



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO  
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO  
INTEGRADO EM MEDICINA**

**ANA FILIPA ROCHA ÁGUEDA**

***FIBROSE QUÍSTICA - APRESENTAÇÃO ATÍPICA***

**ARTIGO DE REVISÃO**

**ÁREA CIENTÍFICA DE PNEUMOLOGIA**

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:  
DRA. SARA ELIZABETE MARTA OLIVEIRA SILVA FREITAS  
DRA. FERNANDA ISABEL MACEDO GAMBOA**

**MARÇO/2012**

# *FIBROSE QUÍSTICA – APRESENTAÇÃO ATÍPICA*

Ana Filipa Rocha Águeda<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Portugal  
Azinhaga de Santa Comba, Celas  
3000-548 Coimbra

*E-mail* do autor: [filipaa729@hotmail.com](mailto:filipaa729@hotmail.com)

## Índice

1. Resumo.....	1
2. Abstract .....	3
3. Introdução.....	5
4. Objectivos.....	9
5. Métodos.....	10
6. Desenvolvimento.....	11
6.1.Critérios de Diagnóstico .....	11
6.2.Considerações genéticas .....	15
6.3.Diagnóstico.....	25
6.4. Manifestações clínicas.....	31
6.5.Manifestações clínicas mais comuns da FQa .....	38
6.5.1. Ausência Bilateral Congénita de Vasos Deferentes .....	38
6.5.2. Pancreatite crónica ou aguda idiopática .....	40
6.5.3. Rinossinusite Crónica .....	41
6.5.4. Desidratação hipoclorémica hiponatrémica com alcalose metabólica .	42
6.5.5. Aspergilose Broncopulmonar Crónica .....	43
6.5.6. Doença pulmonar .....	44
6.5.7. Bronquiectasias difusas idiopáticas .....	47
6.6.Tratamento.....	49
6.6.1. Terapêutica antibiótica.....	49
6.6.2. Cinesiterapia Respiratória.....	51
6.6.3. Agentes mucolíticos e broncodilatadores .....	51
6.6.4. Terapêutica nutricional de suporte.....	53
6.6.5. Agentes anti-inflamatórios, oxigenoterapia e ventilação.....	53
6.6.6. Transplante Pulmonar .....	55
6.7.Novas terapêuticas .....	56
6.8.Prognóstico.....	59
7. Conclusão .....	62
8. Agradecimentos.....	64
9. Bibliografia.....	65

## 1. Resumo

**Introdução:** A Fibrose Quística (FQ) é a doença autossômica recessiva mais comum na população caucasiana.

É causada por mutações do gene do CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*), codificador de um canal de cloreto presente em todos os tecidos exócrinos e caracteriza-se por uma grande variabilidade fenotípica.

De acordo com as manifestações clínicas e evidência de disfunção do CFTR, os doentes podem enquadrar-se no espectro de FQ típica, FQ atípica (FQa) ou doença relacionada com o CFTR.

Os doentes com FQ típica apresentam geralmente doença multiorgânica com níveis de cloro no suor superiores ao normal, podendo haver uma tríade clássica de infecções respiratórias recorrentes, esteatorreia e má progressão estato-ponderal, sendo por isso habitualmente diagnosticados na infância.

Doentes com FQa têm, normalmente, valores de cloro no suor normais ou *borderline*, doença pulmonar ligeira e suficiência pancreática sendo, normalmente, diagnosticados em idades mais avançadas; tanto na FQ típica como atípica, a ausência congénita de vasos deferentes é quase universal.

Os doentes com doenças relacionadas com o CFTR têm normalmente atingimento de órgão único e não cumprem critérios de diagnóstico para FQ típica nem atípica.

Dada a grande variabilidade da doença o diagnóstico pode ser difícil, principalmente nas formas de apresentação atípicas.

**Objectivos:** revisão da literatura acerca da forma atípica da FQ em termos de clínica e mutações genéticas conhecidas reservando-se espaço para uma descrição sumária dos tratamentos existentes e perspectivas futuras.

**Métodos:** revisão sistemática da literatura médica existente sobre FQ típica e atípica, no período de 2001 a 2011, incluindo artigos encontrados segundo pesquisas na base de dados *PubMED* e consulta das listas de referências dos artigos de interesse.

**Resultados:** A FQa é uma doença causada por mutações do gene CFTR e é tipicamente diagnosticada em idades mais avançadas. O fenótipo clínico é variável mas, normalmente, mais brando do que o verificado na FQ típica. Pode existir atingimento multiorgânico ou de órgão único, com valores de cloro no suor normais ou *borderline*. A clínica e avaliação laboratorial trazem dificuldades diagnósticas em relação à FQ típica e doenças relacionadas com o CFTR. O tratamento é semelhante ao da FQ típica.

**Conclusões:** A FQa caracteriza-se por uma grande variabilidade de manifestações clínicas de gravidade e evolução variadas, tendo normalmente um prognóstico mais favorável do que a FQ típica. Realizaram-se grandes avanços ao nível do diagnóstico clínico e laboratorial mas, em alguns casos, pode existir dúvida diagnóstica, sendo necessários mais estudos acerca da fisiopatologia da doença para otimizar a abordagem diagnóstica e tornar a classificação mais clara.

**Palavras-chave:** Fibrose Quística, manifestações atípicas de Fibrose Quística, doenças relacionadas com CFTR, terapêutica, novos tratamentos.

## 2. Abstract

**Introduction:** Cystic Fibrosis (CF) is the most common autosomal recessive disease in the Caucasian population.

It is caused by mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) that codifies a chloride channel present broadly in exocrine tissues and is characterized by an extensive variability of phenotypes.

According to clinical features and laboratorial findings of CFTR dysfunction, the patients can fit into the spectrum of typical CF, atypical CF or CFTR related disease.

Patients with typical CF have multisystemic disease, high sweat chloride levels and can present with a classical triad of recurrent respiratory infections, steatorrhea and failure to thrive, being usually diagnosed during childhood.

Patients with atypical CF present with normal or borderline sweat chloride levels, mild pulmonary disease and pancreatic sufficiency and are usually diagnosed in later ages; in both typical and atypical CF, congenital bilateral absence of vas deferens is almost universal.

Patients with CFTR related diseases have usually single organ disease and do not fit in the diagnostic criteria of typical or atypical CF.

Taken into account the extensive variability of the disease, diagnostic can be challenging, mainly in the atypical presentation.

**Objective:** To review the existing data on atypical CF in terms of clinical expression and known mutations, and reserving time for a brief description of existing treatments and future perspectives.

**Methods:** Systematic review of medical literature regarding typical and atypical CF, since 2001 to 2011, including articles found in PubMed database and articles found in the references list of articles of interest.

**Results:** Atypical CF is caused by CFTR mutations and is typically diagnosed in adulthood. The clinical phenotype varies widely but is typically less severe than the observed in typical CF. There may be multisystemic or single organ disease with normal or borderline sweat chloride levels.

The clinical and laboratorial findings may raise diagnostic doubts regarding typical CF and CFTR related diseases.

Treatment is similar to the used in typical CF.

**Conclusions:** Atypical CF is characterized by a wide range of clinical features with variable severity and progression. It normally has a more favorable prognosis than typical CF.

Great advances have been made regarding the clinical and laboratorial findings; however, diagnostic doubt may linger in some cases.

More studies regarding the physiopathology of the disease are required in order to establish more clear diagnostic approaches and classification of the disease.

**Key words:** Cystic Fibrosis, Atypical manifestations of Cystic Fibrosis, CFTR related diseases, Therapeutics, New treatments.

### 3. Introdução

A Fibrose Quística (FQ) é a doença genética autossômica recessiva mais comum em caucasianos, podendo no entanto afectar todos os grupos raciais e étnicos.

Esta patologia é mais prevalente na Europa e América do Norte (Mehta, Macek et al. 2010) e ocorre com maior frequência em crianças de descendência europeia, sendo relativamente rara na Ásia oriental e em África, com excepção para populações do sul de África descendentes de europeus (Bobadilla, Macek et al. 2002). Nos EUA, estima-se que 1 em cada 3.500 recém-nascidos tenham FQ e que existam cerca de 30.000 pessoas afectadas por ela (Marshall 2010). Mais de 60% dos doentes com FQ são identificados no primeiro ano após o nascimento e 90% já têm diagnóstico feito quando atingem os 8 anos de idade; no entanto, cerca de 4% só serão identificados na idade adulta (Dave, Honney et al. 2005).

A FQ é causada por mutações no gene CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*), localizado no braço longo do cromossoma 7 e que codifica a proteína CFTR, com 1480 aminoácidos. Esta funciona como um canal de cloreto, mediado por AMPc, que regula o transporte de água e iões através dos tecidos epiteliais exócrinos (De Boeck, Wilschanski et al. 2006).

O CFTR tem uma ampla distribuição no organismo, estando presente em múltiplos locais como as vias aéreas, glândulas salivares e sudoríparas, tracto gastrointestinal, fígado, pâncreas e epidídimo.

As alterações nos fluidos e electrólitos na superfície celular, devidas à mutação do CFTR, determinam a existência de secreções anormais espessas e uma resposta inflamatória exacerbada. Estas alterações predispõem à ocorrência de obstrução e infecção, podendo sobrevir doença terminal em órgãos com estruturas tubulares como sejam os pulmões, os genitais internos, o intestino, o fígado ou o pâncreas.



Dada a ampla distribuição do CFTR pelo organismo e dadas as suas importantes funções fisiológicas, facilmente se compreende que a sua disfunção origine uma doença de carácter sistémico, causadora de morbilidade e mortalidade significativas e que acarreta um encurtamento da esperança média de vida dos doentes, relativamente à população em geral.

Ainda que haja conhecimento dos órgãos mais comumente afectados e dos sintomas e genótipos mais comuns, verifica-se que o fenótipo apresentado pelos doentes é muito variável e não apresenta uma relação linear com o genótipo, o que cria dificuldades diagnósticas, podendo levar a atrasos no diagnóstico, especialmente de formas mais brandas da doença ou que se manifestem por clínica menos comum.

Actualmente conhecem-se três grupos de entidades relacionadas com disfunção do CFTR: a Fibrose Quística típica, a Fibrose Quística atípica e as denominadas doenças relacionadas com o CFTR. Este último grupo não será discutido pois não está nos objectivos de discussão deste trabalho.

A FQ típica e atípica, ainda que partilhem características sobreponíveis, têm também muitas características que as distinguem, entre elas aspectos do genótipo e do quadro clínico.

A FQ típica é diagnosticada usualmente na infância devido a um conjunto de sinais e sintomas característicos como doença pulmonar com infecções respiratórias recorrentes, insuficiência pancreática exócrina com défices na nutrição e má absorção de nutrientes, observando-se níveis de cloro no suor anormalmente elevados. Os doentes do sexo masculino são geralmente inférteis devido à ausência congénita bilateral de vasos deferentes (ABCVD) que causa azoospermia obstrutiva.

A FQ atípica apresenta-se muitas vezes mais tardiamente, na adolescência ou na idade adulta, e estes doentes têm usualmente níveis de cloro no suor normais ou *borderline*. Os sintomas da doença podem começar ainda na infância, mas habitualmente a doença só se torna clinicamente significativa após os 10 anos de idade (Kerem 2006). O quadro clínico

caracteriza-se comumente por doença pulmonar mais branda, quando comparada com a FQ típica, podendo haver envolvimento multiorgânico ou de apenas um órgão ou sistema de órgãos. Nos casos de envolvimento de órgão único, a manifestação clínica da doença pode ser apenas a existência de pancreatite recorrente, hipertensão portal, polipose nasal, azoospermia obstrutiva ou cirrose biliar, entre outras (Chawla, Turcotte et al. 2010).

Facilmente se compreende que é neste último grupo que se encontram as maiores dificuldades diagnósticas, já que a apresentação clínica pode ser confundida com a de outras doenças e os testes diagnósticos podem ser inconclusivos (Farrell, Rosenstein et al. 2008). Neste sentido, é fundamental a familiarização dos clínicos para com as variadas formas de apresentação da FQ de modo a ser efectuado um diagnóstico precoce e instituídas medidas terapêuticas apropriadas atempadamente, as quais são fundamentais e têm impacto significativo na sobrevida e qualidade de vida dos doentes. Quanto mais tardio for o diagnóstico e a introdução de terapêutica, maior a probabilidade de existência de danos orgânicos irreversíveis e significativos, com impacto na qualidade de vida.

A primeira descrição clara do fenótipo de FQ apresentado por um doente com FQ típica foi feita por Dorothy Andersen, em 1983. Nessa altura, o prognóstico desta doença era muito sombrio e a morte por falência respiratória ocorria invariavelmente na primeira década de vida (Southern 2007).

Mesmo continuando a ser uma doença limitativa da sobrevida dos doentes, nas últimas duas décadas verificaram-se melhorias significativas a este nível e, em 1986, a mediana de idades de sobrevida prevista era de 27 anos sendo no ano 2010 de 37,3 anos e com previsão de aumento (Marshall 2010).

Para este aumento na sobrevida contribuem o contacto mais próximo entre os doentes e respectivas famílias e o centro de cuidados médicos, uma maior consciencialização para a doença e suas manifestações clínicas e, fundamentalmente, o diagnóstico e terapêutica

precoces. A terapêutica utilizada nos doentes com FQ ainda levanta alguma controvérsia, nomeadamente no uso de anti-inflamatórios, mas existe consenso sobre o uso de terapêutica antibiótica e nutricional agressivas, instituídas precocemente, de forma a atrasar o curso da doença e a deterioração por ela provocada.

#### **4. Objectivos**

Com este trabalho pretende-se fazer uma descrição da forma de apresentação atípica da Fibrose Quística, com referência às manifestações clínicas e laboratoriais da doença e ainda discussão das abordagens terapêuticas existentes até a data e perspectivas futuras, fazendo um paralelismo com a apresentação típica da mesma.

## 5. Métodos

Os autores realizaram uma revisão sistemática da literatura médica sobre o tema, abrangendo um período de 10 anos, desde 2001 a 2011, incluindo artigos em língua portuguesa, inglesa e espanhola. Esta pesquisa foi efectuada na base de dados *PubMED*, com a finalidade de encontrar estudos acerca da Fibrose Quística, na sua forma típica e atípica.

Foram utilizadas as seguintes palavras-chave, em combinações variadas: “Fibrose Quística” (*cystic fibrosis*), “manifestações atípicas” (*atypical manifestations*), “doenças relacionadas com CFTR” (*CFTR related diseases*), “terapêutica” (*therapeutics*) e “novos tratamentos” (*new treatments*).

De referir que as listas de referências de todos os artigos considerados relevantes foram consultadas em busca de novos artigos para inclusão, tendo sido inseridos alguns desses artigos.

## 6. Desenvolvimento

### 6.1. Critérios de diagnóstico

Em 1998, o *Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel* estabeleceu critérios diagnósticos para a FQ. Segundo estes, o diagnóstico de FQ seria sugerido pela presença de uma ou mais características fenotípicas consistentes com a doença em questão (Quadro I), história de FQ num irmão ou *screening* neonatal positivo. A suspeita seria confirmada pela evidência laboratorial de disfunção do CFTR, como sejam concentrações elevadas de cloro no suor ou identificação de mutações causadoras de FQ em cada um dos genes do CFTR ou demonstração *in vivo* de anomalias características no transporte de iões através do epitélio nasal (Rosenstein and Cutting 1998).

Estes critérios ainda são válidos actualmente; no entanto, a compreensão dos mesmos, principalmente em termos de manifestações clínicas e mutações identificadas, evoluiu consideravelmente.

