

Mutações do gene *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* e deleções dos genes glutathione S-transferase em pacientes com fibrose cística no Brasil*

Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations and glutathione S-transferase null genotypes in cystic fibrosis patients in Brazil

Carmen Silvia Passos Lima, Manoela Marques Ortega,
Fernando Augusto Lima Marson, Roberto Zulli,
Antônio Fernando Ribeiro, Carmen Silvia Bertuzzo

Resumo

Objetivo: Determinar os efeitos que a mutação do gene *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (*CFTR*) e da deleção dos genes glutathione S-transferase (GST) *mu-1* (*GSTM1*) e *teta-1* (*GSTT1*) têm na evolução clínica da fibrose cística (FC) em pacientes da região sudeste do Brasil. **Métodos:** Entre março de 2002 e março de 2005, incluímos no estudo todos os pacientes com FC atendidos consecutivamente no Departamento de Pediatria do Hospital de Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas. O DNA genômico de 66 pacientes com FC foi analisado por PCR e digestão com endonuclease de restrição para a identificação dos genótipos. **Resultados:** A mutação $\Delta F508$ do gene *CFTR* foi identificada em 44 (66,7%) pacientes. As deleções dos genes *GSTM1*, *GSTT1* e da combinação nula *GSTM1/GSTT1* foram identificadas em 40,9%, 15,2% e 3,0% dos pacientes, respectivamente. A mutação $\Delta F508$ do gene *CFTR* foi mais comum em pacientes diagnosticados com FC antes dos 2,5 anos de idade que naqueles diagnosticados mais tarde (75,5% vs. 41,2%; $p = 0,008$). **Conclusões:** Foram observadas frequências similares da mutação $\Delta F508$ do gene *CFTR* e dos genótipos *GSTM1* e *GSTT1* nos pacientes, independentemente do sexo, etnia ou status da doença pulmonar ou pancreática. Quando os pacientes foram estratificados por aspectos clínicos e epidemiológicos, as frequências dos genótipos *GSTM1* e *GSTT1* nulos foram semelhantes, sugerindo que a ausência herdada dessas vias enzimáticas não altera o curso da FC. Em contraste, a alta frequência da mutação $\Delta F508$ no gene *CFTR* encontrada em pacientes mais jovens sugere que essa mutação influencia a idade no momento do diagnóstico de FC nessa região do país.

Descritores: Fibrose cística; Regulador de condutância transmembrana em fibrose cística; Glutathione transferase.

Abstract

Objective: To determine the effects that mutation of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (*CFTR*) gene and deletion of the glutathione S-transferase (GST) genes *mu-1* (*GSTM1*) and *theta-1* (*GSTT1*) have on the clinical course of cystic fibrosis (CF) in patients residing in the southeastern region of Brazil. **Methods:** The study sample consisted of all consecutive CF patients treated at the *Hospital de Clínicas* School of Medical Sciences of the State University at Campinas between March of 2002 and March of 2005. We included 66 CF patients. Genomic DNA was analyzed by polymerase chain reaction and restriction endonuclease digestion for the identification of the genotypes. **Results:** The $\Delta F508$ mutation of the *CFTR* gene was found in 44 patients (66.7%). The null genotypes *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTM1/GSTT1* were found in 40.9%, 15.2%, and 3.0% of the patients, respectively. The $\Delta F508$ *CFTR* mutation was more common in patients diagnosed with CF before 2.5 years of age than in those diagnosed later (75.5% vs. 41.2%; $p = 0.008$). The frequency of the $\Delta F508$ *CFTR* mutation, as well as of the *GSTM1* and *GSTT1* genotypes, was not found to be associated with gender, ethnicity, pulmonary disease status, or pancreatic disease status. **Conclusions:** When the patients were stratified by clinical and epidemiological features, the frequencies of the *GSTM1* and *GSTT1* null genotypes were similar, suggesting that the inherited absence of these enzymatic pathways does not alter the course of CF. However, the high frequency of the $\Delta F508$ *CFTR* mutation found in younger children suggests that it influences the age at diagnosis of CF in this region of Brazil.

Keywords: Cystic fibrosis; Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator; Glutathione transferase.

* Trabalho realizado na Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP) Brasil.

