/G85E.

Quanto ao uso da pancreatina nos indivíduos analisados, 78,6 % (33 indivíduos) fazem uso contínuo. Dos indivíduos com diagnóstico de *diabets mellitus*, 14,6% (6 indivíduos) apresentam essa alteração metabólica, sendo três indivíduos em homozigose para F508del, um em Homozigose para S4X. Os outros três indivíduos apresentam mutação em heterozigose: F508del/3120+1G->A, G542X/R1066C, S364M*7/G85E. E quanto à insuficiência pancreática, 22 indivíduos (53,7%) apresentam relatos da equipe médica quanto à alteração. Porém não há relato no prontuário quanto a frequência de íleo meconial.

Com relação à continuidade dos cuidados em casa, uso de medicação, exercícios em casa e acompanhamento fisioterapêutico, especificamente sobre o uso de medicações e suplementação nutricional, para 79,1% (34 indivíduos) há relatos de uso de pancreatina e para 24 indivíduos há relatos de utilização de suplementação nutricional. Quanto ao acompanhamento fisioterapêutico, 35 indivíduos (72,9%) não possuem supervisão fisioterapêutica em nenhum dia da semana. Porém, há relatos nos prontuários quanto à realização de atividades seguindo manuais da equipe multiprofissional, ou seja, 33 indivíduos (70%) fazem exercícios respiratórios em casa, seguindo as orientações da equipe, com uma média de 1,74 dias na semana (DP±1,79).

DISCUSSÃO

A região Centro-Oeste é uma das regiões menos conhecidas quanto à caracterização genética. A população dessa região foi composta predominantemente por pessoas miscigenadas, devido ao ciclo do ouro, sendo de origem ameríndia, africana na linhagem matrilinear e europeias na linhagem patrilinear. Essa heterogeneidade na população brasileira ocorreu por migrações internas e externas¹⁵.

Nossos dados demonstram uma variabilidade das mutações alélica, seis dos alelos apresentam uma frequência de 2%, refletindo miscigenação da população goiana. Grande parte dessas mutações foi descrita inicialmente na população europeia, sendo que poucas mutações têm frequência mundial acima de 0,1%. Apesar dos esforços, nos últimos anos, 30% dos alelos ainda precisam ser identificados¹⁶. Sendo assim, essa heterogeneidade alélica nos

indivíduos com FC pode explicar o fato de sete indivíduos terem sido excluídos por testes genéticos negativos, apesar de apresentarem sintomas, pois em muitos indivíduos não é possível concluir o diagnóstico genético.

No presente estudo, dos 96 alelos detectados, 48,4% foram F508del. Ao analisar a frequência dessa mutação em regiões brasileiras, pode-se observar 48,7% no Rio Grande do Sul, 47% em São Paulo, 25,68% no Rio de Janeiro e 22,7 % no Pará¹⁷. Países europeus como a Croácia, Albânia e Dinamarca apresentam a frequência de alelo F508del superior a 80%¹⁸.

Essa heterogeneidade nas distribuições das mutações a nível do território brasileiro está relacionada com as características étnicas. A da população brasileira tem como raízes os índios, europeus e negros, sendo impossível inferir sobre ancestralidade genômica a partir da cor da pele¹⁹. Portanto, os pardos são um novo grupo étnico representado pela mistura de gerações de colonizadores (europeus), africanos, os descendentes desses grupos e as populações locais²⁰.

Três mutações foram encontradas na amostra desta pesquisa, sem descrições no banco CFTR2¹⁴: a mutação A349Pm que promove a substituição da alanina na posição 349 por prolina foi citada no Clinvar (NM_000492.4); a variante Q685N fs*38, que promove a substituição da glutamina na posição 685 por aspargina e mudança da matriz de leitura com consequente criação de um códon de parada prematuro; e a variante S364M fs*7, que promove a substituição da Serina na posição 364 por uma Metionina e cria um códon de parada prematuro. Cada um dos três indivíduos apresenta o genótipo heterozigoto, cuja segunda variante alélica é o F508del, para A349P e Q685N fs*38 e o G85E para S364M fs*7. Para todos os alelos mutados, a repercussão fenotípica é ainda desconhecida na literatura.

Os dados quanto à idade estão de acordo com o Registro Brasileiro de Fibrose Cística, em que 75% dos indivíduos com FC são menores de 18 anos⁹. Já quanto ao sexo, os dados do presente estudo divergem dos relatórios internacionais, que relatam maior prevalência do sexo masculino entre indivíduos com FC. Existe uma variação quanto à distribuição em relação ao sexo, conforme a progressão da idade, sendo que o sexo feminino é mais prevalente em idades acima de 55 anos^{18,21,22}.

O impacto na proteína CFTR causada pelas mutações pode ocorrer desde ausência de síntese até a síntese com comprometimento de função residual da proteína²³. Sendo assim, as classificações das mutações no gene CFTR são baseadas no impacto quantitativo e qualitativo

que elas causam a nível da proteína CFTR. Portanto, elas são agrupadas em seis classes, de acordo com alterações moleculares causadas na proteína CFTR^{5,24,25}.

As mutações I, II, III estão associadas com as formas clínicas mais severas da FC, que resultam em perda completa da função dos canais de cloros ou ausência da proteína, enquanto as mutações IV, V e VI acarretam manifestações clínicas mais leves, pois estão associadas a alteração na condução ou na redução da síntese proteica^{7,26}. Porém, devido à combinação de alterações moleculares, defeitos moleculares causados por uma única mutação e a limitação da eficácia das terapias, há, recentemente, uma proposta com base na classificação combinada das classes de mutação em casos de fenótipos complexos²⁷. Essa combinação de classes pode explicar porque a R334W/F508del, apesar de ser uma mutação classificada como leve (R334W), teve repercussões respiratórias e gastrointestinais mais severas em um indivíduo com FC nesse estudo.

A mutação F508del foi a mais frequente nos indivíduos deste estudo. Essa mutação gera alteração na conformação proteica (dobramento), porém há uma degradação prematura da proteína, acarretando a ausência do tráfego dessa proteína. Essa mutação afeta a interfaces NBD-TMD na proteína CFTR, interrompendo a interface entre NBD1 e TMD2. A mutação causa várias alterações bioquímicas, incluindo não apenas a alteração em NBD1, mas também a alteração na interação de entre NBD1 e ICL4, alterando a estrutura do domínio. Portanto, essa mutação se deve à combinação de diferentes mecanismos de ação na proteína^{23,26}.

Quanto à nutrição, dos 10 indivíduos com déficits nutricionais que foram classificados com desnutrição acentuada e baixo peso, 8 indivíduos apresentaram a mutação F508del em heterozigose. Dos 24 indivíduos com diagnóstico de insuficiência pancreática, 16 indivíduos apresentaram a mutação F508del, sendo 5 em homozigose e 11 em heterozigose. A insuficiência pancreática é a complicação gastrointestinal mais prevalente nos indivíduos com FC. Como avaliado em outro estudo, *follow-up* de seis anos, os indivíduos com menores IMC foram homozigotos para F508del²⁸.

Em relação aos distúrbios ventilatórios dos quatro indivíduos com distúrbios ventilatórios acentuados, três foram genotipados com a mutação F508del, sendo 1 em homozigose e 2 em heterozigose com S4X e R334W. Desses três indivíduos, dois têm indicações para transplante pulmonar. Portanto indivíduos homozigotos para mutação F508del apresentam sintomas respiratórios mais graves, com comprometimento da função pulmonar e alterações gastrointestinais²⁸. Entretanto, há considerável heterogeneidade

fenotípica, mesmo em indivíduos com o mesmo genótipo ou classe de mutação do gene CFTR²⁹.

A mutação R334W apresenta uma frequência alélica de 9,4% neste estudo, sendo a segunda mais prevalente. Causa a substituição da arginina na posição 334 por um triptofano. Descrita por apresentar fenótipos brandos, a arginina é um aminoácido com cadeia lateral, o que o torna altamente hidrofílico, possui uma cadeia lateral longa com grupamento guanidina. O triptofano é um aminoácido apolar, aromático e altamente hidrofóbico. Essa mutação está relacionada com TMDs, mais especificamente TM6. Os TMDs têm papel fundamental com o fechamento do poro, sendo que mutações nessa região afetam a condutância do cloreto e/ou a passagem do canal^{26,30}.

Os indivíduos com essa mutação apresentaram IMC classificado, na maioria, como eutrófico, sendo que um paciente foi classificado como desnutrição acentuada e o outro paciente classificado como baixo peso. Quanto ao VEF1, os indivíduos apresentaram a média dos valores de fluxo de 57,57 l/min., sendo classificados como distúrbios ventilatório de leve a moderado, entretanto um paciente apresentou distúrbio ventilatório acentuado. Quando o segundo alelo é F508del, os indivíduos apresentam fenótipos mais severos, mesmo sendo classificados como uma mutação de classe com alterações leves.

A mutação G542X, com uma frequência de 7,4%, é a terceira mais prevalente neste estudo. Sua frequência ocorre de 10% a 15% na Europa, sendo maior na Espanha³¹. A G542X é classificada como uma mutação sem sentido e está associada a um fenótipo severo. Nessa mutação, a glicina (GGA), um aminoácido apolar, alifático e hidrofóbico, é substituída por um códon de parada (TGA). A alteração gera uma rápida degradação e a tradução não é possível e, mesmo que ocorra RNAm estável para tradução, a proteína sintetizada é instável e rapidamente degrada. Essa mutação afeta a interface NBD1 na estrutura proteica, estando associada ao canal proteína e tem interação com o domínio R da proteína, ICL1, ICL4^{8,32,33}.

A mutação G542X neste estudo apresenta-se em 1 paciente homozigose e cinco em heterozigose, sendo o segundo alelo F508del e R1066C. Suas alterações fenotípicas foram classificadas como leves. Quanto à nutrição, todos os indivíduos foram classificados como eutróficos ou sem déficit nutricional, apesar de apresentarem sintomas gastrointestinais importantes. Quanto aos distúrbios ventilatórios, apresentam alterações leves ou sem alterações na espirometria.

A S4X é uma mutação com fenótipo severo, com alta prevalência no presente estudo (6,3%), quando comparada à frequência brasileira (1,1%)⁹. Há descrições dessa mutação na população eslovena (0,8%) e libanesa (7%)³⁴. A Serina (TCG) é substituída por um códon de parada (TAG) na posição quatro. É a única mutação conhecida no éxon 1 e causa o término da tradução precoce. A mutação causa uma alteração na estrutura N terminal da proteína³⁵. Esta deleção remove 23 nucleotídeos da posição 120-142, que afeta a região 5' não traduzida *upstream* do éxon 1, incluindo o códon de iniciação da tradução (códon 133-135)³⁶.

A mutação S4X está presente em um paciente em Homozigose e nos outros quatro indivíduos em heterozigose. São indivíduos com fenótipos mais graves^{35,36}. Quanto aos déficits nutricionais, 3 indivíduos apresentam alterações nutricionais. Todos os indivíduos apresentam o diagnóstico de Insuficiência Pancreática. Dois indivíduos apresentam distúrbio ventilatório acentuado, com uso de oxigênio e indicação de transplante pulmonar, com colonizações crônicas por *S. Aureus* e *Pseudomonas*, sendo os casos mais graves associados aos alelos F508del e 3272-26A->G.

Outras mutações encontradas em 5,3% dos indivíduos foram a G85E e a R1066C. A G85E é uma mutação que causa a substituição da glicina, o aminoácido apolar, alifático mais simples, com um átomo de hidrogênio como cadeia lateral, considerada opticamente inativa. O glutamato contém duas cadeias laterais que em pH neutro apresentam cargas negativas. Essa mutação causa alteração na primeira porção do domínio TMD (TMD1) da proteína CFTR, por ocasionar a substituição de aminoácido sem carga por outro carregado negativamente na porção TMD, introduzindo um grupo ionizável na sequência MS1. Essa mutação desestabiliza a proteína CFTR, ocasionando uma rápida degradação por causar um defeito no deslocamento proteico e uma interrupção no processamento de CFTR. Pela alteração proteica, é classificada como fenótipo severo, Classe II^{37,38}.

No estudo, os cinco indivíduos apresentam a mutação G85E em heterozigose com os outros alelos, F508del, Deleção do éxon 12, R1162X, R334W e 364Metfs*7. Os fenótipos são heterogêneos, com alterações nutricionais de leve (2 indivíduos) a desnutrição (2 indivíduos). Quanto à alteração pancreática, três indivíduos apresentam insuficiência pancreática. E quanto ao comprometimento pulmonar, dois apresentam comprometimentos acentuados com VEF1<30%. Esses indivíduos com fenótipos graves apresentam, como segunda variante, R334W - uma mutação de Classe IV e a 364Metfs*7, sem informações quanto à alteração proteica, por ainda não ter sido descrita na literatura.

A R1066C é um fenótipo severo, resultado da falta de expressão do canal na superfície celular. É uma mutação do tipo transição, que causa a substituição de uma arginina, aminoácido que tem carga positiva em pH neutro, com cadeia lateral muito polar, o que o torna hidrófilo por uma cisteína, um aminoácido que contém um radical sulfidríla altamente reativo, com cadeia lateral hidrófobas. A cisteína forma ligações dissulfeto, exercendo um papel especial no modelamento da proteína. Essa mutação ocasiona alterações em ICL4, citoplasma loops, responsável por conectar as estruturas TMs na proteína CFTR, resultando no processamento incorreto da proteína e a retenção no retículo endoplasmático (RE). O mal dobramento local evita a obtenção da conformação citoplasmática global de CFTR, que é necessária para a maturação. É esperado que CL4 contribua para a estrutura terciária geral do aspecto citoplasmático da molécula na superfície do RE^{39,40}.

Dos cinco indivíduos com a mutação R1066C, todos são em heterozigose, sendo que quatro apresentam, como segundo alelo, o F508del. No Brasil, a frequência da mutação R1066C é de 1,19%⁹ e sua presença, em homozigose, está associada a um fenótipo grave, semelhante ao observado em indivíduos F508del homozigotos³¹.

Este estudo tem algumas limitações. Devido à coleta ter sido realizada em prontuário físicos, há a dificuldade de encontrar as informações quanto as mutações e os exames de genotipagem. Quanto à coleta das informações clínicas, há muitos dados incompletos e as informações foram limitadas. Entretanto, este estudo foi realizado em um centro de referência para o tratamento de FC e, portanto, é possível que a população reflita as características gerais de indivíduos FC da região centro-oeste brasileira. Outra vantagem: por ser uma doença rara, a amostra analisada pode acrescentar informações relativas aos dados clínicos e perfil alélicos dos indivíduos da região do centro-oeste e acrescenta informações sobre os indivíduos com FC no Brasil.

Os resultados dessa análise descritiva mostraram uma grande heterogeneidade alélica nos indivíduos acompanhados em Goiânia e esse perfil alelotípico e genotípico se destoa dos perfis descritos em algumas regiões do Brasil e destoa, principalmente, dos dados em populações pouco miscigenadas. Foram encontradas três mutações A349P, Q685Nfs*38, R851X e S364Mfs*7sem descrição na literatura e nos bancos de dados sobre gene *CFTR*. Essas peculiaridades são importantes marcadores prognósticos para tomada de decisão precoce e ampliar o conhecimento sobre a doença.

REFERÊNCIAS

1. Rommens JM, Zengerling S, Burns J, Melmer G, Kerem B, Plavsic N, et al. Identification and regional localization of DNA markers on chromosome 7 for the cloning of the cystic fibrosis gene. *Am J Hum Genet.* 1988;43(5):645–63.
 2. Goetzinger KR. Cystic Fibrosis. *Obstet Imaging Fetal Diagnosis Care Second Ed.* 2017;579-581.e1.
 3. Oates GR, Schechter MS. Socioeconomic status and health outcomes: cystic fibrosis as a model. *Expert Rev Respir Med.* 2016;10(9):967–77.
 4. Rodrigues R, Gabetta CS, Pedro KP, Valdetaro F, Fernandes MIM, Magalhães PKR, et al. Cystic fibrosis and neonatal screening. *Cad Saude Publica.* 2008;24:475–84.
 5. Murieli K, Lima S De. Características genéticas e fenotípicas de crianças e adolescentes com fibrose cística no Sul do Brasil. *J Bras Pneumol.* 2018;44(6):498–504.
 6. Bedard GG. Clinical Application PreStride. 1996;16(1):571–2
 7. Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, et al. Guidelines for Diagnosis of Cystic Fibrosis in Newborns through Older Adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report. *J Pediatr.* 2008(2);153.
 8. Saraiva-Pereira ML, Fitarelli-Kiehl MS, Sanseverino MTV. A Genética na Fibrose Cística. *Rev HCPA.* 2011;31(2).
 9. REBRAFC. Relatório Anual do Registro Brasileiro de Fibrose Cística 2017. *Regist Bras Fibrose Cística.* 2017(56).
 10. World Health Organization Multicentre Growth Reference Study Group. Enrolment and baseline characteristics in the WHO Multicentre Growth Reference Study. *Acta Paediatr* 2006 (Suppl 450):7-15.
 11. Mercedes de Onis, Adelheid W Onyango, Elaine Borghi, Amani Siyam, Chizuru Nishida, Jonathan Siekmann Bull. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *World Health Organ.* 2007 Sep; 85(9): 660–667. doi: 10.2471/BLT.07.043497
 12. World Health Organization (WHO) [Internet]. Obesity and Overweight. Fact sheet N° 311. 2021. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
 13. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Diretrizes para testes de função pulmonar. *J Bras Pneumol* [Internet]. 2002;28(3):38. Available from: http://www.saude.ufpr.br/portal/labsim/wpcontent/uploads/sites/23/2016/07/Suple_139_45_11-Espirometria.pdf
 14. Cystic Fibrosis Foundation. Patient Registry Annual Data Report. *Cyst Fibros Found Patient Regist 2018 Annu Data Rep* [Internet]. 2018;92. Available from: <http://www.cff.org/UploadedFiles/research/ClinicalResearch/Patient-Registry-Report-2009.pdf>
 15. Barcelos SS. Contribuição Genética de Duas Populações Urbanas da Região Centro-Oeste Brasileira Estimada Por AMrcadores Uniparentais. Universidade de Brasília; 2006.
 16. Audrézet MP, Chen JM, Raguene's O, Chuzhanova N et al. Genomic Rearrangements in the CFTR Gene: Extensive Allelic Heterogeneity and Diverse Mutational Mechanisms. *Human Mutation.* 2004; 23 (4):343–357.
 17. Coutinho CAAC, Marson FAL, Ribeiro AF, Ribeiro JD, Bertuzzo CS. Mutações no gene cystic fibrosis transmembrane conductance regulator em um centro de referência para a fibrose cística. *J Bras Pneumol.* 2013;39(5):555-561.
 18. Zolin A, Orenti A, Naehrlich L, van Rens J. ECFSPR Annual Report 2017. *Eur Cyst Fibros Soc* [Internet]. 2017;1–149. Available from:
-

