



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

A INFLUÊNCIA DA IDADE E DO GENÓTIPO SOBRE OS NÍVEIS DE CLORETO DO SUOR  
EM UMA POPULAÇÃO PEDIÁTRICA COM FIBROSE CÍSTICA NO ESTADO DA BAHIA.

por

ADSON SANTANA DE JESUS

Salvador, BA  
(2020)

ADSON SANTANA DE JESUS

A INFLUÊNCIA DA IDADE E DO GENÓTIPO SOBRE OS NÍVEIS DE CLORETO DO SUOR  
EM UMA POPULAÇÃO PEDIÁTRICA COM FIBROSE CÍSTICA NO ESTADO DA BAHIA.

TCC apresentado ao Instituto de Biologia da  
Universidade Federal da Bahia como exigência  
para obtenção do grau de Bacharel em Ciências  
Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Edna Lúcia Santos de Souza

Salvador, BA  
(2020)

Data de defesa: 17 de dezembro de 2020.

**Banca examinadora**

---

**Prof.<sup>a</sup> Dra. Edna Lúcia Santos de Souza**

**(Faculdade de Medicina - UFBA)**

---

**Prof.<sup>a</sup> Dra. Renata Lúcia Leite Ferreira de Lima**

**(Instituto de Biologia - UFBA)**

---

**Prof.<sup>a</sup> MSc. Carolina de Godoy Almeida**

**(Universidade do Estado da Bahia)**

## RESUMO

A fibrose cística é a doença autossômica recessiva mais comum em populações caucasianas e a sua etiologia está associada a variantes patogênicas no gene *CFTR*. O teste do suor é considerado o padrão ouro para o diagnóstico dessa enfermidade. Estudos apontam que o genótipo do *CFTR* e a idade dos indivíduos influenciam as concentrações de cloreto no suor. Desta forma, os objetivos deste estudo foram pesquisar a correlação entre os níveis de cloreto no teste do suor e a idade ao diagnóstico de indivíduos com fibrose cística e comparar as concentrações iônicas do cloreto entre os sexos, diferentes faixas etárias e três grupos diversos de genótipos do *CFTR*. Realizou-se um estudo de corte transversal, incluindo indivíduos de 0 a 20 anos, com diagnóstico confirmado de fibrose cística. Os indivíduos selecionados foram agrupados de acordo com as variáveis analisadas. Calcularam-se os valores descritivos das concentrações de íons cloreto de cada grupo. Utilizou-se o teste de Spearman para a análise da correlação entre a idade ao diagnóstico e os níveis de cloreto no suor. Sessenta e quatro indivíduos foram incluídos no estudo, sendo 51,6% do sexo masculino. A mediana (Min-Max) da idade ao diagnóstico foi de 7 meses (1-206). Não foi observada uma correlação entre a idade dos indivíduos ao diagnóstico e os níveis de cloreto no suor. As concentrações medianas de cloreto foram maiores nos escolares (106 mEq/l), no sexo feminino (102 mEq/l) e nos heterozigotos F508del/Classe I a III (108 mEq/l); e menores nos adolescentes (100 mEq/l) e nos heterozigotos F508del/Classes IV a VI (77 mEq/l). A variação considerável dos níveis iônicos entre os grupos de diferentes genótipos sugere que o teste do suor é um bom preditor da avaliação funcional do canal CFTR.

## ABSTRACT

Cystic fibrosis is the most common autosomal recessive disorder in Caucasian populations and its etiology is associated with pathogenic variants in the *CFTR* gene. The sweat test is considered the gold standard for the diagnosis of the disease. Some studies suggest that *CFTR* genotype and age affect sweat chloride concentrations. Thus, the aims of this study were to investigate the correlation between sweat chloride levels and age at diagnosis of individuals with cystic fibrosis and to compare ionic chloride concentrations among sex, different age groups and three distinct groups of *CFTR* genotypes. A cross-sectional study was conducted, which included CF patients from 0 to 20 years of age. The individuals were clustered according to the variables analyzed. The description values for chloride ion concentrations in each group were calculated. The Spearman's test was used to analyze the correlation between the age at diagnosis and sweat chloride levels. 64 individuals were included, 51,6% male. The median (Min - Max) age at diagnosis was 7 months (1-206). There was no correlation between the age at diagnosis and sweat chloride levels. The median of the chloride concentrations was higher for schoolchildren (106 mEq/l), females (102 mEq/l) and heterozygous F508del/Classes I to III (108 mEq/l) and reached the lowest values for teenagers (100 mEq/l) and heterozygous F508del/Classes IV to VI (77 mEq/l). The substantial variation of ionic levels among groups of distinct genotypes suggests that the sweat test is a good predictor for functional assessment of the *CFTR* channel.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Colégio Estadual Deputado Manoel Novaes, por transformar a minha visão de mundo e me direcionar para o caminho acadêmico.

À Universidade Federal da Bahia e ao Instituto de Biologia, incluindo a direção, coordenação, corpo docente e funcionários. O ingresso na UFBA e no IBIO transformou completamente a minha vida, em vários aspectos.

Ao CNPq e à FAPESB, pelas bolsas concedidas na iniciação científica.

Ao laboratório Flora e à professora Nádia Roque, por me acolherem na minha passagem pela botânica.

Ao LGHM, pela aprendizagem técnico-científica e pelas maravilhosas comilanças nas datas comemorativas. Gostaria de agradecer especialmente à Laís Ribeiro e à Mônica Jacobina, por me guiarem nos meus primeiros passos dentro do laboratório, e a Franklin Magalhães, meu parceiro inseparável de PCR.

A Bruno Cajado, pelas dicas de formatação à distância.

À equipe do ambulatório de Fibrose Cística do HUPES e ao grupo científico da professora Edna Lúcia por me acolherem nesta nova etapa da minha vida acadêmica.

Às docentes Edna Lúcia e Renata Lima, pelos ensinamentos, orientação, atenção e paciência. Vocês demonstram que a competência profissional não pode ser dissociada do tratamento acolhedor e humano.

Aos meus amigos, pelos encontros e momentos maravilhosos e pelo suporte nos momentos mais desafiadores.

