

# Estimativa da incidência de fibrose cística em Porto Alegre: análise a partir da frequência da mutação delta F508 em recém-nascidos normais

PAULO JOSÉ CAUDURO MARÓSTICA\*  
 JACQUELINE ALMEIDA SANTOS\*\*  
 WILMA ADRIANE SULZBACH DE SOUZA\*\*\*  
 SALMO RASKIN\*\*\*\*  
 FERNANDO ANTONIO DE ABREU E SILVA\*\*\*\*\*

## SINOPSE

A fibrose cística é a doença autossômica recessiva mais comum na raça caucasiana. O gene responsável foi descoberto em 1989 e a partir daí mais de 150 mutações identificadas. A mutação mais freqüente, na maioria das populações brancas, é a delta F508. Avaliamos a incidência desta mutação em 169 recém-nascidos brancos, através de coleta de sangue em cartões de triagem neonatal, enviando o material aos Estados Unidos, onde, através de PCR, identificaram-se 4 portadores. O poder do tamanho de nossa amostra foi de 95%. Considerando uma prevalência de 60% desta mutação nas crianças com fibrose cística nascidas em Porto Alegre e dados epidemiológicos, estimamos a incidência de 10 casos por ano em nossa cidade.

**UNITERMOS:** Fibrose cística, Mucoviscidose, Mutação delta F508, PCR.

## ABSTRACT

*Cystic fibrosis is the most common autosomal recessive disease affecting caucasians. The responsible gene was discovered in 1989 and more than 150 mutations were identified thereafter. In*

*white populations, the most frequent mutation, is delta F508. Collecting blood in neonatal screening cards and sending the samples to the USA, we have evaluated the incidence of this mutation in 169 white newborns, where 4 carriers were identified, using PCR techniques. The power of the sample size was 95%. Taking in account epidemiological data and considering a 60% prevalence of this mutation in cystic fibrosis children born in Porto Alegre, we estimate an incidence of 10 yearly cases in this city.*

**KEYWORDS:** Cystic fibrosis, Mucoviscidosis, Delta F508 deletion, PCR.

## INTRODUÇÃO

Fibrose cística (FC), ou mucoviscidose, é a doença autossômica recessiva, potencialmente letal, mais comum na população caucasiana. Foi descrita inicialmente por Andersen (1) em 1938 e sua incidência é de cerca de 1 para cada 2.500 nascidos vivos brancos, na maioria das populações estudadas. Ocorre também em populações não caucasianas, porém com frequências bem inferiores (2). Sendo uma doença autossômica recessiva ocorre em 25% da prole de casais em que ambos sejam portadores do gene mutante. Acomete primariamente órgãos epiteliais, principalmente o epitélio brônquico, sistema digestivo, glândulas sudoríparas e aparelho reprodutor. O acometimento do aparelho respiratório é o principal responsável pela mortalidade da doença. O acúmulo de secreções espessas, aliado à infecção crônica, vem em última instância ocasionar alterações irreversíveis no tecido pulmonar, como bronquiectasias. A esteatorréia está presente em 85% dos pacientes, secundária à obstrução dos ductos pancreáticos por secreção espessa. A esterilidade ocorre nos homens por obliteração do epidídimo, ductos deferentes e nas mulheres pelo muco cervical espesso. Outras alterações importantes seriam um alto conteúdo de eletrólitos no suor, que é utilizado para o diagnóstico da doença (3), cirrose hepática secundária à obstrução dos canalículos biliares, ileo meconial e pólipos nasais. A sobrevivência que antes era limitada aos primeiros anos de vida, hoje é em

\* Médico Pediatra, Mestrando do Curso de Pós-Graduação em Medicina: Pneumologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

\*\* Médico, Residente em Pediatria do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

\*\*\* Médico Pediatra.

\*\*\*\* Médico Pediatra, Pós-graduando em Genética na Vanderbilt University, Nashville, Tennessee, EUA.

\*\*\*\*\* Pneumologista Pediátrico, Professor Adjunto do Departamento de Pediatria e Puericultura da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Setor de Pneumologia Pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Vanderbilt University, Nashville, Tennessee, EUA.

Endereço para correspondência:

Paulo J.C. Maróstica

Av. Lageado, 15/04 – Fone: (051) 330-0223 – CEP 90460-110 – Porto Alegre, RS

média cerca de 30 anos, quando os pacientes são tratados em centros especializados (4).