- https://www.ecfs.eu/sites/default/files/general-content-images/working-groups/ecfs-patient-registry/ECFSPR_Report2017_v1.3.pdf
19. Alves-Silva J, et al. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *Am J Hum Genet.* 2000; 67(2):444–461.
 20. Godinho NMO. *Genética De Populações Latino-Americanas*. Universidade de Brasília - UNB; 2008
 21. Cystic Fibrosis Canada. Annual Data Report. 2018;1–30. Available from: https://www.cysticfibrosis.ca/de/action/download?downloads=14&file=dl_en-annual-report-web.pdf.
 22. Cystic Fibrosis Foundation. Patient Registry Annual Data Report. Cyst Fibros Found Patient Regist 2018 Annu Data Rep [Internet]. 2018;92. Available from: <http://www.cff.org/UploadedFiles/research/ClinicalResearch/Patient-Registry-Report-2009.pdf>
 23. Rowntree RK, Harris A. The phenotypic consequences of CFTR mutations. *Ann Hum Genet.* 2003;67(5):471–85.
 24. Ratjen FA. Cystic fibrosis: Pathogenesis and future treatment strategies. *Respir Care.* 2009;54(5):595–602.
 25. De Boeck K, Amaral MD. Progress in therapies for cystic fibrosis. *Lancet Respir Med* [Internet]. 2016;4(8):662–74.
 26. Hwang TC, Yeh JT, Zhang J, Yu YC, Yeh HI, Destefano S. Structural mechanisms of CFTR function and dysfunction. *J Gen Physiol.* 2018;150(4):539–70.
 27. Veit G, Avramescu RG, Chiang AN, Houck SA, Cai Z, Peters KW, et al. From CFTR biology toward combinatorial pharmacotherapy: Expanded classification of cystic fibrosis mutations. *Mol Biol Cell.* 2016;27(3):424–33.
 28. Rosa J, Gaspar-Silva P, Pacheco P, Silva C, Branco CC, Vieira BS, et al. A comprehensive overview of the cystic fibrosis on the island of São Miguel (Azores, Portugal). *BMC Pediatr.* 2020;20(2):1–7.
 29. Sebro R, Levy H, Schneck K, Dimmock D, Raby BA, Cannon CL, et al. Cystic fibrosis mutations for p.F508del compound heterozygotes predict sweat chloride levels and pancreatic sufficiency. *NIH Public Access. Clin Genet.* 2012;82(6):1–7.
 30. Antiñolo G, Borrego S, Gili M, Dapena J et al. Genotype-phenotype relationship in 12 patients carrying cystic fibrosis mutation R334W. *Journal of Medical Genetics.* 1997; 34(2): 89-91.
 31. Casals T, Ramos MD, Larriba JGS, Nunes V, Estivill X. High heterogeneity for cystic fibrosis in Spanish families: 75 mutations account for 90% of chromosomes. *Hum Genet.* 1997;101(3):365–70.
 32. Loirat F., Hazout S. LG. G542X As a Probable Phoenician Cystic Fibrosis Mutation Author (s): FRANCE LOIRAT , SERGE HAZOUT and GÉRARD LUCOTTE Published by : Wayne State University Press Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/41465564> . *Hum Biol.* 2013;69(3):419–25.
 33. Bernardino ALF, Ferri A, Passos-Bueno MR, Kim CEA, Nakaie CMA, Gomes CET, et al. Molecular analysis in Brazilian cystic fibrosis patients reveals five novel mutations. *Genet Test.* 2000;4(1):69–74.
 34. Farra C, Menassa R, Awwad J, Morel Y, Salameh P, Yazbeck N, et al. Mutational spectrum of cystic fibrosis in the Lebanese population. *J Cyst Fibros* [Internet]. 2010;9(6):406–10.
 35. Glavac D, Ravnik-glavac M, Dean M. Identification of a rare cystic fibrosis mutation (S4X) in a slovenian population. *Hum Mol Genet.* 1993;2(3):315–6.
-

36. Martins RS, Fonseca ACP, Acosta FES, Folescu TW, Higa LYS, Sad IR, et al. Severe phenotype in an apparent homozygosity caused by a large deletion in the CFTR gene: A case report. *BMC Res Notes*. 2014;7(1):1–4.
 37. Vazquez C, Antinolo G, Casals T, Dapena J, Elorz J, Seculi JL, et al. Thirteen cystic fibrosis patients, 12 compound heterozygous and one homozygous for the missense mutation G85E: A pancreatic sufficiency/insufficiency mutation with variable clinical presentation. *J Med Genet*. 1996;33(10):820–2.
 38. Lopes-Pacheco M, Boinot C, Sabirzhanova I, Rapino D, Cebotaru L. Combination of Correctors Rescues CFTR Transmembrane- Domain Mutants by Mitigating their Interactions with Proteostasis. *Cell Physiol Biochem*. 2017; 41(6): 2194–2210. doi:10.1159/000475578.
 39. Fanen P, Labarthe R, Garnier F, Benharouga M, Goossens M, Edelman A. Cystic fibrosis phenotype associated with pancreatic insufficiency does not always reflect the cAMP-dependent chloride conductive pathway defect. Analysis of C225R-CFTR and R1066C-CFTR. *J Biol Chem*. 1997;272(48):30563–6.
 40. Seibert FS, Linsdell P, Loo TW, Hanrahan JW, Clarke DM, Riordan JR. Disease-associated mutations in the fourth cytoplasmic loop of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator compromise biosynthetic processing and chloride channel activity. *J Biol Chem*. 1996;271(25):15139–45.
-

CAPÍTULO 3 - ASPECTOS EPIGENÉTICOS DA FIBROSE CÍSTICA POR VIA DE METILAÇÃO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA*

EPIGENETIC ASPECTS OF CYSTIC FIBROSIS BY METHYLATION PATHWAY: A SYSTEMATIC REVIEW

* Será submetido para o Periódico *Genetic And Molecular Research*

Letícia de Souza PEREIRA¹, Clarissa Dal Molin dos SANTOS², Sarah Barbosa MORAES², Tania Cristina Dias da Silva HAMU³, Flávio Monteiro AYRES⁴

1- Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde; Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO, Brasil; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-4207-8175>

2- Graduanda em Fisioterapia; Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO, Brasil; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6676-1414>

3- Professora da Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8776-5991>

4- Professor da Universidade Estadual de Goiás (UEG), Goiânia – GO, Brasil. ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-1170-6933>

Autor para correspondência: Letícia de Souza Pereira. e-mail: fisioterapeutaleticia@hotmail.com. Endereço: Avenida Oeste, 56-250, Setor Aeroporto, Goiânia, Goiás. CEP: 74075-110. Telefone Celular: (62) 9 91376030.

RESUMO

Introdução: A Fibrose Cística (FC) é uma doença autossômica recessiva. Há indivíduos com sintomas da doença, porém com teste genético negativo, existindo, assim, uma lacuna quanto à etiopatogênese da FC em alguns indivíduos. Portanto, a epigenética na FC pode ser a interface entre o genoma e o ambiente, para preencher essa lacuna. **Objetivo:** buscar evidências científicas sobre a associação entre o silenciamento do gene CFTR por uma via epigenética, a metilação, que independe do gene mutado em indivíduos com FC. **Métodos de Buscas:** Foi realizada a busca eletrônica nos seguintes bancos de dados: Pubmed, Scopus, WEB of Science. Um total de 316 artigos foram encontrados, sendo 4 elegíveis para a revisão. **Resultado Principal:** Os quatro artigos são caso-controle, sendo um total de 76 indivíduos analisados com FC e 38 indivíduos no grupo controle. Todos os artigos reportam dados sobre a análise dos locais metiláveis do gene CFTR, dois relatam sobre a expressão de genes modificadores do CFTR e a relação da metilação com a função pulmonar. **Conclusão:** Essa revisão sistemática permite concluir que a via epigenética por metilação não está intrínseca na etiologia da FC.

ABSTRACT

Introduction: Cystic Fibrosis (CF) is an autosomal recessive disease. There are patients with symptoms of the disease, but with a negative genetic test. Thus, there is a gap regarding the etiopathogenesis of CF in some patients. Therefore, epigenetics in CF may be the interface between the genome and the environment to fill this gap. **Objective:** to seek scientific

evidence on the association between the silencing of the CFTR gene by an epigenetic pathway, methylation, which is independent of the mutated gene in patients with CF. Search Methods: An electronic search was performed in the following databases: Pubmed, Scopus, WEB of Science. A total of 316 articles were found, 4 of which were eligible for review. Main **Result:** The four articles are case-control, with a total of 76 patients analyzed with CF and 38 patients in the control group. All articles report data on the analysis of the methylable sites of the CFTR gene, two report on the expression of CFTR modifying genes and the relationship between methylation and lung function. **Conclusion:** This systematic review allows us to conclude that the epigenetic pathway through methylation is not intrinsic to the etiology of CF.

1. Introdução

A Fibrose Cística (FC) é uma doença genética, autossômica recessiva, com morbidade e mortalidade relacionadas ao acometimento de múltiplos sistemas (SCOTT; DE SARIO, 2020). As mutações no gene CFTR causam espessamento e acúmulo de muco, inflamação e várias complicações, principalmente no epitélio nas vias aéreas, pâncreas, glândulas sudoríparas, glândulas salivares, intestinos e trato reprodutivo, onde esse gene é altamente expresso (SIRINUPONG; YANG, 2015a). As consequências clínicas da FC resultam em características múltiplas e complexas com fenótipo que variam consideravelmente em gravidade, mesmo em mutações semelhantes (WILSCHANSKI; DURIE, 2007). Existe uma variabilidade fenotípica entre os indivíduos com mesmas mutações, incluindo em gêmeos univitelinos, apontando para causas como genes modificadores e expressões epigenéticas (HERCEG; VAISSIÈRE, 2011).

A epigenética descreve os mecanismos envolvidos na expressão genética e variações de fenótipo causados por fatores externos, alterações na capacidade transcricional de células através de mitose ou mesmo meiose, sem nenhuma mudança primária na sequência de DNA. Alterações epigenéticas envolvem metilação de DNA, desregulação de miRNA e acetilação de histona (PORTELA; ESTELLER, 2010). Os mecanismos epigenéticos são importantes para determinar sobre expressão ou silenciamento do gene. Portanto, a epigenética na FC pode ser a interface entre o genoma e o ambiente, para explicar as diferenças fenotípicas entre mutações semelhantes.

Na FC há indivíduos com sintomas clínicos compatíveis para a doença, entretanto, nas avaliações genéticas, há ausência de mutações, apresentando diagnósticos inconclusivos. No Registro Brasileiro de FC, 11,8% (483 indivíduos) apresentam resultados negativos no estudo genético e 22,2% (905 indivíduos) são inconclusivos, ou seja, com uma variante positiva e outra com significado incerto (REBRAFC, 2017). Diante dessa situação, o objetivo desta revisão foi buscar evidências científicas sobre a associação entre o silenciamento do gene

CFTR por uma via epigenética, a metilação, que independe do gene mutado em indivíduos com FC.

2. Materiais e Métodos

2.1 Registro

Esta revisão foi registrada no PROSPERO, com o código CRD42020146776.

2.2 Critérios de elegibilidade e seleção dos artigos

Uma busca em banco de dados eletrônico foi realizada no Pubmed, Scopus, WEB of Science, sem limite de idioma ou data de publicação. A data da última pesquisa foi setembro de 2020 e a estratégia de pesquisa utilizou as palavras como Fibrose Cística, Mucoviscidose, Epigenética e Metilação, Metilação DNA e suas variações nas buscas das bases de dados. Com relação aos operadores booleanos, foram utilizados *OR* e *AND*. Nas buscas não foram utilizados filtros para restringir as procuras dos artigos. Foram incluídos os artigos que investigavam as evidências do silenciamento do gene CFTR relacionados à fibrose cística. Os critérios de inclusão foram estudos caso-controle relacionados à epigenética e FC, com rastreamento para regiões de hipermetilação do gene CFTR e seus genes modificadores. Os critérios de exclusão aplicados foram: (a) ausência de avaliação da região de hipermetilação no gene CFTR; (b) avaliação da região de hipermetilação em outros genes não relacionados ao CFTR. Esta revisão foi realizada com estudos não randomizados, estudos caso-controle, devido à questão de estudo, por buscar um fator etiológico da FC e por tratar de desfechos raros.

A triagem dos estudos elegíveis foi realizada em três etapas: (a) leitura dos títulos; (b) leitura dos resumos; e (c) triagem dos textos completos. Cada etapa foi realizada por dois revisores independentes e, em caso de divergência entre os revisores, uma avaliação final foi realizada por um terceiro revisor independente, com maior conhecimento na área.

2.3 Extração de dados e análise de dados

Os dados de cada artigo foram extraídos em duplicata por cada revisor e depois foram analisadas em conjunto as extrações dos dados. As informações coletadas foram: primeiro autor, ano de publicação, local do estudo, desenho do estudo, número de casos e número de controles os estudos, o tipo de tecido analisado, qual método usado, o gene analisado e as ilhas CpGs analisadas, além da conclusão do estudo.

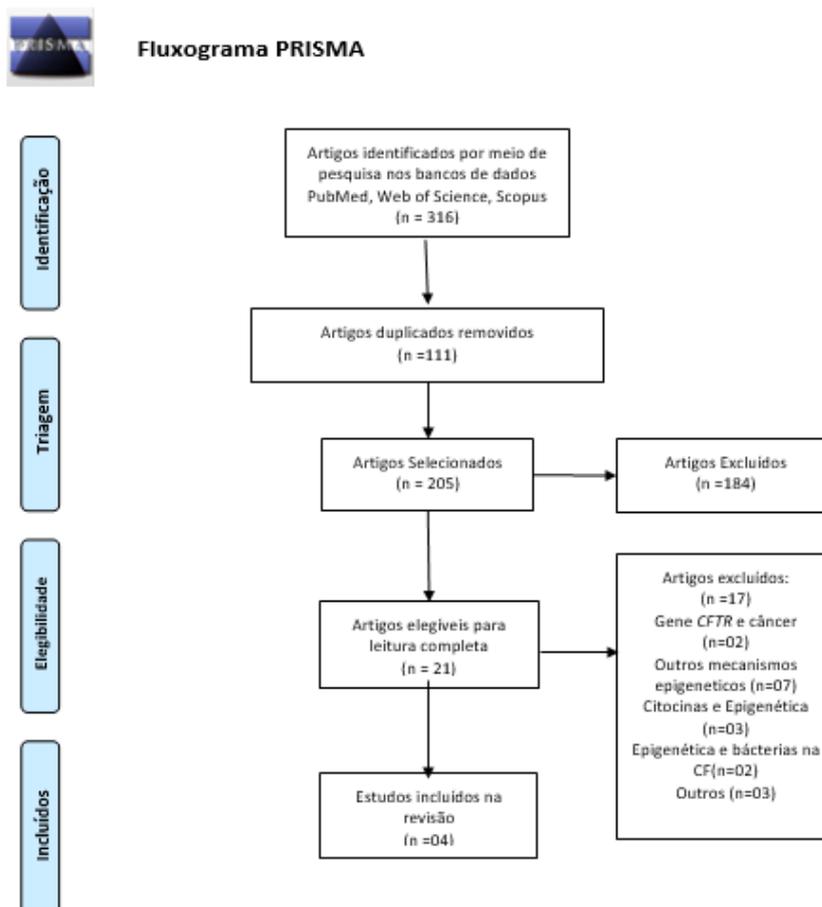
Apesar de não existir, até o momento, um instrumento de consenso para avaliação de viés de estudos observacionais (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE CIÊNCIA, 2014), utilizou-se o *Newcastle-Ottawa Scale* (NOS), que é uma escala com três domínios: seleção dos grupos, comparação com base em análise ou elementos de projeção e verificação da exposição para estudos caso-controle. Cada item recebe uma estrela se a resposta for sim, sendo que apenas no item comparabilidade é possível receber no máximo duas estrelas. Portanto, pode-se classificar o máximo de quatro estrelas em seleção, duas estrelas em comparabilidade e três em exposição, totalizando um máximo de nove estrelas (WELLS; O'CONNELL; PETERSON, 2000). Embora não tenha orientações de classificação da NOS, foram usados os seguintes intervalos de pontuação, baseado em um estudo, para categorizar qualitativamente a qualidade geral dos estudos observacionais incluídos: 0 a 4 = baixa qualidade; 5 a 7 = qualidade razoável; 8 a 9 = alta qualidade (GIERISCH JM, BEADLES C, SHAPIRO A, MCDUFFIE JR, CUNNINGHAM N, BRADFORD D, STRAUSS J, CALLAHAN M, CHEN M, HEMMINGER A, KOSINSKI A, NAGI A, 2014).

3. Resultados

Um total de 316 artigos foram selecionados das quatro bases de dados. Entre eles, 111 foram duplicados. Após a triagem do título, resumos e textos completos, quatro estudos atenderam aos critérios de inclusão (Figura 1) para a revisão.

Todos os quatro artigos são caso-controle, sendo um total de 76 amostras analisadas com FC e 38 amostras no grupo controle sem FC. Todos os artigos falam da análise dos locais metiláveis do gene CFTR, dois falam sobre a expressão de genes modificadores do CFTR e a relação da metilação com a função pulmonar.

