

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

MILENA LUANA COELHO DE ASSIS

**PREVALÊNCIA DA INSUFICIÊNCIA/DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D EM
PACIENTES PORTADORES DE FIBROSE CÍSTICA: ASSOCIAÇÃO COM O
PERFIL INFLAMATÓRIO E POLIMORFISMO FOKI DO GENE VDR**

JOÃO PESSOA - PB

2017

MILENA LUANA COELHO DE ASSIS

**PREVALÊNCIA DA INSUFICIÊNCIA/DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D EM
PACIENTES PORTADORES DE FIBROSE CÍSTICA: ASSOCIAÇÃO COM O
PERFIL INFLAMATÓRIO E POLIMORFISMO FOKI DO GENE VDR**

JOÃO PESSOA - PB

2017

MILENA LUANA COELHO DE ASSIS

**PREVALÊNCIA DA INSUFICIÊNCIA/DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D EM
PACIENTES PORTADORES DE FIBROSE CÍSTICA: ASSOCIAÇÃO COM O
PERFIL INFLAMATÓRIO E POLIMORFISMO FOKI DO GENE VDR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento aos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Nutrição.

Linha de pesquisa: Nutrição Clínica e Epidemiologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves

JOÃO PESSOA - PB

2017

A848p Assis, Milena Luana Coelho de.

Prevalência da insuficiência/deficiência de vitamina D em pacientes portadores de fibrose cística: associação com o perfil inflamatório e polimorfismo FokI do gene VDR / Milena Luana Coelho de Assis. - João Pessoa, 2017.

85 f. : il. -

Orientadora: Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS

1. Nutrição. 2. Fibrose Cística. 3. Vitamina D.
4. Polimorfismo. I. Título.

UFPB/BC

CDU: 612.39(043)

MILENA LUANA COELHO DE ASSIS

**PREVALÊNCIA DA INSUFICIÊNCIA/DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D EM
PACIENTES PORTADORES DE FIBROSE CÍSTICA: ASSOCIAÇÃO COM O
PERFIL INFLAMATÓRIO E POLIMORFISMO FOKI DO GENE VDR**

Dissertação _____ em 04/04/2017.

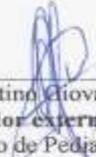
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves
Presidente da Banca Examinadora
(UFPB/Centro de Ciências da Saúde/PPGCN)

Prof. Dr. Maria José Carvalho Costa
Examinador interno - Titular
(UFPB/Centro de Ciências da Saúde/PPGCN)

Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva
Examinador interno - Suplente
(UFPB/Centro de Ciências da Saúde/PPGCN)


Prof. Dr. Constantino Giovanni Braga Cartaxo
Examinador externo - Titular
(UFPB/Departamento de Pediatria e Genética/CCM)

Prof. Dr. Darlene Camati Persuhn
Examinador externo - Suplente
(UFPB/Departamento de Biologia Molecular/CCEN)

Dedico este trabalho aos meus pais **José e Cleide**, as minhas irmãs **Amanda e Flávia**, ao meu esposo **Cleyton** e a minha filha **Alice**.

AGRADECIMENTOS

À Deus, meu criador, por Seu amor, cuidado, fidelidade, bondade... Por me capacitar e me proporcionar tantas realizações.

Aos meus pais, Zezinho e Cleide, por todo amor, dedicação, apoio e incentivo. Por terem acreditado em mim... Eu amo vocês!

As minhas irmãs Amanda e Flávia, que sempre estiveram presentes em cada conquista, me apoiando e se alegrando comigo.

Ao meu esposo Cleyton, pelo incentivo, pela ajuda, pela paciência e compreensão por tantos momentos de ausência.

A minha filha Alice, meu amor maior, bênção de Deus em minha vida!

A minha orientadora, Prof^a Dr^a Maria da Conceição, pela ajuda, paciência e disponibilidade. Muito obrigada!

Aos queridos Dayanna e Rayner, pela contribuição no desenvolvimento deste trabalho. Obrigada!

A Prof^a. Dr^a. Darlene, Prof^a. Dr^a. Maria José, Prof^o Dr^o. Alexandre e Prof^o Dr^o Constantino, por terem aceitado participar da minha banca e pela contribuição.

Aos pacientes e familiares, sem os quais a pesquisa não teria sido realizada.

À direção do HULW, aos servidores que trabalham no ambulatório de Pediatria junto aos pacientes e aos servidores do Laboratório de Análises Clínicas do HULW. Obrigada pela ajuda!

Finalmente, a todos que colaboraram, muito obrigada!

“O preguiçoso deseja e nada consegue, mas os desejos dos diligentes são amplamente satisfeitos”.