Endereço para correspondência: Carmen Silvia Passos Lima. Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Rua Alexander Fleming, 181, Cidade Universitária Zeferino Vaz, CEP 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

Tel/Fax: 55 19 3521-7496. E-mail: carmenl@fcm.unicamp.br

Apoio financeiro: Este estudo recebeu apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Recebido para publicação em 19/9/2011. Aprovado, após revisão, em 31/10/2011.

Introdução

A fibrose cística (FC) é uma das doenças genéticas autossômicas recessivas graves mais comuns entre populações de ascendência nortey-europeia. As principais manifestações clínicas da doença são a doença sinopulmonar crônica e a insuficiência pancreática exócrina.⁽¹⁾

Há considerável heterogeneidade entre indivíduos com FC no que tange à gravidade da doença. As tentativas de estabelecer uma conexão entre fenótipos e mutações específicas do gene *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (*CFTR*) têm sido bem-sucedidas, particularmente para o status da doença pancreática.⁽²⁻⁵⁾ Essa correlação, no entanto, não se mostrou totalmente verdadeira para a doença pulmonar, que pode variar significativamente entre pacientes com a mesma mutação do gene *CFTR*.⁽⁶⁾ A gravidade da doença pulmonar na FC parece ser influenciada por outras mutações fora do locus do gene *CFTR*,^(7,8) como as que ocorrem nas enzimas da família glutatona S-transferase (GST).⁽⁹⁻¹³⁾ A glutatona é um importante antioxidante pulmonar local presente no fluido de revestimento epitelial. As enzimas GST desintoxicam hidroperóxidos orgânicos prejudiciais formados em consequência de exposição a estresse oxidativo, como os que são encontrados nos pulmões de pacientes com FC,⁽¹⁴⁾ por meio da conjugação com a glutatona, potencialmente prevenindo dano pulmonar maior.

Os genes *GST mu-1* (*GSTM1*) e *GST tet-1* (*GSTT1*) são polimórficos em humanos e estão ausentes ou são homozigotos nulos – o que resulta em ausência de proteínas ativas – em aproximadamente 40% e 20%, respectivamente, dos indivíduos normais.⁽¹⁵⁾ Na FC, não há consenso a respeito do papel da deleção dos genes *GSTM1* e *GSTT1* na gravidade da doença pulmonar⁽⁹⁻¹³⁾ e pancreática.⁽⁹⁾

A FC é uma das doenças hereditária graves mais comuns em indivíduos brancos no Brasil.⁽¹⁶⁾ Em pacientes com FC tratados em nosso hospital, descreveu-se sobrevida curta devido a doença pulmonar.⁽¹⁶⁾ Entretanto, os modificadores da gravidade da doença, se é que há, ainda não são conhecidos. Portanto, julgamos necessário identificar a mutação do gene *CFTR* e os genótipos *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes com FC no Brasil, a fim de determinar se esses fatores genéticos influenciam a evolução clínica da doença na região sudeste do país.

Métodos

A amostra estudada consistiu em todos os pacientes com FC tratados consecutivamente no Serviço de Pediatria do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, em Campinas (SP), entre março de 2002 e março de 2005. O diagnóstico de FC baseou-se em sinais e sintomas, como insuficiência de crescimento, íleo meconial, vômito, dor abdominal, diarreia, esteatorreia e infecções pulmonares recorrentes. Para confirmar o diagnóstico, foram necessários dois testes de concentração de cloro no suor, com resultados iguais ou superiores a 60 mEq/L, realizados por meio de iontoforese com pilocarpina (o método clássico).⁽¹⁷⁾ Consideramos tanto a idade no momento do diagnóstico de FC como a gravidade da doença pulmonar e pancreática, determinada pelo escore de Shwachman.⁽¹⁸⁾ Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos das diretrizes institucionais, e todos os pacientes ou seus familiares assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

O DNA genômico de sangue periférico foi utilizado para a genotipagem de todos os pacientes com FC. A mutação $\Delta F508$ do gene *CFTR* foi detectada diretamente por PCR (Figura 1A).⁽¹⁹⁾ As mutações G542X, G551D, R553X, R1162X, W1282X e N1303K do gene *CFTR* foram analisadas por digestão dos produtos da PCR com endonuclease de restrição.⁽²⁰⁾ Os genes *GSTM1*, *GSTT1* e *globina β* (como controle de reação) foram amplificados por PCR múltipla (Figura 1B).⁽²¹⁾

