

O gene *CFTR* e sua associação com o desenvolvimento da Fibrose Cística*

Nayane Soares de Lima¹, Kamilla de Faria Santos²,
Caroline Christine Pincela da Costa²,
Jéssica Barletto de Sousa Barros²,
Rayana Pereira Dantas de Oliveira²

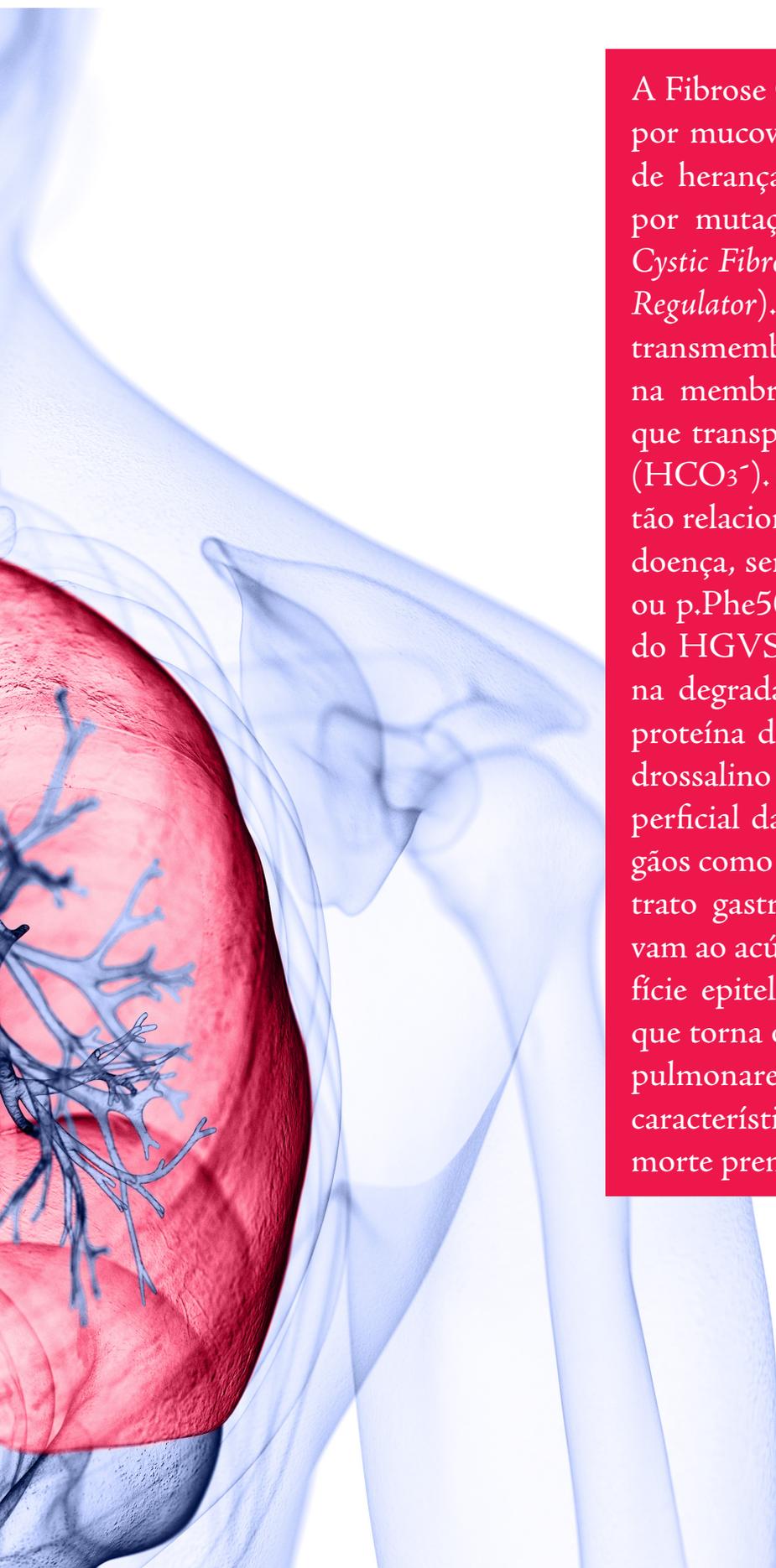
¹ Programa de Pós-graduação em Assistência e Avaliação em Saúde, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás (UFG), Laboratório de Patologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas (ICB II), UFG, Goiânia, GO

² Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás (UFG), Laboratório de Patologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas (ICB II), UFG, Goiânia, GO

Autor para correspondência - nayanes00@gmail.com

Palavras-chave: mucoviscidose, herança autossômica, desequilíbrio homeostático, mutação genética

* Atividade proposta pela disciplina de Tópicos Especiais em Genética: Ensino de Genética, do Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal de Goiás (PPGBM-UFG).