**Quadro I-** Manifestações clínicas de FQ. Adaptado de Dalcin Pde and Abreu 2008.

<p><b>1. Doença sinopulmonar crónica</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a) Colonização/infecção persistente com microorganismos típicos de fibrose quística, incluindo <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Haemophilus influenzae</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> mucóide, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> não mucóide e <i>Burkholderia cepacia</i>.</li> <li>b) Tosse e expectoração crónicas.</li> <li>c) Alterações persistentes em radiografias torácicas (bronquiectasias, atelectasias, infiltrados pulmonares e hiperinsuflação).</li> <li>d) Obstrução das vias aéreas com pieira e encarceramento aéreo.</li> <li>e) Pólipos nasais em conjunto com alterações radiográficas ou tomográficas dos seios perinasais.</li> <li>f) Baqueteamento digital.</li> </ul>
--

2. Perturbações gastrointestinais e nutricionais

- a) Intestinais: ileus meconial, síndrome de obstrução intestinal distal e prolapso rectal.
- b) Pancreáticas: insuficiência pancreática e pancreatite recorrente.
- c) Hepáticas: doença hepática crónica com evidência clínica ou histológica de cirrose biliar focal ou cirrose multilobular.
- d) Nutricionais: compromisso do desenvolvimento (malnutrição proteico-calórica) em conjunto com hipoproteinémia e edema, complicações secundárias ao défice de vitaminas lipossolúveis.

3. Síndrome de depleção salina: depleção salina aguda e alcalose metabólica crónica.

4. Anormalidades urogenitais, no homem, resultando em azoospermia obstrutiva por ausência bilateral congénita de ductos deferentes.

Os doentes com FQ típica são normalmente diagnosticados precocemente, na infância, devido a manifestações multiorgânicas com sinais e sintomas que levantam a suspeita para o diagnóstico. Muitos destes doentes podem até apresentar a tríade clássica: infecções sino-pulmonares recorrentes, esteatorreia e mau desenvolvimento estato-ponderal (“criança que não medra”), decorrente de alterações em vários órgãos como o pulmão e o pâncreas. De facto, cerca de 85% dos doentes com FQ típica apresentam insuficiência pancreática exócrina. Por outro lado, os doentes com FQa têm normalmente um fenótipo mais brando, principalmente a nível pulmonar, e podem ter formas de apresentação da doença que inicialmente não levantariam a suspeita de FQ, como sejam, por exemplo, episódios de pancreatite aguda recorrente. Por este motivo, os doentes com FQa são geralmente diagnosticados mais tardiamente, muitos deles na idade adulta.

Na FQa pode existir afecção de vários sistemas de órgãos ou de apenas um (apresentação monossintomática) como, por exemplo, ausência bilateral congénita de vasos deferentes, rinossinusite crónica, bronquiectasias difusas, pancreatite crónica, pancreatite aguda recorrente ou polipose nasal (Lyon and Miller 2003).

Os critérios de diagnóstico para a forma atípica de FQ são semelhantes aos da FQ típica e exigem a existência de características fenotípicas da doença em pelo menos um sistema de órgãos e a demonstração de disfunção do CFTR. Esta reveste-se de particular importância dado que os níveis de cloro no suor podem ser normais (<30mmol/l) ou *borderline* (30-60 mmol/l).

Para além do teste de suor, a disfunção do CFTR pode ser explorada também por quantificação directa através da medição da diferença de potencial nasal ou identificação de duas mutações do CFTR, uma em cada gene (Lotem, Barak et al. 2000).

Os critérios de diagnóstico para a forma típica e atípica da doença encontram-se resumidos no Quadro II.

Em alguns doentes com atingimento de órgão único não é possível identificar critérios suficientes que permitam o diagnóstico de FQ típica ou atípica. Estes têm, provavelmente, uma doença relacionada com a disfunção do CFTR, ou seja, uma doença para a qual a mutação do CFTR contribui para a patogénese mas não é o elemento principal, estando envolvido um conjunto de factores não genéticos ambientais que vai determinar o fenótipo final.



**Quadro II** – Resumo dos critérios de diagnóstico de Fibrose Quística típica e atípica.

Adaptado de Southern *et. al.*,2007.

Achados clínicos	Confirmação da disfunção do CFTR
<p><i>Fibrose Quística Típica</i></p> <p>Doença sinopulmonar            Doença pancreática exócrina            Doença hepática            Ausência congénita de vasos deferentes  <i>Screening</i> neonatal positivo            Ileus meconial</p>	<p>Concentração de cloro no suor &gt;60mmol/l  <i>Ou</i>            Identificação de duas mutações causadoras de Fibrose Quística  <i>Ou</i>            Valores anormais no teste de diferença de potencial nasal (ou outros meios de medição electrofisiológicos validados)</p>
<p><i>Fibrose Quística atípica</i></p> <p>Doença sinopulmonar            Doença pancreática endócrina            Ausência congénita de vasos deferentes  <i>Screening</i> neonatal positivo</p>	<p>Concentração de cloro no suor normal (&lt;30 mmol/l) ou <i>borderline</i> (30 a 60 mmol/l)  <i>E</i>            Identificação de duas mutações causadoras de Fibrose Quística  <i>Ou</i>            Valores anormais no teste de diferença de potencial nasal (ou outros meios de medição electrofisiológicos validados)</p>

## 6.2.Considerações genéticas

Os critérios de diagnóstico tanto de FQ típica como atípica incluem a identificação de mutações genéticas no gene do CFTR.

O gene do CFTR localiza-se no braço longo do cromossoma 7 e codifica a proteína CFTR, com 1480 aminoácidos. Esta funciona como um canal de cloreto, mediado por AMPc, e regula o transporte de água e iões através da membrana apical das células epiteliais resultando a sua disfunção, normalmente, em secreção de cloreto inadequada.

Para além das funções mencionadas anteriormente, o CFTR tem ainda funções de regulação de outros canais de membrana, nomeadamente do canal epitelial de sódio (Reddy, Light et al. 1999) e função transportadora ou reguladora do transporte de bicarbonato ( $\text{HCO}_3$ ) através das membranas epiteliais celulares podendo, ainda, funcionar como um canal para outras proteínas, como a glutathione (Quinton 2001; Riordan 2008).

Para além destas funções, já conhecidas, existem outras que só agora se começam a desvendar. Estas novas funções estão relacionadas com a interacção com proteínas intracelulares mas a sua relevância ainda não é conhecida (Wang, Venable et al. 2006).

São necessários mais estudos nesta área para compreensão de todas as interacções existentes com o CFTR. Este conhecimento é importante dado que uma terapêutica direccionada apenas para a regulação da secreção de cloreto, que não inclua outras funções do CFTR, pode não alterar aspectos importantes da patofisiologia da doença nos quais a intervenção conjunta seria benéfica (Ratjen 2009).

Dependendo da alteração molecular condicionada pela mutação do CFTR, o seu efeito pode ser o de uma mutação nula (*null mutation*), ou o de uma mutação dita leve. Uma *null mutation* diz respeito a uma mutação que leva à não transcrição do gene mutado para RNA e/ou produção de uma proteína que não é funcional. Por exemplo, uma *null mutation* num gene que codifica uma enzima específica pode resultar na produção de enzima não funcional ou

resultar numa ausência total de produção enzimática. Uma mutação leve diz respeito a uma mutação genética cujo efeito final é a produção de uma proteína com função parcial/residual. Num limite do espectro de patologias do CFTR temos as mutações nulas. Estas reflectem normalmente mutações de tipo *nonsense*, *frameshift* ou *splice*, e resultam na ausência de produção ou de função do CFTR. Esta ausência de função do CFTR tem uma correlação forte com a insuficiência pancreática exócrina e uma correlação, não tão forte, com a doença pulmonar (Noone and Knowles 2001).

No outro limite do espectro de patologias do CFTR encontramos as mutações leves, que resultam numa produção diminuída de CFTR funcional na membrana celular apical e associam-se geralmente a suficiência pancreática e doença pulmonar ligeira (Noone and Knowles 2001).

Após a detecção dos defeitos genéticos do gene do CFTR em 1989, era esperado que apenas um número limitado de mutações pudesse causar FQ (Rommens, Iannuzzi et al. 1989). Tal suposição não se verificou e, de facto, segundo relatórios da *Cystic Fibrosis Mutation Database* (em <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/StatisticsPage.html>), conhecem-se até ao momento cerca de 1905 mutações do gene CFTR (Tsui 2012). No entanto, é importante compreender que, ainda que muitas mutações sejam já conhecidas, a implicação funcional de muitas delas ainda não está totalmente clarificada e a maioria é rara. De facto, são menos de 10 as mutações que ocorrem com uma frequência superior a 1% (Tomaiuolo, Sangiuolo et al. 2008).

Ainda que as mutações do CFTR sejam transversais a todas as raças e etnias, a epidemiologia destas altera-se e, como tal, é crucial verificar a frequência de determinadas mutações para diferentes populações pois isto permite seleccionar um painel de testes de DNA que incluam as mutações mais frequentes para cada população e assim aumentar a probabilidade de detecção das mesmas (Tomaiuolo, Sangiuolo et al. 2008). Segundo a base de dados referida

anteriormente, mas tendo em conta dados de 1993, a mutação mais frequente em Portugal, num *screening* de 285 cromossomas e segundo dados do Instituto Nacional de Saúde de Lisboa, é a phe508del, seguida das mutações G542X, R334W e R1162X mas com uma incidência significativamente menor que a primeira.

As mutações do CFTR podem ser organizadas de acordo com o seu mecanismo molecular e efeito na biogénese e funcionalidade do CFTR, sendo classificadas em seis classes (Quadro III) e estando cada classe relacionada com um diferente grau de gravidade (Davies 2002; Ratjen and Doring 2003).

De um modo geral, podemos dizer que as mutações das classes I, II, III são mutações graves, sendo as mutações IV, V e VI mutações brandas.

As mutações de classe I estão associadas a biossíntese proteica ausente ou deficiente resultando em proteínas variantes anormais. Especificamente, as mutações desta classe levam à formação de sinais de terminação prematuros que conduzem à produção de transcritos instáveis e/ou proteínas aberrantes, possuidoras de deleções ou novas sequências de aminoácidos. Supõe-se que, devido a esta instabilidade, as proteínas sejam degradadas rapidamente.

A mutação da classe I mais frequente é G542X (substituição de uma glicina por um codão STOP na posição 542) (Rowntree and Harris 2003).

Em condições normais, após a tradução que ocorre no ribossoma, a proteína CFTR sofre uma série de processos de glicosilação e modulação no retículo endoplasmático (RE) e complexo de Golgi, tornando possível o movimento das proteínas CFTR para a membrana das células apicais. As mutações de classe II interferem com estes processos e encontram-se associadas a defeitos no processamento das proteínas dando origem a proteínas imaturas que são retidas no RE, sendo posteriormente ubiquitiladas e degradadas pelo proteossoma 26S existente no citosol, como tal não conseguindo atingir a membrana celular apical (Teixeira 2007).

É nesta classe que se encontram a maioria das mutações descritas como responsáveis pela FQ, incluindo a mutação mais frequente a nível mundial, a phe508del.

As mutações de classe III afectam a regulação da função do CFTR impedindo a hidrólise de ATP nos domínios de ligação nucleotídicos 1 e 2 e impedindo a activação do canal de cloro. A proteína CFTR produzida nestes casos é processada no citoplasma e transportada para a membrana apical; no entanto, é resistente à fosforilação ou ligação do ATP (Kerem 2005).

Como o ATP intracelular regula a abertura do canal CFTR através de interacções directas com o domínio de ligação nucleotídico, mutações neste domínio alteram a função do canal. Um exemplo de uma mutação da classe III é G551D (alteração de uma glicina para ácido aspártico no codão 551).

As mutações de classe IV resultam em quantidades normais de CFTR, mas com função reduzida na membrana apical, devido a uma diminuição da condutância de cloro. Isto acontece porque esta classe de mutações afecta os aminoácidos localizados no poro do canal, dando origem a um canal CFTR com propriedades de condução deficientes. Esta classe de mutações está, na maioria dos casos, associada a fenótipos clínicos moderados (Sheppard, Rich et al. 1993). Alguns exemplos incluem mutações nas quais a arginina é substituída pela histidina no resíduo 117 (R117H), triptofano na posição 334 (R334W), ou prolina no 347 (R347 P). Para além da reduzida taxa de fluxo iónico através do canal aberto e principalmente para a mutação R117H, a quantidade de tempo que o canal está aberto é também reduzido (Sheppard, Rich et al. 1993).

As mutações de classe V estão associadas a uma redução da síntese de CFTR activo que resulta numa expressão reduzida na membrana apical devido a transporte ineficaz, *splicing* aberrante ou mutações no promotor. Um exemplo de uma mutação por *splicing* anormal é a sequência repetitiva TG e politimidinas no intrão 8 que regulam o *splicing* do exão 9 (Hwang and Sheppard 1999; Schultz, Singh et al. 1999).

Como nestas mutações é sintetizada uma pequena quantidade de transcritos mRNA completos, é de esperar que o fenótipo seja menos severo (Kerem, 2005).

As mutações de classe VI levam a estabilidade proteica diminuída de uma variante de CFTR totalmente processada (Paranjape and Zeitlin 2008). Isto pode acontecer, por exemplo, devido a mutações que resultam na ausência dos resíduos 70-98 da extremidade C-terminal da proteína (Zielenski 2000). Apesar da extremidade C-terminal não ser necessária para a biogénese e funcionamento do canal de cloreto, esta é indispensável para a manutenção da estabilidade do complexo CFTR glicosilado.

O corte mais pequeno da proteína CFTR que provoca FQ, com insuficiência pancreática e infecções pulmonares recorrentes, é a Q1412X (substituição de uma glutamina por um codão STOP na posição 1412) que resulta na ausência de 70 aminoácidos na proteína (Rowntree and Harris 2003).

De um modo geral, as mutações classe III, IV, V e VI ainda se associam a uma função residual do CFTR (de Gracia, Mata et al. 2005).

Mutações que reduzam os níveis de função do CFTR para valores menores ou iguais a 5% dos níveis fisiológicos levam normalmente a manifestações de FQ típica enquanto mutações com índices de função do CFTR superiores levam normalmente a fenótipos de FQa (Weiss, Simon et al. 2005).

No Quadro III é possível observar algumas das mutações associadas a cada classe e possível fenótipo clínico.

**Quadro III** – Classes de mutações e possível fenótipo associado. Adaptado de Southern 2007; Oller de Ramirez, Ghio *et al.* 2008.

Classe da mutação	Mutações do CFTR	Possível fenótipo associado
Classe I	G542X	Fenótipo de FQ típica
Classe II	Phe508del R1066C A561E	Fenótipo de FQ típica
Classe III	G551D	Fenótipo de FQ típica
Classe IV	R117H R334W	Associados a pâncreas funcionante
Classe V	Variante 5t da região poli T do intrão 8 3272-26 A>G	Associadas a fenótipos ligeiros e doença de órgão único, como ausência congénita de vasos deferentes.
Classe VI	Q1412X, 4326delTC	Associadas a fenótipos ligeiros e doença de órgão único, como ausência congénita de vasos deferentes.

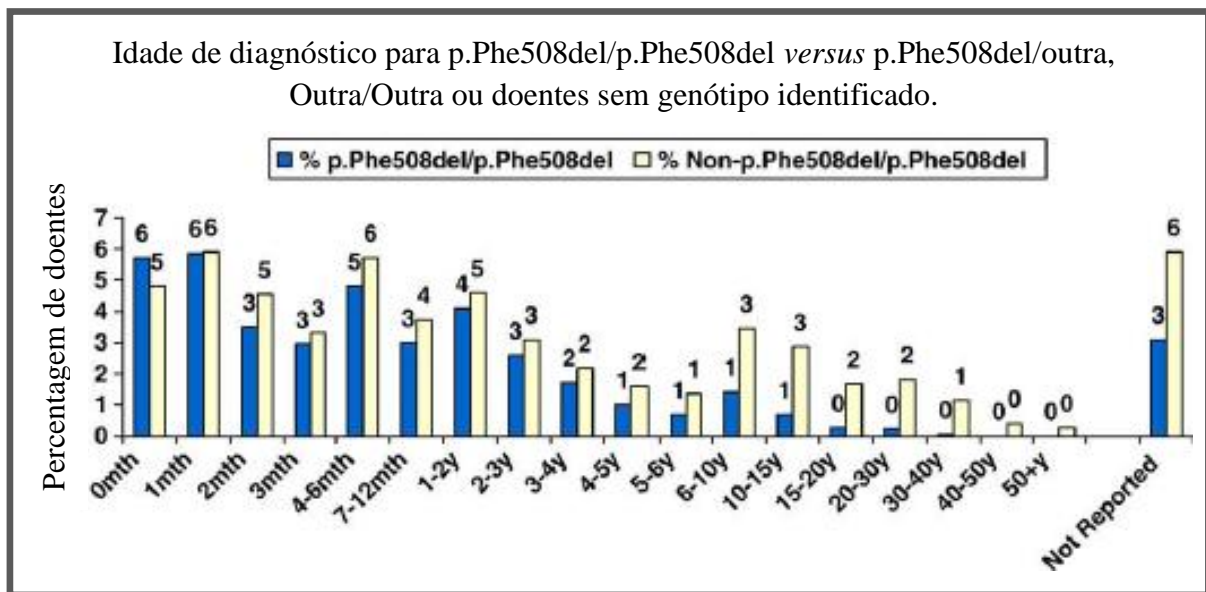
Ainda que o genótipo possa ser classificado em grave ou ligeiro, isso não se correlaciona linearmente com o fenótipo uma vez que para este contribuem também outros factores, desde influências ambientais a genes modificadores e contribuições funcionais de outras mutações relacionadas com o CFTR ou não (Farez-Vidal, Gomez-Llorente *et al.* 2008). Como exemplo, foram descritos casos de mutações graves, classe I e II, cujo fenótipo de apresentação ocorreu apenas na idade adulta, presumivelmente devido ao efeito modificador do factor transformador do crescimento  $\beta 1$  (Keating, Liu *et al.* 2010).