Os pacientes foram estratificados de acordo com o padrão de mutação do gene *CFTR* (mutação $\Delta F508$ homozigota, mutação $\Delta F508$ heterozigota e outras mutações do gene *CFTR* ou mutações desconhecidas do gene) e mutações dos genes *GSTM1* e *GSTT1* (presentes ou com deleção homozigótica). Utilizamos o teste do qui-quadrado ou o teste exato de Fisher para calcular a significância estatística de diferenças em idade (< 1,0 ano vs. $\geq$ 1,0 ano e < 2,5 anos vs. $\geq$ 2,5 anos), gênero (masculino vs. feminino), origem étnica (branca vs. afro-brasileira), status da doença pulmonar e da doença pancreática exócrina (excelente/bom/leve vs. moderado/grave) e genótipos *GSTM1* e *GSTT1* (presentes vs. nulos), isolados ou combinados. As associações entre genótipos e variáveis clínicas foram também avaliadas por meio de análise multivariada com um modelo de regressão logística. Fatores com

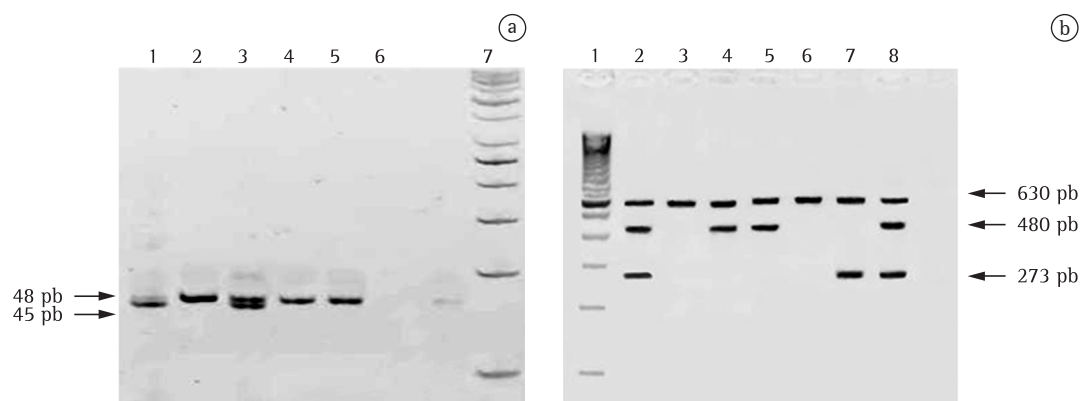


Figura 1 – PCR para a detecção da mutação $\Delta F508$ no gene *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (*CFTR*) e da deleção dos genes da glutatona S-transferase (GST) *mu-1* (*GSTM1*) e *teta-1* (*GSTT1*) na fibrose cística. Em A, gel de poliacrilamida a 12% corado com brometo de etídio revelando fragmentos de 45 pb e 48 pb, correspondendo aos alelos mutantes e normais, respectivamente. A faixa 1 mostra o resultado em um indivíduo com a mutação $\Delta F508$ homozigota; as faixas 2, 4 e 5 mostram os resultados em indivíduos sem a mutação $\Delta F508$, ao passo que a faixa 3 mostra o resultado em um indivíduo heterozigoto. Uma amostra de controle sem DNA e uma escada de DNA de 10 pb são apresentadas nas faixas 6 e 7, respectivamente. Em B, gel de agarose a 2% corado com brometo de etídio revelando fragmentos de 273 pb, 480 pb e 630 pb, correspondendo aos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *globina* β (como controle de reação), respectivamente. A faixa 1 também mostra uma escada de DNA de 100 pb. As faixas 2 e 8 mostram os resultados em indivíduos com os genes *GSTM1* e *GSTT1*. As faixas 3 e 6 mostram uma deleção combinada de homozigotos *GSTM1* e *GSTT1*. As faixas 4 e 5 mostram os resultados em indivíduos com deleção homozigota de *GSTM1*, ao passo que a faixa 7 mostra os resultados em um indivíduo com deleção homozigota de *GSTT1*.

$p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

Todas as análises foram realizadas com o pacote estatístico SAS System para Windows, versão 8.1 (SAS Institute, Cary, NC, EUA).