A Fibrose Cística (FC), também conhecida por mucoviscidose, é uma doença genética de herança autossômica recessiva causada por mutações no gene *CFTR* (do inglês *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*). Esse gene codifica uma proteína transmembranar de mesmo nome, inserida na membrana apical de células epiteliais, que transporta cloreto (Cl^-) e bicarbonato (HCO_3^-). Diversas mutações nesse gene estão relacionadas com o desenvolvimento da doença, sendo a F508del (c.1522_1524del ou p.Phe508del, de acordo com as normas do HGVS) a mais frequente, acarretando na degradação proteica. A ausência dessa proteína desencadeia um desequilíbrio hidrossalino e alteração do pH do fluido superficial das células epiteliais, afetando órgãos como pulmão, pâncreas e glândulas do trato gastrointestinal. Essas alterações levam ao acúmulo de muco espesso na superfície epitelial, especialmente nos pulmões, que torna o indivíduo suscetível a infecções pulmonares recorrentes, uma das principais características da doença e a maior causa de morte prematura na FC.

Entendendo a Fibrose Cística

Herança monogênica - aquela que é determinada por um único gene.

Condição histológica cística e fibrótica - situação determinada pela formação de cistos (lesões) e substituição do epitélio glandular pancreático por tecido conjuntivo.

A fibrose cística (FC) é uma doença crônica **multissistêmica** de **herança monogênica autossômica recessiva**. Os afetados pela doença precisam herdar duas cópias defeituosas do gene *CFTR*, um alelo mutado de origem materna e um de origem paterna (Figura 1).

Com um histórico conhecido desde a Idade Média, a FC era conhecida como “Feitiço da criança salgada”, hoje em dia, sabe-se que tal fato se deve à presença do suor salgado em afetados pela FC, característica que tem relevância no diagnóstico da doença. O nome FC foi atribuído em meados da década de 30, devido à **condição histológica cística e fibrótica** do pâncreas. Posteriormente, um estudioso chamado Farber propôs denominá-la de mucoviscidose, devido ao aumento característico da viscosidade dos mucos corporais nos acometidos pela doença.

Doença multissistêmica - aquela que acomete diversos órgãos.

Doença autossômica recessiva - caracterizada pelo acometimento tanto de homens quanto de mulheres na mesma proporção (pois o gene alterado não se encontra em cromossomos sexuais), sendo necessária a presença de um alelo recessivo mutado herdado do pai e um herdado da mãe para que a doença se manifeste.