Provérbios 13.4

RESUMO

A fibrose cística é uma doença autossômica recessiva, causada por mutações no gene CFTR. No Brasil, tem incidência aproximada de 1/7000, sujeita a variações regionais. Cerca de 90% dos pacientes apresentam insuficiência pancreática, resultando em má absorção e risco de deficiência de vitaminas lipossolúveis, incluindo a vitamina D. Recentemente, a vitamina D tem sido associada a vários estados de doença, como hipertensão, diabetes mellitus, doenças cardiovasculares, câncer e doença pulmonar obstrutiva crônica. A vitamina D tem efeitos imunomoduladores na inflamação. Estudos têm indicado a existência de vários polimorfismos no gene do VDR. Estes polimorfismos foram estudados como possíveis fatores envolvidos na predisposição a doenças, bem como na modulação da atividade da vitamina D. Estes novos insights sobre as funções biológicas da vitamina D levaram ao interesse pelas consequências clínicas da sua deficiência. Baseado nestes fatos, o estudo teve como objetivo identificar a prevalência da insuficiência/deficiência de 25-hidroxivitamina D em indivíduos portadores de fibrose cística e analisar sua associação com o perfil inflamatório e o polimorfismo FokI do gene VDR. Tratou-se de um estudo transversal, conduzido com pacientes acompanhados no ambulatório de Pediatria do Hospital Universitário Lauro Wanderley – UFPB, envolvendo 18 pacientes, de ambos os sexos. Foram coletadas, através de um questionário, informações sócio-demográficas, fatores associados à exposição ao sol e vestimentas. Foram medidos o peso, altura e circunferência do braço e aplicado um questionário de frequência de consumo alimentar. Sangue foi coletado para análise de parâmetros bioquímicos (25-hidroxivitamina D, paratormônio, cálcio sérico, alanina transaminase, aspartato transaminase, uréia, creatinina, ácido úrico, glicemia de jejum e hemograma), marcadores inflamatórios (Proteína C Reativa, α -1 glicoproteína ácida) e para verificar a presença do polimorfismo FokI do gene VDR receptor da vitamina D, analisado por RFLP. Análise estatística foi realizada através dos testes t de Student independente (ou seu correspondente não-paramétrico, o teste de Mann-Whitney), Teste do Qui-quadrado de Spearman e Correlação de Pearson, adotando-se significância de $p < 0,05$. A maioria dos participantes era do sexo masculino (55,6%). Da amostra total, 33,33% (n=6) apresentou insuficiência/deficiência de vitamina D (19.60 ± 6.180 ng/ml) e 27,8% (n=5) anemia e baixo peso para a idade. No tocante aos genótipos, 5,6% (n=1) apresentou genótipo FF, 72,3% (n=13) apresentou genótipo Ff e 22,2% (n=4) apresentou genótipo ff. Houve associação entre aos valores séricos de 25-hidroxivitamina D com os de hemoglobina ($p=0.008$), hematócrito ($p=0.019$) e leucócitos ($p=0.0114$). Não houve associação entre os valores de 25-hidroxivitamina D e os genótipos (FF, Ff e ff) ($p=0.23$). Além disso, houve associação entre o polimorfismo FokI e a contagem total de leucócitos ($p=0.01$). Não houve associação da hemoglobina com o estado nutricional ($p=0.61$). Também não houve associação entre vitamina D e perfil inflamatório. Ao analisar a frequência de consumo de alimentos-fonte de vitamina D, pôde-se observar que todos os indivíduos consomem leite integral diariamente. O presente estudo encontrou associação entre os valores séricos de 25-hidroxivitamina D e os de hemoglobina, hematócrito e leucócitos nos indivíduos analisados. Além disso, encontrou-se associação do polimorfismo FokI com a contagem total de leucócitos.

Palavras-chave: Fibrose cística. Vitamina D. Polimorfismo. Inflamação.

ABSTRACT

Cystic fibrosis is an autosomal recessive disease caused by mutations in the CFTR gene. In Brazil, it has an approximate incidence of 1/7000, subject to regional variations. About 90% of patients have pancreatic insufficiency, resulting in malabsorption and risk of deficiency of fat-soluble vitamins, including vitamin D. Vitamin D has recently been linked to several disease states, such as hypertension, diabetes mellitus, cardiovascular disease, Cancer and chronic obstructive pulmonary disease. Vitamin D has immunomodulatory effects on inflammation. Studies have indicated the existence of several polymorphisms in the VDR gene. These polymorphisms have been studied as possible factors involved in predisposition to diseases as well as in the modulation of vitamin D activity. These new insights into the biological functions of vitamin D have led to interest in the clinical consequences of their deficiency. Based on these facts, the study aimed to identify the prevalence of 25-hydroxyvitamin D deficiency / deficiency in individuals with cystic fibrosis and to analyze its association with the inflammatory profile and FokI polymorphism of the VDR gene. This was a cross-sectional study, conducted with patients who were followed at the Pediatric Outpatient Clinic of the University Hospital Lauro Wanderley - UFPB, involving 18 patients, of both sexes. Socio-demographic information, factors associated with sun exposure and clothing were collected through a questionnaire. Weight, height and arm circumference were measured and a food consumption frequency questionnaire was applied. Blood was collected for analysis of biochemical parameters (25-hydroxyvitamin D, parathyroid hormone, serum calcium, alanine transaminase, aspartate transaminase, urea, creatinine, uric acid, fasting glycemia and blood count), inflammatory markers (C-reactive protein, α -1 glycoprotein Acid) and to verify the presence of FokI polymorphism of the vitamin D receptor VDR gene, analyzed by RFLP. Statistical analysis was performed using Student's independent t-tests (or their non-parametric correspondent, the Mann-Whitney test), Spearman's Chi-square test and Pearson's correlation, adopting a significance of $p < 0.05$. The majority of the participants were male (55.6%). Of the total sample, 33.33% ($n = 6$) had vitamin D insufficiency / deficiency (19.60 ± 6.180 ng / ml) and 27.8% ($n = 5$) anemia and low weight for age. Regarding genotypes, 5.6% ($n = 1$) had FF genotype, 72.3% ($n = 13$) had Ff genotype and 22.2% ($n = 4$) presented ff genotype. There was an association between serum levels of 25-hydroxyvitamin D and hemoglobin ($p = 0.008$), hematocrit ($p = 0.019$) and leukocytes ($p = 0.0114$). There was no association between the values of 25-hydroxyvitamin D and the genotypes (FF, Ff and ff) ($p = 0.23$). In addition, there was an association between FokI polymorphism and total leukocyte count ($p = 0.01$). There was no association of hemoglobin with nutritional status ($p = 0.61$). There was also no association between vitamin D and inflammatory profile. When analyzing the frequency of consumption of source foods of vitamin D, it was observed that all the individuals consume whole milk daily. The present study found an association between the serum values of 25-hydroxyvitamin D and those of hemoglobin, hematocrit and leukocytes in the individuals analyzed. In addition, the association of the FokI polymorphism with the total leukocyte count was found.