Resultados

O estudo envolveu 66 pacientes com FC (Tabela 1). A mediana de idade dos pacientes no momento do diagnóstico foi de 1,0 ano (variação: 0,1-15,0 anos). No momento do diagnóstico de FC, 27 dos pacientes tinham menos de 1,0 ano de idade, 39 tinham pelo menos 1,0 ano de idade, 49 tinham menos de 2,5 anos de idade e 17 tinham mais de 2,5 anos de idade. A distribuição dos indivíduos de acordo com o gênero foi semelhante no estudo. Quase todos os indivíduos eram brancos. Do total de pacientes, 57,6% apresentaram FC moderada ou grave. A prevalência dessas formas da doença foi semelhante em pacientes com menos de 1,0 ano de idade e mais de 1,0 ano de idade (59,2% e 56,4%, respectivamente; $p = 1,00$), bem como naqueles com menos de 2,5 anos de idade e mais de 2,5 anos de idade (61,2% e 47,1%, respectivamente; $p = 0,40$).

A mutação $\Delta F508$ do gene *CFTR* foi identificada em 44 dos 66 pacientes (66,7%). As mutações homozigotas e heterozigotas foram observadas em 17 (25,8%) e 27 (40,9%), respectivamente. As mutações G542X, R1162X e N1303K do gene *CFTR* foram encontradas em heterozigose em 8 (12,1%), 2 (3,0%) e 1 (1,5%) dos pacientes, respectivamente. As mutações G551D, R553X e W1282X não foram encontradas em nenhum de nossos pacientes. Constatamos que 19 dos pacientes não apresentavam nenhuma das mutações estudadas. As frequências alélicas das mutações $\Delta F508$, G542X, R1162X e N1303K do gene *CFTR* foram 0,462, 0,061, 0,015 e 0,008, respectivamente. A frequência das mutações $\Delta F508$ homozigota e $\Delta F508$ heterozigota do gene *CFTR* foi semelhante em pacientes com menos de 1,0 ano de idade e mais de 1,0 ano de idade (34,8% e 31,8%, respectivamente; $p = 0,18$). Entretanto, tais mutações foram mais comuns em pacientes com menos de 2,5 anos de idade que em pacientes mais velhos (75,5% vs. 41,2%; $p = 0,008$). Não foram observadas diferenças significativas em gênero, origem étnica e status da doença pulmonar/pancreática exócrina entre os pacientes com FC em relação

Tabela 1 – As mutações do gene *CFTR* e a deleção dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em relação às variáveis clínicas em pacientes com fibrose cística.

Variável	n	Mutação do <i>CFTR</i>		<i>GSTM1</i>	<i>GSTT1</i>	<i>GSTM1/GSTT1</i>	
		Com $\Delta F508$	Sem $\Delta F508$	Nulo	Nulo	Um nulo	Ambos nulos
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Idade, anos ^a							
< 2,5*	49	37 (75,5)	12 (24,5)	22 (44,9)	6 (12,2)	26 (53,1)	1 (2,0)
≥ 2,5*	17	7 (41,2)	10 (58,8)	5 (29,4)	4 (23,5)	7 (41,2)	1 (5,9)
Gênero	66						
Masculino	35	22 (62,9)	13 (37,1)	16 (45,7)	7 (20,0)	19 (54,3)	2 (5,7)
Feminino	31	22 (71,0)	9 (29,0)	11 (35,4)	3 (9,7)	14 (45,2)	0 (0,0)
Grupo étnico	66						
Branco	65	43 (66,2)	22 (33,8)	27 (41,5)	9 (13,9)	32 (49,2)	2 (3,1)
Afro-brasileiro	1	1 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (100,0)	1 (100,0)	0 (0,0)
Status da doença pulmonar ^b	66						
Leve ^c	36	24 (66,7)	12 (33,3)	16 (44,4)	6 (16,7)	20 (55,6)	1 (2,8)
Grave ^d	30	20 (66,7)	10 (33,3)	11 (36,7)	4 (13,3)	13 (43,3)	1 (3,3)
Status da doença pancreática exócrina ^b	66						
Leve ^c	28	18 (64,3)	10 (35,7)	12 (42,9)	5 (17,9)	15 (53,6)	1 (3,6)
Grave ^d	38	26 (68,4)	12 (31,6)	15 (39,5)	5 (13,2)	18 (47,4)	1 (2,6)

