

Manifestações clínicas da mutação F508del: uma série de casos de pacientes com fibrose cística

Clinical manifestations of F508del mutation: a case series report of cystic fibrosis patients

Lais Ribeiro Mota¹, Maria Betânia Pereira Toralles^{2*}, Edna Lucia Souza³

¹ *Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Orgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde, UFBA.*; ² *Doutora em Medicina e Saúde. Professora Associada IV do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Bahia, UFBA.*; ³ *Doutora em Medicina e Saúde. Professora Associado II do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Bahia, UFBA.*

RESUMO

Introdução: a Fibrose Cística (FC) é a doença autossômica recessiva mais comum e letal na população de origem caucasóide. Causada por mutações no gene que codifica a proteína CFTR, no qual já existem mais de 2.000 mutações identificadas, sendo a mutação F508del a mais frequente. Esta doença apresenta-se de forma multissistêmica com quadro clínico altamente variado e com considerável diversidade na gravidade e na progressão da doença. Alguns estudos correlacionam os sintomas ao genótipo dos pacientes. **Objetivo:** descrever o genótipo e apresentação clínica dos pacientes homocigotos ou heterocigotos compostos para esta mutação F508del. **Metodologia:** foi realizada a descrição de uma série de casos de pacientes diagnosticados com FC que apresentam a mutação F508del, acompanhados pelo Ambulatório Multidisciplinar de FC do Complexo Hospitalar Universitário Prof. Edgard Santos do Estado da Bahia. **Resultados:** Dez (45,4%) crianças eram homocigotos para a mutação e 12/22 (54,5%) heterocigotos compostos. As principais manifestações clínicas que levaram ao diagnóstico foram: insuficiência pancreática (95,4%), sintomas respiratórios (85,2%), dificuldade em ganhar peso (88,5%), esteatorreia (73,3%), e ritmo intestinal alterado (53,8%). A idade de início dos sintomas (mediana 0,16 anos) e do diagnóstico (mediana 0,58 anos) foram precoces, refletindo a gravidade da doença. **Conclusões:** Conclui-se que as características clínicas e laboratoriais dos pacientes descritos foram semelhantes aos relatados na literatura e destacam a associação entre insuficiência pancreática e o genótipo dos pacientes, enfatizando a importância do estudo genético na determinação do prognóstico dos pacientes, em especial em populações altamente miscigenadas, como no Brasil.

Descritores: Regulador de Condutância Transmembrana em Fibrose Cística. Mutações. Genótipo.

Abstract

Introduction: cystic fibrosis (CF) is the most common lethal autosomal recessive disorder in Caucasian populations and occurs as a result of mutations in CFTR gene, which codifies the transmembrane protein known as CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator). Currently, more than 2.000 mutations have been described and the F508del mutation is the most frequent among patients with CF. This is a multisystemic disease with wide variability in clinical manifestations and in severity and disease progression. Some studies correlate the genotypes with symptoms in CF patients. **Objectives:** to describe the genotypes and clinical manifestations for the F508del mutation in patients who are homozygous or heterozygous. **Methods:** it was a case series reports of CF patients followed in a Multidisciplinary clinic at The Complexo Hospitalar Universitário Prof. Edgard Santos in the State of Bahia. **Results:** for the F508del mutation, ten (45.4%) children were homozygous and 12/22 (54.5%) heterozygous. The main clinical manifestations during diagnosis were: pancreatic insufficiency (95.4%), respiratory symptoms (86.9%), weight gain difficulty (85.8%) and steatorrhea (77.5%). The median age of first symptoms (0.16 years) and at diagnosis (0.56 years) was early, which highlight the disease severity. **Conclusions:** the clinical manifestations were similar to those described in the literature and highlight the association between pancreatic insufficiency and patients genotypes, as well as emphasize the importance of a genetic study in the disease prognosis, particularly in high admixture population as in Brazil.

Keywords: Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator. Mutations. Genotype.