Figura 1: Fluxograma das avaliações dos artigos.



Fonte: elaborado pela autora

Ao avaliar a qualidade da evidência desses quatro artigos, a análise foi apresentada na Tabela 1 para cada o critério de avaliação dos estudos dessa revisão. Esses estudos são dois considerados de baixa qualidade e dois de qualidade razoável.

Tabela 1 – Risco de viés para estudos caso-controle usando a escala Newcastle-Ottawa

Estudos	Seleção	Comparabilidade	Desfecho/Exposição	Total
Magalhães et al., 2017 (MAGALHÃES et al., 2017)	★ ★ ★	★	★	05
Chen et al., 2018 (CHEN et al., 2018)	★		★ ★	03
Bouvet et al., 2018 (BOUVET et al., 2018)	★ ★		★	03
Magalhães et al., 2018 (MAGALHÃES et al., 2018)	★ ★ ★	★	★	05

Fonte: elaborado pela autora

Nos estudos, a maior lacuna relaciona-se à comparação entre os grupos e os controles, por não haver descrição na metodologia dos artigos. Observa-se, também, que não há menções sobre os fatores de confusão para adequar a análise. Quanto à seleção dos casos, não há descrição da seleção dos casos e nem dos controles. Os artigos apresentam descrições quanto às análises dos grupos controles e dos casos, os resultados encontrados e as repercussões relacionadas ao gene de maneira detalhada. Apresentam também problemas de imprecisão, devido ao número de participantes nos estudos e problemas de direção. Portanto, quanto à avaliação da qualidade da evidência que reflete a confiança que as estimativas de efeito são adequadas para dar suporte às recomendações dessa revisão sistemática, por se tratar de uma revisão sistemática de estudos observacionais, a qualidade da evidência é considerada baixa.

Tabela 2: Descrição dos principais achados em cada artigo

Referência	Ano	Local do Estudo	Métodos	Tecidos	Número de casos/controles	Objetivos	Ilhas CpG	Gene Analisado	Conclusão
Magalhães et al.	2017	França	Bissulfito e sequenciamento de última geração (BS-NGS).	Sangue e células epiteliais nasais	48 pacientes com CF (homozigoto para F508del) e 24 indivíduos saudáveis	Avaliar se o: o estresse frequente altera o epigenoma em tecidos afetados por FC e as variações de metilação do DNA nos genes modificadores da doença modulam a função pulmonar em pacientes com FC.	As regiões analisadas variaram de 133 a 264 bp, incluídas de 5 a 26 dinucleotídeos CpG, e estavam a menos de 1550 bp de distância do local de início da transcrição (TSS).	CFTR e genes modificadores CF (ATF1, DUOX2, EDNRA, ENaCy, GSTM1, GSTM3, HMOX1, IFRD1, MUC5AC, TGFβ, TLR2, TLR5,YY1)	A metilação do DNA foi associada à gravidade pulmonar nos genes HMOX1, GSTM3 e EDNRA e a uma deleção polimórfica que tem efeito protetor na fibrose cística no gene GSTM3. As alterações podem resultar em pequenas variações de expressão que, ao longo do tempo, modulam a gravidade da doença pulmonar.
Bouvet et al.	2018	Canadá	Conversão de Bissulfito com protocolo de kit EZ DNA <i>Methylation-Direct</i>	Células epiteliais brônquicas dos pulmões de indivíduos com FC homozigotos F508del. As células epiteliais brônquicas ou traqueais dos indivíduos saudáveis.	05 pacientes com FC (homozigoto para F508del) e 02 indivíduos saudáveis.	Investigar o efeito da metilação do DNA na regulação da expressão de RGS2 e identificar o potencial envolvimento de locais de ligação de transcrição específicos.	Grande região hipermetilada no promotor RGS2, entre aproximadamente -650 nt e +400 nt após o códon inicial (+1)	RGS2 e S100A12.	Mecanismos epigenéticos levam à diminuição da expressão de RGS2 em células epiteliais; regulação negativa de RGS2 levou ao aumento da expressão de S100A12 em células em estresse oxidativo.

(continua)

Tabela 2: Descrição dos principais achados em cada artigo (continuação)

Magalhães et al.	2018	França	Use Bissulfite tratado usando o kit EpiTectR 96 FAST Bisulfite (Qiagen)	Célula epitelial nasal.	32 pacientes com FC (homozigoto para F508del) 16 indivíduos saudáveis.	Para avaliar se os níveis de metilação do DNA são responsáveis pelas variações fenotípicas não hereditárias observadas entre pacientes com fibrose cística (FC)	485.764 locais de metilação foram analisados com uma média de 17 locais CpG por gene em toda a região promotora, região 5 não traduzida (5-UTR), primeiro éxon, corpo gênico e 3-UTR e 96% das ilhas CpG.	Foram encontrados 1267 dinucleotídeos CpG diferencialmente metilados que foram associados a 638 genes: 303 genes foram hipermetilados e 318 genes foram hipometilados em pacientes com FC	Este estudo detectou evidências de que a metilação do DNA está muito alterada em amostras de NEC de pacientes com FC. As alterações dinâmicas da metilação do DNA ocorrem principalmente nas regiões genômicas transcricionalmente ativas e nos intensificadores que são ativos nos tecidos pulmonares.
Chen et al.	2018	Estados Unidos	Use o sequenciamento de Bissulfite de próxima geração (tNGS)	Amostras de lavado broncoalveolar	04 pacientes com FC (três indivíduos homozigoto para F508del e um heterozigoto F508del/Y1092X) e 02 pacientes saudáveis.	Examinar os possíveis mecanismos epigenéticos subjacentes relacionados à desregulação da imunidade inata na FC. Iniciou um estudo de perfil de metilação do DNA em todo o epigenoma.	26.733 metilação foram comparadas e analisaram a maioria dos locais CpG variáveis	CD6, HOOK2, LSP1, RGS12, SH3PXD2A, UPP1	Através do uso de perfis de metilação de DNA de todo o epigenoma, foram identificadas 109 ilhas CpG diferencialmente metilados: 51 são hipermetilados e 58 são hipo-metilados.

Fonte: elaborado pela autora

4. Discussão

A busca na literatura evidenciou que inexistem evidências científicas que associam a regulação da expressão do gene CFTR por metilação de DNA. Nos critérios de elegibilidade, as buscas foram restritas à metilação como mecanismo epigenético envolvido na etiopatogênese da FC. Os demais mecanismos epigenéticos como microRNA e a acetilação de histonas não foram estudados. Entretanto, pode-se afirmar que fatores intrínsecos e inflamatórios influenciam na regulação de CFTR, em contextos fisiológicos e patológicos.

No gene CFTR, a metilação do promotor está geralmente associada à inativação do gene, enquanto a expressão do gene está correlacionada com a desmetilação do promotor. O CFTR é um dos promotores ricos em sítios CpG, onde os locais CpG não são metilados em linhas de células com expressão de CFTR alta e baixa. No entanto, os locais CpG são parcial ou completamente metilados nas linhas celulares de expressão muito baixa ou não-CFTR (KOH; SFERRA; COLLINS, 1993; DENAMUR; CHEHAB, 1995).

A expressão do gene é complexa, presumivelmente mediada por ação combinada de vários processos regulatórios distintos. A transcrição do gene CFTR pode ser modulada, tanto indiretamente, por meio de modificações no contexto físico ou acessibilidade do gene, quanto diretamente, por meio da interação de sequências promotoras e fatores de ação *trans* específicos para células. Portanto, a avaliação do controle da expressão do gene CFTR é provavelmente uma função complexa de várias vias regulatórias sobrepostas (KOH; SFERRA; COLLINS, 1993).

No gene CFTR, há regiões hipometiladas e regiões hipermetiladas (MAGALHÃES et al., 2018). Genes com promotores hipometilados tendem para ser transcricionalmente ativos, enquanto os promotores hipermetilados estão geralmente associados ao silenciamento de genes. Achados sugerem que a metilação do DNA podem não serem os mecanismos de controlar a expressão da célula, mas sim regular a expressão de CFTR, em resposta ao estresse e estímulos ambientais (SIRINUPONG; YANG, 2015b)

Os artigos mostram a metilação responsável pela diminuição da expressão em genes modificadores genéticos como HMOX1, EDNRA, relacionados à gravidade pulmonar e o RGS2 com o aumento da expressão do S100A12 em estresse oxidativo (MAGALHÃES et al., 2017; BOUVET et al., 2018). As metilações estão relacionadas com inflamação e respostas imunológicas na FC (10,13). Apesar de não estar associadas ao mecanismo da inicial da FC, essas metilações estão relacionadas à gravidade da doença, processos inflamatórios e é uma resposta a alterações fenotípicas de indivíduos com a mesma mutação FC.

Como a doença pulmonar relacionada a FC causa muita morbidade e mortalidade, muitos estudos são feitos com o objetivo de conhecer os mecanismos da fisiopatologia e os danos irreversíveis no pulmão, sendo que a infecção, a inflamação e outros fatores podem produzir mudanças epigenéticas relacionadas à gravidade da doença e prováveis susceptibilidade à infecção por bactérias como *pseudomonas* (15)(16)(SACO et al., 2018). As alterações epigenéticas, especificamente a metilação do DNA em macrófagos pulmonares, podem participar, pelo menos em parte, na condução de células imunes disfuncionais no pulmão com FC (CHEN et al., 2018).

Há relatos de pelo menos nove genes que podem ser implicados como modificadores genéticos de algum aspecto do fenótipo de FC, estando associados a alteração na função pulmonar, na obstrução intestinal, diabetes e alterações hepáticas (CUTTING, 2010). No contexto da metilação das ilhas CpGs em tecidos que expressam o gene *CFTR* como o câncer, observou-se considerar outras modificações que estão associadas com promotores ativos ou inativos. Uma combinação de modificações epigenéticas pode contribuir para múltiplos mecanismos que regulam o promotor do gene *CFTR* em outras doenças (KUBIAK; LEWANDOWSKA, 2015).

Na análise dos vieses dessa seleção, pode-se inferir sobre os dados incompletos quanto à descrição dos grupos que participam dos estudos. Há a descrição quanto a conflito de interesses em um artigo e pode-se considerar a amostra reduzida, o que gera imprecisão dos dados, mas isso se justifica por ser uma doença rara.

O conhecimento dos mecanismos epigenéticos serão úteis quando o efeito de fatores genéticos e não genéticos, fatores ambientais e tratamentos farmacológicos, puderem ser combinados para estimar com precisão uma mudança significativa da doença. Sabe-se que fatores intrínsecos, inflamatórios e inefetivos podem influenciar na regulação epigenética no gene *CFTR* e, conseqüentemente, na proteína *CFTR*. Portanto, esse conhecimento pode influenciar futuras terapias para FC, nas quais a modulação da expressão de *CFTR* pode ser importante.

5. Conclusão

Essa revisão sistemática permite concluir que a via epigenética por metilação não está intrínseca na etiologia da FC. Esse resultado é particularmente relevante em uma agenda de pesquisa, para se elucidar a etiopatologia da FC em indivíduos cujo gene *CFTR* é livre de mutações conhecidamente patogênicas e na busca por novos genes ou mecanismos

epigenéticos, que possam explicar a variação fenotípica e a ausência de mutações em indivíduos com sintomas clássicos de FC.

6. Referências

ALVARES, G. A. et al. Reduced Heart Rate Variability in Social Anxiety Disorder : Associations with Gender and Symptom Severity. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, p. 1–8, 2013.

ALVES, S. P.; BUENO, D. The profile of caregivers to pediatric patients with cystic fibrosis. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 23, n. 5, p. 1451–1457, 2018.

AMERICAN THORACIC SOCIETY. Guidelines for the Six-Minute Walk Test. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 166, p. 111–117, 2002. Disponível em: <<http://www.uptodate.com/contents/six-minute-walk-test>>.

ANDRADE, E. D. F. et al. Avaliação evolutiva da espirometria na fibrose cística. **Jornal de Pneumologia**, v. 27, n. 3, p. 130–136, 2005.

ANVISA. **Medicamentos destinados a doença raras**. Disponível em: <[file:///C:/Users/fisio/Downloads/Medicamentos registrados para doenças raras_2020.pdf](file:///C:/Users/fisio/Downloads/Medicamentos%20registrados%20para%20doen%C7as%20raras_2020.pdf)>.

ASSIS, L. De et al. Reference Values for the Six-Minute Walk Test in Healthy Children and Adolescents : a Systematic Review. **Braz J Cardiovasc Surg**, v. 31, n. 5, p. 381–388, 2016.

ATHANAZIO, R. A. et al. diretrizes brasil de diag e trat da FC. v. 43, n. 3, p. 219–245, 2017.

AUSTRALIAN; CYSTIC FIBROSIS. Australian Cystic Fibrosis Data Registry -Annual Report. **Monash University**, p. 1–56, 2020.

BERGERON, C. CANTIN, A. Pathophysiology of cystic fibrosis lung disease. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine Downloaded**, v. 40, n. 6, p. 715–726, 2019.

BERNARDINO, A. L. F. et al. Molecular analysis in Brazilian cystic fibrosis patients reveals five novel mutations. **Genetic Testing**, v. 4, n. 1, p. 69–74, 2000.

BOHANNON, R. W.; CROUCH, R. **Minimal clinically important difference for change in 6-minute walk test distance of adults with pathology: a systematic review** *Journal of Evaluation in Clinical Practice* Blackwell Publishing Ltd, , 1 abr. 2017. .

BONFIM, B. S. et al. Treatment adherence among children and adolescents in a cystic fibrosis reference center. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 38, p. 1–8, 2020.

BOUVET, G. F. et al. DNA methylation regulates RGS2-induced S100A12 expression in airway epithelial cells. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 59, n. 5, p. 601–613, 1 nov. 2018.

BRAGONZI, A. et al. Inflammation and host-pathogen interaction: Cause and consequence in cystic fibrosis lung disease. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 17, n. 2, p. S40–S45, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jcf.2017.10.004>>.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE CIÊNCIA, T. e insumos estratégicos. **Diretrizes Metodológicas** Elaboração de revisão sistemática e metaanálise de estudos observacionais

comparativos sobre fatores de risco e prognóstico. [s.l: s.n.].

BRASIL. **Triagem neonatal biológica: manual técnico.** [s.l: s.n.]

CANTIN, A. M. et al. Inflammation in cystic fibrosis lung disease: Pathogenesis and therapy. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 14, n. 4, p. 419–430, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2015.03.003>>.

CHAKR, V. C. B. G. et al. Análise descritiva dos pacientes com fibrose cística em acompanhamento na Unidade de Pneumologia Pediátrica de um hospital universitário em Porto Alegre-RS. **Scientia Medica**, v. 16, n. 3, p. 103–108, 2006.

CHEN, Y. et al. Genome-wide DNA methylation profiling shows a distinct epigenetic signature associated with lung macrophages in cystic fibrosis. **Clinical Epigenetics**, v. 10, n. 1, 10 dez. 2018.

CHEROBIN, I.; ZIEGLER, B.; DALCIN, P. Evaluation of functional capacity and level of physical activity in adolescent and adult patients with cystic fibrosis. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 21, n. 2, p. 172, 2016.

CONWAY, S. et al. European Cystic Fibrosis Society Standards of Care: Framework for the Cystic Fibrosis Centre. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 13, n. January, p. 3–22, 2014.

COURTNEY M. WHEATLEY, BRAD W. WILKINS, and E. M. S. “Exercise is medicine in Cystic Fibrosis.” **Exerc. Sport Sci. Rev**, v. 39, n. 3, p. 155–160, 2011.

CUTTING, G. R. Modifier genes in Mendelian disorders: the example of cystic fibrosis. **Ann N Y Acad Sci.**, v. Author man, p. 57–69, 2010.

CUTTING, G. R. Cystic fibrosis genetics: from molecular understanding to clinical application. **Nat Rev Genet**, v. 16, n. 1, p. 45–56, 2014.

CYSTIC FIBROSIS CANADA. 2018 Annual Data Report. p. 1–30, 2018. Disponível em: <https://www.cysticfibrosis.ca/de/action/download?downloads=14&file=dl_en-annual-report-web.pdf>.

DANIELLE X. MORALES, SARA E. GRINESKI, and T. W. C. The Epithelial Sodium Channel (ENaC) as a Therapeutic Target for Cystic Fibrosis Ren-Jay. **Curr Opin Pharmacol.**, v. 17643, p. 152–165, 2018.

DAVIES, J. C. E. W. F. W. A. A. B. Cystic Fibrosis. **BMJ**, v. 335, p. 1255–1259, 2007.

DE BOECK, K.; AMARAL, M. D. Progress in therapies for cystic fibrosis. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 4, n. 8, p. 662–674, 2016. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(16\)00023-0](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(16)00023-0)>.

DENAMUR, E.; CHEHAB, F. F. Methylation Status of CpG Sites in the Mouse and Human CFTR Promoters. **DNA and Cell Biology**, v. 14, n. 9, p. 811–815, 1995.

DRUMM, M. L.; ZIADY, A. G.; DAVIS, P. B. Genetic variation and clinical heterogeneity in cystic fibrosis. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 7, p. 267–282, 2012.

EBENEZER, D. L. et al. Pseudomonas aeruginosa stimulates nuclear sphingosine-1-phosphate generation and epigenetic regulation of lung inflammatory injury. **Thorax**, v. 74, n. 6, p. 579–591, 2019.

ELBORN, J. S. Cystic fibrosis. **The Lancet**, v. 388, n. 10059, p. 2519–2531, 2016.

FARRELL, P. M. et al. Guidelines for Diagnosis of Cystic Fibrosis in Newborns through Older Adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report. **Journal of Pediatrics**, v. 153, n. 2, 2008.

FLETCHER, G. F. et al. Exercise Standards for Testing and Training. **Circulation**, v. 6083, n. 71, p. 1694–1740, 2001.

GENTZSCH, M.; MALL, M. A. Ion Channel Modulators in Cystic Fibrosis. **Chest**, v. 154, n. 2, p. 383–393, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chest.2018.04.036>>.