A mutação mais frequente a nível mundial é a phe508del. Esta consiste numa deleção de três pares de bases, ou seja, a deleção de um codão, que resulta na perda de um resíduo de fenilalanina na posição 508 da proteína. Ainda não se sabe bem o motivo pelo qual ela é tão

prevalente, mas pensa-se que estará relacionado com um factor de vantagem contra doença diarreica grave como a cólera (de Gracia, Mata et al. 2005).

Um estudo que tinha por população alvo 93 argentinos não consanguíneos verificou esta tendência de prevalência de mutações, estando a mutação phe508del presente em 59,7% dos pacientes em estudo (Oller de Ramirez, Ghio et al. 2008).

De todas as mutações conhecidas do CFTR, a phe508del é provavelmente a mais estudada e relatada. Dependendo da existência desta mutação em homozigotia ou em heterozigotia, podemos antever, de forma relativa, se a doença se manifestará precocemente ou tardiamente, como se pode observar na figura 1.



**Figura 1** – Idade de diagnóstico de FQ consoante o genótipo apresentado. Adaptada de Mehta, Macek *et al.* 2010.

Os dados apresentados na Figura 1 estão de acordo com um estudo realizado por Huber *et al.* no qual foi possível verificar que com o aumento da idade de diagnóstico a proporção de



heterozigóticos para a mutação phe508del aumentou e a de homozigóticos diminuiu (Huber, Krueger et al. 2010).

Para além da mutação phe508del, as mutações pG654X, p551D, pN1303K e pW1282X são também bastante comuns e todas elas podem apresentar diferentes frequências em grupos étnicos e localizações geográficas distintas. As restantes mutações identificadas são raras e geralmente limitam-se a uma região geográfica ou têm manifestação familiar exclusiva (Rowntree and Harris 2003; Oller de Ramirez, Ghio et al. 2008).

Os Judeus Ashkenazi são a única população onde a mutação phe508del não é a mutação mais comum causadora de FQ. Nesta população, 50% dos indivíduos têm a mutação W1282X.

Como já foi referido, algumas mutações do CFTR estão relacionadas com fenótipos mais leves de FQ, nomeadamente as de classe IV, V e VI. Estas são fenotipicamente dominantes quando ocorrem em combinação com mutações de classe I, II e III (Castellani, Cuppens et al. 2008) o que explica o porquê da ocorrência destes genótipos se associar a fenótipos leves de doença.

Uma das mutações mais frequentemente implicadas nestes fenótipos ligeiros é a variante 5T da região poliT do intrão 8. Esta é uma mutação classe V que pode levar a fenótipos menos graves de FQ quando em heterozigotia composta com uma mutação grave e está associada a FQ atípica quando em homozigotia (Narzi, Ferraguti et al. 2007).

Esta variante 5T é comum na população em geral, com uma frequência de 5% (Lyon and Miller 2003; Van Hoorenbeeck, Storm et al. 2007) e diz respeito ao número de resíduos de timidina no intrão 8. Neste caso, a existência de apenas 5 repetições leva ao *splicing* anormal do exão 9, com níveis de produção anómalos de proteína CFTR normal (Figura 2) (Narzi, Ferraguti et al. 2007).

Um número de resíduos de timidina de 7 ou 9 normalmente não altera significativamente o *splicing* (Lyon and Miller 2003; Groman, Hefferon et al. 2004).

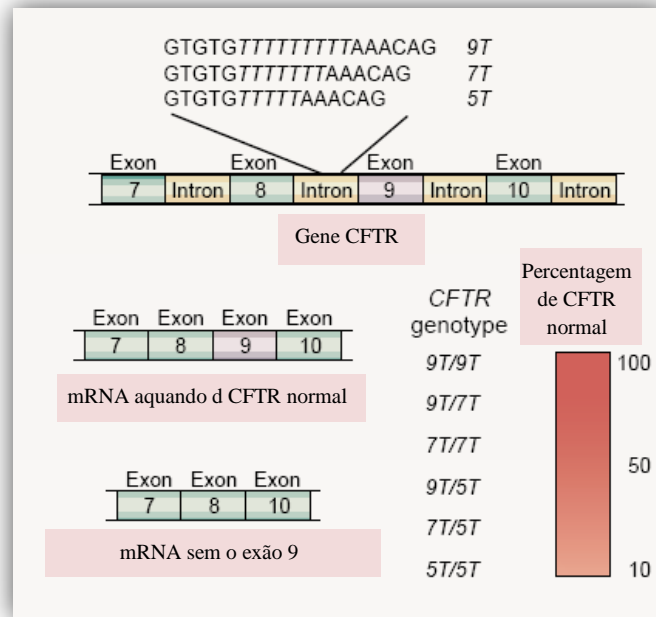
Uma outra mutação geralmente associada a fenótipos brandos de doença é a mutação R117H (uma mutação *missense* classe IV). Esta associa-se a um largo espectro de manifestações clínicas que vão desde a ausência de clínica de FQ à doença pulmonar supurativa. A manifestação clínica desta mutação depende em muito de outras alterações genéticas associadas, facto que já foi relatado em alguns estudos particularmente em relação à associação com as variantes da região poliT no intrão 8 do gene do CFTR (Kiesewetter, Macek et al. 1993; Massie, Poplawski et al. 2001; Farez-Vidal, Gomez-Llorente et al. 2008). De facto, a associação R117H/7T causa somente ABCVD e a associação R117H/9T não tem expressão clínica.

Outras mutações como a 621+3A>G já foram implicadas no fenótipo de FQ; no entanto, num estudo recente, verificou-se que esta mutação em particular ainda permite a síntese de quantidades significantes de proteína funcional do CFTR e permite a ausência de clínica em indivíduos heterozigóticos compostos (ex. 621+3A>G/Q552X).

São necessários mais estudos para verificar se esta mutação pode estar implicada em fenótipos de FQa, como sejam a ABCVD (Forzan, Salviati et al. 2010).

De uma forma geral são muitas as mutações do CFTR já identificadas e provavelmente muitas ainda estarão por identificar. Ainda que para alguns tipos de mutações se possa dizer que se associam a fenótipos de FQ típica ou atípica, esta relação nem sempre pode ser feita.

A expressão fenotípica de determinado genótipo é influenciada por múltiplos factores, desde outras modificações genéticas do CFTR a factores ambientais e, como tal, tentar inferir uma relação de causa-efeito pode levar a assumpções erradas com potencial dano nos cuidados prestados ao doente.



**Figura 2** – Variantes da região poliT no intrão 8 do CFTR e os seus efeitos ao nível do mRNA. Adaptado de Chillon, Casals *et al.* 1995.

### 6.3. Diagnóstico

O teste de suor por iontoferese quantitativa com pilocarpina é o método preferencial para o diagnóstico de FQ. Foi desenvolvido por Gibson e Cooke em 1959 e desde então tem sido o *gold standard* para efeitos diagnósticos (Rosenstein and Cutting 1998).

A solução precursora do suor excretada pelas glândulas sudoríparas é isotónica em relação ao plasma tanto em indivíduos com FQ como em indivíduos normais. No entanto, no indivíduo normal, à medida que esta solução percorre os ductos glandulares, ocorre reabsorção de cloro e sódio, de modo que no que concerne as concentrações de cloro e sódio é hipotónica quando chega á superfície. Nos indivíduos com FQ, dada a disfunção do CFTR, a solução é rica em iões de cloreto e sódio e é este mecanismo fisiopatológico que constitui a base do teste de suor.

Este teste pode ser efectuado a partir das 2 semanas de vida, em recém-nascidos com mais de 3 kg bem hidratados e sem doença significativa, devendo ser adiado quando estas condições não se verificam (De Boeck, Wilschanski et al. 2006). Em alternativa ao teste de suor, nos recém-nascidos pode efectuar-se um *screening* neonatal baseado na detecção de tripsinogénio imunoreactivo (IRT). Este apresenta-se caracteristicamente elevado em crianças com FQ, ainda que também possa ser encontrado em crianças normais; no entanto, nestas há uma normalização dos valores nas primeiras semanas de vida (Crossley, Smith et al. 1981).

Dado que o teste de suor só poder ser aplicado a crianças com mais de duas semanas e que nas formas atípicas da doença os valores de suor são muitas vezes normais ou *borderline* sendo normalmente diagnosticadas na idade adulta, Narzi *et al.* realizaram um estudo clínico no qual tentaram demonstrar a utilidade de um protocolo diagnóstico, aplicável no período neonatal, que pudesse demonstrar a presença de FQa.

Este protocolo incluía duas medições de IRT e uma análise genética que incluía 31 mutações.

Um primeiro teste de IRT era feito e caso fosse positivo levava à realização de uma análise genética. Posteriormente seria realizado um segundo teste de IRT para verificar se existia hipertripsinémia persistente. Foi feito um *follow-up* de 4 anos e verificou-se que algumas destas crianças desenvolviam sintomas de FQ frustres, o que levou à conclusão de que este protocolo seria adequado para o *screening* neonatal de formas atípicas (Narzi, Ferraguti et al. 2007). Ainda que com resultados promissores, são necessários mais estudos antes da aplicação clínica prática deste protocolo.

No teste de suor, a medição concomitante da concentração do ião sódio actua como medida de controlo de qualidade e não deve ser utilizada isoladamente. A concentração de ião cloreto é tipicamente superior à do ião sódio na FQ, verificando-se o inverso em pessoas sem FQ.

Para realização desta técnica, o suor deve ser colhido durante 30 minutos em gaze ou papel de filtro previamente pesado e com baixa concentração de cloreto de sódio. É necessária uma taxa mínima de  $1\text{g}/\text{m}^2/\text{minuto}$  e, como tal, um volume de suor de 50 a 100 ml é normalmente o adequado (De Boeck, Wilschanski et al. 2006).

Existem actualmente outros métodos para colectar suor como, por exemplo, através de um *microbore tube* (Wescor), mas a estimulação continua a ser feita por iontoferese com pilocarpina.

Na FQa, a classe de mutações associada condiciona normalmente a existência de um CFTR com função parcial/residual e, como tal, o teste de suor pode ser normal ou *borderline*. O teste de suor, tal como outros testes, deve ser sempre interpretado consoante o contexto clínico e confirmado com uma segunda medição que, idealmente, deve estar separada no tempo por um período de semanas.

Tendo em conta que outros métodos auxiliares do diagnóstico nem sempre estão disponíveis de imediato, o diagnóstico da forma atípica assenta muito na clínica da doença e respectivo seguimento (Alghisi, Angioni et al. 2008). No entanto, sempre que o teste de suor resultar em

valores *borderline* inconclusivos e outras técnicas estiverem disponíveis, estas devem ser utilizadas (Rosenstein and Cutting 1998).

Uma técnica electrofisiológica de medição directa da disfunção do CFTR aceite actualmente é a medição da diferença de potencial nasal. Ao contrário do que acontece na glândula sudorípara, no epitélio nasal e noutros epitélios a activação do CFTR inibe a acção do canal de sódio (Tarran, Button et al. 2006). Como na FQ a acção deste canal se encontra deficitária vai-se verificar o oposto, ou seja, vai existir uma absorção de sódio aumentada no epitélio nasal.

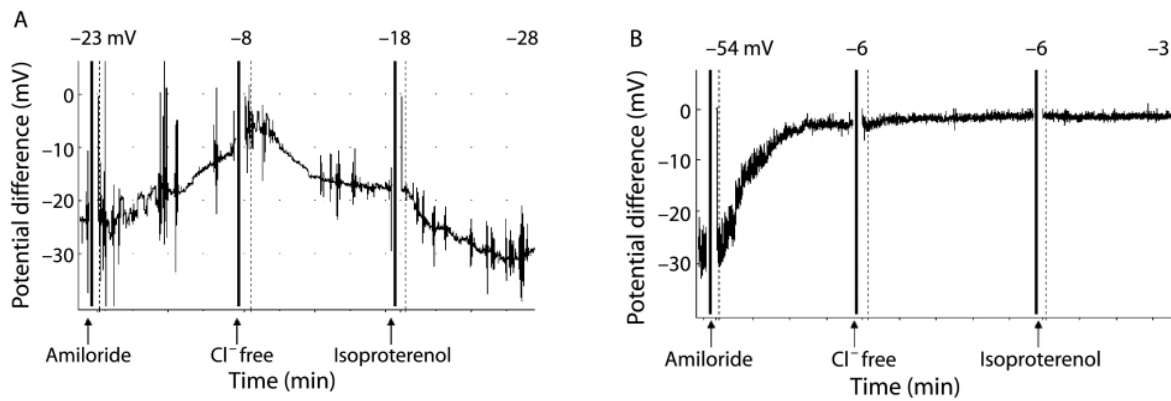
O aumento transepitelial da absorção de sódio é reflectido no teste de medição da diferença de potencial nasal por uma negatividade e resposta ao fármaco bloqueador do canal de sódio, o amiloride, aumentadas.

O defeito no transporte de cloro é demonstrado pela perfusão de uma solução com baixos níveis de cloro na presença de amiloride, com perfusão subsequente de isoproterenol, um agente simpaticomimético que aumenta a condutância do cloro de um modo dependente do AMPc e permite verificar deste modo se o CFTR está activo no epitélio. Durante estes procedimentos, a diferença de potencial nasal vai sendo registada com recurso a dois eléctrodos, um colocado no epitélio nasal e um segundo eléctrodo de referência colocado subcutaneamente ou directamente na pele após ligeira abrasão. Ambas as perfusões provocam uma resposta diminuída e transitória nos doentes com FQ em contraste com a resposta rápida e mantida observada em indivíduos saudáveis. O potencial nasal de indivíduos normais situa-se normalmente entre os -15 e os -25 mV (Boyle 2003).

Num indivíduo com FQ, o resultado deste teste demonstrará um potencial nasal em repouso mais negativo que o normal sendo que esta negatividade diminui abruptamente após adição de amiloride, não havendo resposta aquando da infusão da solução estimuladora de secreção de cloro (isoproterenol) (Figura 3).

Este teste de medição electrofisiológica da disfunção do CFTR é utilizado com intuito diagnóstico especialmente quando os valores no teste de suor são inconclusivos. Para além de adjuvar no diagnóstico, seria interessante utilizar este teste para evidenciar a possível existência de uma relação entre as medições de potencial nasal e o genótipo e fenótipo clínicos dos doentes. Com este intuito, Fajac *et. al.* realizaram um estudo num grupo de 79 adultos com FQ e verificaram que existiam diferenças estatisticamente significativas entre o grupo de doentes com genótipo classificado como grave e o grupo com genótipo classificado como leve (Fajac, Hubert et al. 2004). Os doentes com genótipos graves apresentavam maior negatividade dos níveis de potencial nasal. No entanto, não havia diferença entre os grupos nas respostas às soluções perfundidas. Apesar dos resultados obtidos, serão necessários mais estudos nesta área que identifiquem de modo claro diferenças entre as medições da diferença de potencial nasal e a correlação com os diferentes genótipos e seus fenótipos clínicos.