INTRODUÇÃO

A Fibrose Cística (FC; OMIM 219700) ou Mucoviscidose é a doença autossômica recessiva mais frequente

na população, sendo mais comum naqueles de origem caucasóide, apresentando-se como uma enfermidade multissistêmica¹. O gene *Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator* (CFTR), localizado no braço longo do cromossomo 7 (*locus*7q31), é responsável pela codificação da proteína CFTR que atua como um canal de cloro. Mutações neste gene resultam na ausência ou função defeituosa da

Correspondente/Corresponding: * Maria Betânia Pereira Toralles – Instituto de Ciências da Saúde. Universidade Federal da Bahia. – Endereço: Av. Reitor Miguel Calmon, s/n, Vale do Canela, Salvador – BA.CEP:40110-100 – Tel: (71) 99965-9211 – E-mail: m.toralles@uol.com.br

proteína CFTR^{2,3,4}. Estima-se que haja atualmente cerca de 70.000 afetados por esta doença, em todo o mundo⁵. No Brasil, segundo o Ministério da Saúde, existem, aproximadamente, 4 mil indivíduos acometidos pela FC⁶, com uma incidência próxima de 1:7000 nascidos vivos, sendo variável de acordo com a região geográfica⁷.

Existem mais de 2.000 mutações identificadas no gene *CFTR*⁸, as quais são classificadas em seis grupos tendo como base a funcionalidade da proteína, onde nas classes I, II e III não há síntese da proteína CFTR, o que acarreta maior gravidade clínica do que a observada nas classes IV, V e VI, onde há produção de uma CFTR defeituosa¹. A primeira mutação identificada e, também, a mais frequente mundialmente é a F508del, presente em cerca de 70% dos casos de FC, dependendo da população analisada, variando de 26% na Turquia até 88% na Dinamarca⁸. Esta é uma mutação da classe II e ocorre devido à deleção de três pares de bases no éxon 10, resultando na perda do aminoácido fenilalanina na posição 508, ocasionando o dobramento errôneo da CFTR e, posteriormente, sua degradação no retículo endoplasmático rugoso⁹. Em países economicamente desenvolvidos e com etnias bem definidas é possível identificar mais facilmente todas as mutações presentes no gene *CFTR* dos pacientes, porém, em populações em desenvolvimento e/ou miscigenadas como a brasileira a caracterização genotípica é mais complexa. No Brasil, a frequência média da F508del é 50%, variando de 8,7% a 50%^{10,11,12,13,14,15,16,17}, a depender da região avaliada.

Segundo o IBGE¹⁸, no Estado da Bahia 80% dos habitantes são afrodescendentes, apresentando altas taxas de miscigenação, especialmente entre descendentes de europeus e de africanos. Apenas dois estudos pesquisaram a mutação F508del em pacientes fibrocísticos baianos. Costa et al.¹⁰ encontraram frequência alélica de 8,7%, enquanto Mota¹³ encontrou 25,5%.

A FC apresenta-se como uma enfermidade multissistêmica com quadro clínico altamente variado e os pacientes são diagnosticados, com considerável diversidade na gravidade e na progressão da doença¹⁹. Alguns estudos vêm tentando relacionar os sintomas ao genótipo dos pacientes, porém uma importante variabilidade fenotípica é observada entre pacientes da mesma classificação mutacional e, até mesmo, entre pacientes que apresentam a mesma mutação²⁰. Devido à alta frequência e gravidade clínica associada à mutação F508del, o objetivo deste estudo foi descrever o genótipo e apresentação clínica dos pacientes homocigotos ou heterocigotos compostos para esta mutação acompanhados pelo Ambulatório Multidisciplinar de FC do Complexo Hospitalar Universitário Prof. Edgard Santos do Estado da Bahia.

METODOLOGIA

Modelo do estudo

Trata-se de uma série de casos de pacientes diagnosticados com FC e que apresentam a mutação F508del,

oriundos de um estudo de coorte que acompanha indivíduos de 0 – 20 anos atendidos no AMFC desde 2008.