Key words: Cystic fibrosis. Vitamin D. Polymorphism. Inflammation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS DA DISSERTAÇÃO

Figura 1 – Síntese e metabolismo da vitamina D	21
Figura 2 – Papel da vitamina D na expressão gênica	22
Figura 3 – Posição dos polimorfismos do gene VDR	26

TABELAS DA DISSERTAÇÃO

Tabela 1 – Tipos de pele de acordo com a classificação de Fitzpatrick (1988)	29
Tabela 2 – Classificação do Índice de Massa Corporal	31
Tabela 3 – Classificação do estado nutricional segundo adequação da CB	31
Tabela 4 – Valores de referência para a variável perfil glicêmico de crianças e adultos	32

GRÁFICOS DO ARTIGO

Gráfico 1 – Vitamina D x Hemoglobina	77
Gráfico 2 – Vitamina D x Hematócrito	78
Gráfico 3 – Vitamina D x Leucócitos	78

TABELAS DO ARTIGO

Tabela 1 – Caracterização da amostra e relação entre os valores séricos de 25-hidroxivitamina D e os dados sócio demográficos de indivíduos portadores de fibrose cística. João Pessoa – PB, Brasil, 2016.	75
Tabela 2 – Variáveis bioquímicas de acordo com os valores séricos de 25-hidroxivitamina D em indivíduos portadores de fibrose cística. João Pessoa – PB, Brasil, 2016.	76
Tabela 3 – Variáveis bioquímicas de acordo com distribuição alélica do polimorfismo FokI do gene VDR em indivíduos portadores de fibrose cística. João Pessoa – PB, Brasil, 2016.	76
Tabela 4 – Associação dos genótipos com os valores séricos de 25-hidroxivitamina D em indivíduos portadores de fibrose cística. João Pessoa – PB, Brasil, 2016.	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGP-A	Alfa 1 Glicoproteína Ácida
ALT	Alanina Transaminase
AST	Aspartato Transaminase
ATP	Adenosina trifosfato
CB	Circunferência do Braço
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
CNS	Conselho Nacional de Saúde
DBM	Departamento de Biologia Molecular
DM2	Diabetes tipo 2
FC	Fibrose Cística
GSH	Glutathione
HULW	Hospital Universitário Lauro Wanderley
IG-A	Imunoglobulina A
IG-M	Imunoglobulina M
IFN-γ	Gamma interferon
IL1	Interleucina 1
IL6	Interleucina 6
IL8	Interleucina 8
IMC	Índice de Massa Corporal
OMS	Organização Mundial da Saúde
MS	Ministério da Saúde
NF-KB	Nuclear factor Kappa-B
DBP	Vitamin D binding protein
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell
PCR	Proteína C Reativa
PCR-us	Proteína C Reativa ultrasensível
PMN	Polyphosphate nucleophiles
PTH	Parathyroid hormone
QQFCA	Questionário Quantitativo de Frequência do Consumo Alimentar

RXR	Retinoid X receptor
ROS	Reactive Oxygen Species
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SPN	Single Nucleotide Polymorphism
TA	Termo de Assentimento
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TNF-α	Tumor Necrosis Factor
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
US	United States
UVB	Ultravioleta B
VDR	Vitamin D Receptor
VDRE	Vitamin D response elemento
WHO	World Health Organization
1,25(OH)₂D	1,25-dihidroxitamina D
25(OH)D₃	25-hidroxitamina D
7DHC	7 dehidrocolesterol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 FIBROSE CÍSTICA	17
2.2 VITAMINA D	19
2.3 FIBROSE CÍSTICA, INFLAMAÇÃO E VITAMINA D	23
2.4 POLIMORFISMOS DO GENE VDR	25
3 ABORDAGEM METODOLÓGICA	27
3.1 TIPO DE ESTUDO	27
3.2 ASPECTOS ÉTICOS	27
3.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA	27
3.4 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE DA AMOSTRA	28
3.4.1 Critérios de inclusão	28
3.4.2 Critérios de exclusão	28
3.5 DESENHO DO ESTUDO	28
3.5.1 Questionário	28
3.5.1.1 Dados Pessoais	28
3.5.1.2 Fototipo da Pele e Exposição ao Sol	28
3.5.1.3 Medicação.....	29
3.5.1.4 Avaliação Antropométrica.....	29
3.5.2 Inquérito Alimentar	31
3.5.3 Avaliação de parâmetros bioquímicos	31
3.5.4 Vitamina D [25(OH)D]	32
3.5.5 Paratormônio (PTH)	33
3.5.6 Avaliação de marcadores inflamatórios	33
3.5.7 Coleta e isolamento do DNA de leucócitos	33
3.5.8 Análise do polimorfismo rs2228570	34
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34

REFERÊNCIAS	35
APÊNDICE A	42
APÊNDICE B	45
APÊNDICE C	47
ANEXO A	50
ANEXO B	54
ARTIGO	66
OUTROS RESULTADOS	83

1 INTRODUÇÃO

Fibrose cística (FC), a doença autossômica recessiva mais comum em brancos, igualmente comum em ambos os sexos, é uma doença letal, causada por mutações no gene Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR), e caracterizada por hiperinflamação pulmonar, seguida por destruição das paredes das vias aéreas e fibrose, resultando em um declínio gradual da função pulmonar. Cerca de 90% dos pacientes apresentam também insuficiência pancreática, resultando em má absorção e risco de deficiência de vitaminas lipossolúveis, incluindo a vitamina D (ROVNER et al., 2007; COHEN; PRINCE, 2012; HAACK; ARAGÃO; NOVAES, 2013; SEXAUER et al., 2014; WOESTENENK et al., 2014).