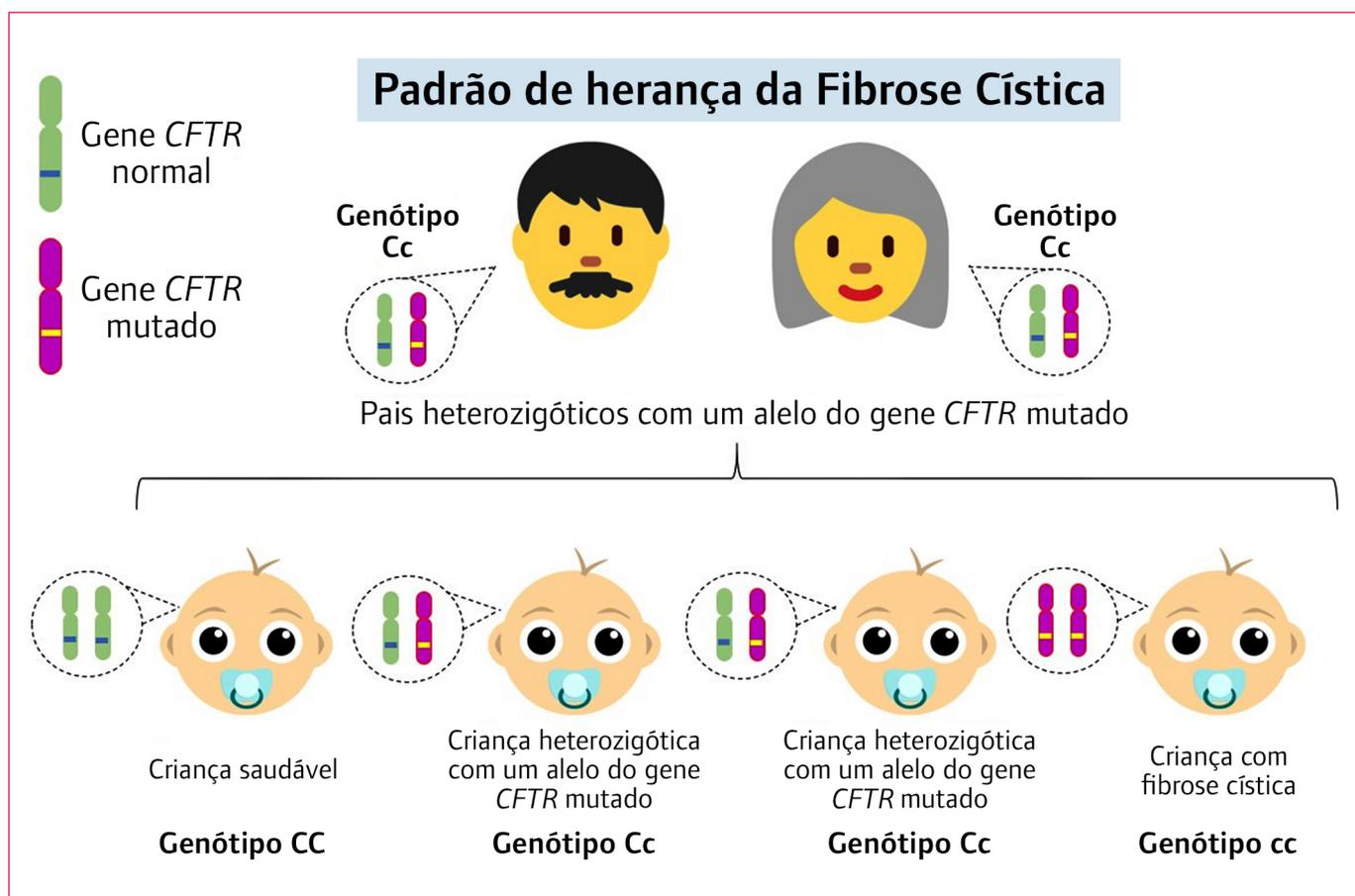


Figura 1. Representação esquemática do padrão de herança da fibrose cística.

Bronquiectasia - condição em que há a dilatação irreversível de brônquios, causada por lesões na parede das vias aéreas decorrente, principalmente, de infecções e inflamações crônicas. Esse quadro dificulta a secreção de muco.

Teste do Tripsinogênio Imunorreativo - é um teste realizado para identificação da fibrose cística e funciona como um indicador indireto da doença, pois avalia a integridade da função pancreática. O tripsinogênio é um precursor da enzima pancreática tripsina, cuja concentração costuma estar persistentemente elevada no sangue dos recém-nascidos com a doença.

Características fenotípicas - características visíveis de um determinado organismo/ indivíduo. É o resultado da expressão do genótipo e da interação com o ambiente.

Doença sinopulmonar crônica - doença caracterizada por complicações pulmonares, geralmente infecções.

Depuração mucociliar - mecanismo de autolimpeza das vias aéreas no sistema respiratório.

Figura 2. Mutações no gene *CFTR* causam alterações no fluxo fisiológico de íons Cl^- e água, processo que afeta, principalmente, o pulmão e o pâncreas, desencadeando um processo obstrutivo devido à produção anormal de muco espesso.