Ainda que este teste tenha validade comprovada e seja útil, nomeadamente em casos inconclusivos no teste de suor como acontece frequentemente em indivíduos com FQ atípica, este é um teste muito dependente da perícia de quem o executa e, como tal, deve ser efectuado em centros especializados e por clínicos com experiência reconhecida (Dalcin Pde and Abreu 2008). De referir ainda, que para além da exigência técnica, este teste pode estar alterado sempre que existir inflamação do epitélio nasal.



**Figura 3** – Gráficos ilustrativos da medição da diferença de potencial nasal num indivíduo saudável (A) e num indivíduo com FQ (B). Adaptado de De Boeck, Wilschanski *et al.* 2006.

Como alternativa ao potencial nasal, pode ser efectuada uma medição electrofisiológica semelhante em peças de biopsia intestinal de mucosa rectal ou jejunal; no entanto, a exigência técnica deste método é ainda superior à necessária para a realização da diferença de potencial nasal, utilizando-se mais em contexto de investigação e não se incluindo ainda em algoritmos diagnósticos.

Para além destas técnicas, são também utilizadas técnicas laboratoriais genéticas para a detecção de mutações. Existem alguns painéis pré-definidos das mutações a testar e estes incluem, normalmente, apenas as mutações mais comuns.

De entre os métodos complementares de diagnóstico que visam a análise do genoma, podemos dizer que estes variam desde painéis de detecção de mutações feitos para detectar as mutações mais comuns, até protocolos de sequenciamento genético extensivo de forma a detectar novas mutações e rearranjos genéticos. De notar, no entanto, que mesmo os testes de sequenciamento mais exaustivos e elaborados não conseguem detectar todos os alelos alterados existentes na maioria das populações com FQ (Castellani, Cuppens *et al.* 2008).

Na Figura 4 apresenta-se um algoritmo de diagnóstico de FQ no qual é possível observar o uso sequencial de métodos complementares de diagnóstico.



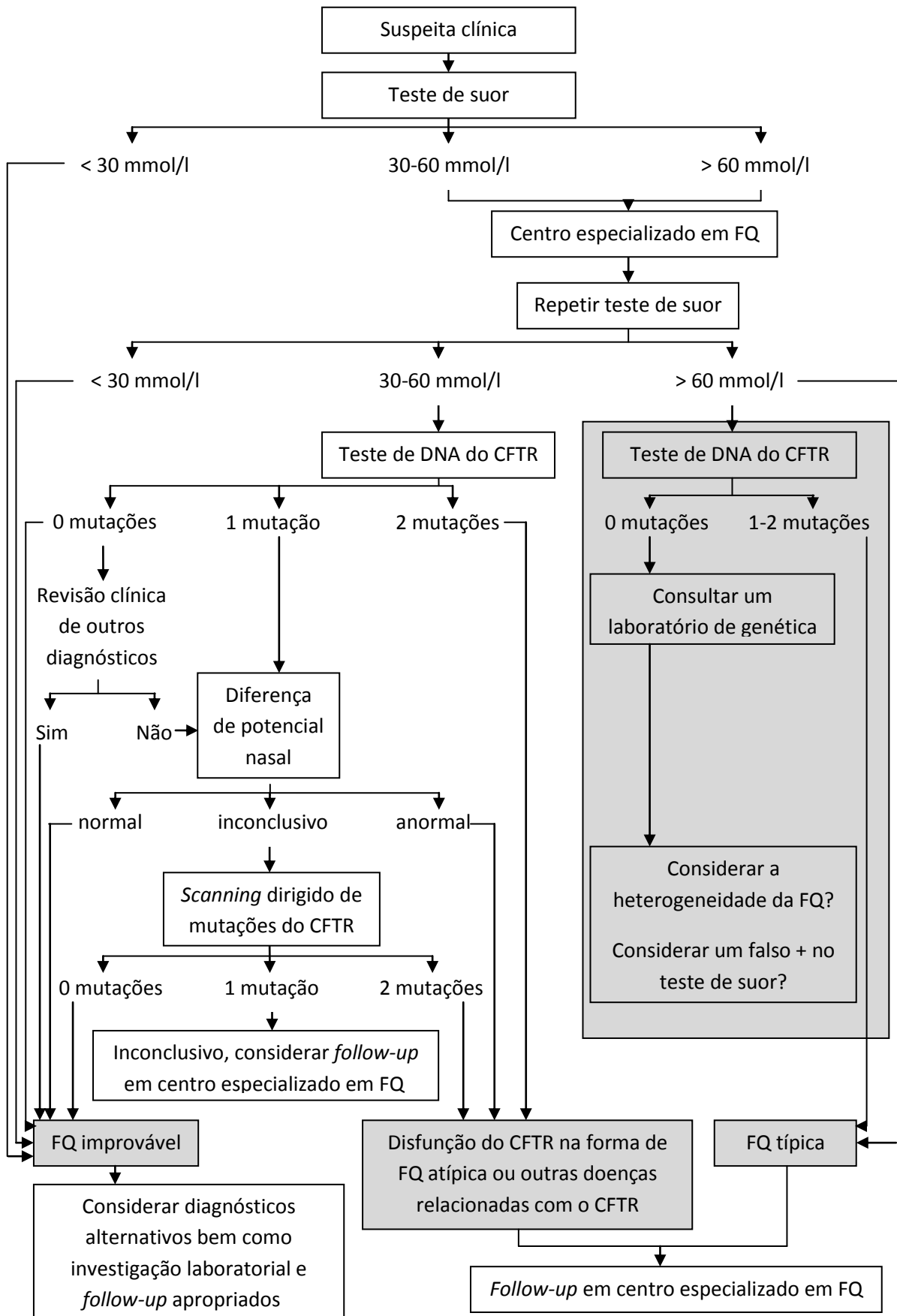


Figura 4 – Algoritmo de diagnóstico de FQ. Adaptado de De Boeck, Wilschanski *et al.* 2006.

#### 6.4. Manifestações clínicas

Ainda que o CFTR esteja amplamente distribuído pelo organismo humano, alguns órgãos são, tipicamente, mais afectados do que outros. Isto deve-se à sensibilidade de cada órgão à mutação do CFTR e à quantidade de proteína funcional que esta condiciona.

O órgão mais afectado é, usualmente, o pulmão. De facto, os problemas respiratórios dominam o quadro clínico dos doentes com FQ e são responsáveis por cerca de 95% da morbidade e mortalidade destes doentes (Morrissey, Schock et al. 2003).

No pulmão, a disfunção do CFTR leva à alteração da composição dos fluidos da superfície celular, com depleção dos mesmos. Os fluidos de superfície das células do epitélio respiratório são essenciais para o suporte e estabilidade da função ciliar e a sua disfunção leva a um colapso da função ciliar e transporte mucociliar diminuído (Ratjen 2009).

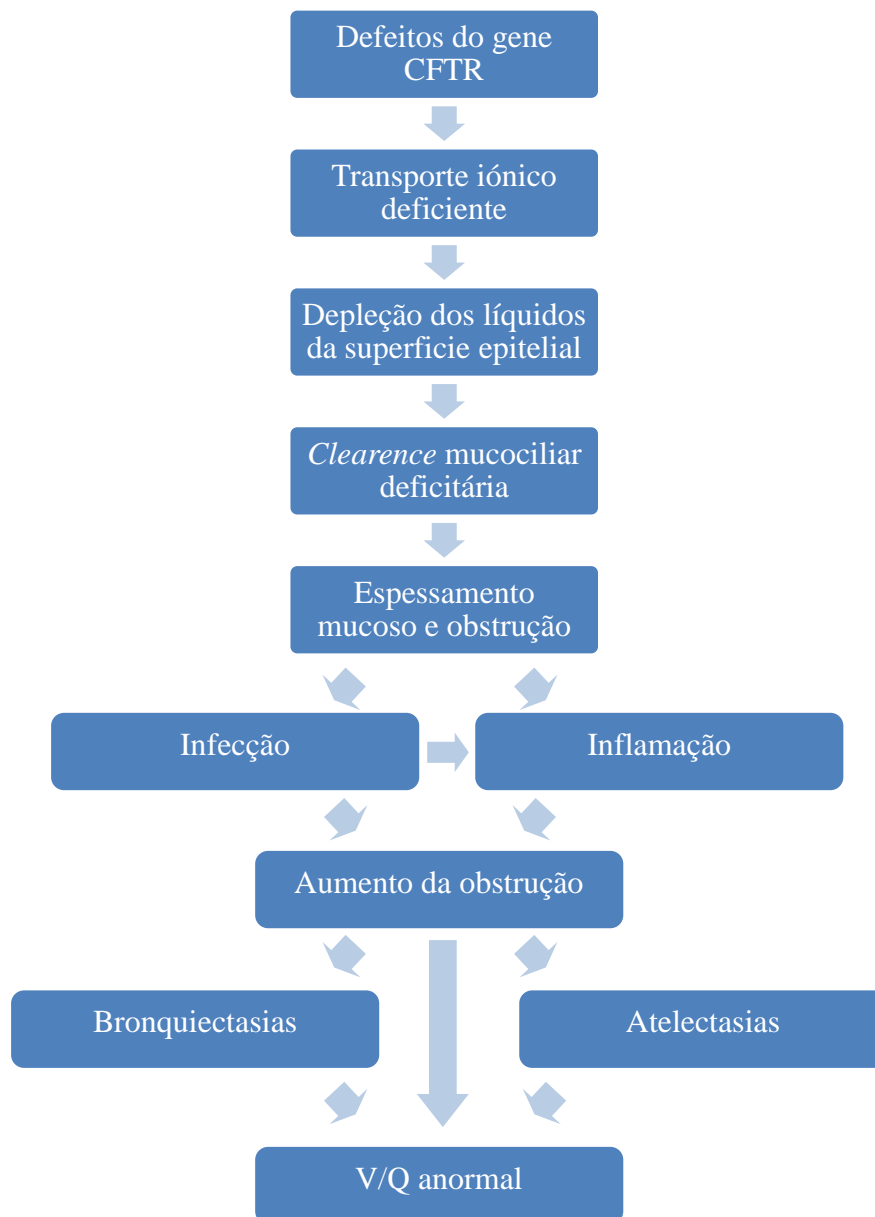
De uma forma geral, a diminuição da secreção de cloreto e água pelas células epiteliais leva a desidratação do muco com aumento da sua viscosidade. Adicionalmente, a perda de função do CFTR aumenta a actividade do canal de sódio que, por si só, também altera a regulação de iões e água, o que contribui ainda mais para a obstrução por muco.

O CFTR pode também funcionar a nível das membranas intracelulares e aqui alterar a localização de glicosiltransferases. Estas alterações podem ter impacto na interacção entre o epitélio e as bactérias e nas funções imunes do pulmão (Fishman 2008).

Na figura 5 pode visualizar-se um fluxograma ilustrativo do mecanismo de lesão pulmonar.

O conjunto de alterações que ocorre a nível pulmonar predispõe a eventos infecciosos e inflamatórios com dano progressivo dos pulmões os quais, geralmente, não retornam ao seu estado inicial, ou seja, não retornam ao estado prévio à agressão. Agressões recorrentes levam à formação de tecido cicatricial fibrótico, bronquiectasias (Figura 6), atelectasias ou uma combinação destas e, a cada recorrência infecciosa ou inflamatória, a lesão pode aumentar dando um carácter progressivo e fatal à doença (Fishman 2008; Marshall 2010).

Sabe-se actualmente que, principalmente a nível pulmonar, o dano pode já existir mesmo quando ainda não existem manifestações clínicas da doença.



**Figura 5** – Mecanismo de lesão pulmonar em que V/Q significa razão entre ventilação e perfusão pulmonares. Adaptada de Ratjen *et. al.* 2009 com apoio bibliográfico de Fishman 2008.



**Figura 6** - Secção de pulmão de um doente com FQ onde é possível observar o alargamento das vias aéreas com preservação relativa do parênquima envolvente. Adaptada de Fishman 2008.

A função pulmonar pode ser verificada com recurso à espirometria. Esta prova de função pulmonar, nomeadamente o parâmetro  $FEV_1$  (*Forced expiratory volume in first second*) nela avaliado, pode dar-nos uma ideia da repercussão funcional da doença bem como da sua progressão. De notar, no entanto, que os parâmetros das provas de função respiratória podem estar normais e já existir lesão pulmonar.

De um modo geral, podemos dizer que um  $FEV_1$  superior ou igual a 90% indica função pulmonar normal; um  $FEV_1$  compreendido entre 70 e 89% indica disfunção pulmonar ligeira; um  $FEV_1$  compreendido entre 40 e 69% indica disfunção pulmonar moderada e um  $FEV_1$  inferior a 40% indica disfunção pulmonar grave (Marshall 2010).

Na FQ existe um conjunto de alterações fisiopatológicas que levam à alteração das barreiras de protecção, podendo instalar-se uma infecção bacteriana persistente e que resulta num ciclo vicioso de infecção – lesão da via aérea – infecção.

Entre os microorganismos frequentemente isolados a partir das vias aéreas de doentes com FQ, encontramos alguns microorganismos responsáveis por infecções respiratórias comuns na infância, entre eles o *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus Influenza*, *Moxarella catarrhalis* e um microorganismo menos comum em indivíduos saudáveis mas muito comum no doente com FQ – *Pseudomonas aeruginosa* (PA). Este microorganismo está presente nas vias aéreas de grande parte dos doentes com FQ típica e atípica e o motivo pelo qual ele subsiste ainda não está bem esclarecido; no entanto, supõe-se que este facto tenha ligação com a mudança fenotípica que a PA atravessa quando está na via aérea destes doentes (Southern 2007). Por outro lado, as alterações na *clearence* pulmonar alteram, também, a eliminação da PA, que não é completamente eficaz, nem mesmo sob terapêutica antibiótica.

As intercorrências infecciosas podem manifestar-se por clínica sugestiva de infecção, com sinais sistémicos como febre, ou podem ter manifestações mais frustres como sejam aumento ligeiro de tosse e de expectoração ou perda de apetite. Tendo em conta o disposto anteriormente, é então necessária atenção redobrada de modo a diagnosticar estas intercorrências rapidamente e instituir terapêutica precoce, diminuindo assim a probabilidade de redução da função pulmonar e a morbilidade da doença.

As intercorrências inflamatórias e infecciosas são um evento major na determinação de lesão estrutural pulmonar que posteriormente leva a deterioração funcional. No entanto, existem outros factores que podem influenciar o declínio funcional pulmonar como, por exemplo, um ambiente poluído por fumo de tabaco ou má nutrição.

A relação entre nutrição e função pulmonar é evidente tanto em crianças como em adultos, mas toma especial relevo nas crianças, cujo desenvolvimento ainda está a decorrer. Para

monitorizar a nutrição da criança e também do adulto, pode utilizar-se o índice de massa corporal (IMC), que no caso das crianças deve ser interpretado de acordo com curvas de percentis adequadas. O objectivo é que o IMC dos doentes seja equiparável ao considerado normal para indivíduos da mesma idade e sexo (Marshall 2010).

Ainda que o pulmão seja, normalmente, o órgão mais atingido na FQ, também noutros órgãos a existência de secreções anormais leva a disfunção orgânica; a obstrução dos ductos exócrinos por fluidos de viscosidade aumentada exerce, assim, um papel cardinal na maioria das manifestações da doença.

Em 10 a 20% dos recém-nascidos com FQ a manifestação inicial da doença é o íleus meconial, ou seja, obstrução do intestino por fezes viscosas e espessas. Insuficiência pancreática com má absorção de gorduras e proteínas, doença hepática com colestase por cirrose biliar focal e infertilidade no homem por azoospermia obstrutiva devida a ABCVD, são outras das manifestações decorrentes do mecanismo fisiopatológico descrito anteriormente. A cirrose biliar focal pode ocorrer precocemente na infância e pode progredir para cirrose difusa e hipertensão portal.

O único local onde a obstrução dos ductos exócrinos não parece exercer um papel decisivo na patogénese é na glândula sudorípara (Fishman 2008).

Para além dos problemas orgânicos enunciados anteriormente, existem outros que surgem normalmente relacionados com a doença mas que não são uma manifestação primária desta, como sejam a diabetes relacionada com a FQ, a artropatia ou a depressão.