A incidência da doença varia de acordo com a etnia, de 1/1800 a 1/5000 em caucasianos nascidos vivos na Europa, nos estados Unidos e no Canadá, 1/14000 nos afro-americanos e 1/40000 na Finlândia. É considerada uma doença rara entre asiáticos e africanos. No Brasil, estudos locais mostram dados estatísticos variados que sugerem uma incidência aproximada de 1/7000 (HAACK; ARAGÃO; NOVAES, 2013).

Nas últimas décadas, a mediana de sobrevida destes indivíduos aumentou de 10-12 anos para mais de 37 anos de idade, sendo um dos principais fatores contribuintes a compreensão do papel da nutrição no estado de saúde geral destes indivíduos (ENGELN et al., 2012).

A doença pulmonar na FC é caracterizada por colonização precoce e infecção das vias respiratórias. Embora mudanças estruturais nas vias aéreas possam ser observadas ao nascer em ambos os sexos, pouca inflamação é observada. No entanto, a infecção ocorre rapidamente e a resposta inflamatória à infecção é grave. Nenhuma outra doença pulmonar é conhecida por induzir e sustentar intenso processo inflamatório, como pode ser visto nas vias aéreas em pacientes com FC. Estes indivíduos também sofrem de uma inflamação sistêmica intensa, caracterizada pelo aumento de proteínas de fase aguda no soro (CANTIN et al., 2015). Infecções agudas ou exacerbações causadas pelo aparecimento de novos patógenos, um aumento da carga bacteriana habitual ou resposta inflamatória do hospedeiro, levam à diminuição da função respiratória e mau prognóstico (GIRÓN-MORENO et al., 2014).

A proteína C reativa (PCR) é uma proteína de fase aguda cuja concentração no soro sobe até 1000 durante uma resposta de fase aguda (MORETON; KENNEDY, 1988). Tem alta sensibilidade diagnóstica, embora sua especificidade seja baixa. Em indivíduos com FC, é o biomarcador sanguíneo mais estudado para avaliar a resposta ao tratamento de uma

exacerbação. Estudiosos mostraram que a PCR aumenta durante exacerbações pulmonares em indivíduos com FC e diminui durante o tratamento, havendo uma associação inversa entre a PCR e o tempo até a exacerbação subsequente (GIRÓN-MORENO et al., 2014).

Esta inflamação tem efeitos locais e sistêmicos, como o aumento no gasto energético de repouso, a alteração na captação e no aproveitamento de nutrientes, o aumento no estímulo dos processos catabólicos e a perda de massa muscular (SALVA et al., 1996; COURTNEY; ENNIS; ELBORN, 2004; SOETERS; SCHOLS, 2009; BERNARDI et al., 2013). O estado nutricional é considerado um agente independente determinante na evolução da doença, e estes pacientes frequentemente são desnutridos. Em crianças com fibrose cística, a melhoria do estado nutricional foi associada com melhor crescimento linear, melhor função pulmonar e tolerância ao exercício (CHAVES; CUNHA, 2012; ENGELEN et al., 2012).

A prevalência de valores de vitamina D inferiores aos adequados tende a ser maior em pacientes com FC do que na população em geral. Múltiplos fatores pertinentes à função e metabolismo da vitamina D podem estar alterados nestes indivíduos, contribuindo para a redução da sua biodisponibilidade. Uma das causas pode ser a falta de acesso à fonte primária de vitamina D, a luz solar. Estes pacientes frequentemente apresentam exposição à luz solar diminuída, resultante de fotossensibilidade causada por antibióticos ou mobilidade prejudicada, causada pela diminuição da capacidade ventilatória, função cardíaca prejudicada, fraqueza muscular e infecções frequentes. Além disso, apesar da reposição de enzimas pancreáticas, a má absorção de gordura pode persistir e contribuir para a má absorção de vitamina D (HERSCOVITCH; DAULETBAEV; LANDS, 2014).

Baixos níveis de vitamina D em indivíduos com FC são motivo de preocupação devido ao seu potencial para a perda óssea crônica, deformidade torácica e fraturas vertebrais. Além disso, a vitamina D tem efeitos imunomoduladores na inflamação e função pulmonar. Recentemente, a vitamina D tem sido associada a vários outros estados de doença na população em geral, incluindo hipertensão, doença cardiovascular, câncer, além de efeitos sobre a função muscular (SHEPRERD et al., 2013; SEXAUER et al., 2014).

A descoberta de que a maioria dos tecidos do corpo e as células abrigam receptores de vitamina D e que vários destes tecidos possuem o equipamento enzimático para converter a forma primária da vitamina D em circulação em sua forma ativa, proporcionou novos conhecimentos sobre a função deste hormônio esteróide (CABRAL et al., 2013).

Acredita-se que a forma ativa da vitamina D exerça seus efeitos principais interagindo com o receptor de alta afinidade desta vitamina, chamado de *vitamin D receptor* (VDR), um fator de transcrição ligante-dependente que regula a transcrição gênica e a função celular em

diversos tecidos (LANSKE; RAZZAQUE, 2007; SHAB-BIDAR; NEYESTANI; DJAZAYERY, 2011). O que pode justificar seu papel em diversas funções fisiológicas do organismo.

Variações genéticas identificadas no gene do receptor de vitamina D podem ser denominadas de *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) (VALDIVIELSO; FERNANDEZ, 2006). Polimorfismos no VDR foram estudados como possíveis fatores envolvidos na predisposição a doenças, estando também associados com diferentes respostas a suplementação de vitamina D (CAVALCANTE et al., 2015).