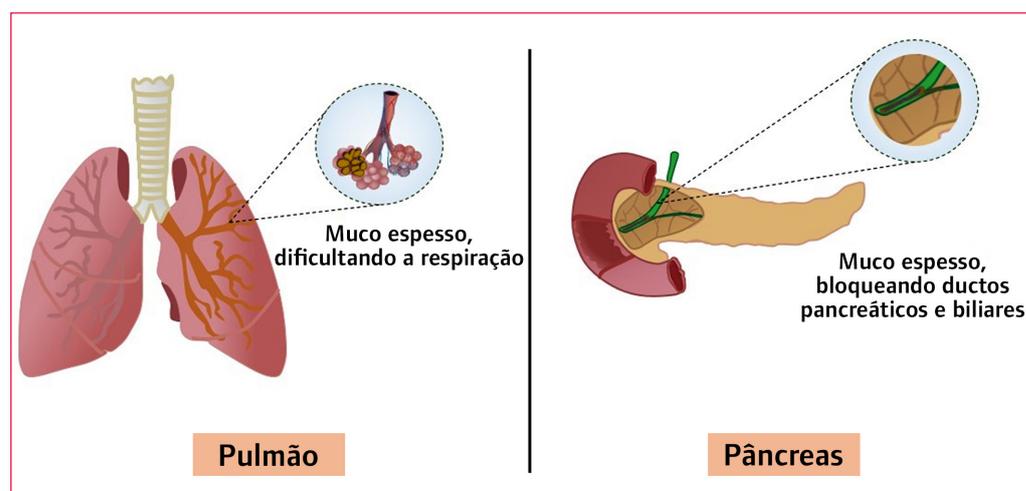
Mais de 85.000 pessoas em todo o mundo são afetadas pela FC, doença que acomete em sua maioria a população caucasiana. No Brasil, sua incidência é estimada em 1:7.576 nascidos vivos. O início dos sintomas da FC é altamente variável, e dependente do tipo de mutação presente no gene *CFTR*, podendo surgir indícios desde a fase intrauterina, bem como no final da adolescência e também na idade adulta. Como sintomas principais, apresentam-se: tosse persistente com presença de muco espesso, chiado no peito e falta de ar, infecções frequentes podendo ocasionar pneumonia, distúrbios intestinais como obstrução e/ou fezes oleosas, perda de peso ou a dificuldade em ganho de peso, suor salgado, entre outros. A FC é marcada por algumas **características fenotípicas**, como: **doença sinopulmonar crônica**, anormalidades gastrointestinais e/ou nutricionais, síndrome de perda de sal, alterações na fertilidade, infecções pulmonares recorrentes, insuficiência pancreática, diabetes *mellitus*, entre outras complicações que variam de acordo com a idade do afetado.

Dentre as complicações clínicas da FC, os distúrbios respiratórios são a principal causa de morte entre os pacientes. O aparelho respiratório é comprometido de forma progressiva e intensa ocasionando declínio na função pulmonar do indivíduo. Assim, os afetados se tornam predispostos a diversas

complicações respiratórias como sinusite, bronquite, pneumonia, **bronquiectasia**, fibrose e falência respiratória.

O diagnóstico precoce da doença é responsável pelo aumento da sobrevida e melhora da qualidade de vida do paciente com FC. Os testes para diagnóstico são baseados em mensurar os níveis de **tripsinogênio imunorreativo**, o qual pode ser realizado através do teste do pezinho na triagem neonatal. Os recém-nascidos com o teste positivo são submetidos a novo teste, caso ocorra um segundo resultado positivo, o diagnóstico de FC é confirmado mediante o teste do suor para dosagem de cloreto. Para auxiliar e proferir certeza em relação ao diagnóstico, é solicitado um teste genético para identificar a presença de mutações no gene *CFTR*.

Em consequência dessas mutações, ocorre a desregulação na atividade enzimática da proteína *CFTR*, levando a um desequilíbrio hidrossalino nas células epiteliais das vias aéreas e, conseqüentemente, na consistência do muco, que se torna mais espesso e seco que o normal (Figura 2), prejudicando a eliminação de secreções. Em um indivíduo saudável, as células epiteliais de revestimento pulmonar conseguem secretar substâncias capazes de matar bactérias, enquanto, a camada mucociliar dessas células realiza o arraste de restos celulares decorrentes de tal processo (**depuração mucociliar**).



Devido ao ambiente criado na superfície epitelial em decorrência da doença, os pulmões tornam-se frágeis e suscetíveis à colonização

por bactérias oportunistas, que contribuem para o surgimento de inúmeras infecções no trato respiratório. Dessa forma, esse proces-

so infeccioso agrava o quadro obstrutivo característico da fisiopatologia da FC, no qual a infecção crônica do aparelho respiratório se mostra como principal mecanismo contribuinte para o declínio da função pulmonar, acarretando em eventual óbito dos doentes.

O perfil microbiológico existente na FC é considerado intrigante, uma vez que, mesmo com a **antibioticoterapia** constante, esses pacientes são acometidos por infecções pulmonares recorrentes causadas por um número restrito de microrganismos, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, bactérias do complexo *Burkholderia cepacia*, entre outros, que compartilham entre si a característica de colonização de difícil erradicação. Mesmo com diversos estudos, permanecem obscuras as respostas do que estaria por trás dessa propensão à infecção por microrganismos específicos nos pacientes com FC.

As bactérias do complexo *B. cepacia* ganharam notoriedade na doença em meados da década de 80, quando foi descoberto seu alto potencial de transmissão entre os pacientes com FC, tanto dentro como fora do ambiente hospitalar. É importante enfatizar que a maioria dos afetados pela FC hospeda cepas geneticamente distintas umas das outras.