A depressão surge muitas vezes associada a condições crónicas e a FQ não é excepção, sendo de vital importância o tratamento desta condição pois o bem-estar psíquico contribui em muito para uma boa adesão à terapêutica.

A diabetes relacionada com a FQ é diferente da diabetes dos indivíduos sem FQ e o seu tratamento precoce leva a melhorias nutricionais e da saúde em geral. Ocorre normalmente

em estadios avançados de insuficiência pancreática devido a fibrose que causa destruição dos ilhéus de Langerhans (Castellani, Cuppens et al. 2008).

A prevalência global da diabetes relacionada com a FQ é de cerca de 5% e aumenta à medida que aumenta a idade do doente. Nos indivíduos adultos, a prevalência desta patologia é de 15% a 20% e esta é quase exclusiva dos doentes insuficientes pancreáticos, tendo associação forte com mutações de classe I, II ou III, ou seja ocorre mais frequentemente em doentes com FQ típica (Rosenecker, Eichler et al. 1995; Koch, Cuppens et al. 2001; Castellani, Cuppens et al. 2008).

Como referido anteriormente, algumas das manifestações clínicas da doença atípica podem ser sobreponíveis à da doença clássica ou típica, nomeadamente as infecções respiratórias recorrentes mas, estes indivíduos, ao contrário dos que têm doença típica, têm normalmente um pâncreas funcionante. Desta maneira, estão mais predispostos à ocorrência de pancreatites recorrentes, que são, em muitos casos, a clínica de apresentação que desperta a suspeita clínica de FQ atípica (Chawla, Turcotte et al. 2010).

Devido à natureza progressiva do dano pancreático, mesmo doentes com suficiência pancreática podem, mais tarde, desenvolver insuficiência pancreática com défice enzimático importante.

A deficiência em enzimas pancreáticas é um importante factor responsável pela má absorção observada nos indivíduos com FQ. Ainda que seja um factor crucial, não é o único a contribuir para a má absorção pois outra importante consequência do dano pancreático é a deficiência em bicarbonato, com diminuição na capacidade de tamponar o influxo gástrico ácido no duodeno (Robinson, Smith et al. 1990). Estas alterações do pH no lúmen duodenal resultam em redução da eficácia das enzimas pancreáticas endócrinas e exócrinas, com precipitação dos sais biliares e agravamento da má absorção.

Sem tratamento a má absorção de gorduras e azoto é grave e a absorção de hidratos de carbono também se encontra alterada, ainda que em menor extensão.

Para além de pancreatite recorrente, existem outras manifestações que podem aumentar a suspeita diagnóstica tais como cirrose biliar focal, hipertensão portal, sinusite crónica, polipose nasal, alcalose metabólica com desidratação e infertilidade secundária à ausência congénita de vasos deferentes.



## 6.5. Manifestações clínicas mais comuns na FQa

### 6.5.1. Ausência bilateral congénita de vasos deferentes (ABCVD)

Azoospermia obstrutiva por ABCVD é virtualmente universal nos doentes com FQ pelo que é possível depreender que os vasos deferentes são extremamente sensíveis à disfunção do CFTR.

A ABCVD pode surgir como doença de órgão único, sendo este quadro clínico uma das manifestações monossintomáticas mais comuns na FQa, ou pode também estar integrada num conjunto mais amplo de manifestações de doença.

A ABCVD impede o transporte dos espermatozóides dos testículos e epidídimo para os vasos deferentes, resultando em infertilidade. Apesar da obstrução, estes indivíduos têm uma espermatogénese normal (Kerem 2006).

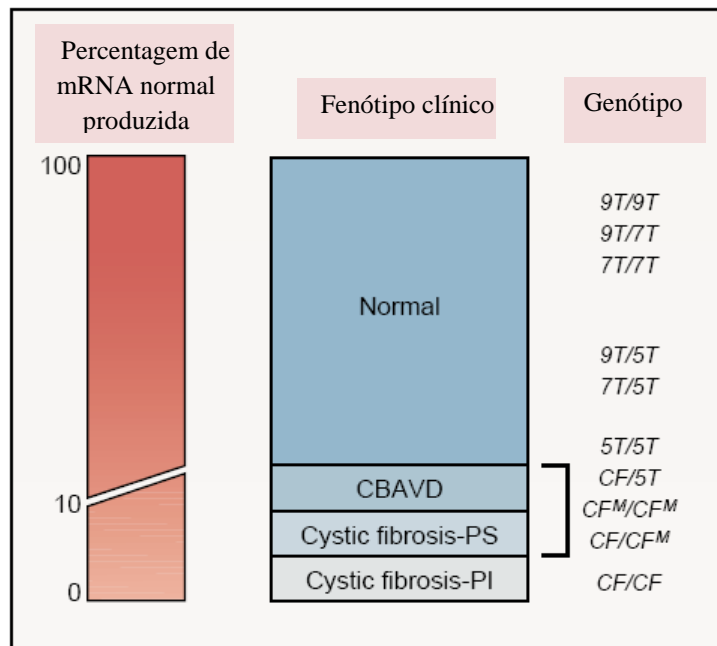
O mecanismo pelo qual se desenvolve a ABCVD ainda não está totalmente esclarecido. No entanto, pensa-se que a existência de secreções espessas pode contribuir para a obstrução destes canais *in útero* o que levará à falência no desenvolvimento dos mesmos.

Aproximadamente 70% dos doentes com ABCVD possuem uma mutação conhecida do CFTR e cerca de 10% possuem duas mutações conhecidas (Weiss, Simon et al. 2005). A incapacidade de detecção de duas mutações nestes doentes, mesmo após análise genética exaustiva, pode ser explicada pela presença de mutações na região não codificante do gene, que por vezes não é analisada. Pensa-se que estas mutações levem à produção de níveis baixos de proteína CFTR funcionante, com obstrução dos vasos deferentes, mas que é suficiente para não causar doença clínica noutros órgãos normalmente afectados (Chillon, Casals et al. 1995).

Foram encontradas múltiplas mutações do CFTR em indivíduos com ABCVD. Um exemplo característico é a combinação de R117H (uma mutação classe V) em *cis* com a variante 7T da região poli T do intrão 8 (Noone and Knowles 2001). A combinação da variante 5T com uma

outra mutação causadora de FQ parece também estar associada a este fenótipo, tendo normalmente outras alterações fenotípicas associadas (Chillon, Casals et al. 1995).

Na figura 7 podemos observar as percentagens de mRNA normal produzidas pelo CFTR, os fenótipos clínicos e genótipos associados.



**Figura 7** - Percentagens de mRNA normal produzido, consoante o genótipo e fenótipos clínicos associados. Os genótipos paralelos ao símbolo ] são os normalmente implicados na FQa. Adaptada de Chillon, Casals *et al.* 1995.

Testes genéticos de rotina que incluam apenas as mutações mais comuns podem não detectar as mutações mais raras por vezes associadas a este fenótipo da doença (Mak, Zielenski et al. 1999).

Muitos destes doentes não têm evidência de falência em mais nenhum órgão mas, após inquérito cuidadoso, alguns revelam ter sinusite ou sintomas pulmonares (Wallis 2003). Deste modo, é aconselhável o seguimento atento destes doentes, pois podem desenvolver outras manifestações fenotípicas de FQ.

### 6.5.2. Pancreatite crónica ou aguda recorrente

Na população em geral, a pancreatite crónica associa-se mais comumente a abuso crónico de álcool ou a doenças metabólicas. Nos doentes em quem todas as causas conhecidas foram excluídas é feito o diagnóstico de pancreatite idiopática. Neste grupo, foram encontrados três genes potencialmente envolvidos na sua patogenia. Aquele com maior penetrância fenotípica foi o gene do tripsinogénio catiónico, também associado a pancreatite hereditária. Os outros dois genes implicados são o gene da serina protease e o gene do CFTR.

A suspeita de que o CFTR possa ter um papel no desenvolvimento de pancreatite é confirmada por vários estudos que descrevem que as células epiteliais ductais são o local predominante de localização do CFTR no pâncreas e que nesta doença pancreática o achado patológico precoce mais comum é precisamente a obstrução ductal por secreções de viscosidade aumentada que se sabe serem consequência da disfunção do CFTR (Oppenheimer and Esterly 1975; Marino, Matovcik et al. 1991; De Angelis, Valente et al. 1992).

Em 2005, Weiss *et al.* concluíram um estudo no qual sequenciaram a totalidade da região codificante do gene do CFTR em indivíduos com pancreatite idiopática e, usando como controlos indivíduos da mesma área geográfica e etnia, verificaram que tanto os heterozigóticos compostos como os portadores de mutações ligeiras, incomuns (sem critérios de diagnóstico de FQ) estavam em risco de desenvolver pancreatite crónica (Weiss, Simon et al. 2005), Weiss *et al.* verificaram ainda que se para o estudo tivessem sido utilizados os painéis genéticos normais, que apenas contemplam as mutações mais comuns, 2/3 da sua população em estudo não seria identificada.

Ainda que a pancreatite seja incomum em doentes com FQ típica dado a maioria ter insuficiência pancreática, na FQa a sua incidência parece estar aumentada pois os doentes têm muitas vezes um pâncreas funcionante, o que os coloca em maior risco de desenvolver pancreatite (Castellani, Cuppens et al. 2008).

A insuficiência pancreática é menos frequente à medida que a idade de diagnóstico de FQ aumenta, o que vai de encontro à faixa etária de diagnóstico da FQa. Este facto foi relatado por Zielenski *et al.* que encontraram percentagens de insuficiência pancreática de 88,5% em indivíduos com <12 anos, 63,7% em indivíduos com idades compreendidas entre os 12 e os 18 anos e 42,2% nos indivíduos diagnosticados com mais de 18 anos (Zielenski 2000; Keating, Liu et al. 2010).

Facilmente se compreende, então, que algumas pancreatites de causa desconhecida (pancreatite idiopática) sejam na verdade causadas por disfunção do CFTR. De facto, a pancreatite recorrente em doentes com FQ com suficiência pancreática pode ser a única expressão de disfunção do CFTR, particularmente quando a mutação associada é a variante 5T (Lotem, Barak et al. 2000).

### **6.5.3. Rinossinusite crónica**

A disfunção do CFTR predispõe à produção de muco com uma viscosidade 30 a 60 vezes superior à normal. O muco viscoso acumula-se condicionando obstrução dos ostia dos seios nasais. Como consequência, surgem baixos níveis de O<sub>2</sub> e altos níveis de CO<sub>2</sub> nos seios nasais, o que causa um edema mucoso e discinesia ciliar secundária, culminando em sobrecrecimento bacteriano e, por fim, rinossinusite crónica.

A rinossinusite crónica é mais comum como clínica de apresentação da doença nos indivíduos com FQa, mas é um diagnóstico comum tanto em doentes com FQ típica como atípica. Estes dados são comprovados no estudo de Marshak *et al.*, onde 27% dos doentes com FQa, comparados com 2,5% dos doentes com FQ típica manifestaram, como sintomas de apresentação de FQ, rinossinusite crónica ou pólipos nasais obstrutivos (p<0,001). No entanto, este estudo demonstrou também que ainda que a rinossinusite crónica grave tenha sido mais frequentemente encontrada em doentes com FQa, ela é muito comum em ambas as

formas de FQ (43% para a FQa *versus* 33,5% para a FQ) não sendo a diferença estatisticamente significativa, em termos de prevalência da doença em ambas as formas de FQ (Marshak, Rivlin et al. 2011). Um estudo realizado em 42 doentes com rinosinusite crónica atípica (pansinusite difusa purulenta com polipose nasal) encontrou uma frequência de mutações do CFTR superior à da população normal; apenas um cumpria os critérios de FQ típica não se enquadrando os restantes nos critérios de diagnóstico de FQ típica nem FQa. No entanto, a análise genética realizada não procurou mutações na zona promotora do gene nem nas regiões centrais dos intrões, não podendo então excluir que alguns destes indivíduos pudessem cumprir critérios de FQ e FQa (Coste, Girodon et al. 2004).

#### **6.5.4. Desidratação hipoclorémica hiponatrémica com alcalose metabólica**

A alcalose metabólica é uma manifestação conhecida de FQ mas não é comum como manifestação de apresentação em adultos. A maioria dos casos descritos até à data dizem respeito a crianças, embora tenham sido descritos casos em adultos (Dave, Honney et al. 2005).

Quando relatados, estes casos parecem estar associados a situações de exposição a calor ou de elevada exigência física que levam a sudação inapropriada (Smith, Dhath et al. 1995).

Os sinais e sintomas podem ser inespecíficos e normalmente dizem respeito a sudação exagerada, sede intensa, câibras musculares difusas, astenia, cefaleias, vômitos e hipotensão. Associadamente surge hiponatrémia, hipoclorémia e insuficiência renal aguda.

A recuperação é normalmente rápida com a instituição de terapêutica de re-hidratação intravenosa e suplementação electrolítica (Augusto, Sayegh et al. 2008).

A desidratação hipoclorémica hiponatrémica com alcalose metabólica é uma manifestação rara de FQ e a bibliografia existente sobre este tema é escassa, sendo necessários mais estudos

que tentem demonstrar, sem equívoco, uma correlação positiva entre a doença e a FQ típica, atípica e genótipos associados.

#### 6.5.5. Aspergilose broncopulmonar alérgica (ABPA)

A aspergilose broncopulmonar alérgica é um distúrbio inflamatório das vias aéreas relacionado com a produção de IgE e IgG dirigidos contra o *Aspergillus fumigatus*.

Esta doença caracteriza-se por episódios recorrentes de inflamação eosinofílica das vias aéreas associada a eosinofilia sérica, níveis elevados de IgE, rolhões mucóides nos brônquios proximais e infiltrados pulmonares.

O processo inflamatório das vias aéreas pode ter um curso progressivo levando ao desenvolvimento de doença pulmonar crónica com padrão obstrutivo e bronquiectasias proximais. Ainda que se conheçam alguns mecanismos fisiopatológicos envolvidos no desenvolvimento desta entidade, a sua fisiopatologia ainda deriva muito de especulação (Marchand, Verellen-Dumoulin et al. 2001).

Já foram relatados casos de ocorrência familiar de ABPA, (Shah, Khan et al. 1990) o que levanta a suspeita de uma contribuição genética para a patologia. Esta suspeita é também sugerida pela manifestação de um fenótipo semelhante a ABPA em indivíduos com FQ, que se sabe ser causada por mutações genéticas herdadas com um padrão autossómico recessivo (Zeaske, Bruns et al. 1988; Simmonds, Littlewood et al. 1990) e pelo facto de muitos dos doentes com ABPA com bronquiectasias apresentarem a mutação phe508del numa frequência superior à esperada (Marchand, Verellen-Dumoulin et al. 2001).

A ABPA desenvolve-se em cerca de 10 a 20 % dos doentes com FQ, quando níveis elevados de esporos e hifas de *Aspergillus* no tracto respiratório levam à produção de IgE específica e citocinas pró-inflamatórias relacionadas (Ebert and Olivier 2002; Olivier, Weber et al. 2003).

Um estudo realizado por Marchand *et al.* em indivíduos portadores de aspergilose broncopulmonar encontrou uma frequência de mutações do CFTR mais elevada do que o esperado nesta população tendo sido encontrado um doente heterozigótico composto (phe508del/R347H) posteriormente reclassificado como tendo FQa e alguns portadores de uma mutação do CFTR, o que poderia levantar a suspeita de FQa pela possibilidade de serem portadores de uma mutação rara no outro gene. No entanto, como o *screening* do gene do CFTR apenas foi feito utilizando as mutações mais comuns, não foi possível excluir a possibilidade destes indivíduos serem heterozigóticos compostos para mutações do CFTR não identificadas (Marchand, Verellen-Dumoulin et al. 2001).

Apesar da elevada ocorrência de mutações do CFTR nos indivíduos com ABPA, não é possível inferir causalidade com segurança pois, à semelhança do que acontece com a FQ, as causas ambientais estão implicadas no fenótipo, não se sabendo até que ponto o influenciam.

Existe ainda grande controvérsia em relação a esta patologia fazer parte do espectro de FQa ou ser apenas uma doença relacionada com mutações do CFTR, e são necessários mais estudos para se poder inferir causalidade.

#### **6.5.6. Doença pulmonar**

A doença pulmonar nos indivíduos com FQ atípica é usualmente mais leve do que a existente na FQ típica.

Doentes com doença pulmonar ligeira podem não ter manifestações sintomáticas até idades tardias.

Quando a doença se manifesta, normalmente é possível fazer o diagnóstico de FQa através de uma história clínica cuidada e meios laboratoriais apropriados.

A avaliação da função pulmonar pode ser feita com recurso à espirometria e a avaliação radiográfica pode ser realizada com recurso a radiografias torácicas e tomografia computadorizada.

As alterações radiográficas podem ser muito discretas, na forma de espessamento peribrônquico e hiperinsuflação ligeira.

Ainda que não se possa estabelecer uma relação directa entre o tipo de mutações e o fenótipo pulmonar ou a sua evolução, foi encontrada evidência estatisticamente significativa de que os valores da FVC (*forced vital capacity*) e do FEV<sub>1</sub> são significativamente mais elevados nos indivíduos com genótipos I-II/III, I-II/IV e I-II/V do que nos indivíduos com genótipos I-II/I-II. A evolução da doença também se demonstrou significativamente diferente entre indivíduos com genótipos graves I-II/I-II e aqueles com mutações classe III, IV e V em pelo menos um cromossoma. Prevê-se que doentes com mutações classe I e II nos dois cromossomas tenham valores basais de FVC e FEV<sub>1</sub> baixos e diminuição da função pulmonar mais acentuada durante o *follow-up* (de Gracia, Mata et al. 2005).

Ainda que exista esta evidência de relação entre o genótipo, fenótipo e evolução clínica, são necessários mais estudos nesta área dado que os factores contribuintes para a doença pulmonar não se limitam às alterações genéticas.

Deve então salientar-se o facto de que o genótipo não é predictor da gravidade da doença pulmonar nem deve ser usado como indicador de prognóstico (de Gracia, Mata et al. 2005), sendo apenas indicativo de uma possibilidade de prognóstico.

A doença pulmonar nos indivíduos com FQa, apesar de tipicamente mais leve, apresenta similaridades fenotípicas com a FQ típica na medida em que também são comuns as intercorrências infecciosas e é comum a colonização crónica por *Pseudomonas aeruginosa* nas vias aéreas inferiores, existindo alterações radiográficas envolvendo preferencialmente o lobo superior dos pulmões (Noone and Knowles 2001). Estas alterações radiográficas surgem

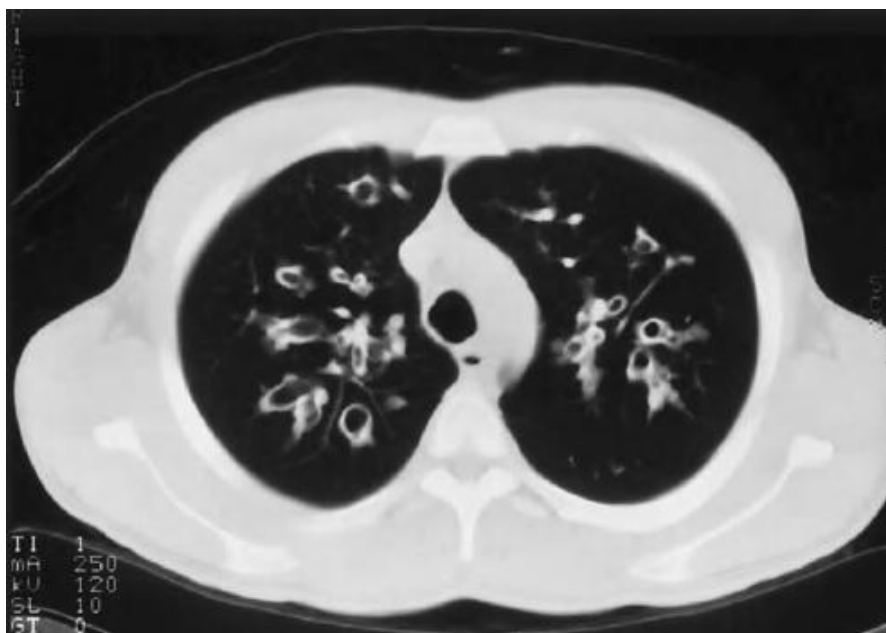


precocemente na forma de hiperinsuflação ligeira e espessamento peribrônquico aos quais se segue o surgimento de alterações quísticas (Figura 8), infiltrados pulmonares, atelectasias e bronquiectasias difusas.

Ainda que a radiografia torácica seja o método mais acessível para avaliar imagiologicamente o pulmão, a sua capacidade é limitada, nomeadamente no que concerne à identificação precoce da presença de bronquiectasias. Para estas, a Tomografia Computorizada (TC) é o método diagnóstico mais sensível (Figura 9). De facto as bronquiectasias são facilmente identificáveis com a TC mesmo quando as radiografias torácicas de rotina ainda são normais.



**Figura 8** – Radiografia torácica de uma doente de 34 anos com FQ e na qual se observa a presença de hiperinsuflação pulmonar ligeira, espessamento peribrônquico e alterações quísticas dos lobos superiores dos pulmões. Adaptada de Fishman 2008.



**Figura 9** - TC de um doente com FQ onde é possível observar a presença de bronquiectasias e espessamento peribrônquico. Adaptada de Fishman 2008.

Ainda que a doença pulmonar em indivíduos com FQa seja geralmente mais ténue, já foram descritos casos de doentes com doença pulmonar grave e cuja expressão fenotípica de FQ noutros órgãos era apenas parcial (Lotem, Barak et al. 2000).

#### **6.5.7. Bronquiectasias pulmonares difusas idiopáticas**

As bronquiectasias pulmonares difusas representam uma anormalidade morfológica associada a infecções pulmonares ou distúrbios genéticos como a discinesia ciliar primária, a deficiência em alfa-1 antitripsina e a FQ.

Ainda que esta condição possa ser atribuída às patologias referidas anteriormente, a verdade é que a sua etiologia permanece por esclarecer num número considerável de adultos (Girodon, Cazeneuve et al. 1997).

Num estudo realizado por Girodon *et al.* numa população de 40 adultos não relacionados entre si com idades compreendidas entre os 22 e os 80 anos e com bronquiectasias difusas de

origem desconhecida, encontrou-se uma proporção superior à expectável de indivíduos com mutações do CFTR sendo as diferenças encontradas entre a frequência das mutações do CFTR na população em estudo *versus* a população normal estatisticamente significativas.

Para além da análise genética de mutações do CFTR, foram também realizados dois testes de suor nos intervenientes no estudo tendo-se verificado que dois terços dos doentes tinham valores de cloro no suor normais ou *borderline*.

Com este estudo, Girodon *et al.* demonstraram a utilidade da genotipagem do CFTR em indivíduos com bronquiectasias difusas e a sua importância na identificação de indivíduos com potencial para FQa. Ainda que fosse um estudo revelador, não fazia uso de técnicas diagnósticas modernas como a diferença de potencial nasal, pelo que não foi possível encontrar critérios suficientes para enquadrar os doentes no grupo de FQa, mas também não foi possível excluí-los deste.

## 6.6. Tratamento

Dado a FQ ser uma doença sistémica complexa, o tratamento deve ser holístico, usando uma abordagem multidisciplinar, embora continue a ser muito focado para a resolução de sintomas e disfunção de órgãos (Ratjen and Doring 2003), apesar dos muitos avanços na compreensão e abordagem da doença.

Não obstante a doença ser multissistémica, o pulmão é um dos órgãos mais afectados, quer na FQ típica quer na FQ atípica, continuando a ser a principal causa de morbilidade e mortalidade. Ainda que o curso da doença pulmonar tenda invariavelmente para a deterioração, a intervenção terapêutica pode atrasar a progressão da doença (Marshall and Samuelson 1998).

No geral, a terapêutica visa o controlo da infecção e inflamação das vias aéreas, facilitação da *clearence* de muco e suporte nutricional agressivo para colmatar a possível malnutrição e má absorção. A abordagem terapêutica da doença pulmonar inclui, normalmente, terapêutica antibiótica, cinesiterapia respiratória, agentes mucolíticos e broncodilatadores, suporte nutricional, agentes anti-inflamatórios e suplementação com oxigénio, quando necessário (Yankaskas, Marshall et al. 2004). Em alguns doentes pode vir a ser necessário recorrer à transplantação pulmonar.

### 6.6.1. Terapêutica antibiótica

Os antibióticos são um componente fundamental do tratamento da doença pulmonar quer em doentes com FQ típica como atípica. Os doentes com FQ devem ser periodicamente avaliados, idealmente de quatro em quatro meses e a avaliação deve incluir o exame microbiológico da expectoração (Yankaskas, Marshall et al. 2004). Esta vigilância é muito importante dado que estes doentes podem sofrer agravamento da sua doença pulmonar devido não só às infecções mas também à exposição a poluentes e hiperreactividade brônquica.

Dependendo da clínica, os antibióticos podem ser usados para o tratamento intermitente das intercorrências infecciosas. A duração do tratamento está relacionada com o tipo de intercorrência infecciosa e a sua gravidade.

Quando a exacerbação é grave, preconiza-se normalmente o internamento e o tratamento com antibióticos intravenosos por 14 a 21 dias (Gibson, Burns et al. 2003).

Os alvos da terapia antibiótica incluem os microorganismos usualmente relacionados com a FQ, como a *Pseudomonas aeruginosa*, o *Staphylococcus aureus* e a *Burkholderia cepacia*.

A *Pseudomonas aeruginosa* é o microorganismo mais frequentemente encontrado nas culturas de doentes com FQ e é também o principal factor contribuinte para a deterioração pulmonar. As estirpes de *Pseudomonas* isoladas têm uma aparência não mucóide e são geralmente possíveis de erradicar com terapêutica antibiótica agressiva. No entanto, com o tempo emergem estirpes mucóides da mesma bactéria, que estão associadas a uma deterioração pulmonar mais acelerada e são praticamente impossíveis de erradicar. Nestes casos a terapêutica tem uma intenção supressiva (Dalcin Pde and Abreu 2008), no sentido de limitar a carga bacteriana. Com este objectivo são utilizados antibióticos inalados, que demonstraram evidência de melhorar o curso clínico e o prognóstico, sendo de destacar o grupo dos aminoglicosídeos, nomeadamente a tobramicina (Doring, Conway et al. 2000).

Fármacos que previnam a infecção inicial (como, por exemplo, vacinas), que modifiquem as vias metabólicas propiciadoras dum aumento da resistência a antibióticos, que modifiquem a aderência e a formação do biofilme, e agentes que utilizem novas classes de antimicrobianos como as defensinas podem ter uma função importante no controlo do mecanismo de infecção e encontram-se em estudo (Davies 2002).

### **6.6.2. Cinesiterapia respiratória**

O aumento da *clearence* mucociliar é um dos pilares do tratamento da FQ e é conseguido através de mobilização mecânica (Marshall and Samuelson 1998). Esta mobilização mecânica consiste, na maior parte das vezes, em técnicas de drenagem postural e percussão do tórax em diversas posições anatómicas, de modo a facilitar a expulsão de secreções usando a força da gravidade como adjuvante.

Ainda que estas técnicas sejam úteis, elas podem provocar hipóxia em doentes com doença grave e refluxo gastro-esofágico. Às desvantagens anteriores adiciona-se ainda o facto de serem técnicas muito demoradas e que exigem assistência especializada (Dalcin Pde and Abreu 2008).

Para colmatar estas falhas, foram desenvolvidas outras técnicas que podem ser aplicadas pelo paciente, sem necessidade de assistência, como, por exemplo, o uso de aparelhos orais oscilatórios ou que promovam compressões torácicas de alta frequência (Yankaskas, Marshall et al. 2004).

Um adjuvante muito importante de uma boa *clearence* mucociliar e que nunca deve ser esquecido é o exercício. O exercício físico está aconselhado nos doentes com FQ visto que aumenta a *clearence* pulmonar, atrasa o declínio da função pulmonar, aumenta a *performance* cardiovascular e a capacidade funcional ventilatória, melhorando a qualidade de vida no geral (Yankaskas, Marshall et al. 2004).

### **6.6.3. Agentes mucolíticos e broncodilatadores**

Na FQ, a viscosidade das secreções pulmonares deve-se também à libertação de DNA extracelular, mediado por neutrófilos. Neste sentido, o uso de DNase humana recombinante, que degrada o DNA extracelular, mostra-se útil pois reduz a viscosidade das secreções.

Os benefícios do uso deste agente costumam ser maiores em indivíduos com FEV superior a 40% do previsto, pois nestes, para além de melhorar os índices de função pulmonar, nomeadamente o FEV em 5,8%, diminui também a taxa de exacerbações em 22%, o mesmo não acontecendo para os indivíduos com FEV inicial inferior a 40% do previsto (doença grave) em que não há melhoria na taxa de exacerbações (Dalcin Pde and Abreu 2008).

Tendo em conta as alterações epiteliais pulmonares encontradas em doentes com FQ, pensa-se que a depleção de fluidos de superfície possa ser um factor importante na progressão da doença pulmonar. Deste modo, uma abordagem que poderá apresentar benefício será o aumento da hidratação da via aérea, nomeadamente através da inalação de agentes osmóticos (Robinson, Hemming et al. 1997).

Um dos agentes que pode ter este efeito e que pode ajudar a melhorar a *clearence* mucociliar é a solução salina hipertónica. Esta foi usada inicialmente como um agente irritativo para obter amostras de expectoração em doentes com patologia da via aérea; no entanto, alguns estudos demonstraram benefício no transporte mucociliar e função pulmonar (Robinson, Hemming et al. 1997), havendo também evidências de melhoria a nível da espessura da camada de fluido de superfície (Donaldson, Bennett et al. 2006) e da redução do número de exacerbações (Elkins, Robinson et al. 2006).

Estudos recentes demonstraram que uma nebulização de 4 ml de solução salina hipertónica a 7% durante 48 semanas leva a melhoria da função pulmonar e a uma diminuição de 56% da taxa de exacerbações, sem agravamento de eventos infecciosos bacterianos e inflamatórios (Elkins, Robinson et al. 2006).

Apesar de ser uma terapêutica promissora, a evidência de benefícios ainda é limitada e são necessários mais estudos nesta área, bem como confirmação do mecanismo de acção subjacente.

O uso de solução salina hipertónica precedida por um broncodilatador constitui uma terapia adicional segura e acessível e que proporciona benefícios terapêuticos em doentes com FQ (Elkins, Robinson et al. 2006).

Dado que muitos dos doentes com FQ apresentam hiperreactividade brônquica, os broncodilatadores são importantes adjuvantes terapêuticos melhorando a função pulmonar após administração. Os mais frequentemente utilizados são os agonistas beta2 de curta duração de acção.

#### **6.6.4. Terapêutica nutricional de suporte**

O *status* nutricional dos doentes com FQ tem influência na deterioração pulmonar e, conseqüentemente, na sua função, afectando a sobrevida. Deste modo, a intervenção a este nível deve ser precoce e agressiva, principalmente nos doentes com FQ típica, que são, na sua maioria, insuficientes pancreáticos.

As recomendações nutricionais para estes doentes incluem uma dieta hipercalórica com 35 a 40% das calorias de origem em gorduras (Yankaskas, Marshall et al. 2004). Estes doentes devem ser vigiados nutricionalmente e o seu IMC deve ser mantido entre 20 a 25. Os suplementos orais comerciais podem ser usados em casos seleccionados e os suplementos pancreáticos devem ser usados sempre que se justifique.

#### **6.6.5. Agentes anti-inflamatórios, oxigenoterapia e ventilação**

O papel da resposta inflamatória aos múltiplos microorganismos existentes nas vias aéreas dos doentes com FQ e a sua contribuição para a lesão pulmonar progressiva já foi alvo de inúmeros estudos (Morrissey, Schock et al. 2003). No entanto, o uso de anti-inflamatórios na FQ continua a ser um tema controverso e ainda não foi encontrado nenhum fármaco suficientemente seguro e eficiente para esta situação.



Os corticosteroides já foram usados, com bons resultados, em doentes com FQ cuja doença pulmonar se complicou por ABPA severa, no entanto, o desenvolvimento de efeitos secundários levaram a uma recomendação geral contrária ao seu uso para tratamento prolongado na FQ. A mesma preocupação em termos de efeitos secundários é levantada relativamente aos anti-inflamatórios não esteroides (Morrissey, Schock et al. 2003).

São então necessários mais estudos que visem o desenvolvimento de anti-inflamatórios específicos para a doença pulmonar, com menos efeitos sistémicos.

A oxigenoterapia normalmente só é necessária em fases tardias da doença, quando se instala um quadro de insuficiência respiratória crónica, mas os dados acerca do uso e benefício desta terapêutica são escassos (Ratjen 2009). No entanto, a hipoxémia crónica pode levar a quadros de hipertensão pulmonar e cor pulmonale e deve ser activamente identificada uma vez que um tratamento agressivo da hipoxémia nocturna pode prevenir o aparecimento daquelas complicações (Fishman, 2008).

Quando se desenvolve uma insuficiência respiratória global, a abordagem terapêutica torna-se extremamente difícil. A ventilação não invasiva por BiPAP (ventilação binível) tem sido usada com sucesso em pacientes com FQ terminal, sobretudo como ponte para o transplante, melhorando a oxigenação, diminuindo a frequência respiratória e permitindo a transição para o domicílio.

A ventilação mecânica é instituída normalmente em episódios agudos condicionadores de insuficiência respiratória grave, particularmente nos pacientes com boa função pulmonar prévia. Não tem indicação naqueles que apresentam um quadro de falência respiratória como culminar da doença pulmonar progressiva (Fishman, 2008).

#### 6.6.6. Transplante pulmonar

A FQ é a segunda maior indicação para a realização de transplante pulmonar (Liou, Adler et al. 2001) mas os critérios para transplante continuam a ser controversos, principalmente devido aos problemas associados à identificação dos doentes que potencialmente mais beneficiariam com este tratamento.

As taxas de sobrevivência, a progressão não linear da doença, a colonização por microorganismos muitas vezes multirresistentes, o *status* nutricional pobre e a lista de espera até obtenção de dador de órgãos tornam a decisão de integrar o doente em lista activa para transplante difícil, tanto para o médico assistente como para o doente e sua família (Yankaskas and Mallory 1998; Liou, Adler et al. 2001). No entanto, apesar de todos os particulares desafios que um doente com FQ impõe a um transplante com sucesso, a sua taxa de sobrevivência é bastante boa, sendo de 59% aos 5 anos, melhor do que as taxas correspondentes de doentes com Fibrose pulmonar idiopática ou Hipertensão pulmonar primária (Fishman, 2008).

### **6.7. Novas terapêuticas**

Ainda que muitas das terapêuticas existentes actualmente sejam dirigidas para a resolução de sintomas e de efeitos da disfunção de órgãos (retenção de muco, infecção e inflamação), têm sido feitos vários avanços na pesquisa de novas terapêuticas dirigidas à disfunção fisiopatológica subjacente à doença em si, quer por intervenção directa quer por intervenção indirecta, em mecanismos proximamente relacionados.

Terapêutica de substituição do CFTR- A FQ é uma das doenças mais investigadas em termos de terapêutica genética. Para intervenções a nível genético, já foram testados inúmeros vectores (*gene-transfer*) em humanos, sendo os mais utilizados os adenovírus, vírus adeno-associados e lípidos catiónicos. Os testes iniciais *in vivo* e *in vitro* foram promissores dado que se conseguiu, com sucesso, a transferência genética para as células epiteliais; no entanto, ainda que houvesse expressão do gene, a sobrevivência do CFTR foi relativamente pequena e a relação deste aparente sucesso terapêutico com a melhoria sintomática foi ténue (Knowles, Hohneker et al. 1995).

Parte do desafio na aplicação deste tipo de terapêuticas é a falta de conhecimento acerca de qual a taxa de melhoria da função do CFTR que é necessário obter para que exista melhoria clínica efectiva (Alton, Davies et al. 2007).

Farmacoterapia – Estão a ser desenvolvidos fármacos capazes de afectar o tráfego, expressão e funcionalidade do CFTR. As mutações do gene CFTR têm diferentes consequências e, como tal, a farmacoterapia empregue desta maneira não tem benefício para todos os doentes mas sim para um subgrupo de doentes em particular.

De uma forma geral, estes subgrupos dizem respeito a doentes em quem se identificam certas classes de mutações.

Nesta perspectiva, a intervenção a nível das mutações de classe II traria grande benefício, dado que é nesta classe que se encontra a mutação mais prevalente na população com FQ, a

phe508del. Esta mutação condiciona uma má dobragem proteica levando à degradação proteossómica do CFTR que não chega à membrana celular. Esta proteína defeituosa tem função activa; no entanto, devido à degradação precoce, tem uma semi-vida muito diminuída. Fármacos que reduzam a degradação e aumentem o tráfego para a membrana celular poderão ter benefício marcado nestes doentes (Kerem 2006). No entanto, dado que a degradação proteica intracelular é um importante mecanismo de controlo fisiológico, a interferência neste mecanismo também pode ter efeitos adversos e, como tal, a abordagem deve ser cuidadosa procurando um balanço entre eficácia e segurança.

De momento, dentro da farmacoterapia dirigida, pode ser referido o potenciador VX770, cujo efeito benéfico é notável para doentes com mutações de classe III (relativamente raras), com relevo para a mutação G551D. Segundo informações retiradas do *site* da *Cystic Fibrosis Foundation* (<http://www.cff.org/aboutCFFoundation/NewsEvents/1-31-FDA-Approves-Kalydeco.cfm>), a administração deste fármaco aumenta de forma objectiva a função do CFTR, tendo tradução na diferença de potencial nasal e reduzindo significativamente os níveis de cloro no suor. O VX770 foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) nos EUA em Janeiro de 2012 para doentes com 6 ou mais anos de idade portadores da mutação G551D, sendo o primeiro fármaco comercializado que visa a compensação da causa subjacente à doença e não apenas a resolução dos sintomas. O VX770 está de momento a ser testado, num ensaio clínico de fase II, em combinação com o VX809, para doentes com a mutação phe508del. O VX809 foi desenhado para aumentar o tráfego do CFTR para a membrana celular, onde o VX770 o poderá activar.

Estimulação de canais de cloro alternativos – A secreção de cloro nas células epiteliais não se limita ao CFTR, havendo também secreção deste ião pelo canal de cloro dependente de cálcio (Chan, Goldstein et al. 1992). Fármacos que aumentem a função deste canal podem compensar a falta de função do CFTR. A activação destes canais pode ser feita directamente

através de um receptor purinérgico, o P2Y. Dois agentes que estimulam esta via de secreção são o denufosol e o lancovutide, que se encontram de momento em investigação (Ratjen 2009).

## 6.8. Prognóstico

Ao longo dos anos, com a melhoria dos meios de diagnóstico e terapêuticas disponíveis, assistiu-se a um aumento significativo da sobrevida dos doentes co FQ, que aumentou dos 18 anos, em 1980, para os 37,9 anos estimados em 2007 (Keating, Liu et al. 2010).

Actualmente, estima-se que um doente nascido nas duas últimas décadas tenha 50% de hipóteses de sobreviver até cerca dos 40 anos de idade (Wolfenden and Schechter 2009).

A quantidade de doentes com FQ típica que sobrevivem até à idade adulta varia consoante o seu centro de cuidados, existindo relatos de uma prevalência de sobreviventes superior em centros especializados da Europa Ocidental com larga experiência clínica (Simmonds, Cullinan et al. 2009).

A mortalidade anual estimada para doentes com FQ típica com idade superior a 40 anos é de 3% a 4% (Hodson, Simmonds et al. 2008).

Em 1997, Rosenfeld e colaboradores realizaram um estudo em larga escala usando como base populacional doentes registados pela *Cystic Fibrosis Foundation*, nos Estados Unidos da América, e verificaram a existência de diferenças significativas entre géneros no que concerne à sobrevida dos doentes com FQ típica para a faixa etária dos 1 aos 20 anos. Nesta faixa etária a mortalidade era superior para os indivíduos de sexo feminino, quando comparados com o sexo masculino (Rosenfeld, Davis et al. 1997). Este limite de idades sugeriu que os factores que mais influenciavam a sobrevida ocorriam em idades jovens.

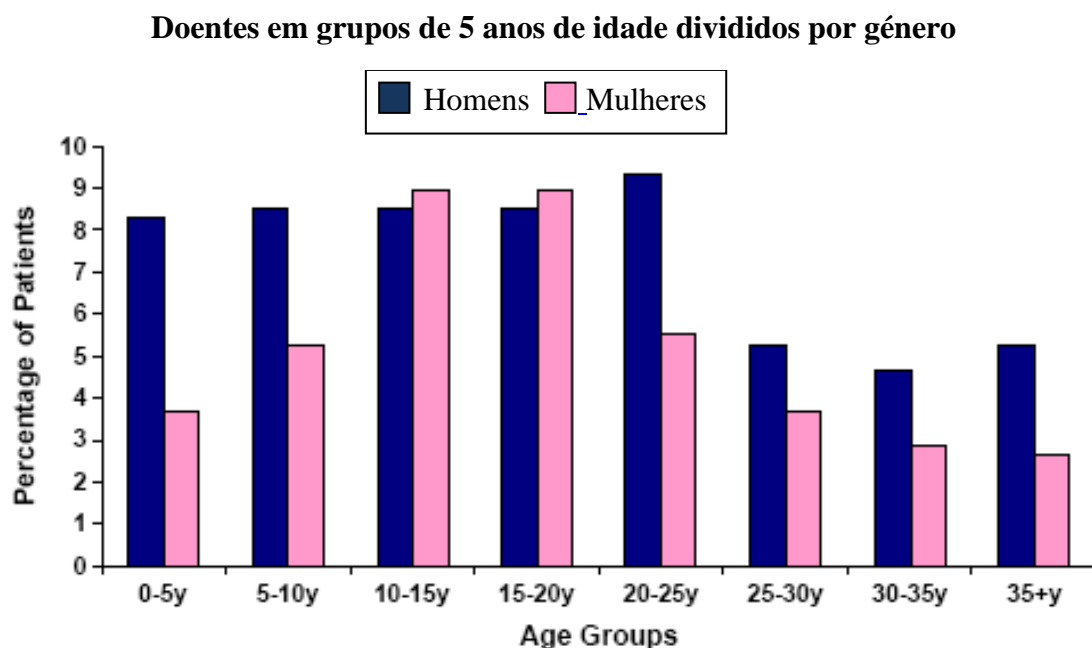
Uma grande variedade de factores poderia explicar esta diferença de mortalidade entre homens e mulheres; dentre estes, os factores nutricionais, a função pulmonar e a colonização bacteriana da via respiratória parecem ser os que mais influenciam o prognóstico.

A insuficiência pancreática também foi associada a um maior risco de morte. No entanto, de todas as hipóteses, a função pulmonar parece ser aquela que mais contribui para esta diferença significativa na mortalidade entre homens e mulheres.

Estes mesmos achados foram comprovados por um estudo subsequente no qual se verificou que a diferença média de sobrevida, entre géneros, era de cerca de 4 anos. Neste estudo, encontrou-se também relação com a colonização bacteriana, com a função pulmonar, IMC e condição física em geral. Esta diferença estatisticamente significativa foi encontrada por Davis PB e colaboradores, e foi observada por décadas, sendo assim improvável que se deva a respostas diferenciais a novos tratamentos (Davis 1999).

As diferenças de sobrevida entre géneros já foram relatadas em inúmeros estudos, sendo um dos mais recentes o realizado por Mehta *et. al.* no qual se confirmou essa mesma tendência.

A figura seguinte (Figura 10) ilustra parte dos achados nesse estudo.



**Figura 10** - Diferenças no número de doentes com FQ existentes em cada classe etária consoante o género. Adaptada de Mehta, Macek *et al.* 2010.

Tendo a sobrevida relação com a função pulmonar, doentes com génotipos que incluem mutações de classes I ou II em ambos os cromossomas têm uma deterioração da função pulmonar mais rápida e taxas de sobrevivência, relacionadas com a doença pulmonar, mais

baixas do que as registadas para doentes com genótipos que incluam pelo menos uma mutação de classe IV ou V (de Gracia, Mata et al. 2005). Ou seja, espera-se que doentes com mutações leves, nomeadamente os doentes com FQa, tenham uma sobrevida superior à expectável para doentes com FQ típica.



## 7. Conclusão

Dois aspectos da FQ explicam o porquê desta ser uma doença particularmente difícil de diagnosticar e tratar: (1) existe uma grande variabilidade no envolvimento orgânico da doença nos diferentes indivíduos e (2) ainda existe falta de informação acerca do mecanismo molecular preciso envolvido na patogénese da doença, ainda que o gene responsável pela FQ e seus produtos tenham já sido identificados.

As classes de mutações do CFTR identificadas até agora, ainda que ajudem na compreensão da doença, não a explicam por completo.

A relação do fenótipo com o genótipo não é linear e não permite a realização de associações causa-efeito permitindo, no entanto, uma perspectiva de como a doença poderá evoluir e qual o quadro clínico provavelmente associado.

Os critérios de diagnóstico estabelecidos para a FQ típica e atípica são úteis no enquadramento dos doentes em categorias e a sua aplicação correcta é muito importante, dadas as implicações prognósticas do diagnóstico. A FQa, caracteristicamente com manifestações clínicas mais ligeiras, associa-se a um melhor prognóstico.

O espectro de manifestações clínicas da FQ nas suas formas típica e atípica é muito vasto e nem sempre é possível estabelecer um limite claro entre as manifestações clínicas de uma e outra formas de apresentação. De facto, muitas das manifestações clínicas são comuns a ambas as formas de apresentação.

Do que foi possível apurar com este trabalho, a ABCVD, a pancreatite crónica recorrente e a doença pulmonar ligeira são as manifestações clínicas que apresentam uma correlação mais forte com o diagnóstico de FQa, ainda que a ABCVD seja virtualmente universal em ambas as formas de apresentação.

A desidratação com alcalose metabólica é uma manifestação clínica muito rara e os estudos nesta área ainda não permitem conclusões específicas.

A controvérsia permanece quanto à relação da rinosinusite crónica e ABPA com a FQa e ainda que não haja evidência estatisticamente significativa de que estas manifestações devam ser enquadradas no espectro de FQa, a aplicação de testes genéticos limitados na maioria dos estudos realizados também não permite a exclusão directa desta hipótese. De facto, na maioria dos estudos realizados os painéis genéticos utilizados limitavam-se às mutações mais comuns, deixando de fora mutações mais raras muitas vezes implicadas nestes fenótipos ligeiros.

Idealmente os painéis genéticos utilizados deveriam ser adaptados e alargados consoante as mutações mais comuns para a as áreas geográficas e população visadas ao invés de serem aplicados painéis genéticos pré-definidos.

Ainda que úteis, os critérios de diagnóstico devem ser aplicados e interpretados no contexto clínico apropriado e apreciados criticamente, tendo em conta que a FQ é uma doença muito vasta da qual ainda não se conhecem todos os segredos.

A FQ é um excelente exemplo de como uma melhor compreensão do mecanismo fisiopatológico subjacente ao processo de doença pode condicionar uma abordagem terapêutica da mesma.

Como acontece em múltiplas áreas de pesquisa, estudos detalhados da estrutura e função do CFTR demonstraram que as suas funções e interacções são muito mais complexas do que aquilo que inicialmente se pensava e, como tal, ainda que muitos dos mecanismos patofisiológicos da doença já sejam conhecidos, muitos outros estarão por descobrir.

## 8. Agradecimentos

Este trabalho foi realizado com a ajuda preciosa de algumas pessoas, às quais gostaria de prestar o meu agradecimento.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Dra. Sara Freitas, assistente de Pneumologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, minha Mestre e orientadora neste projecto, pelo desafio proposto. A ela agradeço a sua disponibilidade e paciência, a sua orientação bibliográfica e a sua ajuda na revisão de todos os textos presentes ao longo deste trabalho.