Uma das principais manifestações clínicas da FC é a desnutrição, caracterizada principalmente pela perda de peso e falha no crescimento. Conhecendo-se os efeitos deletérios da inflamação crônica presente nestes pacientes sobre o estado nutricional, os efeitos antiinflamatórios da vitamina D e a influência dos polimorfismos do gene VDR na modulação da atividade da mesma, o presente estudo teve como objetivo principal avaliar a prevalência da insuficiência/deficiência de vitamina D em pacientes portadores de fibrose cística e sua associação com o perfil inflamatório e o polimorfismo FokI do gene VDR.

Como objetivos específicos: identificar a prevalência da insuficiência/deficiência de vitamina D e sua associação com marcadores inflamatórios e polimorfismo FokI do gene VDR; avaliar a frequência de consumo de alimentos-fonte de vitamina D; verificar o estado nutricional dos pacientes através dos indicadores Índice de Massa Corporal para idade (IMC/Idade) e Circunferência do Braço (CB).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 FIBROSE CÍSTICA

A fibrose cística é uma doença monogênica, cujo gene se localiza no braço longo do cromossoma 7, locus q 31, éxon 102 (FIRMIDA; MARQUES; COSTA, 2011). A mutação do gene responsável pela codificação da CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) provoca ausência ou disfunção da glicoproteína CFTR, afetando a produção de muco (HAACK; ARAGÃO; NOVAES, 2013).

A CFTR é uma glicoproteína expressa principalmente nas células epiteliais da árvore respiratória, trato digestório, glândulas sudoríparas e aparelho reprodutor, mas também em outros tipos de células, incluindo linfócitos (RIORDAN et al., 1989; YOSHIMURA et al., 1991; BRUSCIA et al., 2009; CHAVES; CUNHA, 2012). Além de seu papel como um canal de Cl^- , é crucial na regulação do transporte de íons, particularmente Na^+ e HCO_3^- (COAKLEY et al., 2003).

As primeiras manifestações clínicas podem aparecer no período neonatal, no entanto, alguns indivíduos permanecem assintomáticos por vários anos. Os sinais clínicos mais comuns incluem tosse crônica, esteatorréia e desnutrição crônica (REIS; DAMACENO, 1998).

O papel central da CFTR na regulação da hidratação das vias aéreas tornou-se o foco de terapias que visam potencializar parcialmente sua função. A proteína CFTR funciona como um canal que regula o transporte de íons e a circulação de água através da barreira epitelial (COHEN; PRINCE, 2012). Sua disfunção diminui a permeabilidade da membrana celular ao cloreto, trazendo dificuldades ao transporte e à secreção deste íon. Conseqüentemente, a concentração de cloretos na membrana apical das células epiteliais se eleva. Cada órgão que depende da proteína CFTR expressa esta disfunção de maneira diferente, de acordo com a sensibilidade de cada um deles ao déficit funcional. As glândulas sudoríparas requerem cerca de 5% de proteína CFTR normal para reabsorver os cloretos adequadamente. Sua disfunção resulta no acúmulo deste íon no suor, assim como do sódio, cuja reabsorção também fica prejudicada (FIRMIDA; MARQUES; COSTA, 2011).

A doença pulmonar é a principal causa de morbidade e mortalidade na fibrose cística. As mutações no gene CFTR, que formam a base para as manifestações clínicas da fibrose cística, resultam na formação de muco viscoso. O espessamento da secreção leva à obstrução das vias aéreas e compromete os mecanismos locais de defesa, facilitando a ocorrência de

infecções. Estas infecções costumam ocorrer logo após o nascimento e são acompanhadas de intensa resposta inflamatória. Para agravar os efeitos do recrutamento excessivo de neutrófilos, o canal CFTR mutante não transporta antioxidantes para combater o estresse oxidativo associado a neutrófilos (FIRMIDA; MARQUES; COSTA, 2011; COHEN; PRINCE, 2012).

A doença pulmonar na fibrose cística se inicia nas vias aéreas, que são essencialmente normais ao nascimento, mas que mais tarde se tornam obstruídas por tampões de muco. Mesmo na ausência de infecção clinicamente evidente, quer viral ou bacteriana, muitas vezes há evidência de inflamação das vias aéreas, evidenciada por neutrófilos polimorfonucleares (PMN) e acumulação de concentrações excessivas de interleucina-8 (IL-8) e proteases livres. Colonização e infecção das vias aéreas ocorrem com flora diversificada, que é seguida por uma infecção clinicamente aparente com os patógenos típicos de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ou ambas, mesmo em crianças em uma idade muito jovem (FIRMIDA; MARQUES; COSTA, 2011; COHEN; PRINCE, 2012).

Nestes pacientes o gasto energético está aumentado, sendo o principal mecanismo deste aumento atribuído à elevação das concentrações séricas de catecolaminas e à liberação de citocinas durante a resposta inflamatória pulmonar. Deste modo, à medida que a função pulmonar piora, a taxa metabólica basal aumenta, aumentando a utilização de energia com maior gasto de adenosina trifosfato. Associada à diminuição da musculatura esquelética respiratória e do surfactante pulmonar, à depressão do sistema imunológico e à alteração da arquitetura pulmonar, a redução da massa magra predispõe à infecção e ao aumento do gasto energético. Assim, um crescimento satisfatório dos três aos seis anos de idade é preditivo de melhor função pulmonar, reduzindo a morbidade e mortalidade, e a adequação do peso mostrou associação com a melhora da função pulmonar (CHAVES; CUNHA, 2012).