GIERISCH JM, BEADLES C, SHAPIRO A, MCDUFFIE JR, CUNNINGHAM N, BRADFORD D, STRAUSS J, CALLAHAN M, CHEN M, HEMMINGER A, KOSINSKI A, NAGI A, W. J. J. Health Disparities in Quality Indicators of Healthcare Among Adults with Mental Illness. **Department of Veterans Affairs Health Services Research & Development Service, Evidence-based Synthesis Program**, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK299080/pdf/Bookshelf_NBK299080.pdf>.

GODINHO, N. M. O. **Genética De Populações Latino-Americanas Genética De Populações Latino-Americanas**. 2008. Universidade de Brasília - UNB, 2008.

GONÇALVES, S. **Caracterização Molecular da Fibrose Cística em Santa Catarina: Identificação da Frequência das Mutações CFTR e Determinação do Perfil Mutacional da População Catarinense** Tese. 2017. 2017.

GRAHAM, B. L. et al. Standardization of spirometry 2019 update an official American Thoracic Society and European Respiratory Society technical statement. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 200, n. 8, p. E70–E88, 2019.

HASIAK, A.; VICENTE, L.; FERREIRA, R. Tendências de mortalidade relacionada à fibrose cística no Brasil no período de 1999 a 2017 : um estudo de causas múltiplas de morte. **J Bras Pneumol**. **2021;47(2):e20200166**, v. 47, n. 2, p. 1–8, 2021.

HEINZMANN-FILHO, J. P. et al. Normal values for respiratory muscle strength in healthy preschoolers and school children. **Respiratory Medicine**, v. 106, n. 12, p. 1639–1646, 2012.

HEINZMANN-FILHO, J. P. et al. Variação na função pulmonar está associada com piores desfechos clínicos em indivíduos com fibrose cística. **J. Bras. Pneumol.**, v. 41, n. 6, p. 509–515, 2015.

HERCEG, Z.; VAISSIÈRE, T. Epigenetic mechanisms and cancer an interface between the environment and the genome. **Epigenetics**, v. 6, n. 7, p. 804–819, 2011.

HWANG, T. C. et al. Structural mechanisms of CFTR function and dysfunction. **Journal of General Physiology**, v. 150, n. 4, p. 539–570, 2018.

JUNDI, K.; GREENE, C. M. Transcription of interleukin-8: How altered regulation can affect cystic fibrosis lung disease. **Biomolecules**, v. 5, n. 3, p. 1386–1398, 2015.

KAYANI, K.; MOHAMMED, R.; MOHIADDIN, H. Cystic fibrosis-related diabetes. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, n. FEB, p. 1–11, 2018.

KOH, J.; SFERRA, T. J.; COLLINS, F. S. Characterization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator promoter region. Chromatin context and tissue-specificity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 268, n. 21, p. 15912–15921, 1993.

KONSTAN MW; BERGER M. Current understanding of the inflammatory Process in Cystic Fibrosis: onset and Etiology. **Pediatric Pulmonology**, v. 24, n. 2, p. 137–142, 1997.

- KUBIAK, M.; LEWANDOWSKA, M. A. **Can chromatin conformation technologies bring light into human molecular pathology?** *Acta Biochimica Polonica* Polskie Towarzystwo Biochemiczne, , 2015. .
- LAMMERS, A. E. et al. The 6-minute walk test : normal values for children of 4 – 11 years of age. **464 Arch Dis Child**, v. 93, p. 464–469, 2008.
- LEE, A. L. et al. Pulmonary rehabilitation in individuals with non-cystic fibrosis bronchiectasis - a systematic review. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 98, n. 4, p. 774–782, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.apmr.2016.05.017>>.
- LEGRYS, V. A. Newborn screening for cystic fibrosis. **laboratory medicine**, v. 33, n. 3, p. 212–213, 2002.
- LIPUMA, J. J. The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, n. 2, p. 299–323, 2010.
- LIU, F. et al. Molecular Structure of the Human CFTR Ion Channel. **Cell**, v. 169, n. 1, p. 85- 95.e8, 2017.
- MAGALHÃES, M. et al. DNA methylation at modifier genes of lung disease severity is altered in cystic fibrosis. **Clinical Epigenetics**, v. 9, n. 1, 14 fev. 2017.
- MAGALHÃES, M. et al. Dynamic changes of DNA methylation and lung disease in cystic fibrosis: Lessons from a monogenic disease. **Epigenomics**, v. 10, n. 8, p. 1131–1145, 1 ago. 2018.
- MARTIN, B. et al. Comparison of the US and Australian cystic fibrosis registries: The impact of newborn screening. **Pediatrics**, v. 129, n. 2, p. 348–355, 2012.
- MCCARTHY, V. A.; HARRIS, A. The CFTR gene and regulation of its expression. **Pediatric Pulmonology**, v. 40, n. 1, p. 1–8, 2005.
- MCSHANE, P. J. et al. Non – Cystic Fibrosis Bronchiectasis: Concise Clinical Review. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 188, n. 6, p. 647–656, 2013.
- MORRIS-ROSENDAHL, D. J. et al. Whole-Gene Sequencing of CFTR Reveals a High Prevalence of the Intronic Variant c.3874-4522AG in Cystic Fibrosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 201, n. 11, p. 1438–1441, 2020.
- PENAFORTES, J. T. S. et al. Relationship between body balance, lung function, nutritional status and functional capacity in adults with cystic fibrosis. **Brazilian Journal of Physical Therapy**, v. 17, n. 5, p. 450–457, 2013.
- PORTELA, A.; ESTELLER, M. Epigenetic modifications and human disease. **Nature Biotechnology**, v. 28, n. 10, p. 1057–1068, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nbt.1685>>.
- PRIESNITZ, C. V. et al. Reference values for the 6-min walk test in healthy children aged 6-12 years. **Pediatric Pulmonology**, v. 44, n. 12, p. 1174–1179, 2009.
- QUINTON, P. M. Physiological basis of cystic fibrosis: A historical perspective. **Physiological Reviews**, v. 79, n. 1 SUPPL. 1, 1999.
- RAMSEY, B. W. et al. Future directions in early cystic fibrosis lung disease research: An NHLBI workshop report. In: American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 8, **Anais...**15 abr. 2012.
-

RATJEN, F. A. Cystic fibrosis: Pathogenesis and future treatment strategies. **Respiratory Care**, v. 54, n. 5, p. 595–602, 2009.

REBRAFC. Relatório Anual do Registro Brasileiro de Fibrose Cística 2017. **Registro Brasileiro de Fibrose Cística**, p. 56, 2017.

REBRAFC. **Registro Brasileiro de Fibrose Cística**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://portalgbefc.org.br/ckfinder/userfiles/files/REBRAFC_2018.pdf>.

RIORDAN, J. R. et al. Identification of the cystic fibrosis gene: Cloning and characterization of complementary DNA. **Science**, v. 245, n. 4922, p. 1066–1073, 1989.

ROMMENS, J. M. et al. Identification and regional localization of DNA markers on chromosome 7 for the cloning of the cystic fibrosis gene. **American Journal of Human Genetics**, v. 43, n. 5, p. 645–663, 1988.

ROVEDDER, P. M. E. et al. Peripheral muscle strength is associated with lung function and functional capacity in patients with cystic fibrosis. **Physiotherapy Research International**, n. April 2018, p. 1–7, 2019.

ROWNTREE, R. K.; HARRIS, A. The phenotypic consequences of CFTR mutations. **Annals of Human Genetics**, v. 67, n. 5, p. 471–485, 2003.

SABHARWAL, S. Gastrointestinal Manifestations of Cystic Fibrosis. **Gastroenterology & Hepatology Volume**, v. 12, n. 1, p. 43–47, 2016.

SACO, T. V. et al. **Epigenetics of mucus hypersecretion in chronic respiratory diseases** *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* American Thoracic Society, , 1 mar. 2018. .

SAWICKI, G. S.; SELLERS, D. E.; ROBINSON, W. M. High treatment burden in adults with cystic fibrosis: Challenges to disease self-management. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 8, n. 2, p. 91–96, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2008.09.007>>.

SCHINDEL, CLÁUDIA SILVA; DONADIO, MÁRCIO, V. F. Efeitos de programas de exercício físico em pacientes com fibrose cística Effects of physical exercise programs in patients with cystic fibrosis. **Scientia Medica (Porto Alegre)**, v. 23, n. 51, p. 187–190, 2012.

SCOTT, M.; DE SARIO, A. DNA methylation changes in cystic fibrosis: Cause or consequence? **Clinical Genetics**, v. 98, n. 1, p. 3–9, 2020.

SERENA, C. et al. Adipose stem cells from patients with Crohn’s disease show a distinctive DNA methylation pattern. **Clinical Epigenetics**, v. 12, n. 1, 6 abr. 2020.

SIRINUPONG, N.; YANG, Z. Epigenetics in Cystic Fibrosis: Epigenetic Targeting of a Genetic Disease. **Current Drug Targets**, v. 16, n. 9, p. 976–987, 2015a.

SIRINUPONG, N.; YANG, Z. Epigenetics in Cystic Fibrosis: Epigenetic Targeting of a Genetic Disease. **Current Drug Targets**, v. 16, n. 9, p. 976–987, 2 set. 2015b.

VANDEVANTER, D. R. et al. Cystic fibrosis in young children: A review of disease manifestation, progression, and response to early treatment. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 15, n. 2, p. 147–157, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2015.09.008>>.

WELLS, G.; O’CONNELL, D.; PETERSON, J. The Newcastle–Ottawa Scale (NOS) for Assessing the Quality of Non-Randomized Studies in Meta-Analysis | Request PDF. 2000. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/261773681_The_Newcastle-

Ottawa_Scale_NOS_for_Assessing_the_Quality_of_Non-Randomized_Studies_in_Meta-Analysis>.

WILSCHANSKI, M.; DURIE, P. R. Patterns of GI disease in adulthood associated with mutations in the CFTR gene. **Gut**, v. 56, n. 8, p. 1153–1163, 2007.

YATAR, İ. et al. A comparison of respiratory and peripheral muscle strength, functional exercise capacity, activities of daily living and physical fitness in patients with cystic fibrosis and healthy subjects. **Research in Developmental Disabilities**, v. 45–46, p. 147–156, 2015.

ZOLIN, A. et al. ECFSPR Annual Report 2017. **European Cystic Fibrosis Society**, p. 1–149, 2017. Disponível em: <https://www.ecfs.eu/sites/default/files/general-content-images/working-groups/ecfs-patient-registry/ECFSPR_Report2017_v1.3.pdf>.

CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PULMONAR E DO TESTE DE CAMINHADA DE 6 MINUTOS EM INDIVÍDUOS COM FIBROSE CÍSTICA*

*Será submetido para o Periódico Jornal Brasileiro De Pneumologia

RESUMO

Objetivo: analisar a função pulmonar e o desempenho no teste de caminhada de seis minutos em crianças com Fibrose Cística (FC) e correlacionar as variáveis clínicas. **Métodos:** é um estudo transversal, analítico, realizado em um centro de referência em FC, Goiânia, Goiás. Foram selecionadas as crianças com diagnóstico de FC confirmado por dois testes do suor maior ou igual a 60 mmol/l e/ou duas mutações patogênicas da FC e sem sinais de agudização dos sintomas pulmonares; e os pais ou responsáveis concordarem em participar da pesquisa. **Resultados:** Um total de 20 crianças foram avaliadas, com a média de idade 10,4 anos, a maioria eram do sexo feminino (70%), distância percorrida 489,81 no TC6min. A média do VEF1: 73,76%, CVF: 81,88%. **Conclusão:** Este estudo demonstrou que há uma diferença de distância percorrida no TC6 nos indivíduos com mutação em homozigotos F508del, comparados aos e os Heterozigotos F508del e outras mutações. E que as variáveis clínicas não apresentaram correlação significativa com o TC6 min.

ABSTRACT

Objective: to analyze lung function and performance on the six-minute walk test in children with Cystic Fibrosis (CF) and to correlate clinical variables. **Methods:** this is a cross-sectional, analytical study carried out at a reference center in CF, Goiânia, Goiás. Children with a diagnosis of CF confirmed by two sweat tests greater than or equal to 60 mmol/l and/or two pathogenic mutations of the CF were selected. CF and no signs of worsening of pulmonary symptoms; and the parents or guardians agree to participate in the research. **Results:** A total of 20 children were evaluated with a mean age of 10.4 years, most were female (70%), distance covered 489.81 on the 6MWT. Mean FEV1: 73.76%, FVC: 81.88%. **Conclusion:** This study demonstrated that there is a difference in the distance covered in the 6MWT in individuals with mutation in F508del homozygotes compared to F508del heterozygotes and other mutations. And that the clinical variables did not present a significant correlation with the 6MWT min.

INTRODUÇÃO

A Fibrose Cística (FC) é uma doença autossômica recessiva. As mutações no gene CFTR causam o comprometimento na proteína CFTR. Essa proteína, quando ausente ou com comprometimento funcional, acarreta alterações nas as concentrações de cloreto e sódio e bicarbonato (1). Essa modificação das concentrações iônica, associada à reabsorção de água, resulta com secreções espessas, obstrução de ductos e inflamações. Como consequência, observa-se o acometimento de múltiplos sistemas com a tríade clássica da FC, que é caracterizada pela doença pulmonar crônica, a insuficiência pancreática e as altas concentrações de cloreto no suor (2,3).

A doença pulmonar progressiva da FC está associada a exarcebações pulmonares, com colonização bacteriana crônica e inflamação. Outros fatores relacionados à piora pulmonar são: redução da capacidade de exercício e baixos níveis de atividade física (4). Um número elevado de exarcebações pulmonares estão associados ao aumento da morbidade e mortalidade na FC e interfere na capacidade de atividades dos portadores da doença. Portanto, testes para mensuração da capacidade cardiopulmonar são importantes ferramentas de avaliação e quantificação da tolerância ao exercício e capacidade funcional. Já foi demonstrado que menor capacidade de exercício está associado a um maior risco de hospitalização em crianças e adolescentes com FC (5,6).

O teste de caminhada dos seis minutos (TC 6min) é uma ferramenta de avaliação clínica utilizada em doenças pulmonares, assim como na Fibrose Cística, por ser bem tolerado pelos indivíduos e reproduz as atividades de vida diária dos indivíduos. É um teste submáximo, utilizado como avaliação da capacidade de exercício, simples quanto à aplicabilidade e serve como elemento complementar para a mensuração da capacidade de exercício e progressão da disfunção pulmonar (7).

Portanto, o objetivo desse estudo foi analisar a função pulmonar e o desempenho no teste de caminhada de seis minutos em crianças com Fibrose Cística (FC) e correlacionar as variáveis clínicas.

MATERIAL E MÉTODO

Trata-se de um estudo transversal prospectivo analítico. O estudo foi realizado em um centro de referência em FC em Goiânia, Goiás, no período de dezembro de 2019 a março de 2020, sendo suspensas as avaliações devido ao início da pandemia do Covid-19. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Goiás e está registrado sob o número do parecer 3.256.001/2019.

Os sujeitos da pesquisa foram crianças e adolescentes diagnóstico de FC, com os seguintes critérios de inclusão: diagnóstico de FC confirmado por dois testes do suor maior ou igual a 60 mmol/l e/ou duas mutações patogênicas da FC e sem sinais de agudização dos sintomas pulmonares; e os pais ou responsáveis concordarem em participar da pesquisa. Critérios de exclusão: indivíduos em agudização da doença no momento da avaliação clínica.

Foram coletados pela equipe médica, por meio de uma ficha de registro clínico, os seguintes dados dos indivíduos: sociodemográficos (idade-anos, sexo e etnia), clínicos (mutações, insuficiência pancreática) e nutricionais (peso-Kg, Índice de Massa Corporal - IMC - Kg/m²). Para análise da função pulmonar, foi realizada espirometria e foram coletadas

as variáveis: Volume Expiratório Forçado em 1 segundo (VEF1), Capacidade Vital Forçada (CVF) e a relação entre VEF1/CVF. As recomendações estavam em consonância com a *American Thoracic Society* (8). Após essa avaliação inicial e a liberação pela equipe médica, foi realizado o teste de caminhada de 6 minutos, executado no mesmo dia da consulta ambulatorial.

O teste de caminhada de 6 min. (TC 6 min) foi realizado de acordo com as diretrizes da *American Thoracic Society* (9) e os dados foram coletados em uma ficha padrão utilizada no Ambulatório de Fisioterapia do hospital. As variáveis mensuradas durante o teste foram: frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), pressão arterial, saturação periférica de oxigênio (SpO₂), Escala de Borg – para percepção de dispnéia. Os participantes eram orientados a caminharem o mais rápido possível em um corredor de 30 metros por seis minutos, a cada minuto era informado do tempo restante e estimulada verbalmente. As voltas eram totalizadas em metros ao final do teste. Foram coletadas as variáveis antes do início do teste, ao final do teste e após descanso de cinco minutos. Foi calculado para cada participante a distância predita de acordo com idade, altura e peso com o cálculo para a distância, baseado no estudo brasileiro (TC 6min = $145,343 + [11,78 \times \text{Idade}(\text{anos})] + [292,22 \times \text{Altura}(\text{metros})] + [0,611 \times (\text{FCFinal}-\text{FCInicial})] - [2,684 \times \text{Peso}(\text{Kg})]$) (10).

Na organização e análise dos dados, foi utilizado o programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* - SPSS (versão 23.0). Inicialmente foi realizado o teste de normalidade Shapiro-Wilk, para as variáveis quantitativas. Os dados foram analisados em termos descritivos, com a finalidade de caracterização, sendo para as variáveis contínuas o cálculo da média e desvio padrão; já as variáveis categóricas foram analisadas quanto à frequência e porcentagem. Teste t para comparação das médias. O teste de correlação de Pearson, para as correlações o valor de r -entre 0,7 e 1 foi considerada correlação forte, 0,31 a 0,69 moderada e 0 a 0,30 correlação fraca. Adotou-se como nível de significância estatística $p < 0,05$.