Às minhas irmãs, Ellen Santana e Amanda Santana, aos meus primos e às minhas primas, pelo carinho e pelos momentos de alegria.

À minha afilhada, Júlia Santana, por suavizar os meus dias.

À minha mãe, Mércia Matos, e às minhas tias, Marli Matos, Mônica Matos, Márcia Matos, Maria da Conceição e Joelice Medeiros, que foram essenciais em todas as etapas da minha vida.

À minha avó, Francisca Maria, por me adotar como um filho e construir a base que me permitiu chegar até aqui.

## SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

AGRADECIMENTOS

SUMÁRIO .....	(i)
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. CAPÍTULO ÚNICO .....	4
3. CONCLUSÕES .....	19
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	19

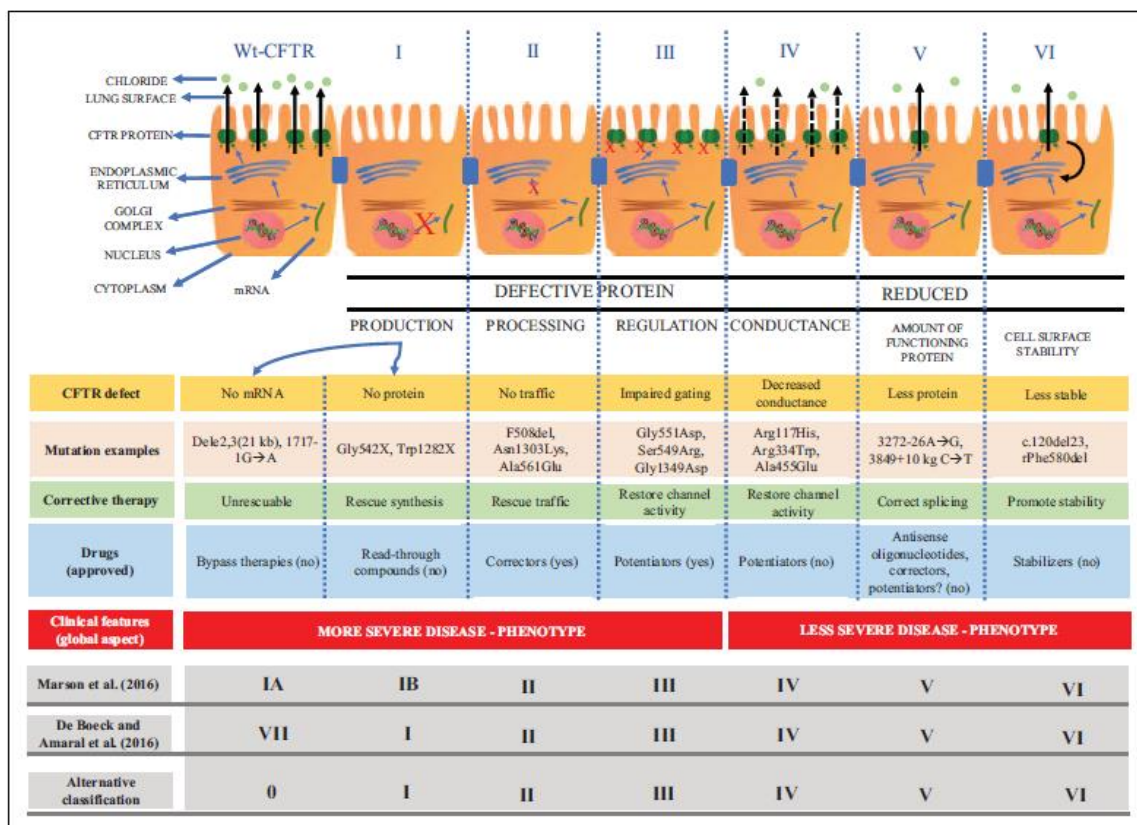
## INTRODUÇÃO GERAL

A fibrose cística (FC) ou mucoviscidose é a doença autossômica recessiva mais comum e letal em populações caucasianas (DAVIDSON e PORTEOUS, 1998). A etiologia principal desta patologia está associada a variantes patogênicas no gene *CFTR* (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*) (DAVIS; DRUMM; KONSTAN, 1996), o qual codifica uma proteína homônima.

A proteína CFTR é uma glicoproteína membro da superfamília de transportadores ABC (ATP-binding cassette) composta por 1480 aminoácidos (ROSA *et al.* 2008), cuja localização é a membrana apical das células epiteliais (KRASNOV *et al.* 2008). Este polipeptídeo atua como um canal iônico de íons cloreto (Cl<sup>-</sup>) e de bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (MENG *et al.* 2017), e a sua regulação é realizada pelo monofosfato cíclico de adenosina (cAMP) (KLEIZEN; BRAAKMAN; DE JONGE, 2000).

Segundo o *Cystic Fibrosis Mutation Database*, mais de 2100 variantes já foram descritas para o gene *CFTR* e 360 destas são consideradas patogênicas (CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION, 2020). As variantes patogênicas que levam ao desenvolvimento da FC são classificadas em seis classes, de acordo com os seus efeitos sobre a síntese, o transporte e a funcionalidade proteica (DE BOECK; AMARAL, 2016; MARSON; BERTUZZO; RIBEIRO, 2016). As mutações das classes I a III, por geralmente afetarem a tradução ou o transporte da proteína CFTR até a membrana plasmática, são aquelas que causam um fenótipo clínico mais grave. As variantes incluídas entre as classes IV a VI, por outro lado, acarretam manifestações clínicas mais moderadas, já que seus efeitos afetam apenas a funcionalidade e a estabilidade do polipeptídeo na membrana plasmática (MARSON, 2018) (Figura 1).





**Figura 1.** Classificação das variantes patogênicas do *CFTR* de acordo com os seus efeitos sobre a produção, funcionalidade e estabilidade da proteína, bem como sobre o fenótipo clínico da FC (Retirada de MARSON, 2018).

