

## PREDICT PATHOGENIC VARIANTS

TEMA: GENÉTICA

**STEPHANIE VILLA NOVA PEREIRA; FERNANDO AUGUSTO LIMA MARSON; JOSE DIRCEU RIBEIRO; ANTONIO FERNANDO RIBEIRO; CARMEN SILVIA BERTUZZO**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP

**Introduction:** Cystic fibrosis (CF) is caused by CFTR mutations (~400 pathogenic). Allelic heterogeneity challenges the molecular diagnosis and precision medicine approaches in CF. **Purpose:** To identify CFTR variants by high-throughput sequencing (HTS) and predict the pathogenicity of the new variants by in silico tools.

**Methods:** 169 CF patients had genomic DNA submitted to a Targeted Gene Sequencing with custom panel. Results were obtained from Basespace® and the alignment from TruSeq® Amplicon by Smith-Waterman algorithm. The variants annotation was made in VariantStudio® and confirmed in the Integrative Genomics Viewer. American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology recommendations (2015) were applied to deduce the pathogenicity using six in silico tools: MutationTaster, MutPred-2, MutPred-LOF, MutPred-Splice, PolyPhen-2, Human Splice Finder.

**Results:** A total of 62 variants were identified in 169 CF patients (3 patients had 3 variants). The most frequent alleles were: c.1521\_1523delCTT, p.Phe508del (n = 192; 56.30%), c.1624G > T p.Gly542X (n = 26; 7.62%), c.3909C > G, p.Asn1303Lys (n = 11; 3.23%), c.3484C > T, p.Arg1162X and c.1000C > T, p.Arg334Trp (both n = 9; 2.64%). Among identified mutations: 41 were pathogenic, according to the literature [classified as: (I) n = 23 (56.09%); (II) n = 6 (14.63%); (III) n = 1 (2.43%); (IV) n = 6 (14.63%); (IV and V) n = 1 (2.43%); (VI) n = 4 (9.75%)]; 14 had uncertain significance (9 being pathogenicity in all predictors and 5 being discordant); and 7 new mutations were identified, evaluated and, based on the theoretical type of change + prediction analysis, we suggested the classification of c.(580+1\_581-1)(2615+1\_2616-1) dup, c.1936G > T, p.Gly646X and c.3557\_3557delA, p.Pro1186Leufs as class I. There was concordance of the predictors as "likely pathogenic" for c.\*1233T > A, c.2804T > A, p.Leu935Gln, and c.4281C > T, p.Ile1427 = . Also, c.974A > T, p.Tyr325Phe presented 1 discordant result among the predictors. Compared with the CFF data, among the mutations described, 7 are not in the registry and, among the potentially pathogenic ones, 4 were described. **Conclusion:** HTS plays a major progress in CF molecular diagnosis and was effective to detect rare and new variants. The use of in silico tools are an important step to classify the pathogenicity. HTS and in silico analysis can identify CFTR mutations and to give the opportunity to include the precision medicine into daily practice in a near future.

## AO17 EFFICACY OF CFTR MODULATORS ON CF AIRWAY MUCUS HYDRATION

TEMA: CFTR

**MIRIAM FRANKENTHAL FIGUEIRA; MIRIAM FRANKENTHAL FIGUEIRA; MEHDI HABIBPOUR; BRIAN BUTTON**

UNIVERSITY OF NORTH CAROLINA

The pathogenesis of CF lung disease is multifactorial, but have an important disease-initiating step: a reduction of mucus clearance. CFTR modulators show promise in improving chloride transport in CF epithelia and, ultimately, lung function. However, whether CFTR correction alone can restore mucus clearance in the presence of severely dehydrated mucus is unknown. **Objective:** The major goal of this project is to test the hypothesis that mucus burden

(i.e.concentration) will limit the ability of CFTR modulators alone to restore mucus biophysical properties and mucus clearance efficacy. Additionally, we assessed the ability of other agents (i.e.mucolytics) to restore clearance.