RESULTADOS

Participaram dessa pesquisa 20 indivíduos com FC, que atenderam aos critérios de elegibilidade. Duas indivíduos foram excluídas porque no momento da avaliação inicial estavam com sinais de agudização pulmonar e um paciente foi excluído por não ter realizado o TC 6min. Quanto às variáveis físicas e clínicas, observou-se que a maioria da amostra foi do sexo feminino (70%), com idade média de 10,4, com mínimo de 5 anos e máximo de 18 anos e as demais variáveis foram demonstradas na tabela 1.

Tabela1: Caracterização da amostra (n= 20)

Dados dos participantes da pesquisa	Valores	
Sexo -f (%)		
Feminino	14	(70%)
Masculino	6	(30%)
Idade (em anos) Méd (DP)		
	10,4	(±3,68)
Cor/etnia – f (%)		
Branco	12	(63,2%)
Pardo	6	(31,6%)
Outros	1	(5,3%)
Índice de Massa Corporal (IMC)		
VEF1	73,76	(±21,01)
CVF	81,88	(±17,07)
VEF1/CVF	82,75	(±11,70)
TC 6 min (metros) Méd (DP)		
	489,81	(±50,78)
Diabetes		
	1	(5%)
Shwachman-Kulczyck (SKY)		
	85	(±14,14)

Fonte: elaborado pela autora

Conforme tabela 2, foi encontrada homogeneidade das variáveis clínicas entre os sexos, não havendo diferença entre os sexos quanto às variáveis analisadas, exceto em VEF1, na qual há uma com diferença estatisticamente significativa entre os sexos, sendo que, o sexo masculino apresentou um valor maior que o feminino.

Tabela 2: Comparação das variáveis clínicas segundo o sexo

	Masculino (n=6)	Feminino (n=14)	Valor de p*
Distância(m)	483,97 (±26,54)	492,31 (±58,96)	0,48
Idade(anos)	9,50 (±3,61)	10,79 (±3,76)	0,10
IMC	19,01 (±4,19)	16,32 (±2,72)	0,10
VEF1	87,00 (±6,16)	68,25 (±22,70)	0,02
CVF	91,40 (±7,43)	77,92 (±18,59)	0,14
VEF1/CVF	83,80 (±6,53)	82,27 (±13,69)	0,81

Teste T para amostras independentes. *Valor de $p \leq 0,05$

Fonte: elaborado pela autora

Quando comparadas as médias distância percorrida em relação às classificações das mutações, os indivíduos com mutações F508del em heterozigose percorreram 55,4 metros (valor $p=0,04$) a menos do que os indivíduos em Homozigose para F508del e outras mutações.

Ao analisar as distribuições dos alelos, observaram-se as seguintes mutações: seis crianças são F508del em Homozigose, nove indivíduos são F508del em heterozigose e as outras mutações em cinco participantes. Ao analisar as variáveis clínicas de acordo com a distribuição das mutações, não ocorreram diferença entre as variáveis, exceto a distância ($p < 0,05$) (tabela 3). Quando comparadas as médias distância percorrida em relação às classificações das mutações, os indivíduos com mutações F508del em heterozigose e outras mutações percorreram uma distância menor (valor $p = 0,02$) que os indivíduos em Homozigose para F508del, confirmado pelo teste de *post hoc de Duncan*.

Tabela 3: Comparação entre as médias de acordo com a classificação das mutações

		N	Média	DP	Valor de p
Idade(anos)	Homo F508del	6	10,50	3,93	p=0,10
	Hetero F508del	9	11,89	3,51	
	Outras Mutações	5	7,60	2,30	
IMC	Homo F508del	6	15,97	2,23	p=0,50
	Hetero F508del	9	18,08	3,77	
	Outras Mutações	5	16,79	3,86	
Peso (Kg)	Homo F508del	6	30,42	12,20	p=0,23
	Hetero F508del	9	38,26	12,76	
	Outras Mutações	5	27,58	8,87	
VEF1	Homo F508del	5	69,00	24,66	p=0,80
	Hetero F508del	8	77,25	19,03	
	Outras Mutações	4	72,75	25,02	
CVF	Homo F508del	5	81,20	21,15	p=0,79
	Hetero F508del	8	84,63	17,04	
	Outras Mutações	4	77,25	15,19	
VEF1/CVF	Homo F508del	5	77,60	8,64	P=0,37
	Hetero F508del	7	82,86	6,81	
	Outras Mutações	4	89,00	19,90	
Distância(m)	Homo F508del	6	530,87	45,34	P=0,04*
	Hetero F508del	9	475,47	35,65	
	Outras Mutações	5	466,36	58,82	

ANOVA de 1 via. *Valor de $p \leq 0,05$

Fonte: elaborado pela autora

Quando realizada a comparação entre as médias das distâncias percorridas com a de crianças, observou-se que a média da distância da amostra é diferente da média da distância percorrida por crianças saudáveis na mesma faixa etária (10). E a média da distância percorrida pelos indivíduos com FC foi de 489,81 ($\pm 50,78$) e a média da distância esperada, de acordo, como a idade, altura e o peso de cada participante, seria 588,70 ($\pm 71,14$). A porcentagem da distância percorrida pelos participantes foi 84,5% ($\pm 11,11$).

Ao correlacionar as variáveis clínicas e a distância percorrida, ocorreu uma correlação forte entre idade e distância esperada ($r:0,83$; $p < 0,01$). Entretanto, as demais correlações entre as variáveis clínicas com o TC6 min foram fracas. Em relação aos sinais vitais coletados durante a realização do TC 6min, ocorreu um aumento dos valores pré e pós teste nas variáveis de FC ($z = -5,27$; $p < 0,05$) e Escala de Borg ($z = -3,3$; $p < 0,05$), e não ocorreu alterações significativas quanto à saturação periférica ($z = 0,97$; $p = 0,34$).

Ao analisar as mutações dos indivíduos com FC do estudo, a mutação em heterozigose F508del/A349P não há descrição no banco CFTR2 (11). Ao analisar de maneira isolada, a distância percorrida no TC6 min foi 72% do previsto, com VEF1: 68%, CVF:87% e Shwachman-Kulczck: 80.

DISCUSSÃO

Os resultados desse estudo demonstram que há diferenças entre distâncias percorridas pelos indivíduos com mutações F508del em heterozigose e outras mutações, quando comparados aos indivíduos homozigotos. Quando analisado o segundo alelo dos indivíduos heterozigotos desse estudo, as mutações foram das classes I e II, como o R553X, G542, S4X, R1162X e R1066C e os indivíduos com outras mutações homozigoto para S4X e homozigoto para G542X, consideradas mutações severas. As mutações I, II, III estão associadas com as formas clínicas mais severas da FC, que resultam em perda completa da função dos canais de cloreto ou ausência da proteína, enquanto as mutações IV, V e VI acarretam manifestações clínicas mais leves, pois estão associadas à alteração na condução ou na redução da síntese proteica (12).

Os dados clínicos como IMC e os valores pulmonares demonstram que os indivíduos analisados apresentam valores de IMC como eutróficos ou baixo risco nutricional e, quanto à função pulmonar, alterações leves a moderada. Isso é corroborado pela média dos escores clínicos de Shwachman-Kulczck, que é amplamente empregado como preditivo de gravidade, e neste estudo foi sendo classificado como bom (pontuação: 71-85).

Quando analisada a relação direta, porém fraca, entre do VEF1 e da distância percorrida, estudos têm mostrado que o VEF1 é fundamental para avaliar a evolução e o prognóstico na fibrose cística, assim como para a detecção precoce de exacerbações pulmonares agudas(13). Indivíduos em agudização tendem a apresentar valores reduzidos de VEF1, porém, na amostra deste estudo, os valores apresentavam alterações de leve a moderada (8). Indivíduos com a FC com quadros de doença leve a moderada são capazes de manter atividade física pois, além do VEF1, outros fatores determinam a capacidade de realizar exercícios físicos, tais como o estado nutricional, a massa muscular, o condicionamento aeróbico e fatores emocionais (14). O percentual do VEF1, segundo o REBRAAF, apresenta uma média de 72,71%, reduzindo com o avanço da idade, devido à perda funcional (15).

As alterações apresentadas na frequência cardíaca, no repouso e após o teste, mostraram variações significativas, demonstrando o esforço durante a caminhada, assim como na escala de Borg, em repouso e após o teste, isso demonstra uma intolerância aos esforços e uma baixa capacidade funcional. Porém, quando comparada a frequência cardíaca submáxima de crianças e adolescentes saudáveis, a média apresentada neste estudo foi menor. Sabe-se que em adultos, sem comprometimento pulmonar, ocorre uma de redução de 8% a 10% por década da capacidade de exercício (16). Conjuntamente devido à doença, o comprometimento da função pulmonar, a desnutrição e a fraqueza muscular são descritos como de grande importância na determinação do desempenho físico de indivíduos com FC (17). Portanto, os sintomas relacionados com a progressão da doença acarretam redução dos esforços físicos, com aumento das restrições nas atividades de vida diárias e intolerância progressiva aos esforços, provocando uma redução na qualidade de vida desses indivíduos (18).

Ao comparar as médias de distâncias percorridas no teste de caminhada de 6 minutos, nas crianças com Fibrose Cística é menor em relação aos indivíduos saudáveis com a mesma média de idade. Com base em uma revisão, os achados demonstram que uma mudança de 14 a 30,5 metros já são clinicamente importantes em grupos com alterações pulmonares, em adultos (11), porém nenhuma diferença significativa está disponível para crianças e adolescentes (12).

O TC6 min é uma ferramenta importante para avaliação funcional de resposta aos exercícios, proporcionando uma análise da função cardiovascular e pulmonar, pois há uma relação entre o teste TC6 min, desfechos clínicos e gravidade da doença em indivíduos com FC (19). Fatores que limitam a capacidade física em indivíduos com fibrose cística estão bem descritos na literatura e incluem diminuição da função pulmonar, causando a hipoxemia,

redução no volume corrente e na capacidade pulmonar, a desnutrição e fraqueza muscular (20). A alteração na função muscular ocasiona redução nas atividades de vida diária e limitação na capacidade de execução de exercícios (21).

Explorar os mecanismos patogênicos da doença pulmonar precoce; melhorar a triagem e o conhecimento de novas mutações; explorar o papel da genética na patogênese da FC; definir os eventos microbiológicos na doença pulmonar precoce - a identificação de uma mutação pontual pode trazer benefícios tão importantes como aqueles trazidos pela identificação de outras mutações do gene *CFTR* (22). Apesar dos esforços, nos últimos anos, 30% dos alelos ainda precisam ser identificados (23). A descrição fenotípica dessa nova mutação ajuda no aumento do conhecimento sobre a FC.

Este estudo apresenta algumas limitações: o tamanho amostral devido à interrupção da pesquisa com o início da pandemia; não houve um grupo controle para a comparação entre as médias, um grupo controle de indivíduos saudáveis para comparação da capacidade de exercício submáxima; não ter mensurado o nível de atividade dos indivíduos.

Os participantes com fibrose cística da presente pesquisa apresentaram distância percorrida no TC6 menor que a referência para idade. Houve diferença na distância percorrida do TC6 entre os tipos de mutação, sendo o homocigoto F508del andou maior distância que o heterocigoto F508del e outras mutações e que as variáveis clínicas não apresentaram correlação significativa com o TC6 min.

REFERÊNCIAS

1. Quinton PM. Physiological basis of cystic fibrosis: A historical perspective. *Physiol Rev.* 1999;79(1 SUPPL. 1).
 2. Scott M, De Sario A. DNA methylation changes in cystic fibrosis: Cause or consequence? *Clin Genet.* 2020;98(1):3–9.
 3. Penafortes JTS, Guimarães FS, Moço VJR, Almeida VP, Menezes SLS, Lopes AJ. Relationship between body balance, lung function, nutritional status and functional capacity in adults with cystic fibrosis. *Brazilian J Phys Ther.* 2013;17(5):450–7.
 4. Mcshane PJ, Naureckas ET, Tino G, Streck ME. Non – Cystic Fibrosis Bronchiectasis: Concise Clinical Review. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;188(6):647–56.
 5. Lee AL, Hill CJ, McDonald CF, Anne E. Pulmonary rehabilitation in individuals with non-cystic fibrosis bronchiectasis - a systematic review. *Arch Phys Med Rehabil [Internet].* 2016;98(4):774–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apmr.2016.05.017>
 6. Heinzmann-filho JP, Pinto LA, José P, Marostica C, Vinícius M, Donadio F. Variação na função pulmonar está associada com piores desfechos clínicos em indivíduos com fibrose cística. *J Bras Pneumol.* 2015;41(6):509–15.
-

7. Serena C, Millan M, Ejarque M, Saera-Vila A, Maymó-Masip E, Núñez-Roa C, et al. Adipose stem cells from patients with Crohn's disease show a distinctive DNA methylation pattern. *Clin Epigenetics*. 2020 Apr 6;12(1).
 8. Graham BL, Steenbruggen I, Barjaktarevic IZ, Cooper BG, Hall GL, Hallstrand TS, et al. Standardization of spirometry 2019 update an official American Thoracic Society and European Respiratory Society technical statement. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019;200(8):E70–88.
 9. American Thoracic Society. Guidelines for the Six-Minute Walk Test. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2002;166:111–117. Available from: http://www.uphs.upenn.edu/bugdrug/antibiotic_manual/ntmb.pdf
 10. Priesnitz CV, Rodrigues GH, Da Silva Stumpf C, Viapiana G, Cabral CP, Stein RT, et al. Reference values for the 6-min walk test in healthy children aged 6-12 years. *Pediatr Pulmonol*. 2009;44(12):1174–9.
 11. Raynal C, Corvol H. Variant classifications, databases and genotype-phenotype correlations. *Arch Pediatr*. 2020 Feb 1;27:eS13–8.
 12. Hwang TC, Yeh JT, Zhang J, Yu YC, Yeh HI, Destefano S. Structural mechanisms of CFTR function and dysfunction. *J Gen Physiol*. 2018;150(4):539–70.
 13. Athanazio RA, Vicente L, Ferreira R, Vergara AA, Ribeiro AF, Riedi CA, et al. diretrizes brasil de diag e trat da FC. 2017;43(3):219–45.
 14. Freire ID, Abreu e Silva FA de, Araújo MÂ de. Comparação entre provas de função pulmonar, escore de Shwachman-Kulczycki e escore de Brasfield em pacientes com fibrose cística. *J Bras Pneumol*. 2008;34(5):280–7.
 15. REBRAFC. Registro Brasileiro de Fibrose Cística [Internet]. 2018. Available from: http://portalgbefc.org.br/ckfinder/userfiles/files/REBRAFC_2018.pdf
 16. Fletcher GF, Balady GJ, Amsterdam EA, Chaitman B, Eckel R, Fleg J, et al. Exercise Standards for Testing and Training. *Circulation*. 2001;6083(71):1694–740.
 17. Heinzmann-Filho JP, Vidal PCV, Jones MH, Donadio MVF. Normal values for respiratory muscle strength in healthy preschoolers and school children. *Respir Med*. 2012;106(12):1639–46.
 18. Cherobin I, Ziegler B, Dalcin P. Evaluation of functional capacity and level of physical activity in adolescent and adult patients with cystic fibrosis. *Rev Bras Atividade Física Saúde*. 2016;21(2):172.
 19. Fabíola Meister Pereira, Maria Ângela Gonçalves de Oliveira Ribeiro, Antônio Fernando Ribeiro, Adyléia Aparecida Dalbo Contrera Toro, Gabriel Hessel JDR. Desempenho funcional de pacientes com fibrose cística e indivíduos saudáveis no teste de caminhada de seis minutos. *J Bras Pneumol*. 2011;37(4):735–44.
 20. Rovedder PME, Borba GC, Anderle M, Flores J, Ziegler B, Barreto SSM, et al. Peripheral muscle strength is associated with lung function and functional capacity in patients with cystic fibrosis. *Physiother Res Int*. 2019;(April 2018):1–7.
 21. Williams CA, Saynor ZL, Tomlinson OW, Barker AR. Cystic fibrosis and physiological responses to exercise. *Expert Rev Respir Med*. 2014;8(6):751–62.
 22. Ramsey BW, Banks-Schlegel S, Accurso FJ, Boucher RC, Cutting GR, Engelhardt JF,
-

- et al. Future directions in early cystic fibrosis lung disease research: An NHLBI workshop report. In: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2012. p. 887–92.
23. Audrézet MP, Chen JM, Raguénès, Chuzhanova N, Giteau K, Le Maréchal C, et al. Genomic Rearrangements in the CFTR Gene: Extensive Allelic Heterogeneity and Diverse Mutational Mechanisms. *Hum Mutat*. 2004;23(4):343–57.
-

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Conhecimento dos aspectos estruturais do gene *CFTR*, incluindo os marcos regulatório para início e fim da transcrição e os demais elementos do gene, com as respectivas correlações entre éxons e domínios proteicos funcionais e a compreensão de como alterações e mutações no gene *CFTR*, repercutem no conhecimento sobre a fisiopatologia da Fibrose Cística. Diante da informação encontrada sobre a metilação da região promotora de *CFTR*, com um total de 58 dinucleotídeos CpG em uma região *upstream* e *downstream*, embasa-se a possibilidade de mecanismos epigenéticos na FC.

Na busca por maior conhecimento sobre o perfil dos indivíduos atendidos em um centro de referência de FC em Goiânia, os resultados desta análise mostraram uma grande heterogeneidade alélica nos indivíduos acompanhados e esse perfil alelotípico e genotípico se assemelha aos perfis descritos em alguns locais do Brasil e destoa, principalmente, dos dados em populações pouco miscigenadas. Essas peculiaridades são importantes marcadores prognósticos para tomada de decisão precoce no tratamento da FC na região de Goiânia e mesmo no Brasil. Na análise das mutações, foram encontradas três novas variantes sem descrições fenotípicas e genotípicas na literatura.