Algumas mutações da FC causam disfunção de mais de 99% da CFTR, acarretando o comprometimento funcional do pâncreas exócrino. A insuficiência pancreática exócrina afeta aproximadamente 90% dos pacientes. A CFTR é necessária para a passagem de ânions e, conseqüentemente, água para o lúmen dos ductos pancreáticos. No lúmen, os cloretos são trocados por bicarbonato. O comprometimento da CFTR resulta na redução do conteúdo hídrico da secreção pancreática e em maior acidez da mesma. Estas alterações contribuem para a obstrução dos ductos pancreáticos e autólise e fibrose do pâncreas. A intensidade deste processo determina a progressão da doença pancreática (FIRMIDA; MARQUES; COSTA, 2011; HAACK; ARAGÃO; NOVAES, 2013).

A insuficiência pancreática é caracterizada por diarreia crônica com presença de alimentos não digeridos. A diminuição na secreção de bicarbonato de sódio reduz a eficácia das enzimas pancreáticas e precipita os sais biliares, contribuindo para a má absorção (REIS; DAMACENO, 1998). Às vezes, os sinais clínicos de esteatorréia não são evidentes e a única manifestação de disabsorção é a dificuldade de ganho ponderal. Alguns pacientes com insuficiência pancreática exócrina também desenvolvem disfunção do pâncreas endócrino evolutivamente, manifestando o diabetes relacionado à fibrose cística (DRFC) (FIRMIDA; MARQUES; COSTA, 2011).

No intestino, a CFTR é o único canal de cloro da membrana celular apical da maioria das regiões. Sua disfunção compromete a secreção de cloretos para o lúmen intestinal, o que em indivíduos normais, se acompanha da movimentação de água para a mesma região. Em consequência, o material fecal fica espesso, contribuindo para a ocorrência das síndromes obstrutivas intestinais relacionadas à fibrose cística: íleo meconial, obstrução intestinal distal e constipação. O íleo meconial é uma forma de apresentação clínica precoce que incide em 15 a 20% dos pacientes e é mais comum naqueles com insuficiência pancreática. Quando ocorre, o recém-nascido não elimina mecônio, apresenta distensão abdominal e vômitos biliosos (FIRMIDA; MARQUES; COSTA, 2011).

Cerca de 5 a 10% dos indivíduos com FC desenvolvem cirrose multilobular durante a primeira década de vida. No fígado, a CFTR se localiza na superfície das células dos pequenos ductos biliares. Neste sítio, a secreção de cloretos, seguida passivamente de água, mantém a solubilidade dos sais e das proteínas biliares, facilitando sua movimentação em direção aos ductos biliares e à vesícula. Diante do déficit funcional da CFTR, os ductos biliares tornam-se obstruídos pela secreção espessa, levando à fibrose biliar. Cirrose, ascite, hipertensão portal, varizes esofágicas e sangramento são complicações da doença hepatobiliar associada à fibrose cística (FIRMIDA; MARQUES; COSTA, 2011; HAACK; ARAGÃO; NOVAES, 2013).

2.2 VITAMINA D

A maior fonte de vitamina D do organismo é sua síntese realizada na pele, catalisada pelas irradiações ultravioletas, sendo que as fontes alimentares contribuem apenas com uma pequena parcela das necessidades diárias. A vitamina D proveniente da síntese em animais é denominada de colecalciferol ou vitamina D₃ e a de origem vegetal é o ergocalciferol ou

vitamina D₂. Ambas participam dos mesmos processos biológicos e das mesmas vias de metabolização, com potências biológicas equivalentes (PEDROSA; CASTRO, 2005).

A vitamina D, derivada da dieta ou sintetizada na pele a partir de 7-deidrocolesterol (7-DHC) por irradiação ultravioleta, é inerte e deve ser ativada para exercer sua atividade biológica (VALDIVIELSO; FERNANDEZ, 2006; CHRISTAKOS et al., 2010).

A partir da exposição aos raios ultravioleta (UVB), o 7-deidrocolesterol presente na derme e epiderme é transformado em vitamina D₃. Esta forma não metabolicamente ativa é transportada no sangue pela proteína de ligação da vitamina D (PAD, uma proteína de ligação específica para a vitamina D e os seus metabólitos no soro) para o fígado, onde sofre uma hidroxilação no carbono 25, resultando na formação de 25-hidroxivitamina D₃ (25(OH)D₃) ou calcidiol. A maioria da 25(OH)D₃ produzida é depositada no tecido gorduroso, seu principal reservatório. Tem sido sugerido que CYP2R1 é a enzima chave necessária para a hidroxilação da vitamina D no carbono 25, uma vez que uma mutação no gene CYP2R1 foi encontrada em um paciente com baixos níveis circulantes de 25(OH)D₃, principal forma circulante da vitamina D (PEDROSA; CASTRO, 2005; CHRISTAKOS et al., 2010).

Para se tornar ativa, a vitamina D necessita ainda de uma última hidroxilação na posição 1 do carbono do anel A, que ocorre nas mitocôndrias dos túbulos contornados proximais do rim, sob a ação da enzima 1- α -hidroxilase, resultando na forma ativa da vitamina D, a 1,25-di-hidroxivitamina D (1,25(OH)₂D), que é responsável pela maioria, senão todas as ações biológicas da vitamina D. Esta passagem renal, ao contrário da hepática, é estreitamente regulada por vários fatores. A elevação plasmática do PTH e a diminuição do fosfato estimulam a atividade da 1- α -hidroxilase. A 1,25(OH)₂D retro-regula sua produção, inibindo a atividade da 1- α -hidroxilase, o mesmo ocorrendo com a redução do PTH e a elevação do fosfato (PEDROSA; CASTRO, 2005; CHRISTAKOS et al., 2010) (Figura 1).