**Methods:** CF airway cells (DF508/DF508) were allowed to accumulate mucus over the period of 4 weeks. CFTR modulators (5µM VX-809 and 5µM VX-770) and VIP (30nM) were added for 5 days prior to analysis. For all mucus samples utilized, we quantified mucus concentration before and after treatment by determining % solids, i.e. wet-to-dry weight ratio. The rate of airflow-mediated mucus clearance was assessed in parallel cultures using our novel in vitro cough clearance (CC) system. **Results:** To assess the impact of CFTR modulators on mucus biophysical properties, we assessed chloride currents and mucus concentration (% solids) before and after treating CF cultures with VX-770/809. While treatment showed a significant increase in FSK-stimulated chloride current, only a modest decrease in % solids (from 13.7% to 12.8% solids) was observed. This data suggests that correction of CFTR alone may not be sufficient to restore % solids to normal levels and therefore restore the clearance. Indeed, data from our in vitro CC system demonstrate that this change in % solids was insufficient to elicit a significant increase in CC. Next, to assess whether mucus-altering agents could further improve CC, we compared the effect of 7% hypertonic saline (HS), with a reducing agent (DTT), or a combination of the two. We found that while large reductions in mucus concentration (with HS) was superior at increasing CC, the combination of HS and DTT was most effective. **Conclusions:** Our data shows that mucus clearance is highly concentration dependent and that at higher % solids the correction of defective CFTR may not be sufficient to restore mucus hydration and consequently mucus clearance. Our results suggest that combination of CFTR correction with HS and reducing agents is most effective at increasing clearance.

## AO18 ASSOCIAÇÃO DO DNA EXTRACELULAR PRESENTE NO ESCARRO DE PACIENTES COM FIBROSE CÍSTICA COM A FUNÇÃO PULMONAR E A CAPACIDADE DE EXERCÍCIO

TEMA: FISIOTERAPIA

**TAILA CRISTINA PIVA; CAROLINA LUFT; NATÁLIA EVANGELISTA CAMPOS; MAILISE FÁTIMA GHELLER; DANIELE SCHIWE; MÁRCIO VINÍCIUS FAGUNDES DONADIO**

PUCRS

O escarro de pacientes com fibrose cística (FC) apresenta elevada concentração de DNA livre. Estudos sugerem que este DNA extracelular está relacionado às redes extracelulares de neutrófilos (NETs), liberadas por estas células como um mecanismo de defesa. No entanto, a formação em excesso destas redes pode estar associada com a obstrução das vias aéreas devido ao aumento da viscosidade do muco e à lesão do tecido pulmonar. Tais características predispoem a infecções e exacerbações, com consequente perda progressiva da função pulmonar e limitação ao exercício. A capacidade de exercício é um importante preditor de prognóstico e gravidade da doença, contudo, até o momento, não existem estudos investigando a associação das NETs com a capacidade de exercício. O objetivo deste estudo foi investigar a associação do DNA livre presente no escarro com a função pulmonar e a capacidade de exercício de pacientes com FC. Trata-se de um estudo transversal, incluindo pacientes com FC maiores de cinco anos de idade, capazes de expectorar de forma espontânea e clinicamente estáveis. O escarro foi coletado durante a consulta ambulatorial e, posteriormente, a amostra foi processada para a