A partir do conhecimento sobre as ilhas CpG no gene *CFTR* e na análise dos indivíduos no centro de referência, foram encontrados seis indivíduos com teste genético negativo, porém apresentam diagnóstico conclusivo pelos sintomas e teste do suor positivo, ou seja, apresentam alelos selvagens. Surgiu o questionamento sobre a etiologia da FC, sendo por alguma via patogênica que independe de alelo mutado. A revisão sistemática foi o instrumento que permitiu concluir que a via epigenética por metilação não está intrínseca na etiologia da FC.

Para intensificar o conhecimento fenotípico dos indivíduos acompanhados no centro de referência e levantar dados sobre suas variáveis físicas e clínicas, foi realizado o teste de caminhada de 6 minutos como medida para avaliação da capacidade de exercício e comparado com equação preditiva para crianças normais. Verificou-se que as crianças e adolescentes com fibrose cística percorreram uma distância menor quando comparado a crianças e adolescentes saudáveis, pautando a tomada de decisão quanto à necessidade de avaliação dos indivíduos com FC com testes de esforços, orientando as prescrições de exercícios e reduzindo as restrições impostas pela doença.

Como contribuição, esse trabalho reuniu informações acerca da FC na cidade de Goiânia, já que não há muitos dados publicados sobre os indivíduos acompanhados na região Centro-Oeste. Foram identificadas três mutações sem descrições na literatura mundial e tal fato exprime a necessidade de que se realizem mais estudos epidemiológicos que analisem o perfil dos indivíduos com FC em Goiânia e regiões.

REFERÊNCIAS

- ANDERSEN DH, HODGES RG. Celiac syndrome: V. Genetics of Cystic Fibrosis of the Pancreas With a Consideration of Etiology. **Am J Dis Child.**, v.72, n. 1, p.62–80, 1946.
- ALVARES, G. A. et al. Reduced Heart Rate Variability in Social Anxiety Disorder : Associations with Gender and Symptom Severity. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, p. 1–8, 2013.
- ALVES, S. P.; BUENO, D. The profile of caregivers to pediatric patients with cystic fibrosis. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 23, n. 5, p. 1451–1457, 2018.
- AMERICAN THORACIC SOCIETY. Guidelines for the Six-Minute Walk Test. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 166, p. 111–117, 2002. Disponível em: <http://www.upts.upenn.edu/bugdrug/antibiotic_manual/ntmb.pdf>.
- ANDRADE, E. D. F. et al. Avaliação evolutiva da espirometria na fibrose cística. **Jornal de Pneumologia**, v. 27, n. 3, p. 130–136, 2005.
- ANVISA. **Medicamentos destinados a doença raras**. Disponível em: <[file:///C:/Users/fisio/Downloads/Medicamentos registrados para doenças raras_2020.pdf](file:///C:/Users/fisio/Downloads/Medicamentos%20registrados%20para%20doen%C3%A7as%20raras_2020.pdf)>.
- ASSIS, L. De et al. Reference Values for the Six-Minute Walk Test in Healthy Children and Adolescents : a Systematic Review. **Braz J Cardiovasc Surg**, v. 31, n. 5, p. 381–388, 2016.
- ATHANAZIO, R. A. et al. diretrizes brasil de diag e trat da FC. v. 43, n. 3, p. 219–245, 2017.
- AUSTRALIAN; CYSTIC FIBROSIS. Australian Cystic Fibrosis Data Registry -Annual Report. **Monash University**, p. 1–56, 2020.
- BERGERON, C. CANTIN, A. Pathophysiology of cystic fibrosis lung disease. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine Downloaded**, v. 40, n. 6, p. 715–726, 2019.
- BERNARDINO, A. L. F. et al. Molecular analysis in Brazilian cystic fibrosis patients reveals five novel mutations. **Genetic Testing**, v. 4, n. 1, p. 69–74, 2000.
- BOHANNON, R. W.; CROUCH, R. **Minimal clinically important difference for change in 6-minute walk test distance of adults with pathology: a systematic review** **Journal of Evaluation in Clinical Practice** Blackwell Publishing Ltd, , 1 abr. 2017. .
- BONFIM, B. S. et al. Treatment adherence among children and adolescents in a cystic fibrosis reference center. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 38, p. 1–8, 2020.
- BOUVET, G. F. et al. DNA methylation regulates RGS2-induced S100A12 expression in airway epithelial cells. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 59, n. 5, p. 601–613, 1 nov. 2018.
- BRAGONZI, A. et al. Inflammation and host-pathogen interaction: Cause and consequence in cystic fibrosis lung disease. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 17, n. 2, p. S40–S45, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jcf.2017.10.004>>.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE CIÊNCIA, T. e insumos estratégicos. **Diretrizes Metodológicas** Elaboração de revisão sistemática e metaanálise de estudos observacionais comparativos sobre fatores de risco e prognóstico. [s.l.: s.n.].
-

BRASIL. **Triagem neonatal biológica: manual técnico.** [s.l.: s.n.]

CANTIN, A. M. et al. Inflammation in cystic fibrosis lung disease: Pathogenesis and therapy. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 14, n. 4, p. 419–430, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2015.03.003>>.

CHAKR, V. C. B. G. et al. Análise descritiva dos pacientes com fibrose cística em acompanhamento na Unidade de Pneumologia Pediátrica de um hospital universitário em Porto Alegre-RS. **Scientia Medica**, v. 16, n. 3, p. 103–108, 2006.

CHEN, Y. et al. Genome-wide DNA methylation profiling shows a distinct epigenetic signature associated with lung macrophages in cystic fibrosis. **Clinical Epigenetics**, v. 10, n. 1, 10 dez. 2018.

CHEROBIN, I.; ZIEGLER, B.; DALCIN, P. Evaluation of functional capacity and level of physical activity in adolescent and adult patients with cystic fibrosis. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 21, n. 2, p. 172, 2016.

CONWAY, S. et al. European Cystic Fibrosis Society Standards of Care: Framework for the Cystic Fibrosis Centre. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 13, n. January, p. 3–22, 2014.

COURTNEY M. WHEATLEY, BRAD W. WILKINS, and E. M. S. “Exercise is medicine in Cystic Fibrosis.” **Exerc. Sport Sci. Rev.**, v. 39, n. 3, p. 155–160, 2011.

CUTTING, G. R. Modifier genes in Mendelian disorders: the example of cystic fibrosis. **Ann N Y Acad Sci.**, v. Author man, p. 57–69, 2010.

CUTTING, G. R. Cystic fibrosis genetics: from molecular understanding to clinical application. **Nat Rev Genet**, v. 16, n. 1, p. 45–56, 2014.

CYSTIC FIBROSIS CANADA. 2018 Annual Data Report. p. 1–30, 2018. Disponível em: <https://www.cysticfibrosis.ca/de/action/download?downloads=14&file=dl_en-annual-report-web.pdf>.

DANIELLE X. MORALES, SARA E. GRINESKI, and T. W. C. The Epithelial Sodium Channel (ENaC) as a Therapeutic Target for Cystic Fibrosis Ren-Jay. **Curr Opin Pharmacol.**, v. 17643, p. 152–165, 2018.

DAVIES, J. C. E. W. F. W. A. A. B. Cystic Fibrosis. **BMJ**, v. 335, p. 1255–1259, 2007.

DE BOECK, K.; AMARAL, M. D. Progress in therapies for cystic fibrosis. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 4, n. 8, p. 662–674, 2016. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(16\)00023-0](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(16)00023-0)>.

DENAMUR, E.; CHEHAB, F. F. Methylation Status of CpG Sites in the Mouse and Human CFTR Promoters. **DNA and Cell Biology**, v. 14, n. 9, p. 811–815, 1995.

DRUMM, M. L.; ZIADY, A. G.; DAVIS, P. B. Genetic variation and clinical heterogeneity in cystic fibrosis. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 7, p. 267–282, 2012.

EBENEZER, D. L. et al. Pseudomonas aeruginosa stimulates nuclear sphingosine-1-phosphate generation and epigenetic regulation of lung inflammatory injury. **Thorax**, v. 74, n. 6, p. 579–591, 2019.

- ELBORN, J. S. Cystic fibrosis. **The Lancet**, v. 388, n. 10059, p. 2519–2531, 2016.
- FARRELL, P. M. et al. Guidelines for Diagnosis of Cystic Fibrosis in Newborns through Older Adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report. **Journal of Pediatrics**, v. 153, n. 2, 2008.
- FLETCHER, G. F. et al. Exercise Standards for Testing and Training. **Circulation**, v. 6083, n. 71, p. 1694–1740, 2001.
- GENTZSCH, M.; MALL, M. A. Ion Channel Modulators in Cystic Fibrosis. **Chest**, v. 154, n. 2, p. 383–393, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chest.2018.04.036>>.
- GIERISCH JM, BEADLES C, SHAPIRO A, MCDUFFIE JR, CUNNINGHAM N, BRADFORD D, STRAUSS J, CALLAHAN M, CHEN M, HEMMINGER A, KOSINSKI A, NAGI A, W. J. J. Health Disparities in Quality Indicators of Healthcare Among Adults with Mental Illness. **Department of Veterans Affairs Health Services Research & Development Service, Evidence-based Synthesis Program**, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK299080/pdf/Bookshelf_NBK299080.pdf>.
- GODINHO, N. M. O. **Genética De Populações Latino-Americanas Genética De Populações Latino-Americanas**. 2008. Universidade de Brasília - UNB, 2008.
- GONÇALVES, S. **Caracterização Molecular da Fibrose Cística em Santa Catarina: Identificação da Frequência das Mutações CFTR e Determinação do Perfil Mutacional da População Catarinense Tese**. 2017. 2017.
- GRAHAM, B. L. et al. Standardization of spirometry 2019 update an official American Thoracic Society and European Respiratory Society technical statement. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 200, n. 8, p. E70–E88, 2019.
- HASIAK, A.; VICENTE, L.; FERREIRA, R. Tendências de mortalidade relacionada à fibrose cística no Brasil no período de 1999 a 2017 : um estudo de causas múltiplas de morte. **J Bras Pneumol**. 2021;**47(2):e20200166**, v. 47, n. 2, p. 1–8, 2021.
- HEINZMANN-FILHO, J. P. et al. Normal values for respiratory muscle strength in healthy preschoolers and school children. **Respiratory Medicine**, v. 106, n. 12, p. 1639–1646, 2012.
- HEINZMANN-FILHO, J. P. et al. Variação na função pulmonar está associada com piores desfechos clínicos em indivíduos com fibrose cística. **J. Bras. Pneumol.**, v. 41, n. 6, p. 509–515, 2015.
- HERCEG, Z.; VAISSIÈRE, T. Epigenetic mechanisms and cancer an interface between the environment and the genome. **Epigenetics**, v. 6, n. 7, p. 804–819, 2011.
- HWANG, T. C. et al. Structural mechanisms of CFTR function and dysfunction. **Journal of General Physiology**, v. 150, n. 4, p. 539–570, 2018.
- JUNDI, K.; GREENE, C. M. Transcription of interleukin-8: How altered regulation can affect cystic fibrosis lung disease. **Biomolecules**, v. 5, n. 3, p. 1386–1398, 2015.
- KAYANI, K.; MOHAMMED, R.; MOHIADDIN, H. Cystic fibrosis-related diabetes. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, n. FEB, p. 1–11, 2018.
- KOH, J.; SFERRA, T. J.; COLLINS, F. S. Characterization of the cystic fibrosis
-

transmembrane conductance regulator promoter region. Chromatin context and tissue-specificity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 268, n. 21, p. 15912–15921, 1993.

KONSTAN MW; BERGER M. Current understanding of the inflammatory Process in Cystic Fibrosis: onset and Etiology. **Pediatric Pulmonology**, v. 24, n. 2, p. 137–142, 1997.

KUBIAK, M.; LEWANDOWSKA, M. A. **Can chromatin conformation technologies bring light into human molecular pathology?** *Acta Biochimica Polonica* Polskie Towarzystwo Biochemiczne, , 2015. .

LAMMERS, A. E. et al. The 6-minute walk test : normal values for children of 4 – 11 years of age. **Arch Dis Child**, v. 93, p. 464–469, 2008.

LEE, A. L. et al. Pulmonary rehabilitation in individuals with non-cystic fibrosis bronchiectasis - a systematic review. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 98, n. 4, p. 774–782, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.apmr.2016.05.017>>.

LEGRYS, V. A. Newborn screening for cystic fibrosis. **laboratory medicine**, v. 33, n. 3, p. 212–213, 2002.

LIPUMA, J. J. The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, n. 2, p. 299–323, 2010.

LIU, F. et al. Molecular Structure of the Human CFTR Ion Channel. **Cell**, v. 169, n. 1, p. 85–95.e8, 2017.

MAGALHÃES, M. et al. DNA methylation at modifier genes of lung disease severity is altered in cystic fibrosis. **Clinical Epigenetics**, v. 9, n. 1, 14 fev. 2017.

MAGALHÃES, M. et al. Dynamic changes of DNA methylation and lung disease in cystic fibrosis: Lessons from a monogenic disease. **Epigenomics**, v. 10, n. 8, p. 1131–1145, 1 ago. 2018.

MARTIN, B. et al. Comparison of the US and Australian cystic fibrosis registries: The impact of newborn screening. **Pediatrics**, v. 129, n. 2, p. 348–355, 2012.

MCCARTHY, V. A.; HARRIS, A. The CFTR gene and regulation of its expression. **Pediatric Pulmonology**, v. 40, n. 1, p. 1–8, 2005.

MCSHANE, P. J. et al. Non – Cystic Fibrosis Bronchiectasis: Concise Clinical Review. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 188, n. 6, p. 647–656, 2013.

MORRIS-ROSENDAHL, D. J. et al. Whole-Gene Sequencing of CFTR Reveals a High Prevalence of the Intronic Variant c.3874-4522AG in Cystic Fibrosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 201, n. 11, p. 1438–1441, 2020.

PENAFORTES, J. T. S. et al. Relationship between body balance, lung function, nutritional status and functional capacity in adults with cystic fibrosis. **Brazilian Journal of Physical Therapy**, v. 17, n. 5, p. 450–457, 2013.

PORTELA, A.; ESTELLER, M. Epigenetic modifications and human disease. **Nature Biotechnology**, v. 28, n. 10, p. 1057–1068, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nbt.1685>>.

PRIESNITZ, C. V. et al. Reference values for the 6-min walk test in healthy children aged 6-

12 years. **Pediatric Pulmonology**, v. 44, n. 12, p. 1174–1179, 2009.

QUINTON, P. M. Physiological basis of cystic fibrosis: A historical perspective. **Physiological Reviews**, v. 79, n. 1 SUPPL. 1, 1999.

RAMSEY, B. W. et al. Future directions in early cystic fibrosis lung disease research: An NHLBI workshop report. In: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 8, **Anais...** 15 abr. 2012.

RATJEN, F. A. Cystic fibrosis: Pathogenesis and future treatment strategies. **Respiratory Care**, v. 54, n. 5, p. 595–602, 2009.

REBRAFC. Relatório Anual do Registro Brasileiro de Fibrose Cística 2017. **Registro Brasileiro de Fibrose Cística**, p. 56, 2017.

REBRAFC. **Registro Brasileiro de Fibrose Cística**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://portalgbefc.org.br/ckfinder/userfiles/files/REBRAFC_2018.pdf>.

RIORDAN, J. R. et al. Identification of the cystic fibrosis gene: Cloning and characterization of complementary DNA. **Science**, v. 245, n. 4922, p. 1066–1073, 1989.

ROMMENS, J. M. et al. Identification and regional localization of DNA markers on chromosome 7 for the cloning of the cystic fibrosis gene. **American Journal of Human Genetics**, v. 43, n. 5, p. 645–663, 1988.

ROVEDDER, P. M. E. et al. Peripheral muscle strength is associated with lung function and functional capacity in patients with cystic fibrosis. **Physiotherapy Research International**, n. April 2018, p. 1–7, 2019.

ROWNTREE, R. K.; HARRIS, A. The phenotypic consequences of CFTR mutations. **Annals of Human Genetics**, v. 67, n. 5, p. 471–485, 2003.

SABHARWAL, S. Gastrointestinal Manifestations of Cystic Fibrosis. **Gastroenterology & Hepatology Volume**, v. 12, n. 1, p. 43–47, 2016.

SACO, T. V. et al. **Epigenetics of mucus hypersecretion in chronic respiratory diseases** *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* American Thoracic Society, , 1 mar. 2018. .

SAWICKI, G. S.; SELLERS, D. E.; ROBINSON, W. M. High treatment burden in adults with cystic fibrosis: Challenges to disease self-management. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 8, n. 2, p. 91–96, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2008.09.007>>.

SCHINDEL, CLÁUDIA SILVA; DONADIO, MÁRCIO, V. F. Efeitos de programas de exercício físico em pacientes com fibrose cística Effects of physical exercise programs in patients with cystic fibrosis. **Scientia Medica (Porto Alegre)**, v. 23, n. 51, p. 187–190, 2012.

SCOTT, M.; DE SARIO, A. DNA methylation changes in cystic fibrosis: Cause or consequence? **Clinical Genetics**, v. 98, n. 1, p. 3–9, 2020.

SERENA, C. et al. Adipose stem cells from patients with Crohn's disease show a distinctive DNA methylation pattern. **Clinical Epigenetics**, v. 12, n. 1, 6 abr. 2020.

SIRINUPONG, N.; YANG, Z. Epigenetics in Cystic Fibrosis: Epigenetic Targeting of a Genetic Disease. **Current Drug Targets**, v. 16, n. 9, p. 976–987, 2015a.

SIRINUPONG, N.; YANG, Z. Epigenetics in Cystic Fibrosis: Epigenetic Targeting of a Genetic Disease. **Current Drug Targets**, v. 16, n. 9, p. 976–987, 2 set. 2015b.

VANDEVANTER, D. R. et al. Cystic fibrosis in young children: A review of disease manifestation, progression, and response to early treatment. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 15, n. 2, p. 147–157, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2015.09.008>>.

WELLS, G.; O'CONNELL, D.; PETERSON, J. The Newcastle–Ottawa Scale (NOS) for Assessing the Quality of Non-Randomized Studies in Meta-Analysis | Request PDF. 2000. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/261773681_The_Newcastle-Ottawa_Scale_NOS_for_Assessing_the_Quality_of_Non-Randomized_Studies_in_Meta-Analysis>.