A fisiopatologia da FC é marcada por alterações no equilíbrio iônico e osmótico entre a membrana citoplasmática das células epiteliais e o meio extracelular. No epitélio das glândulas sudoríparas, por exemplo, a CFTR defeituosa impede a maior parte da reabsorção dos íons  $\text{Cl}^-$  para a área intersticial, aumentando a concentração destes ânions no lúmen glandular (ROWE; MILLER; SORSCHER, 2005). Como consequência, os canais transportadores de íons de sódio ( $\text{Na}^+$ ), numa tentativa de equilibrar as concentrações iônicas, diminuem o fluxo destes cátions para o espaço intersticial, o que eleva o conteúdo de sal dentro do lúmen glandular (ROWE; MILLER; SORSCHER, 2005). O resultado deste fenômeno é a excreção de um tipo de suor marcado pelo alto teor de cloreto de sódio, o qual se torna uma característica essencial a ser avaliada em testes diagnósticos da doença.

O diagnóstico da FC pode ser iniciado já na triagem neonatal (através do teste do pezinho), a partir da dosagem da tripsina imunorreativa (IRT) produzida no pâncreas, a qual se encontra em níveis elevados na circulação sanguínea de indivíduos com FC com até 30 dias de vida (SOCIEDADE DE PEDIATRIA DE SÃO PAULO, 2010). Conforme

protocolo do Sistema Único de Saúde (SUS), diante de duas dosagens positivas da IRT, o neonato deve ser encaminhado para a realização do teste do suor em um centro de referência.

O teste do suor é considerado o padrão ouro para o diagnóstico da FC e consiste na dosagem de cloreto ou de cloreto e sódio no suor (SERVIDONI *et al.* 2017). Os indivíduos submetidos a este ensaio que demonstrem níveis elevados destes eletrólitos recebem a confirmação diagnóstica (SERVIDONI *et al.* 2017). Entretanto, as quantificações resultantes do teste do suor podem ser influenciadas por variações biológicas intraindividuais e interindividuais, mesmo que a sua realização esteja dentro dos padrões previstos nas diretrizes internacionais (CIRILLI *et al.* 2017).

A influência de variáveis como a idade sobre as concentrações de cloreto de indivíduos com FC foi analisada em diferentes estudos. Os resultados observados para os primeiros anos de vida foram distintos (KIRK *et al.* 1992; TRAEGER *et al.* 2014; FARIA *et al.* 2017; LEGRYS *et al.* 2019). Por outro lado, no que diz respeito à influência de fatores genéticos sobre os níveis de cloreto no suor, o estudo de Collaco e colaboradores (2016) evidenciou o papel predominante do genótipo do *CFTR* sobre a variabilidade dos resultados do teste do suor e não houve evidências que mostrassem a interferência de genes modificadores sobre os valores de cloreto encontrados.

Diante do exposto, esse estudo se propôs a avaliar a correlação entre os valores das concentrações de cloreto obtidos através do teste do suor e a idade ao diagnóstico de indivíduos com FC assistidos em um centro de referência universitário. Além disso, os indivíduos analisados foram agrupados de acordo com a faixa etária, sexo e grupos de genótipos e os níveis iônicos do cloreto foram comparados entre os diferentes grupos.

## **CAPÍTULO ÚNICO**

Artigo a ser submetido à Revista de Ciências Médicas e Biológicas

Homepage: <https://portalseer.ufba.br/index.php/cmbio/>

**A influência da idade e do genótipo sobre os níveis de cloreto do suor em uma população pediátrica com fibrose cística no estado da Bahia.**

*The influence of age and genotype on sweat chloride levels in a pediatric population with cystic fibrosis in the state of Bahia.*

Adson Santana de Jesus<sup>1</sup>

Edna Lúcia Souza<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Licenciado em Ciências Biológicas, mestrando do Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia. Endereço: Avenida Caetano 65 A – Acupe de Brotas. Tel: (71) 9 9140-1696. E-mail: adsondejesus@hotmail.com.

<sup>2</sup> Doutora em Medicina e Saúde, Professora Associada do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Bahia, Universidade Federal da Bahia.

## **Resumo**

**Introdução:** A fibrose cística é a doença autossômica recessiva mais comum em populações caucasianas e a sua etiologia está associada a variantes patogênicas no gene *CFTR*. O teste do suor é considerado o padrão ouro para o diagnóstico dessa enfermidade. Estudos apontam que o genótipo do *CFTR* e a idade dos indivíduos influenciam as concentrações de cloreto no suor. **Objetivos:** Pesquisar a correlação entre os níveis de cloreto no teste do suor e a idade ao diagnóstico de indivíduos com fibrose cística e comparar as concentrações iônicas do cloreto entre os sexos, diferentes faixas etárias e três grupos diversos de genótipos do *CFTR*. **Metodologia:** Realizou-se um estudo de corte transversal, incluindo indivíduos de 0 a 20 anos, com diagnóstico confirmado de fibrose cística. Os indivíduos selecionados foram agrupados de acordo com as variáveis analisadas. Calcularam-se os valores descritivos das concentrações de íons cloreto de cada grupo. Utilizou-se o teste de Spearman para a análise da correlação entre a idade ao diagnóstico e os níveis de cloreto no suor. **Resultados:** Sessenta e quatro indivíduos foram incluídos no estudo, sendo 51,6% do sexo masculino. A mediana (Min - Max) da idade ao diagnóstico foi de 7 meses (1-206). Não foi observada uma correlação entre a idade dos indivíduos ao diagnóstico e os níveis de cloreto no suor. As concentrações medianas de cloreto foram maiores nos escolares (106 mEq/l), no sexo feminino (102 mEq/l) e nos heterozigotos F508del/Classe I a III (108 mEq/l); e menores nos adolescentes (100 mEq/l) e nos heterozigotos F508del/Classes IV a VI (77 mEq/l). **Conclusões:** A variação considerável dos níveis iônicos entre os grupos de diferentes genótipos sugere que o teste do suor é um bom preditor da avaliação funcional do canal CFTR.

**Palavras-chave:** Mucoviscidose. Teste do suor. Mutações. CFTR.

## INTRODUÇÃO

A fibrose cística (FC) é a doença genética autossômica recessiva mais comum em populações de origem caucasiana (VIDIGAL *et al.* 2008). A etiologia se associa a variantes patogênicas no gene *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* (CFTR), o qual codifica um canal homônimo de íons cloreto e de bicarbonato, localizado na membrana de células epiteliais (FIRMIDA; MARQUES; DA COSTA, 2011; PEREIRA *et al.* 2019).