O filme “A cinco passos de você” (*Five Feet Apart*), lançado em março de 2019, relata tal fato. A história retrata a vida de dois adolescentes afetados por FC que, em meio à rotina hospitalar, se apaixonam. Um dos personagens é portador de uma cepa do complexo *B. cepacia*, considerada a mais virulenta e resistente, enquanto a outra está à espera de um transplante pulmonar.

As características fenotípicas da doença apresentadas no filme são principalmente, o comprometimento pulmonar, evidenciado pelo fornecimento contínuo de oxigênio dos protagonistas, a tosse persistente e a dificuldade ao respirar. Além disso, como mencionado anteriormente, os pacientes FC devem evitar o contato com outros afetados pela doença, devido às possíveis infecções cruzadas, e ao fato de não estarem imunologicamente preparados para combater cepas diferentes.

O enredo do filme aborda exatamente a dificuldade de evitar contato, enfocando no aspecto psicossocial dos afetados que sofrem com limitações sociais e de convivência, principalmente com outros pacientes de FC, que poderiam fornecer conforto uns aos outros, além de compreender melhor do que ninguém a realidade enfrentada por eles. Destaca-se assim, a importância da divulgação sobre a doença, e a relevância de pesquisas que busquem elucidar os mecanismos da FC, contribuindo com a melhora no diagnóstico e no desenvolvimento de possíveis terapias personalizadas e de precisão.

A fibrose cística do ponto de vista gênico: O gene *CFTR*

Em 1983, cientistas notaram que o tecido epitelial de pacientes com FC era impermeável a íons cloreto, levando-os a crer que algum canal transportador desse íon seria defeituoso. As investigações resultaram na identificação do gene da FC, o *CFTR*, regulador de condutância transmembranar da fibrose cística, que codifica a proteína CFTR, e que atua como um canal iônico. Esse gene está localizado no braço longo do cromossomo 7 (7q31.2) e contém 26 íntrons e 27 éxons (Figura 3).

A proteína CFTR é constituída por 1480 aminoácidos e, como citado anteriormente, atua como um canal de cloreto (Cl^-) e bicarbonato (HCO_3^-), que regula o equilíbrio hidrossalino. No entanto, essa proteína também é apta a regular outros **canais iônicos**, relacionando-se com a composição de fluidos no tecido epitelial. A CFTR é identificada na membrana apical de células epiteliais. Embora o déficit dessa proteína acometa vários órgãos, cada órgão dependente da CFTR expressa essa disfunção de forma diferente.

Nos pulmões, a falha no transporte de cloreto e sódio diminui o volume de líquidos na superfície das vias respiratórias, comprometendo a depuração mucociliar. Esse processo

Antibioticoterapia - tratamento de pacientes com sinais e sintomas de infecção através da administração de antimicrobianos. A antibioticoterapia tem a finalidade de curar uma doença infecciosa.

Canais iônicos - são proteínas de membrana que atuam como um poro na bicamada lipídica e permitem a passagem seletiva de íons (potássio, sódio e cálcio) entre o meio extracelular e intracelular.

resulta em produção de muco espesso, característico da doença, que obstrui as vias aéreas e compromete os mecanismos de defesa, favorecendo a instalação de infecções. Eventualmente, isso pode causar insuficiência respiratória, a principal causa de morte por FC.