Pacientes

Os pacientes do estudo receberam diagnóstico clínico de Fibrose Cística de acordo com os critérios da *Cystic Fibrosis Foundation*⁵. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Professor Edgard Santos, sob o número 121/2011. Os pais e/ou responsáveis de todas as crianças incluídas no estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Após a admissão dos pacientes no estudo, foi aplicado um formulário padrão, de onde foram obtidas informações clínico-epidemiológicas. Os pacientes realizaram coleta de uma amostra de sangue periférico para análise da mutação F508del, através da reação em cadeia da polimerase PCR. Adicionalmente, as mutações G542X e 3120+1GΔA foram pesquisadas de acordo com as técnicas específicas.

Variáveis clínico/demográficas

Foram estudadas as seguintes variáveis clínico/demográficas: idade dos pacientes na admissão do estudo de coorte, no início dos sintomas e ao diagnóstico, grupo racial, consanguinidade entre os pais, sintomas respiratórios, história de íleo meconial, esteatorreia, insuficiência pancreática (identificada através da pesquisa da elastase fecal), dificuldade em ganhar peso no momento do diagnóstico, uso de enzimas pancreáticas e os níveis de cloro no suor.

Análise dos Dados

Os dados obtidos foram registrados e armazenados em um banco de dados utilizando o programa Epidata. A análise descritiva incluiu cálculos de médias, medianas e frequências simples e relativas das variáveis estudadas.

RESULTADOS

Características da População de Estudo

Cinquenta e três pacientes foram incluídos no estudo de coorte até o presente. Destes, 22 (41,5%) apresentaram a mutação F508del e tinham dois testes de suor em que os níveis de cloro foram elevados (≥ 60 mmol/L). Treze dos 22 (59%) eram do sexo masculino. De acordo com as características fenotípicas da criança e/ou dos pais, todos os pacientes foram classificados como não brancos (miscigenados).

Análise da mutação F508del

Dez (45,4%) crianças eram homocigotos para a mutação e 12/22 (54,5%) heterocigotos compostos, estes foram subdivididos em indivíduos heterocigotos com as duas mutações caracterizadas e heterocigotos compostos com apenas a mutação F508del identificada até o momento. A Tabela 1 descreve o genótipo e as variáveis clínicas dos pacientes.

Tabela 1 – Genótipo e variáveis clínicas dos 22 pacientes com a mutação F508del acompanhados pelo AMFC em Salvador, 2012 a 2016

Genótipos	N (%)	Classe Mutacional	Mediana de idade (anos) no início dos sintomas IIQ (Min-Max)	Mediana de idade (anos) no momento do diagnóstico IIQ (Min-Max)
F508del/F508del	10 (45,4%)	II	0,08 (0,08-7)	0,58 (0,25-10)
F508del/G542X	1 (4,5%)	II/I	0,16 (0,08-2)	0,5 (0,08-4,9)
F508del/3120+1G→A	6 (27,4%)	II/I		
F508del/?	5 (22,7%)	II/?	0,25 (0,08-2)	4,75 (0,5-15,8)

IIQ: intervalo interquartil; Min: mínima; Max: máxima.

Características clínico-demográficas da população estudada

A mediana de idade (em anos) dos pacientes no início dos sintomas e no momento do diagnóstico foram, respectivamente, 0,16 (0,08 – 7) e 0,7 (0,08 – 15,8). A Tabela 2 compara os principais sintomas que levaram ao diagnóstico dos pacientes homocigotos e heterocigotos compostos para a mutação F508del. As principais manifestações clínicas registradas foram: insuficiência pancreática observada com base em seus dados clínicos e/ou confirmação laboratorial (95,4%), dificuldade em ganhar peso (88,5%), sintomas respiratórios (85,2%),

esteatorreia (73,3%) e ritmo intestinal alterado (53,8%). Nenhum dos 22 pacientes tinha histórico de íleo mecânico. Havia história de consanguinidade entre os pais de dois (2/22) pacientes homocigotos (9%), para a mutação F508del e entre seis pacientes (primos e irmãos): três (F508del/F508del) e três (F508del/3120+1G→A). Entre os 22 pacientes estudados apenas um paciente não teve evidências clínicas nem confirmação de insuficiência pancreática (IP) e não fazia uso de enzimas pancreáticas. Vinte e um crianças continuam sendo acompanhadas e um paciente homocigoto foi a obito por desidratação antes do segundo ano de vida.