Segundo o *Cystic Fibrosis Mutation Database* (2020), mais de 2 100 variantes já foram descritas para o gene CFTR, sendo que 360 delas são consideradas patogênicas (CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION, 2020). As variantes patogênicas no gene supracitado são classificadas em seis tipos, de acordo com os efeitos que causam sobre a síntese ou a função da proteína CFTR e, conseqüentemente, sobre as manifestações clínicas da doença (DE BOECK; AMARAL, 2016; MARSON, 2018). Os indivíduos com variantes das classes I a III, com ausência de função da CFTR, geralmente, apresentam concentrações mais elevadas de íons cloreto no suor e insuficiência pancreática exócrina (FIRMIDA; MARQUES; DA COSTA, 2011; ELBORN, 2016). Neste sentido, as mutações das classes IV a VI associam-se com alguma função residual da CFTR, concentrações moderadas de cloreto no suor e suficiência do pâncreas exócrino (ELBORN, 2016).

O teste do suor consiste na medida dos níveis de cloreto ou de cloreto e de sódio no suor excretado e é considerado o padrão ouro para o diagnóstico da FC (ATHANAZIO *et al.* 2017). Os níveis desses íons no suor refletem a atividade da proteína CFTR e, dessa forma, podem ser considerados biomarcadores dessa funcionalidade (ESPEL *et al.* 2018). Sugere-se, também, que as concentrações do cloreto no suor sejam variáveis nas diferentes faixas etárias. Contudo, alguns estudos apresentaram resultados conflitantes sobre esta relação, principalmente nos primeiros anos de vida (PARAD *et al.* 2005; TRAEGER *et al.* 2014; FARIA *et al.* 2017).

A variante patogênica F508del é a mais comum mundialmente e, geralmente, é associada à ausência de funcionalidade da proteína CFTR, sendo classificada no grupo II. A ocorrência desta variante em homozigose ou em heterozigose composta com

outras variantes patogênicas das classes I a III tem sido associada a altas concentrações de íons cloreto no suor (WILSCHANSKI *et al.* 1995; FARREL; KOSCIK. 1996; ESPEL *et al.* 2018). Por outro lado, a heterozigose composta entre a F508del e outras variantes das classes IV a VI determina níveis de cloreto no suor que, embora variáveis, são geralmente menores do que aqueles encontrados nos genótipos supracitados (WILSCHANSKI *et al.* 1995; FELDMANN *et al.* 2003; ESPEL *et al.* 2018).

Diante do exposto, os objetivos deste estudo foram pesquisar a correlação entre os níveis de cloreto no teste do suor e a idade ao diagnóstico de indivíduos com FC e comparar as concentrações iônicas do cloreto entre os sexos, diferentes faixas etárias e três grupos diversos de genótipos do *CFTR*.

## **METODOLOGIA**

### **Desenho do Estudo**

Trata-se de um estudo de corte transversal em uma população pediátrica acompanhada no Ambulatório Multiprofissional de Fibrose Cística do Hospital Universitário Professor Edgard Santos, da Universidade Federal da Bahia, a partir do ano de 2008.

### **População**

Incluíram-se todos os indivíduos com idade entre 0 e 20 anos, com confirmação sobre a enfermidade, realizada através de dois resultados positivos do teste do suor (níveis de cloreto  $\geq 60$  mEq/L) e/ou pela presença de duas variantes patogênicas do gene *CFTR*. Excluíram-se do estudo os indivíduos com teste do suor duvidoso (níveis de cloreto entre 30 e 59 mEq/L) e com pelo menos uma mutação de significado incerto ou desconhecido.

### **Protocolo de estudo**

Os indivíduos foram submetidos ao teste do suor para o diagnóstico da doença. Este procedimento foi realizado através do método de iontoforese por pilocarpina descrito por Gibson e Cooke (1959). Dois exames foram realizados e, em cada um

deles, analisaram-se duas medidas das concentrações de cloreto para a confirmação diagnóstica. Além disto, a pesquisa de variantes patogênicas no gene *CFTR* foi realizada através da reação em cadeia da polimerase, associada à aplicação de enzimas de restrição (PCR-RFLP) ou por meio do sequenciamento de nova geração.

Os dados clínicos foram coletados no período de outubro a novembro de 2020, a partir da ficha clínica preenchida com os registros dos prontuários médicos. Estudaram-se as seguintes variáveis: idade ao diagnóstico, sexo, os níveis de cloreto no suor (sendo adotado o maior valor encontrado para cada indivíduo) e o genótipo.

### **Aspectos Éticos**

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Professor Edgard Santos, pelo Parecer n. 4.321.551. As crianças/adolescentes ou os seus responsáveis legais assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e, quando pertinente, as crianças assinaram o termo de assentimento.

### **Análise estatística**

Os dados obtidos foram registrados e armazenados no *software* Microsoft Excel 365. O *software* R-Studio 1.3.1093 foi utilizado para análise de correlação. A estatística descritiva consistiu nos cálculos das frequências simples e relativas das variáveis estudadas. As crianças foram classificadas nas seguintes faixas etárias: lactentes (0 a 23 meses e 29 dias), pré-escolares (24 a 71 meses e 29 dias), escolares (72 meses a 119 meses e 29 dias) e adolescentes (120 a 227 meses e 29 dias) (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2014).

As crianças foram categorizadas em três grupos, de acordo com seus genótipos: G1- homozigotos para a variante patogênica F508del; G2- heterozigotos compostos para a mutação F508del e uma variante das classes I a III; e G3- heterozigotos compostos para a mutação F508del e uma variante das classes IV a VI. Os indivíduos que não apresentavam a mutação F508del ou a apresentavam em heterozigose composta com outras variantes, cujas classes funcionais ainda não foram definidas, foram excluídos desta análise.

O teste de correlação de Spearman foi realizado para a análise da correlação entre os níveis de cloreto no suor e a idade ao diagnóstico. Os valores medianos do teste

do suor foram comparados entre os sexos, as faixas etárias e os diferentes grupos de genótipo do *CFTR*.