WILSCHANSKI, M.; DURIE, P. R. Patterns of GI disease in adulthood associated with mutations in the CFTR gene. **Gut**, v. 56, n. 8, p. 1153–1163, 2007.

YATAR, İ. et al. A comparison of respiratory and peripheral muscle strength, functional exercise capacity, activities of daily living and physical fitness in patients with cystic fibrosis and healthy subjects. **Research in Developmental Disabilities**, v. 45–46, p. 147–156, 2015.

ZOLIN, A. et al. ECFSPR Annual Report 2017. **European Cystic Fibrosis Society**, p. 1–149, 2017. Disponível em: <https://www.ecfs.eu/sites/default/files/general-content-images/working-groups/ecfs-patient-registry/ECFSPR_Report2017_v1.3.pdf>.

ANEXOS

Anexo 3 – Normas de publicação dos respectivos periódicos

A Revista Visão Acadêmica (ISSN: 1518-8361)

1.1.1. DIRETRIZES PARA AUTORES

ATENÇÃO: Os trabalhos deverão ser enviados acompanhados de uma carta de solicitação de publicação que indique endereço, telefone e *e-mail* para contato com o(s) autor(es), bem como a classificação do trabalho (Artigo científico, Artigo de Revisão ou Resumo de dissertações ou teses). **IMPORTANTE:** O(s) autor(es) deve(rão) enviar uma **AUTORIZAÇÃO** para publicação do trabalho na íntegra, no *site* da Visão Acadêmica, pela *internet*. **Normas Gerais**
a) Os trabalhos para publicação devem ser exclusivos à **VISÃO ACADÊMICA**, ou seja, não podem ter sido publicados ou enviados para outras revistas. b) Todos os originais são submetidos ao Conselho Editorial, que reserva-se ao direito de sugerir eventuais modificações de estrutura e conteúdo do trabalho, quando acordadas com os autores. c) As opiniões expressas nos trabalhos são de inteira responsabilidade do(s) autor(es). **Normas para Apresentação de Trabalhos** Formato: os trabalhos deverão ser digitados no editor de texto *Microsoft Word*, com página configurada em tamanho A4, fonte Arial, tamanho 12, espaço 1.5, com margens superior, inferior e esquerda com 3 cm e margem direita com 2 cm, observando a ortografia oficial. O artigo deverá conter título e resumo em inglês. O trabalho deverá ser submetido online, sendo que o arquivo deverá ser salvo nos formatos doc, RTF ou PDF. **Artigos de Revisão e Resumo** deverão conter título e resumo em inglês. O trabalho deverá ser submetido online, sendo que o arquivo deverá ser salvo nos formatos doc, RTF ou PDF.

1.1.2. CONDIÇÕES PARA SUBMISSÃO

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1.1.3. DECLARAÇÃO DE DIREITO AUTORAL

Direitos Autorais para artigos publicados nesta revista são do autor, com direitos de primeira publicação para a revista. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

1.1.4. POLÍTICA DE PRIVACIDADE

Os nomes e endereços de email neste site serão usados exclusivamente para os propósitos da revista, não estando disponíveis para outros fins.

ISSN: 1518-836



PREPARO DO MANUSCRITO

Página de identificação (Title page)

Ela deve conter o título do trabalho, em inglês, o nome de todos os autores e das instituições as quais estão vinculados, endereço completo, inclusive telefone, celular e e-mail do autor correspondente e, se houver, nome do órgão financiador da pesquisa e identificação do protocolo de financiamento. O *Open Researcher and Contributor ID* (ORCID) de cada autor deverá ser fornecido. Para instruções sobre como obter o identificador ORCID, acesse <https://orcid.org/>. Devem-se incluir os locais onde o estudo foi realizado. Além disso, as informações sobre a contribuição de cada autor para o trabalho e eventuais agradecimentos devem constar aqui. Primeiro o item agradecimentos e depois, o item contribuição dos autores. Essas informações serão publicadas ao final do manuscrito, antes das referências. A página de identificação deve ser enviada como um arquivo a parte em Word, separado do manuscrito principal.

Resumo (Abstract)

Deve conter informações facilmente compreendidas, sem necessidade de recorrer-se ao texto, não excedendo 250 palavras. Deve ser feito na forma estruturada para os Artigos Originais e Meta-análises com os seguintes subtítulos: Objetivo, Métodos, Resultados e Conclusões. Quando se tratar de Artigos de Revisão e Ensaio Pictórico, o resumo não deve ser estruturado. Para Comunicações Breves, não deve ser estruturado nem exceder 100 palavras. O resumo deve ser escrito exclusivamente em inglês.

Descritores (Keywords)

Devem ser fornecidos de três a seis termos em inglês, que definam o assunto do trabalho, de acordo com os termos dos *Medical Subject Headings* (MeSH), disponíveis na homepage <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>.

Corpo do texto

Com exceção das unidades de medidas, siglas e abreviaturas devem ser evitadas ao máximo, devendo ser utilizadas apenas para termos consagrados. Estes termos estão definidos na Lista de Abreviaturas e Acrônimos aceitos sem definição. Clique aqui ([Lista de Abreviaturas e Siglas](#)). Quanto a outras abreviaturas, o termo deve aparecer ao menos três vezes para que possa ser abreviado e sempre definido na primeira vez em que for citado - por exemplo, proteína C reativa (PCR). Após a definição da abreviatura, o termo completo não deverá ser mais utilizado. Termos com palavras únicas não devem ser abreviados - por exemplo, tuberculose (TB).

Quando os autores mencionarem qualquer substância ou equipamento incomum, deverão incluir o modelo/número do catálogo, o nome da fabricante, a cidade e o país, por exemplo: "... esteira ergométrica (modelo ESD-01; FUNBEC, São Paulo, Brasil)" No caso de produtos provenientes dos EUA e Canadá, o nome do estado ou província também deverá ser citado; por exemplo: "... tTG de fígado de porco da Guiné (T5398; Sigma, St. Louis, MO, EUA)"

Tabelas, Quadros e Figuras (Ilustrações)

Tabelas, quadros e figuras devem ser apresentados em preto e branco. As ilustrações devem ser enviadas no seu arquivo digital original; tabelas e quadros em arquivos Microsoft Word e figuras em arquivos JPEG com resolução mínima de 300 dpi. Fotografias de exames, procedimentos cirúrgicos e biópsias nas quais foram utilizadas colorações e técnicas especiais serão consideradas para impressão colorida, sem custo adicional aos autores. As tabelas e figuras devem ser numeradas com algarismos arábicos, de acordo com a ordem de citação no texto.

Legendas

Legendas deverão acompanhar todas as ilustrações. No caso de figuras (gráficos, fotografias, etc.), as legendas devem ser citadas logo abaixo da imagem e submetidas em arquivo Word. No caso de tabelas e quadros, as legendas devem estar no topo. Cada legenda deve ser numerada em algarismos arábicos, correspondendo a suas citações no texto. Notas de rodapé devem ser incluídas da seguinte maneira: primeiramente, todas as abreviaturas e siglas definidas por extenso; detalhes e informações extras a respeito da ilustração com letras em sobrescrito - p.ex.,^aValores expressos em n (%) -; e sinais tipográficos em sobrescrito (exceto *) para estatística - p.ex., *p < 0,05. Eis a sequência de uso desses sinais: *, +; ++; †; §; ‡; and #.

Referências

Devem ser indicadas apenas as referências utilizadas no texto, numeradas com algarismos arábicos e na ordem em que foram citadas. Deve-se evitar a utilização dos nomes dos autores ao longo do manuscrito para referenciar partes do texto - utilize, ao invés, "um estudo" ou "um autor/um grupo de autores", por exemplo. A apresentação deve estar baseada no formato *Vancouver Style*, conforme os exemplos abaixo. Os títulos dos periódicos citados devem ser abreviados de acordo com o estilo apresentado pela *List of Journals Indexed in Index Medicus*, da *National Library of Medicine* disponibilizada no seguinte endereço: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals/>. Para todas as referências, cite todos os autores até seis. Acima desse número, cite os seis primeiros autores seguidos da expressão et al.

Exemplos:

Artigos Originais

1. Neder JA, Nery LE, Castelo A, Andreoni S, Lerario MC, Sachs AC et al. Prediction of metabolic and cardiopulmonary responses to maximum cycle ergometry: a randomized study. *Eur Respir J*. 1999;14(6):1204-13.

Resumos

2. Singer M, Lefort J, Lapa e Silva JR, Vargaftig BB. Failure of granulocyte depletion to suppress mucin production in a murine model of allergy [abstract]. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161:A863.

Capítulo de Livros

3. Queluz T, Andres G. Goodpastures syndrome. In: Roitt IM, Delves PJ, editors. *Encyclopedia of Immunology*. 1st ed. London: Academic Press; 1992. p. 621-3.

Publicações Oficiais

4. World Health Organization. Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis. *WHO/Tb*, 1994;178:1-24.

Teses

5. Martinez TY. Impacto da dispneia e parâmetros funcionais respiratórios em medidas de qualidade de vida relacionada a saúde de pacientes com fibrose pulmonar idiopática [thesis]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 1998.

Artigos Publicados na Internet

6. Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12]; 102(6): [about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

Homepages/Endereços Eletrônicos

7. Cancer-Pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>

Outras situações

Na eventualidade do surgimento de situações não contempladas por estas Instruções Redatoriais, deverão ser seguidas as recomendações contidas em *ICMJE Recommendations* no site do *International Committee of Medical Journal Editors* (última atualização dezembro de 2017). Disponível em <http://www.icmje.org/recommendations/archives/>

Material suplementar

Material suplementar poderá ser acrescentado para artigos originais e de revisão, devendo ser submetido simultaneamente ao manuscrito principal como *Supplementary File*. Poderão ser incluídos dados complementares sobre metodologia e resultados, incluindo ilustrações e vídeos, que serão analisados pelos editores e revisores. Ilustrações acrescentadas ao material suplementar deverão ser numeradas como Tabela S1, Figura S1 e assim sucessivamente.

Genetics and Molecular Biology
INSTRUCTIONS TO AUTHORS
SUBMISSION OF PAPERS

There is a publication charge for manuscripts once they are accepted. For price information, exemptions and waiver policies, please consult the journal homepage <http://www.gmb.org.br>.

1. Manuscripts must be submitted through our online submission platform hosted at: <https://mc04.manuscriptcentral.com/gmb-scielo>

The cover letter should be addressed to:

Carlos C. F. Menck and Márcia Pinheiro Margis, Editors-in-Chief, Genetics and Molecular Biology

2. For submission the following instructions must be observed:

a) The manuscript must be submitted by the Corresponding Author, identified as such in the title page of the manuscript. This is the person who will also check the page proofs, and arranges for any payment that may incur during the editorial process. The submitting author must provide an ORCID ID (Open Researcher and Contributor ID, <http://orcid.org/>), with public information available, at the time of submission by entering it in the user profile in the submission system. Multiple submissions from the same computer of manuscripts from different institutions will not be accepted.

b) Entering the following metadata is required: (i) the manuscript title, (ii) a short running title (max. 35 characters), (iii) the Abstract, and (iv) up to five keywords. All these items must be exactly the same as those figuring in the first two pages of the manuscript file.

c) Statements are required informing that the data have not been published and are not under consideration elsewhere, and that all authors have approved the submission of the manuscript. Furthermore, possible conflicts of interest (e.g. due to funding, consultancies) must also be disclosed. For statements on ethical issues in research see below (3.1.m).

d) The names of all co-authors, including institutional affiliations and e-mail addresses must be entered, as contact information for the Editorial Office. We strongly encourage co-authors to also provide their ORCID iDs at the time of submission.

e) In the referee suggestions field, up to five reviewer names can be entered by the author(s); valid e-mail contact addresses for these are required, in case they are selected by the editor. These suggestions can be made separately as preferred and opposed reviewer(s).

f) Files must be uploaded separately and identified according to file types, respecting the following sequence: main text document (title page as page 1), tables, figures and, if applicable, supplementary material. The main text file must include the title page, Abstract, References and, if applicable, figure legends, which must be typed on a separate page following the References and Internet Resources sections. Each table, figure and element containing supplementary material must be saved and uploaded in a separate file. Formats for text and tables are Word or RTF in Windows platform. Figures should be in TIFF or JPEG formats (see detailed instructions in 3.1.i).

g) Manuscripts including photos or any other identifiable data of human subjects must be accompanied by a copy of the signed consent by the individual or his/her guardian.

Failure to adhere to these guidelines can delay the handling of your contribution and manuscripts may be returned before being reviewed.

Special attention should be given to the structuring of the manuscript and correct language usage. These are important factors in the smooth running of the editorial and peer-review process, and can result in faster publication.

3. Categories of Contribution

3.1. Research Articles

Manuscripts must be written in English in double-spaced, 12-point type throughout; marked with consecutive line and page numbers, beginning with the cover page.

The following elements must start on a new page and be ordered as they are listed below:

- a) The title page must contain: a concise and informative title; the authors' names (first name at full length); the authors' institutional affiliation, including department, institution, city, state or province, and country; different affiliations indicated with superscript Arabic numbers; a short running title of up to 35 characters (including spaces); up to five key words; the corresponding author's name, full postal, postal, email address and ORCID ID.
- b) The Abstract must be a single paragraph that does not exceed 200 words and summarizes the main results and conclusions of the study. It should not contain references.
- c) The text must be as succinct as possible. Text citations: articles should be referred to by authors' surnames and date of publication; citations with two authors must include both names; in citations with three or more authors, name the first author and use et al. List two or more references in the same citation in chronological order, separated by semi-colons. When two or more works in a citation were published in the same year, list them alphabetically by the first author surname. For two or more works by the same author(s) in a citation, list them chronologically, with the years separated by commas. (Example: Freire-Maia et al., 1966a, 1966b, 2000). Only articles that are published or in press should be cited. In the case of personal communications or unpublished results, all contributors must be listed by initials and last name (et al. should not be used). Numbers: In the text, numbers nine or less must be written out except as part of a date, a fraction or decimal, a percentage, or a unit of measurement. Use Arabic numerals for numbers larger than nine. Binomial Names: Latin names of genera, species and infraspecific taxa must be printed in italics; names of orders and families should appear in the Title and also when first mentioned in the text. URLs for programs, data or other sources should be listed in the Internet Resources Section, immediately following the References Section, not in the text.

The text includes the following elements:

Introduction - Description of the background that led to the study.

Material (or Subjects) and Methods - Details relevant to the conduct of the study. Statistical methods should be explained at the end of this section.

Results - Undue repetition in text and tables should be avoided. Statistical analyses should be presented as complete as possible, i.e. not only P-values should be shown, but also all other test variables required for full appreciation of the results by the reviewers and readers. Comments on relevance of results are appropriate but broader discussion should be part of the Discussion section.

Discussion - The findings of the study should be placed in context of relevant published data. Ideas presented in other publications should not be discussed solely to make an exhaustive presentation. Some manuscripts may require different formats appropriate to their content.

d) The Acknowledgments must be a single paragraph that immediately follows the discussion and includes references to grant support.

e) Conflict of Interest: Any possible conflict of interest must be disclosed here. If there is none, please state: The authors declare that there is no conflict of interest that could be perceived as prejudicial to the impartiality of the reported research.

f) Authors Contributions: The contributions of each author must be specified here; identify authors by their initials. The style of this section may be as follows:

author initials> conceived and the study, <author initials> conducted the experiments (detail if necessary), <author initials> analyzed the data, <author initials> wrote the manuscript, <author initials> (other contributions if applicable), all authors read and approved the final version.

In case of doubts concerning contribution definitions, we suggest to consult the CRediT taxonomy at <https://casrai.org/credit>.

g) The References Section: References must be ordered alphabetically by the first author surname; references with the same first author should be ordered as follows: first, as single author in chronological order; next, with only one more co-author in alphabetical order by the second author; and finally followed by references with more than two co-authors, in chronological order, independent of the second author surnames. In references with more than 10 authors only the first ten should be listed, followed by et al. Use standard abbreviations for journal titles as suggested by NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/journals/>).

Only articles that are published or in press should be included in this section. Works submitted for publication but not yet accepted, personal communications and unpublished data must be cited within the text. "Personal communication" refers to information obtained from individuals other than the authors of the manuscript being submitted; "unpublished data" refers to data produced by at least one of the authors of the manuscript under consideration. Works of restricted circulation (e.g., theses not available in public databases, congress abstracts not published in regular journals or public databases) should not be listed in this section.

Sample journal article citation: Breuer ME and Pavan C (1955) Behaviour of polytene chromosomes of *Rhynchosciara angelae* at different stages of larval development. *Chromosoma* 7:371-386.

Yonenaga-Yassuda Y, Rodrigues MT and Pellegrino KCM (2005) Chromosomal banding patterns in the eyelid-less microteiid lizard radiation: The X1X1X2X2:X1X2Y sex chromosome system in *Calyptommatus* and the karyotypes of *Psilophthalmus* and *Tretioscincus* (Squamata, Gymnophthalmidae). *Genet Mol Biol* 28:700-709.

Sample book citation: Dobzhansky T (1951) *Genetics and Origin of Species*. 3rd edition. Columbia University Press, New York, 364 pp.

Sample chapter-in-book citation: Crawford DC and Howard-Peebles PN (2005) Fragile X: From cytogenetics to molecular genetics. In: Gersen SL and Keagle MB (eds) *The Principles of Clinical Cytogenetics*. 2nd edition. Humana Press, New Jersey, pp 495-513.

Sample electronic article citation: Gotzek D, Ross KG (2009) Current status of a model System: The gene Gp-9 and its association with social organization in fire ants. *PLoS One* 4:e7713.

h) Internet Resources Section: this section should contain a list of URLs referring to data presented in the text, as well as software programs and other Internet resources used during data processing. Date of consultation must be stated.