Tabela 2 – Principais sintomas apresentados pelos pacientes com a mutação F508del que levaram ao diagnóstico da Fibrose Cística no AMFC em Salvador, 2012 a 2016

Sintomas	Homocigotos F508del	Heterocigotos com a 2ª mutação identificada	Heterocigotos compostos com a 2ª mutação não identificada
Sintomas respiratórios	9/10 (90%)	6/7 (85,7%)	4/5 (80%)
Dificuldade ganho peso	8/10 (80%)	6/7 (85,7%)	5/5 (100%)
Esteatorreia	8/10 (80%)	7/7 (100%)	2/5 (40%)
Insuficiência Pancreática	7/7 (100%)*	7/7 (100%)	4/5 (80%)
Ritmo Intestinal Alterado	7/10 (70%)	5/7 (71,4%)	1/5 (20%)

*3 pacientes não realizaram.

DISCUSSÃO

Além da mutação F508del, os pacientes foram investigados para as mutações: G542X e 3120+1G→A. A F508del é a mutação mais frequente no gene *CFTR*, tendo surgido originalmente, na Europa 52 mil anos atrás, sendo assim considerada um marcador genético de ascendência europeia²¹. A G542X é a segunda mutação mundialmente mais frequente, ocorre pela substituição de um aminoácido Glicina por um código de parada no códon 542 do exón 11 e é frequente na população espanhola^{22,23}. A 3120+1G→A, é uma mutação de *splicing* que leva ao processamento incorreto do RNA_m no intron16⁸, sendo a segunda mais prevalente em americanos afrodescendentes, perdendo em frequência apenas da F508del²⁴. Dörket et al.²⁵ encontraram haplótipos idênticos do *CFTR* para os alelos 3120+1G→A entre os africanos, árabes e afroamericanos, sugerindo que a mutação possuiu origem ancestral comum. Estes pesquisadores chegaram à conclusão que essa mutação é muito antiga e deve ser mais comum do que se imaginava em populações de áreas tropicais e

sub-tropicais, onde a FC ainda é subdiagnosticada, como o Brasil.

A presença destas três mutações nos pacientes estudados reforça a alta miscigenação da população brasileira, especialmente a baiana, que apresenta uma grande contribuição de imigrantes europeus, principalmente portugueses, espanhóis e italianos, na constituição da população, levando a uma grande variedade étnica nesse estado²⁶. Raskinet et al.²⁷ sugerem que mesmo os brasileiros que são fenotipicamente não-brancos na aparência e se consideram de origem não-europeia não pode ser completamente livres de miscigenação europeia e vice-versa, o que pode ser constatado neste estudo, onde pacientes não brancos com franca ascendência africana tiveram a mutação F508del identificada. Entretanto, foi extremamente difícil classificar a raça no presente estudo, uma vez que existe um alto grau de miscigenação nessa população, sendo esperada uma grande variabilidade genotípica nestes pacientes com consequente heterogeneidade clínica da doença.