## RESULTADOS

Incluíram-se sessenta e quatro crianças, sendo excluído um indivíduo por apresentar teste do suor duvidoso e não ter genótipo definido; trinta e três (51,6%) foram do sexo masculino, mediana de idade (Min- Max) ao diagnóstico de 7 meses (1-206).

As frequências de indivíduos e a mediana dos níveis de cloreto no suor por faixa etária estão descritas na Tabela 1. A variação entre essas medianas nesses grupos está representada no Gráfico 1. As medianas (Min-Max) de idade (em meses), ao diagnóstico, foram de 4 (1-18), 49,5 (32-68), 94,5 (90-106) e 171 (136-206) para os lactentes, pré-escolares, escolares e adolescentes, respectivamente.

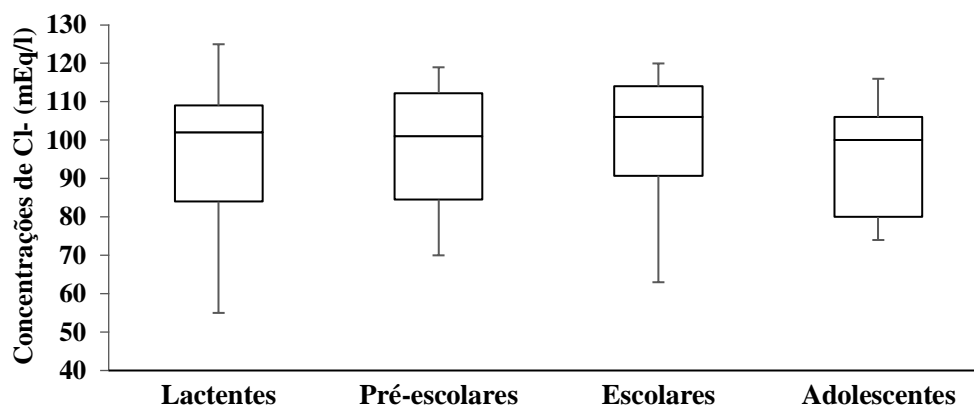
**Tabela 1** - Frequências de indivíduos e a mediana dos valores das concentrações dos íons Cl<sup>-</sup> no suor (em mEq/l) de acordo com cada faixa etária ao diagnóstico da doença (N=64)

Faixas etárias	N (%)	Valor mediano (I.I.Q) <sup>a</sup>
Lactentes	41 (64,06%)	102 (84-109)
Pré-escolares	10 (15,63%)	101 (84,5-112,25)
Escolares	4 (6,25%)	106 (90,75-114)
Adolescentes	9 (14,06%)	100 (80-106)

Legenda a: I.I.Q - Intervalo interquartilico.

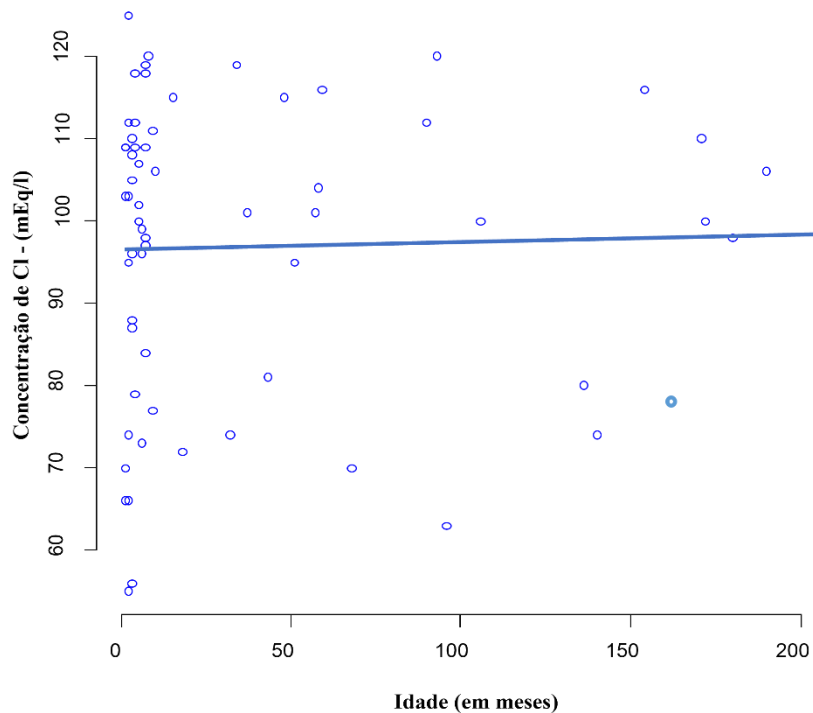


**Gráfico 1** – Comparação das medianas e variações interquartílicas das concentrações dos íons Cl<sup>-</sup> no suor (em mEq/L) entre as faixas etárias da idade ao diagnóstico da doença.



A análise da correlação entre as concentrações de cloreto no suor e a idade das crianças ao diagnóstico está descrita no Gráfico 2 ( $p = 0,10$ ).

**Gráfico 2** – Dispersão dos valores das concentrações de cloreto detectadas no teste do suor de acordo com a idade ao diagnóstico (em meses).



As frequências dos indivíduos e a mediana dos níveis de cloreto por sexo estão descritas na Tabela 2.

**Tabela 2** – Frequências de indivíduos e a mediana dos valores das concentrações dos íons Cl<sup>-</sup> no suor (em mEq/l) para os sexos masculino e feminino (N=64).

<b>Sexo</b>	<b>N (%)</b>	<b>Valor mediano (I.I.Q)<sup>a</sup></b>
Masculino	33 (51,56%)	100 (84-108)
Feminino	31 (48,44%)	102 (79-113,5)

Legenda: a: I.I.Q - Intervalo interquartilico.