Sample Internet resource citation: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM> (September 4, 2009)

LEM Software, http://dir.niehs.nih.gov/dirbb/weinbergfiles/hybrid_design.htm (September 4, 2009)

i) Tables: must be in Word format prepared with the table tool (do not use space bar or tabulator). A concise title should be provided above the table. Tables must be numbered consecutively in Arabic numerals. Each column must have a title in the box head. Footnotes typed directly below the table should be indicated in lowercase superscript letters. Tables that are to appear in the printed version must be saved in Word format and not as figures, so that they can later be fitted during typesetting. Each table must be saved and uploaded as a separate file.

j) Figures must be numbered consecutively using Arabic numerals. Images should be in TIFF or JPEG format. Figures in Word, PowerPoint or Excel format cannot be published. Only sequence data can be presented in Word format. Journal quality reproduction will require

grayscale resolution yielding 300 dpi, color figures should be at 600 dpi. These resolutions refer to the output size of the file, that is the size in which it will appear printed in the journal; if it is anticipated that images will be enlarged or reduced, the resolutions should be adjusted accordingly. Figures composed of several elements should be sent as a single panel, obeying the print size definitions of the journal (single or two columns width). Scanned figures should not be submitted. Color illustrations are accepted. Each figure/panel must be saved and uploaded as a separate file. When uploading, identify each illustration by the first author name and the number of the respective figure.

Figure legends must be included at the end of the main text file and should be typed on a new page.

k) Nomenclature: Taxonomic names should be in accordance with current international standards. For rules concerning gene names and gene symbols, please see separate Instruction form.

l) Sequences may appear in text or in figure. DNA, RNA and protein sequences equal to or greater than 50 units must be entered into public databases and accession numbers must be provided upon acceptance of the article. Failure to do so will inadvertently delay publication

m) Data access: reference should be made to availability of detailed data and materials used for reported studies.

n) Ethical issues: Reports of experiments on live vertebrates must include a statement in the text that the institutional review board approved the work and the protocol number must be provided. For experiments involving human subjects, authors must also include a statement that informed consent was obtained from all subjects. If photos or any other identifiable data are included, a copy of the signed consent must be uploaded during manuscript submission. In any case, a letter (in English) indicating the approval by the respective Ethics Committee must be included in the submission. The letter should be preferentially Institutional and should confirm the protocol number of the approval.

o) Supplementary Material: Data that the authors consider of importance for completeness of a study, but which are too extensive to be included in the published version, can be submitted as Supplementary Material. At publication, this material will be made available together with the electronic version. In case a manuscript contains such material, it should be appropriately identified within the text file. Supplementary material in tables should be identified as Table S1, Table S2, etc., in case of figures they should be named accordingly, Figure S1, Figure S2. In addition, a list of this material should be presented at the end of the manuscript text file, containing the following statement:

Supplementary material - the following online material is available for this article:

Table S1 – < short title >

Figure S1 – < short title >

this material is available as part of the online article from <http://www.scielo.br/gmb>

3.2 Short Communications

Short Communications present brief observations that do not warrant full-length articles. They should not be considered preliminary communications; should be 15 or fewer typed pages in double spaced 12-point type, including literature cited; should include an Abstract; but no further subdivision, with introduction, material and methods, results and discussion; all in a single section and without headers.

up to four items (tables and/or figures) may be submitted;

Note: The title page, abstract and reference section format is that of a full-length Research Article. For Supplementary Material see instructions in item 3.1.m.

3.3 Genome Insight For GMB

A new section of articles devoted to genome data (Genome Insight) will be considered for publication in Genetics and Molecular Biology. Genome Insight is for focused papers, usually

of approximately 1500 words (up to four tables or figures), that publish new genome data as they become submitted to GenBank. This section is the premier forum to deliver that information directly to the genome community in a rapid and efficient publication of the genome. Data must be related to a complete (or nearly complete) and fully annotated genome for prokaryote or viruses, but a draft may be accepted for an eukaryote genome. While the focus of Genome Insight is necessarily involved in novel sequences, the manuscript must contain specifically novel biological, evolutive, biotechnological and/or metabolic insights revealed by data. The work may provide comparative analyses of previously published genomes that contain a substantial and novel insight of broadest biological and genetic significance. Submitted manuscript must contain an abstract, which should be a brief report on the organism as well as its relevance and the main insight revealed by the genome. The text (approximately 1500 words- excluding abstract, references and acknowledgements) should not contain subdivisions, but must contain the rationale for the selection of such organism as well as organism information (including taxonomy, natural habitat, phylogenetic position, eventual pathogenicity, symbiotic, biotechnological use, etc), methodology (genome sequencing and assembly; reference number at GenBank), genome relevance (which should indicate the main insights revealed by the data analysis and main conclusions. Acknowledgements and References (up to 20 references) headings should be included. Figure Legends should be provided at the end of the manuscript. Metagenome, transcriptome as well as epigenome data may also be considered for publication, but prior submission of the abstract to the Editor is necessary. Note: The title page, abstract and reference section format is that of a full-length Research Article. For Supplementary Material see item 3.1.m. in our Instructions to Authors.

3.4 Letters to the Editor

Relate or respond to recent published items in the journal. Discussions of political, social and ethical issues of interest to geneticists are also welcome in this form.

3.5 Review Articles

Review Articles are welcome. The Editor must be contacted prior to submission. Please, provide an Abstract and a list of your recent publications in the area.

3.6 Book Reviews

Publishers are invited to submit books on Genetics, Evolution and related disciplines, for review in the journal. Aspiring reviewers may propose writing a review.

3.7 History, Story and Memories

These are accounts on historical aspects of Genetics relating to Brazil.

4. Articles accepted for publication

Once an article is accepted, the Editorial Office will send it to copy editor for language and technical corrections. If major corrections were proposed, the manuscript with the highlighted corrections will be returned to the corresponding author for approval. The final version approved by the authors must be free of any text/correction markings when returned to the Editorial Office. After typesetting, page proofs will be sent to the corresponding author. Changes made to page proofs, apart from typesetting errors, will be charged to the authors. Notes added in proof require Editorial approval.

Together with the proofs, a form of consent to publish and transfer of copyright is sent to the corresponding author. The latter will have to sign this form, also on behalf of any co-authors, and send it by fax to the Editorial Office.

5. Reprints

Reprints are free of charge and will be provided as a pdf-file.



**De: Prof. Flávio Monteiro Ayres, Ph.D.
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS**

**Para: Responsável pelo arquivo de prontuários
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
Hospital das Clínicas**

Assunto: solicito acesso de prontuário para as pesquisadoras Letícia Pereira e Clarissa dos Santos

Goiânia, 06 de Novembro de 2020

Prezado(a) Senhor(a),

Saudações!

Pelo documento informo que as pesquisadoras Clarissa dal Molin dos Santos (CPF – 058.745.841-02) e Letícia Souza Pereira (CPF – 710.574.631-91) têm atuado no projeto de pesquisa intitulado “Investigação clínico-laboratorial e de mutações no gene *cfr* em pacientes com fibrose cística de Goiânia e Anápolis, Goiás”. A Letícia é aluna de mestrado regularmente matriculada no Programa de Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde - PPGCAPS da Universidade Estadual de Goiás – UEG, com matrícula #8555664. Enquanto a Clarissa é aluna de graduação regularmente matriculada no curso de bacharelado em Fisioterapia também da UEG, com matrícula #22016000252. Ambas as alunas estão oficialmente sob minha orientação, sendo a Clarissa aluna de IC, conforme Termo de Compromisso institucional (Edital PrP #034/2020 – Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica) e a Letícia em orientação de mestrado.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás sob CAAE #56605216.3.0000.5083 com autorização inclusive para acesso aos prontuários médicos, conforme documento em anexo.

Pelo exposto acima, solicito que as pesquisadoras supracitadas tenham acesso aos prontuários dos pacientes com fibrose cística a fim de darmos continuidade a pesquisa em tela.

Agradeço antecipadamente por sua atenção e auxílio.

Atenciosamente,

Prof. Flávio Monteiro Ayres

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS

Campus Metropolitano – Unidade ESEFFEGO
Cursos de Educação Física e Fisioterapia
Laboratório de Pesquisa em Genética

Campus Sede – Unidade de Ciências Exatas e Tecnológicas
PPGSS em Ciências Aplicadas a Produto para a Saúde

Av. Oeste, 56-250 - St. Aeroporto, Goiânia - GO, 74075-110

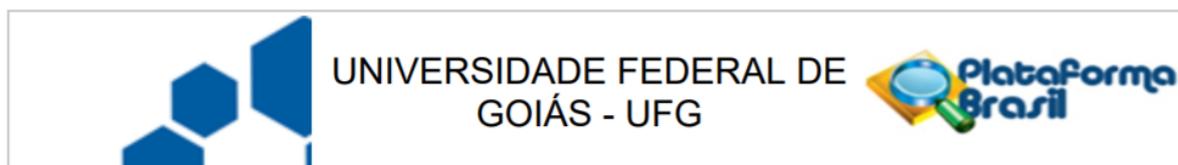
Br 153 Quadra Área Km 99 Zona Rural, Anápolis - GO, 75132-903



E-mail: flavio.ayres@ueg.br
Telefone pessoal: 062 9 8146 2268



E-mail: caps.unucet@ueg.br
Telefone institucional: 062 3328 1162



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Investigação clínico-laboratorial e de mutações no gene cftr em pacientes com fibrose cística das cidades de Goiânia e Anápolis, Goiás

Pesquisador: Flávio Monteiro Ayres

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 2

CAAE: 56605216.3.0000.5083

Instituição Proponente: Universidade Estadual de Goiás

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Apresentação do Projeto:

O presente projeto versa sobre a investigação clínica e molecular da Fibrose Cística em indivíduos da cidade de Goiânia e Anápolis. Os participantes serão recrutados no Hospital das Clínicas de Goiás e na APAE de Anápolis.

Objetivo da Pesquisa:

Pesquisar mutações do gene cftr em pacientes com Fibrose Cística correlacionando a dados clínico-laboratoriais e radiológicos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Para a coleta de material a ser utilizado na presente pesquisa serão utilizadas espátulas estéreis e descartáveis, caracterizando o procedimento como pouco invasivo. O pesquisador aponta os riscos envolvidos como o frequente desconforto inerente à raspagem da mucosa oral, raramente com dor e sem expectativa de sangramento.

Como benefício o pesquisador espera-se que os dados desta pesquisa possam fornecer uma nova ferramenta para o diagnóstico e prognóstico para a população de pacientes com fibrose cística do Estado de Goiás, em especial para o diagnóstico precoce.

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

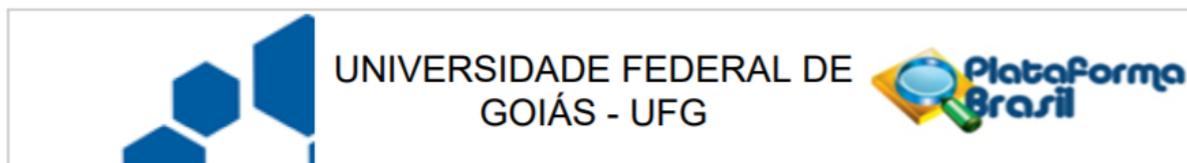
UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.724.723

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto apresenta de forma clara os objetivos e metodologia. Situa o grupo de participantes e apresenta a anuência dos Instituições envolvidas (HC e APAE). Descreve a metodologia e a utilização do material biológico e coleta de dados. Com relação aos participantes, na nova versão, houve o esclarecimento de que não ha limite quanto a idade do participante. Dessa forma foi apresentado o TALE, bem como o TCLE para os pais. Foi inserido no TCLE o esclarecimento de que a ligação pode ser a cobrar.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos obrigatórios foram anexados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Toas as pendências foram atendidas.

Considerações Finais a critério do CEP:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa/CEP-UFG considera o presente protocolo APROVADO, o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes. Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar ao CEP-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Resolução CNS n. 466/12. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, prevista para dezembro de 2018.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_663041.pdf	04/08/2016 21:39:36		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMODEASSENTIMENTO_atualizado.docx	03/08/2016 15:16:56	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_atualizado.docx	03/08/2016 15:16:32	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLEparaoresponsavel_atualizado.docx	03/08/2016 15:16:19	Flávio Monteiro Ayres	Aceito

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.724.723

Ausência	TCLEparaoresponsavel_atualizado.docx	03/08/2016 15:16:19	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_fc_atualizado.docx	03/08/2016 15:10:33	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termodeinfraestrutura.docx	30/05/2016 20:53:20	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	docsAPAE.pdf	30/05/2016 20:26:48	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	30/05/2016 20:23:52	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Outros	pedidodeavaliacao.jpg	30/05/2016 20:18:27	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termodecompromissoOrientando2.jpg	30/05/2016 11:26:23	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termodecompromissoOrientando1.jpg	30/05/2016 11:26:02	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termodecompromissoOrientando.jpg	30/05/2016 11:20:57	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	aprovacaomanuseiodeprontuario.jpg	30/05/2016 11:16:06	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorizacao_HC.jpg	30/05/2016 11:15:32	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_fc.docx	19/05/2016 19:49:28	Flávio Monteiro Ayres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	13/05/2016 19:02:21	Flávio Monteiro Ayres	Aceito

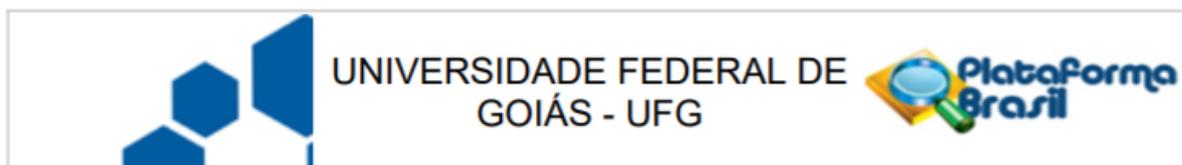
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia **CEP:** 74.001-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.724.723

GOIANIA, 13 de Setembro de 2016

Assinado por:
João Batista de Souza
(Coordenador)

HC-UFG
Hospital das Clínicas

EBSERH

EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS HOSPITALARES
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
HOSPITAL DAS CLÍNICAS
Primeira Av. S/N, Setor Leste Universitário,
CEP 74605-020 – Goiânia-Goiás
Telefone: 62-3269-8200



Goiânia, 25 de Abril de 2016

À Gerência de Ensino e Pesquisa/SAMIS do HC-UFG/EBSERH

Senhor Gerente,

Estamos autorizando o (a) pesquisador(a) Flávio Monteiro Ayres, a manusear prontuários médicos deste Hospital para o desenvolvimento do projeto de pesquisa intitulado: **“Investigação clínico-laboratorial e de mutações no gene *cftr* em pacientes com fibrose cística das cidades de Goiânia e Anápolis, Goiás”**.

Vale ressaltar ao pesquisador o compromisso de utilizar os dados coletados apenas para esta pesquisa, bem como os sigilos dos nomes dos pacientes.

Atenciosamente,

Dr^a. Maria Conceição de C. A. M. de Queiroz
Chefe da Divisão Médica do HC-UFG/EBSERH

APÊNDICE

FICHA DE EXTRAÇÃO DE DADOS DE PRONTUÁRIO Trabalho de Conclusão de Curso



Por: Clarissa Dal Molin dos Santos
Letícia de Souza Pereira

Usar: NA para “não se aplica”; NI para “não informado”; NS para “não soube informar”; e dia/mês/ano para data.

1 - Identificação do objeto de análise (prontuário ou outro)

Instituição de análise do prontuário:	Data da análise do prontuário: ____/____/____	Nome do investigador <i>in loco</i> :
Houve acesso direto ao prontuário? () Sim () Não	Arquivo analisado além do prontuário?	Prontuário N°. (manter ficha em sigilo):
Código interno de identificação do sujeito:	Início do Acompanhamento: ____/____/____	Data do último segmento: ____/____/____

2 - Dados pessoais do sujeito da pesquisa

Sexo:	Data de nascimento: ____/____/____	Procedência: 1. Gyn 2. Anapólis 3. Ap. Gyn 4. Outros
Idade atual: ____ anos ____ meses	Local de nascimento: 1. Gyn 2. Anapólis 3. Ap. de Gyn 4. Outros	Cor e, se for o caso, etnia: 1. Branco 2. Negro 3. Pardo 4. Indígena 5. Não declarado

N3 - Dados do diagnóstico de Fibrose Cística

Descrição da suspeita clínica:	Método de diagnóstico e data: 1 – IRT - ____/____/____ 2 – Teste do suor 1 - ____/____/____ 3 – Teste do suor 2 - ____/____/____ 4 – Genotipagem - ____/____/____ 5 – Método de Genotipagem: _____ 5 – Outro - ____/____/____	Resultado do diagnóstico e data: 1 – IRT - _____ 2 – Teste do suor 1 - _____ 3 – Teste do suor 2 - _____ 4 – Genotipagem - _____ 5 – Outros: _____
Histórico familiar? () Sim () Não Quem? _____ Diagnosticado como? _____	Informação complementar: 	

4 - Dados clínicos

Data: ____/____/____ - Peso: ____ Kg - Altura: ____ cm - IMC: ____ - Interpretação: _____
Data: ____/____/____ - Peso: ____ Kg - Altura: ____ cm - IMC: ____ - Interpretação: _____
Data: ____/____/____ - Peso: ____ Kg - Altura: ____ cm - IMC: ____ - Interpretação: _____
Achados radiológicos:
Medicamentos, com data de início:
Pancreatina: 0. Não 1. Sim

Suplemento nutricional: 0. Não 1. Sim		
Espirometria:		
VEF ¹	CVF:	FEF: Data: ____/____/____.
VEF ¹	CVF:	FEF: Data: ____/____/____.
VEF ¹	CVF:	FEF: Data: ____/____/____.
Uso de O ₂ : () Sim () Não		
Colonização bacteriana, com data:		
Faz fisioterapia? () Sim () Não	Diabético? () Sim () Não	Nº de internações?
Veze por semana:	Insulina: () Sim () Não	
Supervisionado: () Sim () Não		Shwachman-Kulczycki:
Prognóstico e acompanhamento:		
Quantas avaliações no último ano:		
Quantas internações no último ano:		

Assinatura por extenso do investigador:
