

**DIAGNÓSTICO DE FIBROSE CÍSTICA ATRAVÉS DE PESQUISA GENÉTICA EXPANDIDA EM PACIENTE ADULTO COM APRESENTAÇÃO ATÍPICA**

*DIAGNOSIS OF CYSTIC FIBROSIS USING EXPANDED GENETIC RESEARCH IN ADULT PATIENT WITH ATYPICAL PRESENTATION*

Flávia Gabe Beltrami<sup>1</sup>, Vinícius Buaes Dal'Maso<sup>2</sup>, Guilherme Seara Muller<sup>1</sup>, Lucas Mallmann<sup>3</sup>, Maria Luiza Saraiva-Pereira<sup>4</sup>, Paulo de Tarso Roth Dalcin<sup>5</sup>

**RESUMO**

A Fibrose cística (FC) é uma desordem multissistêmica, caracterizada principalmente por doença pulmonar crônica e anormalidades gastrointestinais e nutricionais, que apresenta grande variabilidade de expressão entre os acometidos, sendo transmitida geneticamente por herança autossômica recessiva. O caso clínico apresentado mostra paciente feminina com sintomas respiratórios leves, função pancreática normal, teste de suor normal/limitrofe e pesquisa da mutação F508del negativa. O diagnóstico de fibrose cística foi confirmado através de pesquisa genética expandida, com identificação de duas mutações raras (p.A559T e p.D1152H). O caso relatado demonstra a importância da investigação genética na abordagem dos casos atípicos de FC, caracterizados pelo teste do suor normal/limitrofe, associados a sintomas respiratórios leves em uma faixa etária incomum para o diagnóstico da doença.

**Palavras-chave:** Genotipagem; atípica; diagnóstico; dosagem de cloretos no suor; mutação

**ABSTRACT**

Cystic fibrosis is a multisystemic disorder characterized by chronic lung injury and gastrointestinal and nutrition abnormalities. It has a large variability of clinical presentations, being genetically transmitted by autosomal recessive heritage. The presenting case reports a female patient with mild respiratory symptoms, normal pancreatic function, normal/borderline sweat test and negative F508del mutation. The cystic fibrosis diagnose was confirmed with expanded genetic research, with the identification of two rare mutations (p.A559T and p.D1152H). The case report demonstrates the importance of the genetic investigation in the approach of atypical cystic fibrosis cases, characterized as normal/borderline sweat test, associated with mild respiratory symptoms and unusual age for the disease's diagnosis.

**Keywords:** Genotyping; atypical; diagnosis; sweat chloride test; mutation

*Rev HCPA 2011;31(2):211-215*

A fibrose cística (FC) é uma doença genética transmitida por herança autossômica recessiva. É causada por mutações em um gene localizado no braço longo do cromossomo 7, responsável pela codificação da proteína reguladora da condutância transmembrana da FC (do inglês *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (CFTR) (1,2).

A FC apresenta grande variabilidade de expressão entre os acometidos. O diagnóstico é baseado nos achados fenotípicos, na história familiar, na triagem neonatal e na realização do teste do suor, através da iontoforese quantitativa pela pilocarpina. Considerado padrão áureo para diagnóstico de fibrose cística, o teste do suor é considerado positivo quando houver uma dosagem de cloretos maior que 60 mEq/L em pelo menos dois testes realizados em momentos diferentes e com amostra adequada (peso maior que 75 mg) (3,4). Em casos com valores limítrofes ou normais, testes diagnósticos

adicionais são necessários e a pesquisa de mutações em cada um dos genes da CFTR deve ser realizada. Tal análise apresenta alta especificidade para FC, porém baixa sensibilidade. Esse fato é explicado pela existência de um grande número de mutações conhecidas (mais de 1600), mas de só uma minoria delas serem analisadas nos painéis comerciais disponíveis (1,4).

O objetivo deste relato de caso é apresentar o diagnóstico de FC atípica em uma paciente adulta com doença pulmonar leve e suficiência pancreática exócrina, ilustrando a necessidade de investigação genética adicional.

**MÉTODOS**

Este relato de caso faz parte do projeto de pesquisa intitulado "Análise Molecular do Gene de CFTR em Pacientes com Fibrose Cística com Doença Leve e com Doença Atípica", submetido

1. Residência Médica, Serviço de Pneumologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

2. Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); Universidade de Passo Fundo.

3 Residência Médica, Serviço de Medicina Interna, HCPA.

4 Departamento de Bioquímica, UFRGS; Serviço de Genética, HCPA.

5 Programa de Fibrose Cística do Adulto, HCPA; Departamento de Medicina Interna, UFRGS.

**Contato:** Paulo de Tarso Roth Dalcin. E-mail: [pdalcin@terra.com.br](mailto:pdalcin@terra.com.br) (Porto Alegre, RS, Brasil).

e aprovado no Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), sob o número de protocolo 08-5499. Como todos os participantes do referido estudo, a paciente do caso relatado assinou termo de consentimento pós-informação para participação no estudo.

As características clínicas da doença e os exames complementares da paciente foram revisados a partir dos dados previamente coletados.

A investigação genética foi realizada no Serviço de Genética do HCPA. Uma amostra de 5 mL de sangue periférico foi coletada para extração do DNA. A região codificante do gene CFTR foi amplificada por meio da reação em cadeia de polimerase (PCR). O sequenciamento dos fragmentos foi realizado utilizando o kit *Big Dye™ Terminator v3.1 Ready Reaction Cycle Sequencing (Applied Biosystems)* pelo método de terminação fluorescente em um analisador genético (*ABI PRISM™ 3130xl Genetic Analyzer*). As análises foram obtidas através do *AB DNA Sequencing Software v 5.2 (Applied Biosystems)*.

## RELATO DO CASO

**Identificação:** paciente feminina, cor parda (etnia paterna italiana e materna latino americana), 40 anos, do lar, casada, procedente de Porto Alegre.

**Queixa principal:** tosse produtiva.

**História da doença atual:** atendida no ambulatório de Pneumologia do HCPA em abril de 2006 com queixa de tosse produtiva crônica há 5 anos, com aumento de intensidade dos sintomas nos últimos dois anos. Exacerbações frequentes nos meses de inverno. Relatava “sinusites de repetição” e necessidade de cursos recorrentes de antibióticos.

**História médica progressa:** sem infecções ou doenças graves na infância.

**Perfil psicossocial:** negava tabagismo ou uso de bebidas alcoólicas.

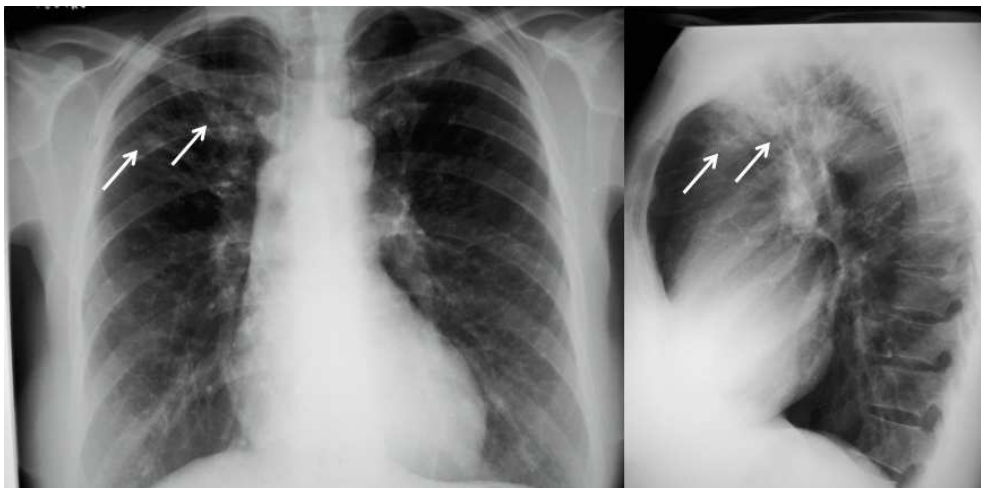
**História familiar:** sem doença pulmonar na família.

**Revisão dos sistemas:** sem sintomas constitucionais ou outras queixas relevantes.

**Exame físico:** regular estado geral, mucosas úmidas e coradas, acianótica, ausência de hipocratismo digital. Índice de massa corporal de 26,9 kg/m<sup>2</sup>. Aparelho respiratório: leve aumento do diâmetro ântero posterior do tórax; frêmito tóraco vocal e som claro pulmonar presentes e simétricos. Ausculta pulmonar com estertores crepitantes fixos no terço superior direito da face posterior do hemitórax direito. Aparelho cardiovascular: ritmo regular, 2 tempos, sem sopros. Abdome: sem alterações.

### Exames complementares

O exame radiológico convencional do tórax (figura 1) mostrava bronquiectasias em lobos superiores com áreas de consolidação adjacentes.



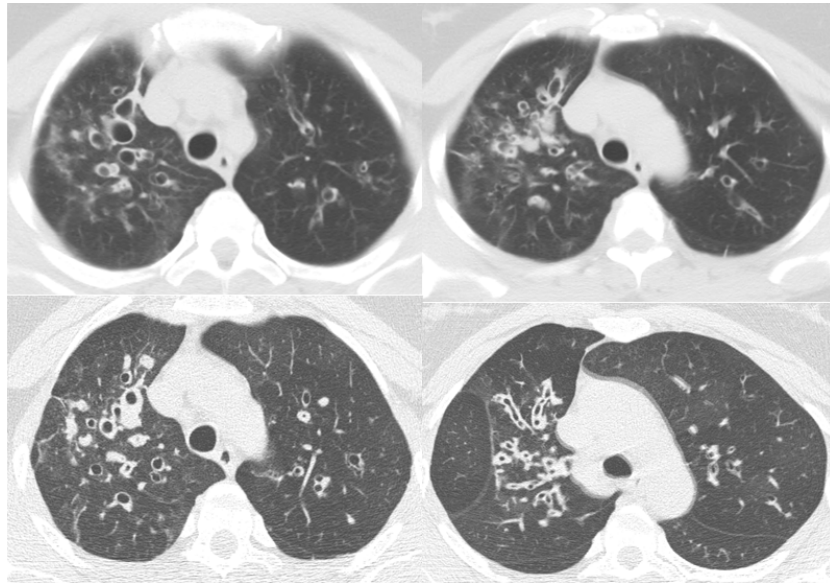
**Figura 1-** Exame do tórax convencional mostrando lesões fibroatelectásicas e bronquiectasias no lobo superior direito.

A espirometria evidenciava: capacidade vital forçada (CVF) de 3,45 L (94% do previsto), volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF<sub>1</sub>) de 1,97 L (65% do previsto) e relação VEF<sub>1</sub>/CVF de 57%, sendo interpretada como distúrbio ventilatório obstrutivo leve, sem resposta ao broncodilatador. A pesquisa direta de bacilo álcool ácido resistente no escarro e de cultura para micobactérias foram negativas (3 amostras). A pesquisa direta e cultura para fungos no

escarro (3 amostras) foram negativas. Exames bacteriológicos do escarro identificaram *Pseudomonas aeruginosa* com colônias mucoides e não mucoides. A pesquisa de anticorpo para vírus da imunodeficiência humana (anti HIV) foi negativa. A dosagem de imunoglobulina (Ig) A, IgE, IgG e IgM foram normais. Provas reumatológicas (fator reumatoide, fator anti nuclear e anti DNA) foram negativas. O hemograma não tinha alterações. Sorologia para *Aspergillus* foi

negativa. Exames de função renal, função hepática e função pancreática foram normais. Três dosagens de gorduras em amostras de fezes foram negativas. Tomografia computadorizada do tórax (figura 2) mostrava bronquiectasias e

impactação mucoide, predominantemente nos lobos superiores e de forma mais acentuada à direita, acompanhadas de nódulos centrolobulares.



**Figura 2** - Tomografia de tórax evidenciando bronquiectasias e impactação mucoide predominantemente nos lobos superiores e de forma mais acentuada à direita, acompanhadas de nódulos centrolobulares.

A tomografia dos seios da face (figura 3) evidenciava opacificação praticamente completa dos seios maxilares, frontal, esfenoidal e das células etmoidais bilateralmente. Foram realizados três testes do suor com amostras satisfatórias: dosagens de cloretos, respectivamente, 38 mEq/L, 39 mEq/L e 40 mEq/L; e dosagens de

sódio 49 mEq/L, 42 mEq/L e 35 mEq/L. A pesquisa da mutação F508del foi negativa nos dois alelos. Em face da suspeita clínica, a paciente foi incluída no estudo de sequenciamento genético para FC. Foram identificadas duas mutações conhecidas como causadoras de FC: p.A559T e p.D1152H.



**Figura 3** - Tomografia dos seios da face evidenciando opacificação praticamente completa dos seios maxilares, frontal, esfenoidal e das células etmoidais bilateralmente.

## DISCUSSÃO

Os pacientes com FC podem ser classificados como tendo doença clássica ou típica (presença de uma ou mais características fenotípicas, história familiar ou triagem neonatal associada a dosagem de cloreto no suor maior que 60 mEq/l) ou como tendo doença não clássica ou atípica (achado fenotípico em pelo menos um órgão ou sistema, porém dosagem de cloreto no suor normal - menor que 40 mEq/l - ou limítrofe - 40 a 60 mEq/l) (5,6).

A FC clássica abrange a maioria dos pacientes com FC (98% dos pacientes no registro americano preenchem estes requisitos) (1,6). Esta definição envolve tanto pacientes com ou sem insuficiência pancreática e a evolução da doença pode ser variável. Usualmente pode ser identificada mutação conhecida de FC em cada gene CFTR. Pode tanto ter um curso clínico grave com rápida deterioração ou um curso leve com uma deterioração mais lenta. Usualmente o diagnóstico é feito na infância (1).

Por outro lado, a FC atípica requer um esforço adicional para o diagnóstico, já que o teste do suor é limítrofe ou normal. A maioria destes pacientes apresenta suficiência pancreática exócrina e doença pulmonar leve. Quando duas mutações são identificadas, pelo menos uma delas é classificada como "leve". Usualmente o diagnóstico é feito na vida adulta (5,6). Com o avanço do conhecimento e com a maior disponibilidade da avaliação genética estendida, estes casos passaram a ser diagnosticados com maior frequência.

Assim, o caso relatado pode ser classificado como FC atípica e só teve seu diagnóstico confirmado pela avaliação genética estendida.

A p.A559T é uma mutação tipo II da CFTR (processamento e tráfego anormais) (7), encontradas em pacientes de origem afro-americana (8). Em estudo latino-americano identificou maior frequência desta mutação na Colômbia (0,5%). Esta é uma mutação rara que ocorre em menos de 0,1% dos casos e não ocorre em caucasianos. Existem poucos relatos na literatura sobre os achados fenotípicos associados a esta mutação, sendo que ela pode se associar a doença típica com insuficiência pancreática e doença pulmonar crônica. Como a população latino-americana é largamente miscigenada, como o caso da paciente em questão, entre índio, africano e caucasiano, esta mutação tem sido descrita com maior frequência nesta população (9). O achado desta mutação torna este relato de caso de particular interesse.