Os efeitos biológicos da 1,25(OH)₂D são mediados pelo seu receptor VDR (Vitamin D Receptor), um fator de transcrição que pertence à família de receptores hormonais nucleares 1. O VDR é expresso em quase todas as células humanas e parece participar, de maneira direta ou indireta, da regulação de cerca de 3% do genoma humano. Ele age por meio da heterodimerização com uma das três isoformas do receptor do retinoide X (RXR). Assim, em sua estrutura, ele apresenta domínios específicos para o acoplamento da 1,25(OH)₂D, heterodimerização com o RXR, ligação ao DNA e ativação da transcrição (CASTRO, 2011).

A 1,25(OH)₂D liga-se ao VDR induzindo à formação do complexo transcricional hormônio-receptor. Esse complexo hormônio-receptor é heterodimerizado com o RXR e esse heterodímero 1,25(OH)₂D-VDR-RXR acopla-se a uma sequência específica do DNA nos seus

genes-alvos, denominada VDRE (Vitamin D Response Element). Entretanto, para promover a ativação ou a repressão gênica, o heterodímero recruta complexos de proteínas correpressoras. Essas moléculas coativadoras correpressoras do VDR é que permitem a ligação entre o receptor e a maquinaria de transcrição, desencadeando a resposta biológica (CASTRO, 2011) (Figura 2).

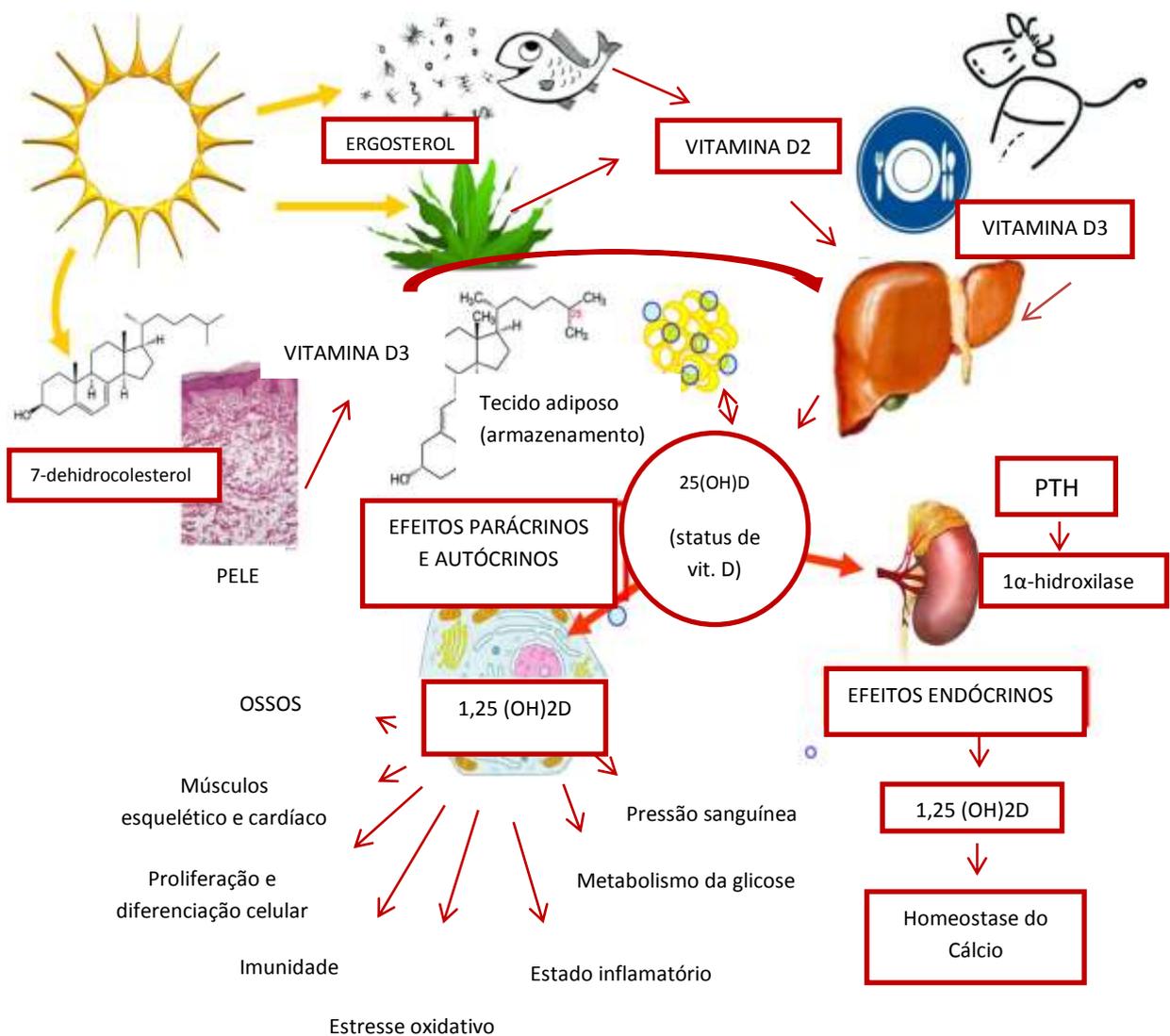


Figura 1 – Síntese e metabolismo da vitamina D. A via cutânea produz aproximadamente 80-90% do total de vitamina D, complementada através da sua ingestão na alimentação. Parte da vitamina D3 é armazenada no tecido adiposo e muscular e parte dela é hidroxilada no fígado a 25(OH)D, sendo transportada na circulação através da ligação à proteína de ligação da vitamina D. O PTH é o regulador principal da atividade 1- α -hidroxilase renal, que converte a 25(OH)D em 1,25(OH)₂D. Esta, por sua vez, entra na circulação sanguínea como um hormônio e estimula a expressão duodenal de transportadores de cálcio, aumentando assim a absorção de cálcio intestinal. A 25(OH)D circula em concentração 1000 vezes maior do que a 1,25(OH)₂D. Vários outros tecidos em todo o corpo, que expressam o mesmo equipamento enzimático e o receptor da vitamina D, também são capazes de converter a 25(OH)D em 1,25(OH)₂D, responsável pelos muitos outros efeitos extra-esqueléticos da vitamina D.