quantificação do DNA livre por método fluorimétrico. A espirometria foi realizada durante a consulta ambulatorial e foram coletadas as variáveis obtidas no teste de exercício cardiopulmonar (TECP). O estudo foi aprovado pelo comitê de ética e os pacientes ou responsáveis assinaram o termo de consentimento. Utilizou-se análise descritiva e teste de correlação de Pearson. Foram incluídos 11 pacientes, 63,6% do sexo masculino, com uma média de idade de  $18,8 \pm 6,5$  anos e VEF1  $53,2 \pm 29,25\%$ . A concentração média de DNA livre no escarro foi de  $223,0 \pm 137,9$  ug/mL. Quanto às variáveis do TECP no pico do exercício, a média do consumo máximo de oxigênio (VO2pico) foi de  $33,1 \pm 6,0$  mL.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup> e da ventilação máxima (VEmáx)  $44,1 \pm 16,0$  L.min. Foram observadas correlações inversas e moderadas do DNA livre com o VEF1 ( $r = -0,64$ ;  $p = 0,04$ ), a CFV ( $r = -0,69$ ;  $p = 0,02$ ) e o VO2pico ( $r = -0,69$ ;  $p = 0,02$ ). No entanto, entre o DNA livre, VEmáx e equivalentes respiratórios (VE/VO2 e VE/CO2), assim como com FEF25-75 e VEF1/CFV, não foram observadas correlações significativas ( $p > 0,05$ ). Os resultados obtidos até o momento demonstram que a concentração de DNA livre no escarro está associada negativamente com a função pulmonar e o consumo máximo de oxigênio, podendo contribuir para a limitação ao exercício nos pacientes com FC.

#### **AO19** RESPOSTA DA SECREÇÃO DE SUOR POR ESTÍMULO B-ADRENÉRGICO DA GLÂNDULA SUDORÍPARA NA AUSÊNCIA DE MUTAÇÕES NO CFTR

TEMA: CFTR

**ALICE BELLA LISBÔA REZENDE; MARIA FÁTIMA SERVIDONI; ANTÔNIO FERNANDO RIBEIRO; CARLA CRISTINA DE SOUZA GOMEZ; CARMEN SÍLVIA BERTUZZO; FERNANDO AUGUSTO LIMA MARSON**

UNIMETROCAMP

**Introdução:** O diagnóstico de fibrose cística (FC) é realizado pelo teste do suor e/ou identificação de variantes patogênicas do CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator). A avaliação bioelétrica, pelo estímulo  $\beta$ -adrenérgico da glândula sudorípara expressa a função da CFTR e contribui para o diagnóstico in vivo da FC. O conhecimento da resposta do estímulo  $\beta$ -adrenérgico se limita a dados da população americana e canadense. Nosso objetivo foi avaliar essa secreção, em adultos sem variantes patogênicas no CFTR, e associar os resultados com marcadores clínicos, demográficos e laboratoriais. **Método:** Estudo experimental, transversal, com 57 adultos sem variantes patogênicas no CFTR e/ou teste do suor  $\geq 60$  mEq/L. Foram realizados: estímulo  $\beta$ -adrenérgico da glândula sudorípara e teste do suor nos braços esquerdo e direito; sequenciamento do CFTR e espirometria. **Resultado:** Houve correlação positiva e significativa dos testes entre braços, porém a concordância não ocorreu para a relação  $\beta$ -adrenérgico/Colinérgico e a [cloreto]. Concomitantemente, nenhum marcador do estímulo  $\beta$ -adrenérgico apresentou correlação com a [cloreto]. Houve influência da umidade no estímulo  $\beta$ -adrenérgico e da temperatura no teste do suor. Variáveis antropométricas e o sexo influenciaram na resposta ao estímulo  $\beta$ -adrenérgico. Houve correlação fraca/moderada entre marcadores da espirometria com o resultado do estímulo  $\beta$ -adrenérgico e a [cloreto]. **Conclusão:** A secreção de suor por estímulo  $\beta$ -adrenérgico da glândula sudorípara apresentou comportamento diferente dos estudos anteriores. Acreditamos que nossos achados devam ser tidos como referência para nossa população, no caso da avaliação de saudáveis com ausência de variantes patogênicas do CFTR. Por ser reprodutível, o estímulo

$\beta$ -adrenérgico poderá ser implementado como nova ferramenta de diagnóstico da FC e seu uso para avaliar a função da CFTR deve ser estimulado em ensaios clínicos.