A descoberta do gene ocorreu em 1989. Trata-se de um gene composto por 27 éxons, localizado no braço longo do cromossoma 7 que codifica a proteína CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), no qual foram identificados mais de 150 mutações que podem causar a doença, quando em homozigose. A mutação mais comum chama-se delta F508, tratando-se de uma deleção de três nucleotídeos do 10º éxon do referido gene, ocasionando a ausência do aminoácido fenilalanina na posição 508 da proteína (5,6). A CFTR é um canal de cloro, responsável pelo transporte deste íon através dos epitélios. A passagem de cloro se acompanha da passagem de água. A disfunção desta proteína ocasiona secreções pobres em água e espessas, provocando as alterações nos órgãos epiteliais descritas (7).

A frequência da mutação delta F508 varia entre as populações estudadas, ocorrendo desde 30% em Israel até cerca de 90% na Dinamarca (8,9). Em estudos no Brasil, a prevalência encontrada foi de 40% (10). Entre os pacientes nascidos em Porto Alegre, a frequência encontrada da mutação delta F508 foi cerca de 60%, correspondendo os 40% restantes a mutações não identificadas (11).

O desenvolvimento de técnicas de análise de DNA nos permite detectar portadores sãos na população geral (5,10).

O objetivo do trabalho foi identificar a incidência da mutação delta F508 numa população de recém-nascidos aparentemente normais para podermos estimar, por proporção, a frequência total de portadores em Porto Alegre e, em seqüência, a incidência dos nascimentos de crianças com fibrose cística.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para alcançarmos o objetivo, planejamos um estudo de incidência.

Para tanto, coletamos amostras de sangue (cerca de três gotas) de recém-nascidos brancos que foram armazenadas em papel-filtro, comumente usados em triagem neonatal, durante o segundo semestre de 1991 e primeiro semestre de 1992. As amostras foram obtidas através de sangue de cordão (Serviço de Neonatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre [HCPA] – 65 casos) ou punção de calcanhar (Serviço de Neonatologia da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre [ISCMPA] – 104 casos) conforme autorização recebida pelas chefias dos respectivos serviços. Quando da coleta de sangue pelo método de punção, obtinha-se consentimento verbal da mãe. Utilizou-se como critério para coleta os bebês nascidos em seqüência e de cor branca, observando-se para tal o fenótipo da mãe e coloração da genitália do bebê (ausência de pigmentação melânica).

As amostras foram enviadas para o departamento de genética do Vanderbilt University School of Medicine

(EUA), onde foram analisadas, por um dos autores (S.R.), através da técnica de reação em cadeia pela polimerase seguida por eletroforese de gel, que permitiu a identificação da mutação delta F508. A partir dos resultados obtidos, através de proporção matemática, calculamos a incidência de nascimentos de crianças com fibrose cística em nosso meio (10,11,12).

## RESULTADOS

Encontramos quatro portadores da mutação delta F508 nas 169 crianças avaliadas (3 portadores na ISCMPA e 1 no HCPA). Considerando-se que essas 4 mutações encontradas correspondam a 60% do total de mutações existentes, teríamos 6,67 portadores (=100%) nos 169 pacientes analisados, ou seja, 1 portador para cada 25,3 recém-nascidos.

O poder da amostra de 169 pacientes, calculado, foi de 95% para estimar a incidência na população total.

Sabendo-se que nascem em nossa cidade cerca de 31.785 crianças por ano, sendo 84,1% brancas, correspondendo a 26.745 nascimentos, pressupõe-se que ocorram 10 novos casos de fibrose cística anuais em pacientes caucasianos. (Taxa de fecundidade 2,29% ao ano. População estimada em Porto Alegre para 1990: 1.388.000 habitantes.) (12)

## DISCUSSÃO

Os dados encontrados neste trabalho são semelhantes aos encontrados em outras populações de raça caucasiana (13,14).

A metodologia empregada, considerando o número de mutações delta F508 e a partir daí estimando o total das mutações e a incidência da doença, foi igual à empregada por outros centros (10,15).