^aIdade no momento do diagnóstico da doença. ^bDefinido pelo escore de Shwachman. ^cInclui excelente, bom e leve. ^dInclui moderado e grave. *p = 0,02 para a comparação das frequências da mutação $\Delta F508$ homozigota e heterozigota do gene *CFTR* em pacientes com menos de 2,5 anos de idade e com mais de 2,5 anos de idade; OR = 5,0 (IC95%: 1,5-16,7) e p = 0,008 foi obtido para a mesma análise quando os resultados foram ajustados pela análise multivariada.

aos diferentes padrões de mutação do gene *CFTR*. A frequência dos padrões de mutação G542X, R1162X e N1303K do gene *CFTR*, bem como a dos genótipos *GSTM1* nulo, *GSTT1* nulo e *GSTM1/GSTT1* nulos foram semelhantes em pacientes com menos de 1,0 ano de idade e mais de 1,0 ano de idade (dados não apresentados). O mesmo foi verdadeiro para pacientes com menos de 2,5 anos de idade e mais de 2,5 anos de idade no momento do diagnóstico, independentemente do gênero, da origem étnica e do status da doença pulmonar/pancreática exócrina (Tabela 1). Os diferentes padrões de mutação do gene *CFTR* em associação com os genótipos *GSTM1* nulo, *GSTT1* nulo e *GSTM1/GSTT1* nulos apresentaram frequências semelhantes em pacientes com menos de 1,0 ano de idade e mais de 1,0 ano de idade (dados não apresentados). Após análise multivariada, a frequência dos genótipos foi também semelhante entre pacientes estratificados de acordo com a idade (< 2,5 e ≥ 2,5 anos de idade), o gênero, a origem étnica e o status da doença pulmonar/pancreática exócrina (Tabela 2).

Não foram observadas diferenças em idade, gênero, origem étnica e status da doença pulmonar/pancreática exócrina entre os pacientes com as mutações G542X, R1162X ou N1303K do gene *CFTR* associadas com os genótipos *GSTM1* nulo, *GSTT1* nulo ou *GSTM1/GSTT1* nulos (dados não apresentados).

Discussão

A distribuição dos pacientes do estudo de acordo com a idade no momento do diagnóstico, o gênero, a origem étnica e a gravidade da doença pulmonar/pancreática exócrina mostrou que nossos pacientes com FC eram semelhantes aos de outros países.⁽¹⁾ A mutação $\Delta F508$ do gene *CFTR* foi a mais comum em nosso estudo, o que corrobora outros relatos oriundos da mesma região do Brasil,^(16,22-25) bem como relatos internacionais.^(26,27) Outras mutações do gene *CFTR*, como as mutações R1162X e N1303K, foram menos comuns em nossos pacientes com FC,^(22,24,28) conforme relatado para pacientes com

Tabela 2 – O padrão $\Delta F508$ do gene *CFTR* associado à deleção dos genes *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes com fibrose cística estratificados de acordo com variáveis clínicas.

Variável	<i>GSTM1</i> nulo		<i>GSTT1</i> nulo		<i>GSTM1/GSTT1</i> nulo	
	Com $\Delta F508$	Sem $\Delta F508$	Com $\Delta F508$	Sem $\Delta F508$	Com $\Delta F508$	Sem $\Delta F508$
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Idade, anos ^a						
< 2,5*	16 (72,7) ^d	6 (27,3)	6 (100,0)	0 (0,0)	1 (100,0)	0 (0,0)
≥ 2,5*	1 (20,0)	4 (80,0)	2 (50,0)	2 (50,0)	0 (0,0)	1 (100,0)
Gênero						
Masculino	9 (56,3)	7 (43,8)	6 (85,7)	1 (14,3)	1 (50,0)	1 (50,0)
Feminino	8 (72,7)	3 (27,3)	2 (66,7)	1 (33,3)	0 (0,0)	0 (0,0)
Grupo étnico						
Branco	17 (63,0)	10 (37,0)	7 (87,5)	2 (12,5)	1 (50,0)	1 (50,0)
Afro-brasileiro	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Status da doença pulmonar ^b						
Leve ^c	11 (68,8)	5 (31,3)	6 (100,0)	0 (0,0)	1 (100,0)	0 (0,0)
Grave ^d	6 (54,5)	5 (45,5)	2 (50,0)	2 (50,0)	0 (0,0)	1 (100,0)
Status da doença pancreática exócrina ^b						
Leve ^c	9 (75,0)	3 (25,0)	5 (100,0)	0 (0,0)	1 (100,0)	0 (0,0)
Grave ^d	8 (53,3)	7 (46,7)	3 (60,0)	2 (40,0)	0 (0,0)	1 (100,0)