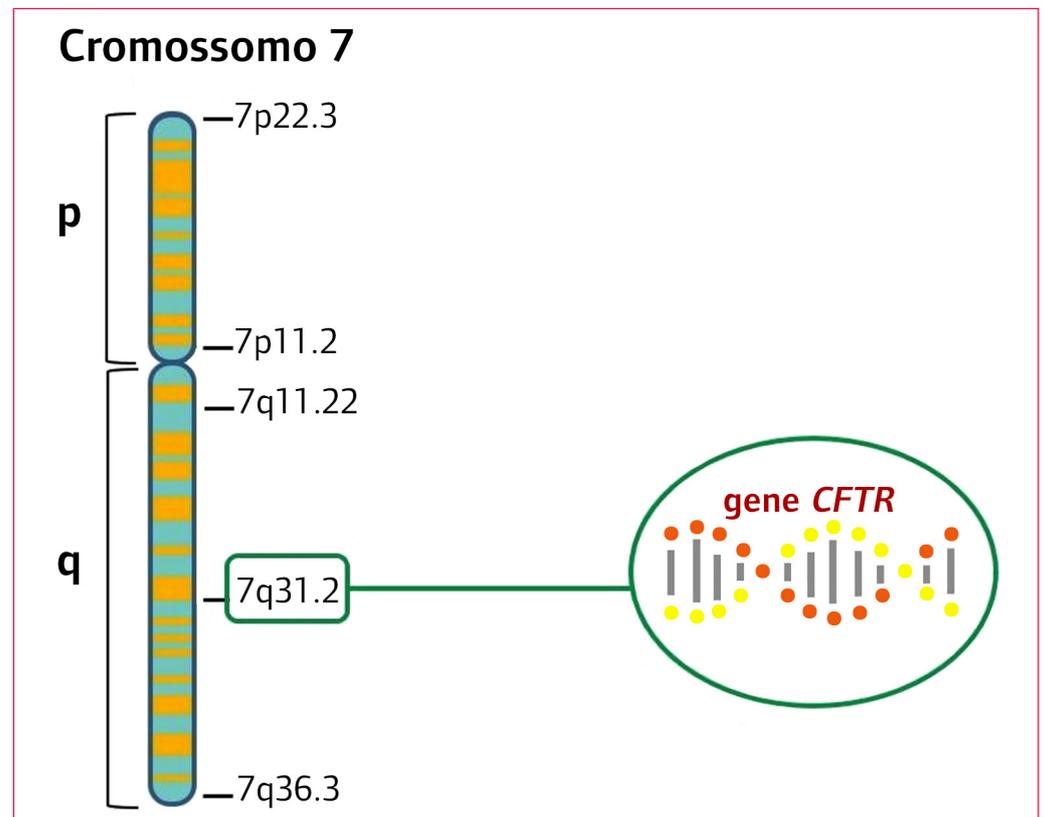


Figura 3. Representação esquemática da posição do gene *CFTR*, localizado no braço longo do cromossomo 7 humano, região 3, banda 1, sub-banda 2.

Transporte transepitelial - transporte que ocorre quando moléculas se movem através do epitélio.

Autólise - refere-se à destruição de uma célula, através da ação das suas próprias enzimas, também conhecida como autodigestão.

Proteassomo - Complexo proteico responsável pela degradação de proteínas danificadas, que não foram corretamente enoveladas ou das quais a célula não precisa mais.

Além de problemas respiratórios, o déficit no **transporte transepitelial** pode gerar manifestações em outros órgãos. Dentre essas, têm-se: o acúmulo de cloreto (pela absorção inadequada) ou depleção de sódio (pela perda excessiva de suor), subfertilidade (causada por alterações nos ductos deferentes), desnutrição, diabetes e insuficiência pancreática (decorrente da redução hídrica e maior acidez, bloqueando os ductos pancreáticos e contribuindo para **autólise** e **fibrose** do pâncreas).

Desde a descoberta do gene *CFTR* em 1989, aproximadamente 2.000 variantes comprometedoras da biossíntese da proteína foram descritas. A mutação F508del (também chamada de $\Delta F508$) é a mais frequente em várias populações, incluindo a brasileira. Essa mutação é caracterizada pela ausência de uma sequência de três nucleotídeos (uma citosina e duas timinas), acarretando na deleção do aminoácido fenilalanina na posição 508 da proteína. Como consequência da mutação, o processamento da *CFTR* é prejudicado. A proteína é aprisionada no retículo endoplasmático e, posteriormente, degradada pelo **proteassomo**.

A gravidade da doença está relacionada a fatores ambientais, **genes modificadores** e a classe das mutações presentes no gene *CFTR*. Classificam-se as mutações nesse gene em seis classes: a) - mutações de classe I resultam em ausência de sín-

Fibrose - condição caracterizada pela formação ou desenvolvimento de tecido conjuntivo em determinado órgão ou tecido, como parte da cicatrização normal ou decorrente de um processo patológico.

Genes modificadores - genes que influenciam na ação ou expressão de outros genes.

tese de RNAm ou da proteína, acarretando em redução drástica ou ausência da proteína; b) - mutações de classe II resultam em maturação proteica defeituosa e degradação prematura, o que acarreta na redução da quantidade de proteína funcional; c) - mutações de classe III geram regulação anormal da função do canal como a diminuição de ligação e hidrólise de ATP; d) - mutações de classe

IV acarretam em defeito na condutância ou abertura do canal de cloreto; e) - mutações de classe V são caracterizadas pelo número reduzido de transcritos funcionais do gene *CFTR*; Mutações de classe VI resultam em **turnover** acelerado e precoce da proteína na superfície celular. As classes I, II e III provocam um quadro mais grave da doença, se comparadas às classes IV, V e VI (Figura 4).