Acredita-se que praticamente 100% dos pacientes com fibrose cística em Porto Alegre sejam acompanhados no setor de pneumologia pediátrica do Hospital de Clínicas. Uma média de três diagnósticos anuais de crianças em nosso município foi realizada; assim, a nossa estimativa de 10 casos ao ano indica que a doença é pouco diagnosticada em nosso meio.

Neste sentido, chamamos atenção para as manifestações clínicas mencionadas que devem orientar o clínico para o diagnóstico, bem como a necessidade de orientação genética às famílias com doentes, já que apresenta chance de 25% de recorrência em irmãos de criança afetada (14).

Embora o estudo do DNA em nosso meio ainda não esteja amplamente disponível, lembramos da importância da realização de dosagem de eletrólitos no suor em casos suspeitos, ainda como teste diagnóstico mais importante (3).

Salientamos a importância de uma maior divulgação desta doença entre a classe média e a população em geral.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSEN DH. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease. *Am J Dis Child* 1938; 56:344-399.
- ROSENSTEIN BJ. Cystic fibrosis. In: Loughlin GM, Eigen H, eds. *Respiratory disease in children*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994: 263-289.
- GIBSON LE, COOKE RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine iontophoresis. *Pediatrics* 1959; 23:545-549.
- MEARNS MB. Cystic fibrosis: the first 50 years, a review of the clinical problems and their management. In: Dodge JA, Brock DJH, Widdicombe JH. *Cystic fibrosis – current topics*. Chichester: John Wiley and Sons Ltd., 1993:217-250.
- ROMMENS JM, IANNUZZI MC, KEREM B-S, DRUMML ML, MEMLMER G, DEAN M, ROZMAHEL R, COLE JL, KENNEDY D, HIDAKA N, ZSIGA M, BUCHWALD M, RIORDAN JR, TSUI L-C, COLLINS FS. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989; 245:1059-1065.
- KEREM B-S, ROMMENS JM, BUCHANAN JA, MARKIEWICZ D, COX TK, CHAKRAVARTI A, BUCHWALD M, TSUI L-C. Identification of the cystic fibrosis gene: Genetic analysis. *Science* 1989; 245:1073-80.
- SFERRA TJ, COLLINS FC. The molecular biology of Cystic Fibrosis. *Annu. Rev. Med.* 1993; 44:133-144.
- SIMON-BOUY B, JAUME-ROIG B, ROMAN JM, ELORZA MA, SERRE JL, MORNET E, BOUÉ J, BOUÉ A. Variations of delta F508 frequency in European countries. Implications

of genetic counselling. *Pediatr Pulmonol suppl* 1991; 6:246, resumo.

- TSUI L-C, MARKIEWICZ D, ZIELENSKI J, COREY M, DURIE P. Mutation analysis in cystic fibrosis. In: Dodge JA, Brock DJH, Widdicombe JH, eds. *Cystic fibrosis – Current Topics*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 1993:27-44.
- RASKIN S, PHILLIPS III JA, KRISHNAMANI MRS, VNENCAK-JONES C, PARKER RA, ROZOV T, CARDIERI JM, MARÓSTICA P, ABREU F, GIUGLIANI R, REIS F, ROSARIO NA, LUDWIG N, PILOTO RF. DNA analysis of cystic fibrosis in Brazil by direct PCR amplification from Guthrie cards. *Amer J Hum Genet* 1993; 46:665-669.
- MARÓSTICA PJC, LEITE VL, RASKIN S, ABREU e SILVA FA. Incidência da mutação F508 numa população de portadores de fibrose cística e sua relação com achados clínicos. Publicación oficial do IV Congreso Latinoamericano de Fibrosis Quística 1991, resumo.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa nacional para amostras de domicílios. Rio de Janeiro: Editora IBGE, 1989.
- ESTIVILL X. Genética molecular da mucoviscidose. *Anais Nestlé* 1993; 45:23-36.
- DINWIDDIE R. Fibrose cística. In: Dinwiddie R, ed. *O diagnóstico e o manejo da doença respiratória pediátrica*. Trad. Fischmann CB. Porto Alegre: Artes Médicas, 1992:209-258.
- GREGG R, WILFOND B, LAXOVA A, HASSEMER D, FARREL P. Cystic Fibrosis carrier frequency determined by DF508 analysis of the general population. *Pediatr Pulmonol suppl* 1991; 6:238, resumo.