^aIdade no momento do diagnóstico da doença. ^bDefinido pelo escore de Shwachman. ^cInclui excelente, bom e leve.

^dInclui moderado e grave. *p = 0,06 para a comparação das frequências do genótipo *GSTM1* nulo e mutação $\Delta F508$ do gene *CFTR* em pacientes com menos de 2,5 anos de idade e com mais de 2,5 anos de idade; OR = 14,05 (IC95%: 0,76–260,25) e p = 0,76 foi obtido para a mesma análise quando os resultados foram ajustados pela análise multivariada.

FC em outras partes do mundo.⁽²⁷⁾ A frequência dos genótipos *GSTM1* nulo e *GSTT1* nulo nos pacientes com FC em nosso estudo foi semelhante àquela encontrada em indivíduos saudáveis no Brasil⁽²⁹⁾ e em outros países.⁽¹⁵⁾ Portanto, nossa amostra parece ser representativa de pacientes com FC em todo o mundo.

Encontramos elevada frequência da mutação $\Delta F508$ do gene *CFTR* em pacientes diagnosticados com a doença antes dos 2,5 anos de idade em relação àqueles diagnosticados mais tarde. Entretanto, não encontramos diferença na frequência da mutação genética em pacientes estratificados de acordo com o status da doença pulmonar/pancreática. Devido ao fato de que a frequência das formas moderada e grave de FC foi semelhantes em pacientes com menos de 2,5 anos de idade e mais de 2,5 anos de idade, a combinação entre a mutação $\Delta F508$ do gene *CFTR* e o diagnóstico mais precoce da doença sugere que a mutação provoca mais sintomas ou torna os sintomas mais persistentes, o que pode levar os pais de pacientes com essa mutação a buscar aconselhamento médico mais cedo.

A mutação $\Delta F508$ resulta na produção de *CFTR* anormalmente dobrado que não se transporta

normalmente até a membrana celular apical.⁽³⁰⁾

Na verdade, há evidências de que a anomalia genética por si só não afeta a gravidade da doença pulmonar.^(6,16,26) A gravidade da doença pulmonar parece ser influenciada por outras mutações fora do locus do gene *CFTR*. Além disso, a associação entre a mutação $\Delta F508$ e a gravidade da insuficiência pancreática exócrina em pacientes com FC tem sido consistentemente demonstrada.^(2,5) Portanto, deve-se ressaltar que nossa amostra (n = 66) pode não ter sido grande o suficiente para detectar associações entre a mutação $\Delta F508$ do gene *CFTR* e as características clínicas, e que o método utilizado para determinar o status da doença pulmonar/pancreática (o escore de Shwachman) pode não ter sido apropriado para os objetivos deste estudo. Além disso, é possível que um segundo alelo discreto, acompanhando a mutação $\Delta F508$, tenha protegido nossos pacientes contra doença pancreática grave, conforme descrito anteriormente.^(2,5) É também possível que nossos pacientes não tenham sobrevivido por tempo suficiente para que viessem a apresentar disfunção pancreática.

Não encontramos diferenças entre os pacientes com *GSTM1* ou *GSTT1* e aqueles sem esses genes