#### **AO20** QUALIDADE DE VIDA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM FIBROSE CÍSTICA

TEMA: DIAGNÓSTICO E EPIDEMIOLOGIA

**MARÍLIA DA SILVA GARROTE; YASMIM QUEIROZ SANTOS; LUCIELI BOSCHETTI VINHAL; CRISTIANE ALVES DA FONSECA DO ESPÍRITO SANTO; LUSMAIA DAMACENO CAMARGO COSTA; FLÁVIO MONTEIRO AYRES**

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DE GOIÂNIA

**Introdução:** Fibrose cística (FC) é uma doença crônica, progressiva e autossômica recessiva. Geralmente, os pacientes apresentam limitações causadas pela doença, as quais podem influenciar na sua qualidade de vida (QV), definida como uma avaliação subjetiva multidimensional.

**Objetivo:** Analisar os fatores clínicos relevantes na QV de pacientes com FC e pais e/ou cuidadores. **Métodos:** Estudo transversal com a aplicação do Cystic Fibrosis Questionnaire(CFQ-R) validado em língua portuguesa. Realizado entre janeiro de 2017 e julho de 2018 no centro de referência de FC em Goiânia, Goiás, Brasil. Critérios de inclusão: pacientes com FC e teste genético; ser pai ou cuidador de fibrocístico. Critérios de exclusão: menores de 6 anos de idade, com déficit neurológico e/ou cognitivo; mais de 2 respostas positivas em um questionário de estabilidade clínica. **Resultados:** Participaram 36 pessoas, sendo 12 pais e/ou cuidadores, 24 pacientes com FC, 9 pacientes entre 6 e 11 anos, 2 entre 12 e 13 anos e 13 acima de 14 anos. Pacientes com mais de 14 anos apresentaram pontuação superior no domínio nutrição( $p = 0,00$ ) e inferior no domínio tratamento( $p = 0,00$ ), comparado com os de idade entre 6 e 13 anos. No domínio nutrição, a pontuação obtida através dos pais e/ou cuidadores foi menor comparada àquela obtida pelos pacientes, com idade entre 6 e 13 anos ( $p = 0,02$ ). Os valores de cloreto no suor demonstraram uma relação inversamente proporcional com os escores de domínios respiratório ( $R = -0,60$ ;  $p = 0,04$ ), imagem corporal ( $R = -0,68$ ;  $p = 0,02$ ), emocional ( $R = -0,68$ ;  $p = 0,02$ ) e escore final do CFQ-R ( $R = -0,68$ ;  $p = 0,02$ ), em pacientes com idade entre 6 e 13 anos. Pacientes maiores de 14 anos demonstraram associação entre diagnóstico precoce e maiores pontuações no domínio respiratório( $R = -0,70$ ;  $p = 0,00$ ) e digestivo ( $R = -0,66$ ;  $p = 0,01$ ). Valores superiores no escore Shwachman-Kulczycki (SK) e VEF1% estiveram associados a melhores escores nos domínios de imagem corporal ( $R = 0,55$ ;  $p = 0,04$ ) e escore final do CFQ-R ( $R = 0,75$ ;  $p = 0,00$ ), respectivamente, em pacientes acima de 14 anos. Pacientes com mais de 20 anos apresentaram uma associação diretamente proporcional entre os valores do IMC e o domínio de peso( $R = 0,77$ ;  $p = 0,01$ ). **Conclusões:** Observou-se correlação significativa de alguns domínios da QV com desfechos clínicos e funcionais, demonstrando a importância dessa avaliação no acompanhamento dos paciente com FC. Ressaltamos ainda que pode haver diferença entre a pontuação obtida pelos pacientes e aquela obtida pelos pais.

#### **AO21** AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM FIBROSE CÍSTICA: NOVE ANOS DE SEGUIMENTO

TEMA: NUTRIÇÃO

**VALMIR MACHADO DE MELO FILHO; JAMILE CARDOSO BONFIM; MARÍLIA AUGUSTA SILVA DOS SANTOS; FERNANDA GOMES COQUEIRO; FERNANDA MATOS FONTENELLE; EDNA LUCIA SANTOS DE SOUZA**