É importante ressaltar que os pacientes estudados apresentaram início muito precoce dos sintomas (mediana 0,16 anos). Dez (45%) crianças tinham sintomas desde o primeiro mês de vida e apenas 4 (18%) apresentaram manifestações clínicas a partir dos 2 anos de idade, o que deve refletir a gravidade da doença. Alvarez et al.²⁸ encontraram grande variação de idade do início dos sintomas desde o nascimento até 20 anos, com mediana de 3 meses em pacientes do sudeste brasileiro. No presente estudo, a mediana de idade dos pacientes no diagnóstico foi 0,58 anos (variando desde um mês até 15 anos), sendo que o tempo mediano entre o início dos sintomas e o diagnóstico foi de 5 meses. A mediana (p25-p75) de idade em anos 0,58 (0,31 – 5,6) no momento do diagnóstico foi inferior àquela do Registro Brasileiro de Fibrose Cística 2013 (REBRAFC)²⁹, em que a mediana (p25-p75) foi 1,47 anos (0,25 – 7,35), e aproxima-se do registro americano⁵, onde a mediana de idade dos pacientes foi cinco meses. A semelhança entre estes dados se deve, possivelmente, por este estudo analisar apenas pacientes com ao menos uma mutação de classe grave, onde os quadros clássicos da doença são comuns, contribuindo para um diagnóstico mais precoce. Bem como, pela alta frequência, próxima de 70%, da mutação F508del nos pacientes fibrocísticos daquele país³⁰.

A mediana de início dos sintomas foi menor nos pacientes homocigotos quando comparados aos heterocigotos e, também, nos pacientes heterocigotos com as duas mutações identificadas em comparação aos heterocigotos compostos com apenas a mutação F508del identificada. É possível que a segunda mutação ainda desconhecida neste subgrupo seja de uma classe funcional de menor gravidade, levando à doença mais branda, com consequente início dos sintomas e diagnósticos mais tardios.

As principais manifestações clínicas apresentadas pelos 22 pacientes estudados estão próximas daquelas observadas em outros trabalhos nacionais e internacionais. Alvarez et al.²⁸ encontraram as manifestações respiratórias e digestivas em 89,4% e 59,6% dos pacientes, respectivamente, como principais sintomas que levaram ao diagnóstico na Região Sudeste brasileira. No presente estudo, a insuficiência pancreática e ritmo intestinal alterado foram observados, respectivamente, em 95,4% e 53,8% dos casos. Gibson et al.³¹, relataram que na maioria dos casos de fibrose cística nos Estados Unidos, o diagnóstico foi baseado nos sintomas respiratórios (43,8%), atraso no crescimento (29,3%), esteatorreia (24,4%) e íleo meconial (18,5%). No presente estudo, os sintomas respiratórios, dificuldade em ganho de peso e esteatorreia foram sintomas comuns, ocorrendo respectivamente em 85,2%, 88,5%, 73,3% dos pacientes. Não houve relato de íleo meconial em nenhum paciente neste estudo. O genótipo do *CFTR* também está associado ao transporte iônico através do epitélio intestinal, porém sua correlação com o desenvolvimento de complicações intestinais, como o íleo meconial, em pacientes com FC ainda é pouco clara³².

A insuficiência pancreática foi observada em 21/22 (95,5%) dos pacientes, e apenas um paciente heterocigoto composto com a segunda mutação não identificada possui suficiência pancreática, semelhante a literatura, onde King et al.³³ encontraram esse sintoma em 88% dos indivíduos analisados. A função pancreática na FC é altamente associada ao genótipo apresentado. Pacientes com suficiência pancreática têm pelo menos uma mutação moderada, enquanto pacientes com insuficiência pancreática são geralmente homocigotos ou heterocigotos compostos para duas mutações de efeito grave, apresentando sintomas da FC clássica³², como observado no presente estudo. Corroborando com a literatura, Kerem et al.³⁴ encontraram esta característica, à época do diagnóstico, em 99% dos pacientes homocigotos para a mutação F508del, em 72% dos heterocigotos compostos, e em apenas 36% dos pacientes com outras mutações. Estes autores observaram, também, que os pacientes com essa mutação foram diagnosticados em uma idade mais precoce. A doença hepática está altamente associada com a função pancreática e, em alguns casos, com íleo meconial. Deste modo, pacientes com doença hepática tendem a apresentar mutações de efeito grave, que estão altamente associadas à insuficiência pancreática³².