no que tange a idade, gênero, origem étnica e status da doença pulmonar/pancreática, o que sugere que as enzimas GST não alteram as características clínicas de pacientes com FC em nossa região. A família multigênica GST de enzimas desintoxicantes está envolvida na proteção de vários tipos de tecido contra dano oxidativo. O genótipo homozigoto *GSTM1* nulo tem sido associado a doença pulmonar mais grave e menor sobrevida em pacientes com FC,^(9-11,13) embora haja dados conflitantes.⁽¹²⁾ Além disso, não encontramos associação entre a ausência herdada das enzimas *GSTM1*⁽⁹⁾ e *GSTT1*^(11,12) e a gravidade da doença pancreática ou pulmonar. Embora a ausência dessas proteínas GST possa ter alterado a função clínica de nossos pacientes com FC, sua influência pode não ter sido forte o suficiente para ser detectada em nossa amostra. Ademais, a associação entre a mutação $\Delta F508$ do gene *CFTR* e o genótipo *GSTM1* nulo ou *GSTT1* nulo também apresentou distribuição igual entre nossos pacientes com FC, estratificados de acordo com as características clínicas. Entretanto, nossa amostra foi pequena demais para que chegássemos a conclusões consistentes a respeito da associação entre esses genótipos e as manifestações clínicas da doença.

Em conclusão, nossos dados fornecem evidências preliminares de que as enzimas desintoxicantes GST não influenciam o curso da FC, porém a mutação $\Delta F508$ altera a idade no momento do diagnóstico da doença. Entretanto, estudos epidemiológicos com amostras maiores devem ser conduzidos a fim de identificar claramente o papel que essas mutações desempenham na população de pacientes com FC no Brasil.

Referências

1. Welsh MJ, Tsui LC, Boat TF, Beaudet AL. Cystic fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Vall D, editors. The metabolic and molecular bases of inherited disease. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 871-9.
2. Kristidis P, Bozon D, Corey M, Markiewicz D, Rommens J, Tsui LC, et al. Genetic determination of exocrine pancreatic function in cystic fibrosis. *Am J Hum Genet.* 1992;50(6):1178-84.
3. Zielenski J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration.* 2000;67(2):117-33.
4. Naruse S, Kitagawa M, Ishiguro H, Fujiki K, Hayakawa T. Cystic fibrosis and related diseases of the pancreas. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2002;16(3):511-26.
5. Lee JH, Choi JH, Namkung W, Hanrahan JW, Chang J, Song SY, et al. A haplotype-based molecular analysis of CFTR mutations associated with respiratory and pancreatic diseases. *Hum Mol Genet.* 2003;12(18):2321-32.
6. Lester LA, Kraut J, Lloyd-Still J, Karrison T, Mott C, Billstrand C, et al. Delta F508 genotype does not predict disease severity in an ethnically diverse cystic fibrosis population. *Pediatrics.* 1994;93(1):114-8.
7. Sliker MG, Sanders EA, Rijkers GT, Ruven HJ, van der Ent CK. Disease modifying genes in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2005;4 Suppl 2:7-13.
8. Collaco JM, Cutting GR. Update on gene modifiers in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med.* 2008;14(6):559-66.
9. Baranov VS, Ivaschenko T, Bakay B, Aseev M, Belotserkovskaya R, Baranova H, et al. Proportion of the *GSTM1* 0/0 genotype in some Slavic populations and its correlation with cystic fibrosis and some multifactorial diseases. *Hum Genet.* 1996;97(4):516-20.
10. Hull J, Thomson AH. Contribution of genetic factors other than CFTR to disease severity in cystic fibrosis. *Thorax.* 1998;53(12):1018-21.
11. Gilliland FD, Gauderman WJ, Vora H, Rappaport E, Dubeau L. Effects of glutathione-S-transferase M1, T1, and P1 on childhood lung function growth. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166(5):710-6.
12. Flamant C, Henrion-Caude A, Boëlle PY, Brémont F, Brouard J, Delaisi B, et al. Glutathione-S-transferase M1, M3, P1 and T1 polymorphisms and severity of lung disease in children with cystic fibrosis. *Pharmacogenetics.* 2004;14(5):295-301.
13. Korytina GF, Iaibaeva DG, Viktorova TV. Polymorphism of glutathione-S-transferase M1 and P1 genes in patients with cystic fibrosis and chronic respiratory tract diseases [Article in Russian]. *Genetika.* 2004;40(3):401-8.
14. Hull J, Vervaart P, Grimwood K, Phelan P. Pulmonary oxidative stress response in young children with cystic fibrosis. *Thorax.* 1997;52(6):557-60.
15. Hengstler JG, Arand M, Herrero ME, Oesch F. Polymorphisms of N-acetyltransferases, glutathione S-transferases, microsomal epoxide hydrolase and sulfotransferases: influence on cancer susceptibility. *Recent Results Cancer Res.* 1998;154:47-85.
16. Alvarez AE, Ribeiro AF, Hessel G, Bertuzzo CS, Ribeiro JD. Cystic fibrosis at a Brazilian center of excellence: clinical and laboratory characteristics of 104 patients and their association with genotype and disease severity [Article in Portuguese]. *J Pediatr (Rio J).* 2004;80(5):371-9.
17. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics.* 1959;23(3):545-9.
18. Shwachman H, Kulczycki LL. Long-term study of one hundred five patients with cystic fibrosis; studies made over a five- to fourteen-year period. *AMA J Dis Child.* 1958;96(1):6-15.
19. Rommens J, Kerem BS, Greer W, Chang P, Tsui LC, Ray P. Rapid nonradioactive detection of the major cystic fibrosis mutation. *Am J Hum Genet.* 1990;46(2):395-6.
20. Tsui LC, Rommens J, Kerem B, Rozmahel R, Zielenski J, Kennedy D, et al. Molecular genetics of cystic fibrosis. *Adv Exp Med Biol.* 1991;290:9-17; discussion 17-8.
21. Arruda VR, Lima CS, Grignoli CR, de Melo MB, Lorand-Metze I, Alberto FL, et al. Increased risk for acute myeloid leukaemia in individuals with glutathione S-transferase mu 1 (*GSTM1*) and theta 1 (*GSTT1*) gene defects. *Eur J Haematol.* 2001;66(6):383-8.
22. Bernardino AL, Ferri A, Passos-Bueno MR, Kim CE, Nakaie CM, Gomes CE, et al. Molecular analysis in Brazilian