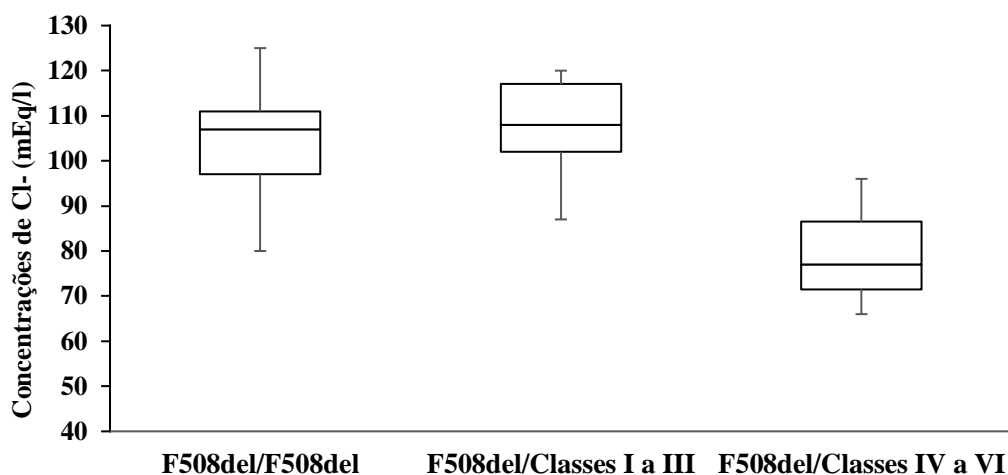
Dentre os sessenta e quatro sujeitos incluídos no estudo, trinta e sete foram agrupados de acordo com o genótipo. Vinte e sete indivíduos foram excluídos por não apresentarem a variante F508del ou por apresentarem em heterozigose composta com mutações de classes não definidas. As frequências dos indivíduos em cada grupo, bem como a mediana dos níveis de cloreto, estão descritas na Tabela 3. A variação entre estas medianas foi representada no Gráfico 3.

**Tabela 3** – Frequências de indivíduos e a mediana dos valores das concentrações dos íons Cl<sup>-</sup> no suor (em mEq/l) para os três grupos de genótipos do *CFTR* (N=37).

<b>Grupo</b>	<b>N (%)</b>	<b>Valor mediano (I.I.Q)<sup>d</sup></b>
G1 <sup>a</sup>	19 (51,35%)	107 (97-111)
G2 <sup>b</sup>	15 (40,54%)	108 (102-117)
G3 <sup>c</sup>	3 (8,11%)	77 (71,5-86,5)

Legenda: a: G1: F508del/F508del. b: G2: F508del/Classes I a III. c: G3: F508del/Classes IV a VI. d: I.I.Q - Intervalo interquartilico.

**Gráfico 3** – Comparação das medianas e variações interquartílicas das concentrações dos íons Cl<sup>-</sup> no suor (em mEq/L) entre os três grupos de genótipos do *CFTR*.



## DISCUSSÃO

Os resultados observados evidenciaram medianas mais elevadas das concentrações de cloreto nos grupos 1 (F508del/F508del) e 2 (F508del/Classes I a III), quando comparados ao grupo 3 (F508del/Classes IV a VI). Estes resultados estão em consonância com outros estudos, onde os autores observaram que os níveis de cloreto de suor foram maiores nos indivíduos homocigotos para a mutação F508del e nos heterocigotos compostos com uma variante F508del e outra mutação das classes I a III, quando comparados àqueles que apresentavam uma mutação F508del em heterocigose composta com uma variante das classes IV a VI (WILSCHANSKI *et al.*,1995; FARREL; KOSCIK , 1996; ESPEL *et al.*,2018). Entretanto, neste estudo, apenas três crianças foram incluídas no grupo 3, o que pode dificultar a interpretação dos resultados.

Nos estudos de FELDMANN *et al.* (2003) e ESPEL *et al.* (2018), as concentrações de cloreto em indivíduos heterocigotos compostos para as mutações F508del e R117H (uma variante de classe IV) estiveram, predominantemente, próximas ou dentro da faixa intermediária de referência (30 a 59 mEq/L). Nesse sentido, a relação genótipo-fenótipo na FC, baseada na associação entre as diferentes classes de variantes do gene *CFTR* e os níveis de cloreto no suor, pode ser uma boa preditora do nível de

atividade da proteína CFTR. Pesquisas que observam o efeito de moduladores sobre a função da proteína CFTR têm utilizado os resultados do teste do suor como parâmetros de avaliação da recuperação funcional (ACCURSO *et al.* 2010; COLLIE *et al.* 2014).

Apesar da plausibilidade da relação genótipo-fenótipo baseada nas concentrações dos íons cloretos no suor, estas podem ser influenciadas por outros fatores, incluindo a faixa etária dos indivíduos. No presente trabalho, não foi detectada uma correlação entre as concentrações de cloreto no suor e a idade ao diagnóstico. Além disso, foi observada pouca variação nos níveis medianos dos íons de cloro entre as quatro faixas etárias avaliadas. Esses fenômenos podem ter decorrido do pequeno número de indivíduos incluídos e da maior proporção de crianças diagnosticados antes dos dois anos de vida, o que dificulta a comparação entre os grupos etários. O estudo de Traeger e colaboradores (2014) identificou, em indivíduos com FC, níveis de cloreto no suor que diminuíram até o primeiro ano de vida e aumentaram gradualmente nos anos subsequentes, atingindo um pico na meia idade e diminuindo posteriormente. Entretanto, as correlações observadas foram fracas e houve o viés de amostragem, já que crianças e jovens foram submetidos em maior proporção ao teste do suor, quando comparados aos adultos e idosos. No estudo de Faria e colaboradores (2017) foi observado um aumento das concentrações de cloreto no suor até o primeiro ano de idade, seguido de uma gradual redução a partir dos dois anos. Estes últimos autores chamam atenção para o fato de que essas concentrações tendem a ser menores em indivíduos adultos e que existe uma grande variabilidade intra e interindividual.

Com relação aos dados do sexo, as medianas das concentrações de cloreto também mostraram pouca variação entre meninas e meninos. Estes resultados foram semelhantes àqueles de Cirilli e colaboradores (2018), os quais observaram uma baixa variação entre os níveis de íons de cloro no suor dos indivíduos de diferentes sexos. Os citados autores incluíram em suas análises variáveis como o período do ciclo menstrual. Ismail e colaboradores (2015) evidenciaram a influência do estrógeno sobre a expressão e atividade do canal CFTR em roedores, o que mostra a possibilidade de consideração desse fator na análise dos níveis de cloreto em adolescentes e adultas.