Turnover proteico - processo fisiológico de produção e degradação de proteínas sintetizadas por um organismo.

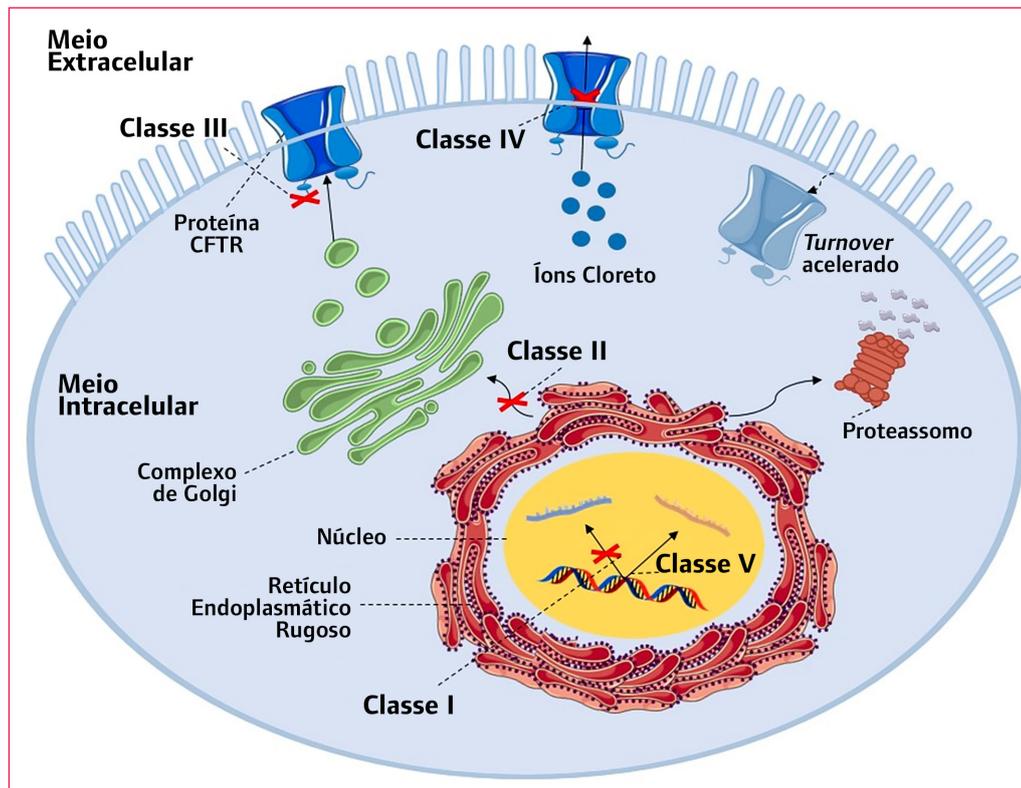


Figura 4. Diferentes classes de mutações do gene *CFTR*. As mutações de classe I causam a ausência de síntese proteica; nas mutações de classe II tem-se a maturação proteica defeituosa e degradação prematura; em mutações de classe III ocorre a regulação desordenada, como a diminuição de ligação e hidrólise de ATP; nas mutações de classe IV a condutância ou a abertura do canal de cloreto é defeituosa; mutações de classe V são caracterizadas pelo número reduzido de transcritos *CFTR*; enquanto, em mutações de classe VI há "turnover" acelerado e precoce na superfície celular.

Convém destacar que um indivíduo afetado pode ter uma certa mutação em homozigose ou seu quadro pode resultar da combinação de duas mutações distintas, que podem ser até de classes diferentes, o que configura a situação chamada de heterozigose composta. Em pacientes com FC, o rastreamento das mutações presentes no gene *CFTR* pode ser complexo e caro. Porém, nesse cenário, o fato de que a F508del é a mais frequente torna a sua triagem inicial por métodos simples e baratos mais factível, pois a investigação molecular pode começar primeiramente pelo seu rastreamento.

Estima-se que, mundialmente, a prevalência desta mutação entre os afetados por FC gira em torno de 70%. No Brasil, a frequência de pacientes FC com a mutação é de 47-48,4%. Essa diferença pode ser devido à grande mis-

cigenação presente no país, que possui elevada contribuição das ancestralidades africana e nativo americana, resultando em uma menor frequência quando comparada a populações de ancestralidade europeia, nas quais a frequência da alteração é elevada.