- cystic fibrosis patients reveals five novel mutations. *Genet Test*. 2000;4(1):69-74.
23. Okay TS, Oliveira WP, Raiz-Júnior R, Rodrigues JC, Del Negro GM. Frequency of the deltaF508 mutation in 108 cystic fibrosis patients in Sao Paulo: comparison with reported Brazilian data. *Clinics (Sao Paulo)*. 2005;60(2):131-4.
 24. Raskin S, Pereira-Ferrari L, Reis FC, Abreu F, Marostica P, Rozov T, et al. Incidence of cystic fibrosis in five different states of Brazil as determined by screening of p.F508del, mutation at the CFTR gene in newborns and patients. *J Cyst Fibros*. 2008;7(1):15-22.
 25. Perone C, Medeiros GS, del Castillo DM, de Aguiar MJ, Januário JN. Frequency of 8 CFTR gene mutations in cystic fibrosis patients in Minas Gerais, Brazil, diagnosed by neonatal screening. *Braz J Med Biol Res*. 2010;43(2):134-8.
 26. Alonso MJ, Heine-Suñer D, Calvo M, Rosell J, Giménez J, Ramos MD, et al. Spectrum of mutations in the CFTR gene in cystic fibrosis patients of Spanish ancestry. *Ann Hum Genet*. 2007;71(Pt 2):194-201.
 27. Alibakhshi R, Kianishirazi R, Cassiman JJ, Zamani M, Cuppens H. Analysis of the CFTR gene in Iranian cystic fibrosis patients: identification of eight novel mutations. *J Cyst Fibros*. 2008;7(2):102-9.
 28. Goloni-Bertollo EM, Rossit AR, Junior JB, Fett-Conte AC, Raskin S. CFTR molecular analysis reveals infrequent allele frequencies in nine cystic fibrosis patients from São Paulo State, Brazil. *Hum Biol*. 2003;75(3):393-8.
 29. Hatagima A, Klautau-Guimarães MN, Silva FP, Cabello PH. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) polymorphism in two Brazilian populations. *Genet Mol Biol*. 2000;23(4):709-13.
 30. Merlo CA, Boyle MP. Modifier genes in cystic fibrosis lung disease. *J Lab Clin Med*. 2003;141(4):237-41.

Sobre os autores

Carmen Silvia Passos Lima

Professora. Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP) Brasil.

Manoela Marques Ortega

Pesquisadora. Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP) Brasil.

Fernando Augusto Lima Marson

Pesquisador. Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP) Brasil.

Roberto Zulli

Estatístico. Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP) Brasil.

Antônio Fernando Ribeiro

Pesquisador. Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP) Brasil.

Carmen Silvia Bertuzzo

Professora. Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP) Brasil.