A p.D1152H é uma mutação tipo IV da CFTR (diminui a condutância do canal de cloreto) que corresponde a 5% a 6% das mutações encontradas em triagem neonatal para FC. É a sexta mais comum mutação na população judia

Ashkenazi. Originalmente foi descrita como associada a doença leve e atípica, ou mesmo a ausência de doença. Entretanto, os relatos mais recentes indicam que ela se associa com um espectro muito largo da doença. Pode se associar à suficiência ou à insuficiência pancreática; à presença ou à ausência de doença pulmonar; à dosagem de cloretos normal, limítrofe ou elevada (7,10). Em uma série de casos de 41 pacientes com esta mutação, a idade mediana de diagnóstico foi 33 anos, a mediana da concentração de cloretos no suor foi de 43,5 mmol/L, bronquiectasias estavam presentes em 67% dos casos, insuficiência pancreática e infecção por *Pseudomonas aeruginosa* estavam presente em menos de 30% dos pacientes (11).

Este relato reforça que o diagnóstico de FC atípica é difícil e requer investigação adicional na busca de mutações raras. Pacientes com idade mais avançada e sintomas leves são frequentemente subdiagnosticados para FC. O caso ressalta ainda que teste do suor com valores normais ou limítrofes de cloretos não exclui a possibilidade de FC. Assim, a busca diagnóstica não deve ser interrompida em casos em que outros possíveis diagnósticos já foram excluídos. Nesse contexto, a análise molecular estendida vêm ganhando cada vez mais espaço, sendo imprescindível para a correlação genótipo/fenótipo, e possibilitando o diagnóstico das formas atípicas da doença e uma melhor abordagem para tais pacientes.

### Financiamento

Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) do HCPA.

### Origem acadêmica

Este relato de caso teve origem no projeto de pesquisa acadêmica, ainda em desenvolvimento, intitulado "Análise Molecular do Gene de CFTR em Pacientes com Fibrose Cística com Doença Leve e com Doença Atípica", desenvolvido como Dissertação de Mestrado pelo Programa de Ciências Pneumológicas da UFRGS pelo aluno Vinícius Buaes Dal'Maso, protocolado na Comissão de Ética e pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre sob o número 08-549.

## REFERÊNCIAS

1. Boyle MP. Adult cystic fibrosis. JAMA 2007; 298(15):1787-93.
2. Dalcin PTR, Abreu e Silva FA. Fibrose cística no adulto: aspectos diagnósticos e terapêuticos. J Bras Pneumol 2008; 34(2):107-17.
3. Rosenstein BJ. What is a cystic fibrosis diagnosis? Clin Chest Med 1998; 19(3):423-41.
4. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic

- Fibrosis Foundation Consensus Panel. *J Pediatr* 1998; 132(4):589-95.
5. De BK, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge J, et al. Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. *Thorax* 2006; 61(7):627-35.
  6. Yankaskas JR, Marshall BC, Sufian B, Simon RH, Rodman D. Cystic fibrosis adult care: consensus conference report. *Chest* 2004; 125(1 Suppl):1S-39S.
  7. Green DM, McDougal KE, Blackman SM, Sosnay PR, Henderson LB, Naughton KM, et al. Mutations that permit residual CFTR function delay acquisition of multiple respiratory pathogens in CF patients. *Respir Res* 2010;11:140.
  8. Vouk K, Strmecki L, Liovic M, Kopriva S, Micetic-Turk D, Komel R. Mutational analysis of 30 Slovenian cystic fibrosis patients compared to known Slovenian and European CF mutation spectra. *Pflugers Arch* 2000; 439(3 Suppl):R63-R65.
  9. Macek M, Jr., Mackova A, Hamosh A, Hilman BC, Selden RF, Lucotte G, et al. Identification of common cystic fibrosis mutations in African-Americans with cystic fibrosis increases the detection rate to 75%. *Am J Hum Genet* 1997; 60(5):1122-7.
  10. Mussaffi H, Prais D, Mei-Zahav M, Blau H. Cystic fibrosis mutations with widely variable phenotype: the D1152H example. *Pediatr Pulmonol* 2006; 41(3):250-4.
  11. Burgel PR, Fajac I, Hubert D, Grenet D, Stremmer N, Roussey M, et al. Non-classic cystic fibrosis associated with D1152H CFTR mutation. *Clin Genet* 2010; 77(4):355-64.

*Recebido: 18/06/2011*

*Aceito: 19/07/2011*