Conclusões: Apesar das limitações, inerentes ao modelo do estudo, conclui-se que as características clínicas e laboratoriais dos 22 pacientes fibrocísticos com a mutação F508del foram semelhantes às descritas na literatura. Entretanto, a ausência de íleo meconial foi marcante neste trabalho. Estes resultados também permitem corroborar a literatura que destaca a associação entre insuficiência pancreática e o genótipo dos pacientes e enfatizam a importância do estudo genético na determinação do prognóstico dos pacientes, em especial em populações altamente miscigenadas como no Brasil.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer aos pacientes com fibrose cística e suas famílias por permitir que este estudo fosse realizado. Além disso, eles são gratos aos profissionais do ambulatório multidisciplinar do Hospital da Universidade Federal da Bahia pela prestação de assistência aos pacientes, a professora Renata Lúcia Ferreira de Lima e a graduanda Paloma Horejs Bittencourt pela ajuda durante a realização dos testes moleculares e preparação deste manuscrito. Financiamento parcial FAPESB.

REFERÊNCIAS

1. WELSH, M. J. et al. **The metabolic and molecular bases of inherited diseases**. New York: McGraw-Hill, 2001.
2. KEREM, B. et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. **Science**, Washington, v. 245, n. 4922, p. 1073-1080, Sept. 1989.
3. RIORDAN, J.R. et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of the complementary DNA. **Science**, Washington, v. 245, n. 4922, p. 1066-1073, Sept. 1989.
4. ROMMENS, J. M. et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. **Science**, Washington, v. 245, n. 4922, p. 1059-1065, Sept. 1989.

5. CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION. 2015. Disponível em: <www.cff.org>. Acesso em: 04 jul. 2016.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria SAS/MS nº 338 de 29 de junho de 2005. Brasília, DF, 2005. Disponível em: <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2005/PT-338.htm>. Acesso em: 11 jul. 2016.
7. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The molecular genetic epidemiology of cystic fibrosis**. 2004: Disponível em: [://http://www.cff.org/docs/who/2002/who_hgn_cf_wg_04.02.pdf](http://www.cff.org/docs/who/2002/who_hgn_cf_wg_04.02.pdf). Disponível em: <http://www.who.int/genomics/publications>. Acesso em: 17 jul. 2016.
8. CYSTIC Fibrosis Mutation Database. Disponível em: <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>. Acesso em: 25 jul. 2016.
9. KO, Y.H. et al. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. Overexpression, purification, and characterization of wild type and delta F508 mutant forms of the first nucleotide binding fold in fusion with the maltose-binding protein. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v. 268, n. 32, p. 24330-24338, 1993.
10. COSTA, F. M. M. et al. Low frequency of the deltaAF508 mutation of the CFTR gene in a highly admixed population in Bahia, Brazil. **Hum. Biol.**, Detroit, v. 79, n. 3, p. 293-297, 2007.
11. VIDIGAL, P.V.T. et al. ΔF508del in a heterogeneous cystic fibrosis population from Minas Gerais, Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, Ribeirão Preto, v. 41, n. 8, p. 643-647, 2008.
12. CABELLO, G. M. K. et al. The3120+1G→a splicing mutation in CFTR is common in Brazilian. **Hum. Biol.**, Detroit, v. 73, n. 3, p. 403-409, 2001.
13. MOTA, L. R. **Estudo de mutações no gene CFTR em pacientes com fibrose cística de um centro universitário de referência em Salvador-BA**. 2015. Dissertação (Mestrado em Genética e Biodiversidade) – Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.
14. BIEGER, A. M.; MARSON, F.A.L.; BERTUZZO, C. S. Prevalence of ΔF508 mutation in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene among cystic fibrosis patients from a Brazilian referral center. **J. Pediatr.**, Rio de Janeiro, v. 88, n. 6, p. 531-534, 2012.
15. OKAY, T. S. et al. Frequency of the ΔF508 mutation in 108 cystic fibrosis patients in São Paulo: comparison with reported Brazilian data. **Clinics**, São Paulo, v. 60, n. 2, p. 131-134, 2005.
16. PERONE, C. et al. Frequency of 8 CFTR gene mutations in cystic fibrosis patients in Minas Gerais, Brazil, diagnosed by neonatal screening. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, Ribeirão Preto, v. 43, n.2, p. 134-138, 2010.
17. COUTINHO, C.A.A.C. et al. Mutações no gene cystic fibrosis transmembrane conductance regulator em um centro de referência para a fibrose cística. **J Bras Pneumol.**, v. 39, n. 5, p. 555-561, 2013.
18. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2000. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 14 maio 2016.
19. MISHRA, A.; GREAVES, R.; MASSIE, J. The relevance of sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis in the genomic era. **Clin. Biochem. Rev.**, Melbourne, v. 26, n. 4, p.135-153, 2005.
20. SLIEKER, M.G. et al. Disease modifying genes in cystic fibrosis. **J. Cyst. Fibros.**, Utrecht, v. 4, supl. 2, p. 7-13, 2005.
21. DAWSON, K. P.; FROSSARD, P. M. The geographic distribution of cystic fibrosis mutations gives clues about population origins. **Eur. J. Pediatr.**, Heidelberg, v. 159, n.7, p. 496-499, jul. 2000.
22. ZIELENSKI, J.; TSUI, L. P. Cystic fibrosis: genotype and phenotype variations. **Ann. Rev. Genet.**, Palo Alto, v. 29, p. 777-807, 1995.
23. LUCA, G. R. de; MENEZES, M. A.; CAMPOS, M.O. Genética e diagnóstico molecular. In: LUDWIG NETO, N. **Fibrose cística: enfoque multidisciplinar**. Florianópolis:Secretaria de Estado de Saúde, 2008.
24. MACEK JUNIOR, M. et al. Identification of common cystic fibrosis mutations in African-Americans with cystic fibrosis increases the detection rate to 75%. **Am. J. Hum. Genet.**, Chicago, v. 60, n. 5, p. 1122-1127, May 1997.
25. DÖRK, T. et al. Evidence for a common ethnic origin of cystic fibrosis mutation 3120+1G-to-A in diverse populations. **Am. J. Hum. Genet.**, Chicago, v. 63, n. 2, p. 656-662, 1998.
26. TAVARES, L.H.D. **História da Bahia**. 8.ed. São Paulo: Ática, 1987. 260 p.
27. RASKIN, S. et al. High allelic heterogeneity between African-Brazilians and Euro-Brazilians impacts cystic fibrosis genetic testing. **Genet Test.**, New York, v. 7, n. 3, p. 213-218, 2003.
28. ALVAREZ, A. E. et al. Fibrose Cística em um centro de referência no Brasil: características clínicas e laboratoriais de 104 pacientes e sua associação com o genótipo e a gravidade da doença. **J. Pediatr.**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 5, p. 371-379, 2004.
29. REGISTRO BRASILEIRO DE FIBROSE CÍSTICA (REBRAFC). 2013. Disponível em: <http://www.gbefc.org.br/gbefc/Registro2013_Portugues_site.pdf>. Acesso em: 22 jul. 2016.
30. BOBADILLA, J. L. et al. Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations-correlation with incidence data and application to screening. **Hum. Mutat.**, New York, v. 19, n. 6, p. 575-606, June 2002.
31. GIBSON, R. L.; BURNS, J. L.; RAMSEY, B.W. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, New York, v. 168, n. 8, p. 918-951, 2003.
32. CUTTING, G. R. Modifier genetics: cystic fibrosis. **Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.**, Palo Alto, v. 6, p. 237-260, 2005.
33. KING, S. J. et al. Reduced bone density in cystic fibrosis: DF508 mutation is an independent risk factor. **Eur. Respir. J.**, Copenhagen, v. 25, n. 1, p. 54-61, 2005.
34. KEREM, B. et al. Identification of mutations in regions corresponding to the 2 putative nucleotide (ATP)-binding folds of the cystic fibrosis gene. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, Estados Unidos, v. 87, n. 81, p. 8447-8451, 1990.

Submetido em: 07/10/2016

Aceito em: 09/11/2016