Investigar a variabilidade genética entre pacientes com FC fornece informações sobre a doença e possibilita a elaboração de novas opções terapêuticas. Assim, por ser a mais prevalente dentre as mutações em *CFTR*, a F508del tornou-se a primeira a ser rastreada no diagnóstico molecular da doença.

A FC não tem cura, porém os avanços nas opções terapêuticas têm ajudado a melhorar a qualidade de vida dos pacientes, possibilitando uma vida mais longa e saudável. A compreensão sobre as diferentes mutações

em *CFTR* e como essas afetam a produção, estrutura e função da proteína direcionaram as pesquisas para terapias específicas para os tipos de mutações.

Essas pesquisas levaram ao desenvolvimento de moduladores da proteína *CFTR*, esses divididos em duas classes: potencializadores e corretores. Os potencializadores são medicamentos que aumentam/potencializam a função da proteína já expressa na membrana celular. No caso de mutações de classe II e IV, estes atuam ampliando o tempo de abertura da *CFTR*.

Os corretores são medicamentos que atuam na proteína que não é expressa na membrana celular. Em mutações de classe II, por exemplo (F508del), a proteína produzida é reconhecida pela maquinaria celular como anormal e, então é degradada antes de chegar à membrana celular (defeito de tráfego intracelular). Esse tipo de medicamento busca superar esse defeito no tráfego da proteína mutada, podendo fazer com que ela chegue à membrana celular. Porém, mesmo que os corretores permitam que a proteína F508del alcance a membrana, essa ainda não funcionará adequadamente. Por isso, os corretores têm sido utilizados em associação com potencializadores.

Novos fármacos estão em desenvolvimento e em investigação, três desses já foram comprovados como tendo eficácia clínica e mostraram resultados muito promissores para algumas mutações do *CFTR*. Hoje, no Brasil, já estão aprovados dois desses fármacos para mutações específicas. Ainda há muito a ser estudado sobre a FC, principalmente sobre terapias benéficas para todos os tipos de mutações patogênicas do *CFTR*. Hoje, além das terapias dos moduladores da *CFTR*, estão em estudos terapias gênicas, celulares e muitas outras, que visam sempre trazer melhora na qualidade de vida dos pacientes.

O que aprendemos?

A FC é uma doença genética grave e rara, mais frequente em descendentes de popu-

lações europeias. Apesar de ser uma doença sem cura, os recentes avanços no diagnóstico e em opções terapêuticas têm propiciado uma melhora na qualidade de vida dos pacientes com FC, podendo estes atingir uma média de 50 anos de idade. Isso impulsiona os pesquisadores a buscarem na genética um caminho para alcançar uma terapêutica personalizada e eficiente.

Causada por mutações no gene *CFTR*, que codifica uma proteína de mesmo nome, responsável pelo transporte transepitelial de cloreto e bicarbonato, a doença apresenta grande heterogeneidade no que tange à sua gravidade, dependendo de fatores ambientais, genes modificadores e da classe de mutações presentes no gene *CFTR*. Como principais manifestações clínicas da FC têm-se a doença sinopulmonar crônica e a insuficiência pancreática, ambas resultantes das mutações no *CFTR*.

Sendo assim, nota-se a importância e relevância de estudos genéticos que buscam elucidar o papel do gene *CFTR* e compreender as consequências de suas diversas mutações, podendo assim contribuir para o desenvolvimento de novas opções terapêuticas eficazes, para o diagnóstico de precisão, e para esclarecer os mecanismos complexos relacionados a essa doença.

Para saber mais

AMICO, G.; BRANDAS, C.; MORAN, O.; BARONI, D. Unravelling the Regions of Mutant F508del-*CFTR* More Susceptible to the Action of Four Cystic Fibrosis Correctors. *International Journal of Molecular Sciences*, n. 21, p. 1-20, 2019.

ATHANAZIO, R.A. et al. Brazilian guidelines for the diagnosis and treatment of cystic fibrosis. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, v. 43, n. 3, p. 219-245, 2017.

CASTELLANI, C.; ASSAEL, B.M. Cystic fibrosis: a clinical view. *Cellular and Molecular Life Sciences*, v. 74, n. 1, p. 129-140, 2017.

COUTINHO, C.A.A.C.; MARSON, F.A.L.; RIBEIRO, A.F.; RIBEIRO, J.D.; BERTUZZO, C.S. Mutações no gene cystic fibrosis transmembrane conductance regulator em um centro de referência para a fibrose cística. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, v. 39, n. 5, p. 555-561, 2013.