As limitações deste estudo foram constituídas principalmente pela inclusão de um pequeno número de indivíduos de um único centro e pelas características da

população analisada, predominantemente pediátrica, cuja maioria concentrou-se em uma única faixa etária. Além disso, a comparação dos níveis de cloreto no suor em três diferentes genótipos identificou um pequeno número de indivíduos no grupo 3.

## **CONCLUSÕES**

Não houve correlação entre as concentrações de cloreto no suor e a idade ao diagnóstico dos indivíduos. Além disso, foi observada uma baixa variabilidade dos níveis iônicos do cloro no suor entre os sexos e as faixas etárias. As diferenças encontradas nos níveis de cloreto entre os três grupos de genótipos analisados sugerem a influência das variantes patogênicas sobre a função transportadora da proteína CFTR e o valor preditivo que o teste do suor pode ter na análise dessa função.

*The influence of age and genotype on sweat chloride levels in a pediatric population with cystic fibrosis in the state of Bahia.*

**Abstract**

**Introduction:** Cystic fibrosis is the most common autosomal recessive disorder in Caucasian populations and its etiology is associated with pathogenic variants in the *CFTR* gene. The sweat test is considered the gold standard for the diagnosis of the disease. Some studies suggest that *CFTR* genotype and age affect sweat chloride concentrations. **Objectives:** To investigate the correlation between sweat chloride levels and age at diagnosis of individuals with cystic fibrosis and to compare ionic chloride concentrations among sex, different age groups and three distinct groups of *CFTR* genotypes. **Methodology:** A cross-sectional study was conducted, which included CF patients from 0 to 20 years of age. The individuals were clustered according to the variables analyzed. The description values for chloride ion concentrations in each group were calculated. The Spearman's test was used to analyze the correlation between the age at diagnosis and sweat chloride levels. **Results:** 64 individuals were included, 51,6% male. The median (Min - Max) age at diagnosis was 7 months (1-206). There was no correlation between the age at diagnosis and sweat chloride levels. The median of the chloride concentrations was higher for schoolchildren (106 mEq/l), females (102 mEq/l) and heterozygous F508del/Classes I to III (108 mEq/l) and reached the lowest values for teenagers (100 mEq/l) and heterozygous F508del/Classes IV to VI (77 mEq/l). **Conclusions:** The substantial variation of ionic levels among groups of distinct genotypes suggests that the sweat test is a good predictor for functional assessment of the *CFTR* channel.

**Keywords:** Mucoviscidosis. Sweat test. Mutations. *CFTR*.

## REFERÊNCIAS

ACCURSO, F.J. *et al.* Effect of VX-770 in persons with cystic fibrosis and the G551D-CFTR mutation. **New England Journal of Medicine**, v. 363, n. 21, p. 1991-2003, 2010.

ATHANAZIO, R.A. *et al.* Diretrizes brasileiras de diagnóstico e tratamento da fibrose cística. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 43, n. 3, p. 219-245, 2017.

CIRILLI, N. *et al.* Intra-individual biological variation in sweat chloride concentrations in CF, CFTR dysfunction, and healthy pediatric subjects. **Pediatric Pulmonology**, v. 53, n. 6, p. 728-734, 2018.

COLLIE, J.T.B. *et al.* Sixty-five years since the New York heat wave: Advances in sweat testing for cystic fibrosis. **Pediatric Pulmonology**, v. 49, n. 2, p. 106-117, 2014.

CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION. Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2). **Variant list history**. 2020. Disponível em: [https://cftr2.org/mutations\\_history](https://cftr2.org/mutations_history). Acesso em: 18 nov. 2020.

CYSTIC FIBROSIS MUTATIONS DATABASE. **CFMDB statistics**. 2020. Disponível em: <http://www.genet.sickkids.on.ca/StatisticsPage.html>. Acesso em: 13 Nov. 2020.

DE BOECK, K.; AMARAL, M. D. Progress in therapies for cystic fibrosis. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 4, n. 8, p. 662-674, 2016.

ELBORN, J.S. Cystic Fibrosis. **The Lancet**, v. 388, n.10059, p2519-2531, 2016.

ESPEL, J. C. *et al.* The relationship between sweat chloride levels and mortality in cystic fibrosis varies by individual genotype. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 17, n. 1, p. 34-42, 2018.

FARIA, A. G. *et al.* The correlation between age and sweat chloride levels in sweat tests. **Revista Portuguesa de Pneumologia**, v. 23, n. 4, p. 227-230, 2017.

FARRELL, P.M.; KOSCIK, R.E. Sweat chloride concentrations in infants homozygous or heterozygous for F508 cystic fibrosis. **Pediatrics**, v. 97, n. 4, p. 524-528, 1996.

FELDMANN, D. *et al.* CFTR genotypes in patients with normal or borderline sweat chloride levels. **Human Mutation**, v. 22, n. 4, p. 340-340, 2003.

FIRMIDA, M.C; MARQUES, B. L.; DA COSTA, C.H. Fisiopatologia e manifestações clínicas da fibrose cística. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 10, n. 4, 2011.

GIBSON, L.E.; COOKE, R.E. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. **Pediatrics**, v. 23, n. 3, p. 545-549, 1959.

ISMAIL, N. *et al.* Estrogen and progesterone differentially regulate the levels of cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR), adenylate cyclase (AC), and cyclic adenosine mono-phosphate (cAMP) in the rat cervix. **Molecular reproduction and development**, v. 82, n. 6, p. 463-474, 2015.

MARSON, F.A.L. Disease-modifying genetic factors in cystic fibrosis. **Current Opinion in Pulmonary Medicine**, v. 24, n. 3, p. 296-308, 2018.

PARAD, R.B. *et al.* Sweat testing infants detected by cystic fibrosis newborn screening. **The Journal of Pediatrics**, v. 147, n. 3, p. S69-S72, 2005.