Gostaria também de prestar um grande e reconhecido agradecimento à Dra. Fernanda Gamboa pela disponibilidade demonstrada, pela orientação e ajuda bibliográfica e pela sua revisão dos textos aqui presentes.

Por último, gostaria apenas de agradecer aos meus pais e amigos, em especial à minha mãe e às minhas amigas Catarina e Adriana por todo o apoio e ajuda durante a execução deste projecto.

## 9. Referências Bibliográficas.

- Alghisi, F., A. Angioni, et al. (2008). "Diagnosis of atypical CF: a case-report to reflect." J Cyst Fibros **7**(4): 292-294.
- Alton, E. W., J. C. Davies, et al. (2007). "Biomarkers for cystic fibrosis: are we progressing?" Am J Respir Crit Care Med **175**(8): 750-751.
- Augusto, J. F., J. Sayegh, et al. (2008). "Severe episodes of extra cellular dehydration: an atypical adult presentation of cystic fibrosis." Clin Nephrol **69**(4): 302-305.
- Bobadilla, J. L., M. Macek, Jr., et al. (2002). "Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations--correlation with incidence data and application to screening." Hum Mutat **19**(6): 575-606.
- Boyle, M. P. (2003). "Nonclassic cystic fibrosis and CFTR-related diseases." Curr Opin Pulm Med **9**(6): 498-503.
- Castellani, C., H. Cuppens, et al. (2008). "Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice." J Cyst Fibros **7**(3): 179-196.
- Chan, H. C., J. Goldstein, et al. (1992). "Alternate pathways for chloride conductance activation in normal and cystic fibrosis airway epithelial cells." Am J Physiol **262**(5 Pt 1): C1273-1283.
- Chawla, A., F. G. Turcotte, et al. (2010). "When to suspect atypical cystic fibrosis." J Fam Pract **59**(9): 509-513.
- Chillon, M., T. Casals, et al. (1995). "Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens." N Engl J Med **332**(22): 1475-1480.
- Coste, A., E. Girodon, et al. (2004). "Atypical sinusitis in adults must lead to looking for cystic fibrosis and primary ciliary dyskinesia." Laryngoscope **114**(5): 839-843.
- Crossley, J. R., P. A. Smith, et al. (1981). "Neonatal screening for cystic fibrosis, using immunoreactive trypsin assay in dried blood spots." Clin Chim Acta **113**(2): 111-121.
- Cystic Fibrosis Foundation." from <http://www.cff.org/aboutCFFoundation/NewsEvents/1-31-FDA-Approves-Kalydeco.cfm>.
- Dalcin Pde, T. and E. S. F. A. Abreu (2008). "Cystic fibrosis in adults: diagnostic and therapeutic aspects." J Bras Pneumol **34**(2): 107-117.
- Dave, S., S. Honney, et al. (2005). "An unusual presentation of cystic fibrosis in an adult." Am J Kidney Dis **45**(3): e41-44.

- Davies, J. C. (2002). "New therapeutic approaches for cystic fibrosis lung disease." J R Soc Med **95 Suppl 41**: 58-67.
- Davis, P. B. (1999). "The gender gap in cystic fibrosis survival." J Gend Specif Med **2(2)**: 47-51.
- De Angelis, C., G. Valente, et al. (1992). "Histological study of alcoholic, nonalcoholic, and obstructive chronic pancreatitis." Pancreas **7(2)**: 193-196.
- De Boeck, K., M. Wilschanski, et al. (2006). "Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms." Thorax **61(7)**: 627-635.
- de Gracia, J., F. Mata, et al. (2005). "Genotype-phenotype correlation for pulmonary function in cystic fibrosis." Thorax **60(7)**: 558-563.
- Donaldson, S. H., W. D. Bennett, et al. (2006). "Mucus clearance and lung function in cystic fibrosis with hypertonic saline." N Engl J Med **354(3)**: 241-250.
- Doring, G., S. P. Conway, et al. (2000). "Antibiotic therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: a European consensus." Eur Respir J **16(4)**: 749-767.
- Ebert, D. L. and K. N. Olivier (2002). "Nontuberculous mycobacteria in the setting of cystic fibrosis." Clin Chest Med **23(3)**: 655-663.
- Elkins, M. R., M. Robinson, et al. (2006). "A controlled trial of long-term inhaled hypertonic saline in patients with cystic fibrosis." N Engl J Med **354(3)**: 229-240.
- Fajac, I., D. Hubert, et al. (2004). "Nasal airway ion transport is linked to the cystic fibrosis phenotype in adult patients." Thorax **59(11)**: 971-976.
- Farez-Vidal, M. E., M. A. Gomez-Llorente, et al. (2008). "A family with atypical cystic fibrosis: brother and sister with heterozygosity for both G542X and R117H." Pediatr Dev Pathol **11(3)**: 213-219.
- Farrell, P. M., B. J. Rosenstein, et al. (2008). "Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report." J Pediatr **153(2)**: S4-S14.
- Fishman, A. P. (2008). Fishman's Pulmonary diseases and disorders. M. G. Hill: 863-884.
- Forzan, M., L. Salviati, et al. (2010). "Is CFTR 621+3 A>G a cystic fibrosis causing mutation?" J Hum Genet **55(1)**: 23-26.
- Gibson, R. L., J. L. Burns, et al. (2003). "Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis." Am J Respir Crit Care Med **168(8)**: 918-951.
- Girodon, E., C. Cazeneuve, et al. (1997). "CFTR gene mutations in adults with disseminated bronchiectasis." Eur J Hum Genet **5(3)**: 149-155.

- Groman, J. D., T. W. Hefferon, et al. (2004). "Variation in a repeat sequence determines whether a common variant of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene is pathogenic or benign." Am J Hum Genet **74**(1): 176-179.
- Hodson, M. E., N. J. Simmonds, et al. (2008). "An international/multicentre report on patients with cystic fibrosis (CF) over the age of 40 years." J Cyst Fibros **7**(6): 537-542.
- Huber, R., B. Krueger, et al. (2010). "Functional characterization of a partial loss-of-function mutation of the epithelial sodium channel (ENaC) associated with atypical cystic fibrosis." Cell Physiol Biochem **25**(1): 145-158.
- Hwang, T. C. and D. N. Sheppard (1999). "Molecular pharmacology of the CFTR Cl<sup>-</sup> channel." Trends Pharmacol Sci **20**(11): 448-453.
- Keating, C. L., X. Liu, et al. (2010). "Classic respiratory disease but atypical diagnostic testing distinguishes adult presentation of cystic fibrosis." Chest **137**(5): 1157-1163.
- Kerem, E. (2005). "Pharmacological induction of CFTR function in patients with cystic fibrosis: mutation-specific therapy." Pediatr Pulmonol **40**(3): 183-196.
- Kerem, E. (2006). "Atypical CF and CF related diseases." Paediatr Respir Rev **7 Suppl 1**: S144-146.
- Kerem, E. (2006). "Mutation specific therapy in CF." Paediatr Respir Rev **7 Suppl 1**: S166-169.
- Kiesewetter, S., M. Macek, Jr., et al. (1993). "A mutation in CFTR produces different phenotypes depending on chromosomal background." Nat Genet **5**(3): 274-278.
- Knowles, M. R., K. W. Hohneker, et al. (1995). "A controlled study of adenoviral-vector-mediated gene transfer in the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis." N Engl J Med **333**(13): 823-831.
- Koch, C., H. Cuppens, et al. (2001). "European Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis (ERCF): comparison of major disease manifestations between patients with different classes of mutations." Pediatr Pulmonol **31**(1): 1-12.
- Liou, T. G., F. R. Adler, et al. (2001). "Survival effect of lung transplantation among patients with cystic fibrosis." JAMA **286**(21): 2683-2689.
- Lotem, Y., A. Barak, et al. (2000). "Reaching the diagnosis of cystic fibrosis--the limits of the spectrum." Isr Med Assoc J **2**(2): 94-98.
- Lyon, E. and C. Miller (2003). "Current challenges in cystic fibrosis screening." Arch Pathol Lab Med **127**(9): 1133-1139.
- Mak, V., J. Zielenski, et al. (1999). "Proportion of cystic fibrosis gene mutations not detected by routine testing in men with obstructive azoospermia." JAMA **281**(23): 2217-2224.

- Marchand, E., C. Verellen-Dumoulin, et al. (2001). "Frequency of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations and 5T allele in patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis." Chest **119**(3): 762-767.
- Marino, C. R., L. M. Matovcik, et al. (1991). "Localization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in pancreas." J Clin Invest **88**(2): 712-716.
- Marshak, T., Y. Rivlin, et al. (2011). "Prevalence of rhinosinusitis among atypical cystic fibrosis patients." Eur Arch Otorhinolaryngol **268**(4): 519-524.
- Marshall, B. C. (2010). Patient Registry - Annual Data Report, Cystic Fibrosis Foundation.
- Marshall, B. C. and W. M. Samuelson (1998). "Basic therapies in cystic fibrosis. Does standard therapy work?" Clin Chest Med **19**(3): 487-504, vi.
- Massie, R. J., N. Poplawski, et al. (2001). "Intron-8 polythymidine sequence in Australasian individuals with CF mutations R117H and R117C." Eur Respir J **17**(6): 1195-1200.
- Mehta, G., M. Macek, Jr., et al. (2010). "Cystic fibrosis across Europe: EuroCareCF analysis of demographic data from 35 countries." J Cyst Fibros **9 Suppl 2**: S5-S21.
- Morrissey, B. M., B. C. Schock, et al. (2003). "Cystic fibrosis in adults: current and future management strategies." Clin Rev Allergy Immunol **25**(3): 275-287.
- Narzi, L., G. Ferraguti, et al. (2007). "Does cystic fibrosis neonatal screening detect atypical CF forms? Extended genetic characterization and 4-year clinical follow-up." Clin Genet **72**(1): 39-46.
- Noone, P. G. and M. R. Knowles (2001). "'CFTR-opathies': disease phenotypes associated with cystic fibrosis transmembrane regulator gene mutations." Respir Res **2**(6): 328-332.
- Olivier, K. N., D. J. Weber, et al. (2003). "Nontuberculous mycobacteria. II: nested-cohort study of impact on cystic fibrosis lung disease." Am J Respir Crit Care Med **167**(6): 835-840.
- Oller de Ramirez, A. M., A. Ghio, et al. (2008). "[Molecular diagnosis of cystic fibrosis in 93 Argentinean patients and detection of heterozygotes in affected families. Impact on health services and therapeutic advances]." Arch Argent Pediatr **106**(4): 310-319.
- Oppenheimer, E. H. and J. R. Esterly (1975). "Pathology of cystic fibrosis review of the literature and comparison with 146 autopsied cases." Perspect Pediatr Pathol **2**: 241-278.
- Paranjape, S. M. and P. L. Zeitlin (2008). "Atypical cystic fibrosis and CFTR-related diseases." Clin Rev Allergy Immunol **35**(3): 116-123.
- Quinton, P. M. (2001). "The neglected ion: HCO<sub>3</sub>." Nat Med **7**(3): 292-293.

- Ratjen, F. and G. Doring (2003). "Cystic fibrosis." Lancet **361**(9358): 681-689.
- Ratjen, F. A. (2009). "Cystic fibrosis: pathogenesis and future treatment strategies." Respir Care **54**(5): 595-605.
- Reddy, M. M., M. J. Light, et al. (1999). "Activation of the epithelial Na<sup>+</sup> channel (ENaC) requires CFTR Cl<sup>-</sup> channel function." Nature **402**(6759): 301-304.
- Riordan, J. R. (2008). "CFTR function and prospects for therapy." Annu Rev Biochem **77**: 701-726.
- Robinson, M., A. L. Hemming, et al. (1997). "Effect of increasing doses of hypertonic saline on mucociliary clearance in patients with cystic fibrosis." Thorax **52**(10): 900-903.
- Robinson, P. J., A. L. Smith, et al. (1990). "Duodenal pH in cystic fibrosis and its relationship to fat malabsorption." Dig Dis Sci **35**(10): 1299-1304.
- Rommens, J. M., M. C. Iannuzzi, et al. (1989). "Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping." Science **245**(4922): 1059-1065.
- Rosenecker, J., I. Eichler, et al. (1995). "Genetic determination of diabetes mellitus in patients with cystic fibrosis. Multicenter Cystic Fibrosis Study Group." J Pediatr **127**(3): 441-443.
- Rosenfeld, M., R. Davis, et al. (1997). "Gender gap in cystic fibrosis mortality." Am J Epidemiol **145**(9): 794-803.
- Rosenstein, B. J. and G. R. Cutting (1998). "The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel." J Pediatr **132**(4): 589-595.
- Rowntree, R. K. and A. Harris (2003). "The phenotypic consequences of CFTR mutations." Ann Hum Genet **67**(Pt 5): 471-485.
- Schultz, B. D., A. K. Singh, et al. (1999). "Pharmacology of CFTR chloride channel activity." Physiol Rev **79**(1 Suppl): S109-144.
- Shah, A., Z. U. Khan, et al. (1990). "Concomitant allergic Aspergillus sinusitis and allergic bronchopulmonary aspergillosis associated with familial occurrence of allergic bronchopulmonary aspergillosis." Ann Allergy **64**(6): 507-512.
- Sheppard, D. N., D. P. Rich, et al. (1993). "Mutations in CFTR associated with mild-disease-form Cl<sup>-</sup> channels with altered pore properties." Nature **362**(6416): 160-164.
- Simmonds, E. J., J. M. Littlewood, et al. (1990). "Allergic bronchopulmonary aspergillosis." Lancet **335**(8699): 1229.
- Simmonds, N. J., P. Cullinan, et al. (2009). "Growing old with cystic fibrosis - the characteristics of long-term survivors of cystic fibrosis." Respir Med **103**(4): 629-635.



- Smith, H. R., G. S. Dhatt, et al. (1995). "Cystic fibrosis presenting as hyponatraemic heat exhaustion." BMJ **310**(6979): 579-580.
- Southern, K. W. (2007). "Cystic fibrosis and formes frustes of CFTR-related disease." Respiration **74**(3): 241-251.
- Tarran, R., B. Button, et al. (2006). "Regulation of normal and cystic fibrosis airway surface liquid volume by phasic shear stress." Annu Rev Physiol **68**: 543-561.
- Teixeira, M. R. C. (2007). Frequência da mutação F508del no gene CFTR na população portuguesa, Universidade do Minho.
- Tomaiuolo, R., F. Sangiuolo, et al. (2008). "Epidemiology and a novel procedure for large scale analysis of CFTR rearrangements in classic and atypical CF patients: a multicentric Italian study." J Cyst Fibros **7**(5): 347-351.
- Tsui, L.-C. (2012, 25 de Abril de 2011). "Cystic Fibrosis Mutation Database."
- Van Hoorenbeeck, K., K. Storm, et al. (2007). "N1303K and IVS8-5T, clinical presentation within a family with atypical cystic fibrosis." J Cyst Fibros **6**(3): 220-222.
- Wallis, C. (2003). "Atypical cystic fibrosis--diagnostic and management dilemmas." J R Soc Med **96 Suppl 43**: 2-10.
- Wang, X., J. Venable, et al. (2006). "Hsp90 cochaperone Aha1 downregulation rescues misfolding of CFTR in cystic fibrosis." Cell **127**(4): 803-815.
- Weiss, F. U., P. Simon, et al. (2005). "Complete cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene sequencing in patients with idiopathic chronic pancreatitis and controls." Gut **54**(10): 1456-1460.
- Wolfenden, L. L. and M. S. Schechter (2009). "Genetic and non-genetic determinants of outcomes in cystic fibrosis." Paediatr Respir Rev **10**(1): 32-36.
- Yankaskas, J. R. and G. B. Mallory, Jr. (1998). "Lung transplantation in cystic fibrosis: consensus conference statement." Chest **113**(1): 217-226.
- Yankaskas, J. R., B. C. Marshall, et al. (2004). "Cystic fibrosis adult care: consensus conference report." Chest **125**(1 Suppl): 1S-39S.
- Zeaske, R., W. T. Bruns, et al. (1988). "Immune responses to Aspergillus in cystic fibrosis." J Allergy Clin Immunol **82**(1): 73-77.
- Zielenski, J. (2000). "Genotype and phenotype in cystic fibrosis." Respiration **67**(2): 117-133.