PEREIRA, S. V. *et al.* Novel, rare and common pathogenic variants in the CFTR gene screened by high-throughput sequencing technology and predicted by in silico tools. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-16, 2019.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. **Calendário da puericultura**. Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: [https://www.sbp.com.br/fileadmin/user\\_upload/pdfs/CalendarioPuericultura\\_Jan2014.pdf](https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/pdfs/CalendarioPuericultura_Jan2014.pdf). Acesso em: 18 Nov. 2020.

TRAEGER, N. *et al.* Relationship between sweat chloride, sodium, and age in clinically obtained samples. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 13, n. 1, p. 10-14, 2014.

VIDIGAL, P. V. T. *et al.* p. F508del in a heterogeneous cystic fibrosis population from Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 41, n. 8, p. 643-647, 2008.

WILSCHANSKI, M. *et al.* Correlation of sweat chloride concentration with classes of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations. **The Journal of Pediatrics**, v. 127, n. 5, p. 705-710, 1995.



**Revista de Ciências Médicas e Biológicas**  
Universidade Federal da Bahia  
Instituto de Ciências da Saúde

**DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE**

Certificamos que o artigo **“A influência da idade e do genótipo sobre os níveis de cloreto do suor em uma população pediátrica com fibrose cística no estado da Bahia”**, de autoria Adson Santana de Jesus<sup>1</sup> e Edna Lúcia Souza<sup>2</sup>, enviado à **Revista de Ciências Médicas e Biológicas** é um trabalho original, sendo que o seu conteúdo não foi ou não está sendo considerado para publicação em outra revista, seja no formato impresso ou eletrônico.

<sup>1</sup> Licenciado em Ciências Biológicas, mestrando do Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciência da Saúde, Universidade Federal da Bahia;

<sup>2</sup> Doutora em Medicina e Saúde, Professora Associada do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Bahia, Universidade Federal da Bahia.

Salvador, 02 dezembro de 2020

Adson Santana de Jesus

Edna Lúcia Souza

## CONCLUSÕES

A correlação entre as concentrações de cloreto no suor e a idade ao diagnóstico dos indivíduos com fibrose cística não foi evidenciada neste estudo. Observou-se uma pequena variabilidade dos níveis iônicos do cloro entre as diferentes faixas etárias e entre os sexos. As distinções encontradas entre os três grupos de genótipos sugerem a influência das variantes patogênicas sobre a funcionalidade do canal CFTR e o valor preditivo que o teste do suor pode apresentar na análise desta função.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION. Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2). **Variant list history**. 2020. Disponível em: [https://cftr2.org/mutations\\_history](https://cftr2.org/mutations_history). Acesso em: 18 nov. 2020.
- CYSTIC FIBROSIS MUTATIONS DATABASE. **CFMDB statistics**. 2020. Disponível em: <http://www.genet.sickkids.on.ca/StatisticsPage.html>. Acesso em: 13 Nov. 2020.
- CIRILLI, N. *et al.* Intra-individual biological variation in sweat chloride concentrations in CF, CFTR dysfunction, and healthy pediatric subjects. **Pediatric Pulmonology**, v. 53, n. 6, p. 728-734, 2018.
- COLLACO, J. M. *et al.* Sources of variation in sweat chloride measurements in cystic fibrosis. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 194, n. 11, p. 1375-1382, 2016.
- DAVIDSON, D.J. PORTEOUS, D. J. The genetics of cystic fibrosis lung disease. **Thorax**, v. 53, n. 5, p. 389-397, 1998.
- DAVIS, P.B. DRUMM, M. KONSTAN, M.W. Cystic Fibrosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**. v.154, n.5, p. 1229-1256, 1996.
- DE BOECK, K.; AMARAL, M. D. Progress in therapies for cystic fibrosis. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 4, n. 8, p. 662-674, 2016.
- FARIA, A. G. *et al.* The correlation between age and sweat chloride levels in sweat tests. **Revista Portuguesa de Pneumologia**, v. 23, n. 4, p. 227-230, 2017.
- KIRK, J. M. *et al.* Variation of sweat sodium and chloride with age in cystic fibrosis and normal populations: further investigations in equivocal cases. **Annals of clinical biochemistry**, v. 29, n. 2, p. 145-152, 1992.
- KLEIZEN, B. BRAAKMAN, I. DE JONGE, H. R. Regulated trafficking of the CFTR chloride channel. **European journal of cell biology**, v. 79, n. 8, p. 544-556, 2000.
- KRASNOV, K.V. *et al.* Functional studies of rare missense mutations in CFTR facilitate interpretation of genotype-phenotype relationships. **Human mutation**, v. 29, n. 11, p. 1364, 2008.

LEGRYS, V. A. *et al.* A multicenter evaluation of sweat chloride concentration and variation in infants with cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 18, n. 2, p. 190-193, 2019.

MARSON, F.A.L. Disease-modifying genetic factors in cystic fibrosis. **Current Opinion in Pulmonary Medicine**, v. 24, n. 3, p. 296-308, 2018.

MARSON, F.A.L. BERTUZZO, C.S. RIBEIRO, J.D. Classification of CFTR mutation classes. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 4, n. 8, p. e37-e38, 2016.

ROSA, F.R. *et al.* Fibrose cística: uma abordagem clínica e nutricional. **Revista de Nutrição**, v. 21, n. 6, p. 725-737, 2008.

ROWEN, S.M. MILLER, S. SORSCHER, E.J. Mechanisms of disease: Cystic Fibrosis. **The new england journal of medicine**, v. 352, n. 19, p.1992-2001, 2005.

SERVIDONI, M. F. *et al.* Teste do suor e fibrose cística: panorama da realização do teste em centros públicos e privados do estado de São Paulo. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 43, n. 2, p. 121-128, 2017.

SOCIEDADE DE PEDIATRIA DE SÃO PAULO. **Triagem neonatal para fibrose cística**. 2010. Disponível em: [https://www.spsp.org.br/2010/03/15/triagem\\_neonatal\\_para\\_fibrose\\_cistica/](https://www.spsp.org.br/2010/03/15/triagem_neonatal_para_fibrose_cistica/). Acesso em: 02 Dez. 2020.

TRAEGER, N. *et al.* Relationship between sweat chloride, sodium, and age in clinically obtained samples. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 13, n. 1, p. 10-14, 2014.