Fonte: DOBNIG, 2011.

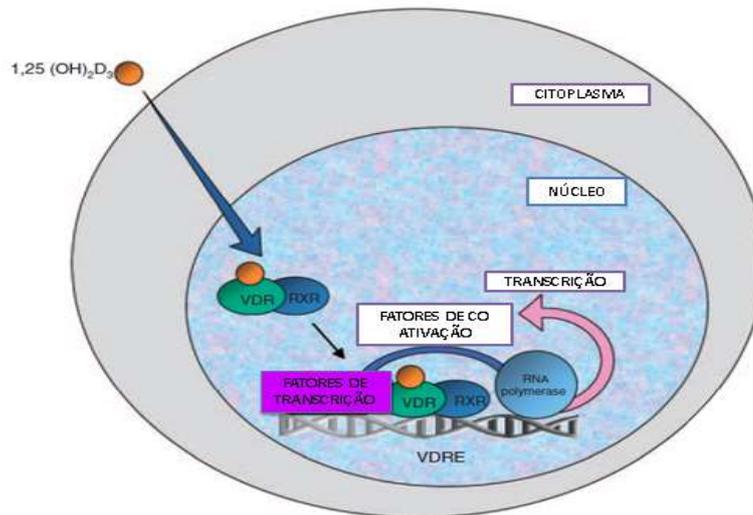


Figura 2 – Papel da vitamina D na expressão gênica.

Fonte: Adaptado de RAMAN et al., 2011.

Apesar de a 1,25(OH)₂D ser o metabólito ativo, a avaliação da reserva de vitamina D de um indivíduo é realizada pela dosagem sérica da 25(OH)D. As principais razões para o não uso do calcitriol nessa avaliação são sua meia-vida curta (4 a 6 horas, enquanto a 25(OH)D tem meia-vida de 2 a 3 semanas) e pelo fato de, em situações de deficiência de vitamina D, esse metabólito poder estar elevado, normal ou baixo, uma vez que sua concentração é mais dependente dos níveis de PTH e de fatores de crescimento do que da vitamina D (CASTRO, 2011; TANGPRICHA et al., 2012).

A faixa de normalidade da vitamina D ainda é motivo de conflito na literatura médica (CASTRO, 2011). A Fundação US CF recomenda atualmente um nível alvo de 25-hidroxivitamina D de 75-150 nmol / L, aqueles que caem abaixo deste nível são classificados como deficientes em vitamina D. Diretrizes europeias recentes definem um nível abaixo de 50 nmol/L como um nível deficiente de vitamina D na população pediátrica com FC (SHEPHERD et al., 2013).

Em 2011 a *Endocrine Society* publicou a Diretriz para avaliação, tratamento e prevenção da deficiência de vitamina D, onde recomenda que a deficiência de vitamina D seja definida como um nível sérico de 25(OH)D < 20 ng/mL (< 50 nmol/L), insuficiência entre 20 e 29,9 ng/mL (52,5–72,5 nmol/L) e suficiência de vitamina D ≥ 30 ng/mL (> 75 nmol/L) para crianças e adultos. Surgindo como ideal a manutenção dos níveis séricos de 25(OH)D entre 40 e 60 ng /mL, e até 100 ng/mL pode ser considerado seguro (HOLICK et al., 2011; HOSSEIN-NEZHAD; SPIRA; HOLICK, 2013).

A toxicidade da vitamina D é caracterizada por hipercalcemia, hipercalcúria e hiperfosfatemia, o qual, por sua vez, é responsável pela calcificação em tecidos moles e vasculares e nefrolitíase a longo prazo (HOSSEIN-NEZHAD; SPIRA; HOLICK, 2013).

2.3 FIBROSE CÍSTICA, INFLAMAÇÃO E VITAMINA D

Nos últimos 20 anos, a atenção científica tem-se centrado nas associações da vitamina D com múltiplas doenças crônicas e degenerativas, como doenças metabólicas, câncer, doenças cardiovasculares, infecciosas e auto-imunes. Estes efeitos têm sido atribuídos principalmente para as ações imunomoduladoras e antiinflamatórias da vitamina D. As células envolvidas nestes processos expressam o Receptor da Vitamina D (VDR) e podem produzir e responder a sua forma ativa (ANGEL et al., 2016).

A inflamação é uma resposta fisiológica do organismo a estímulos nocivos, sejam eles físicos, químicos, ou biológicos, que geralmente resulta no restabelecimento da homeostase metabólica sistêmica (BONDIA-PONS; RYAN; MARTINEZ, 2012). O estresse oxidativo tem sido implicado na fisiopatologia de diversas doenças crônicas. A FC é caracterizada por inflamação crônica com aumento do estresse oxidativo e transporte anormal da Glutathione através da CFTR (NTIMBANE et al., 2008).

Há um consenso de que os neutrófilos e a mutação na CFTR desempenham um papel na inflamação presente na FC. O aumento da reabsorção do sódio nas células epiteliais eleva a produção de adenosina trifosfato (ATP) e, conseqüentemente, eleva a produção de peróxido de hidrogênio intracelular e espécies reativas de oxigênio (ROS) mitocondriais. Dessa forma, é possível que a produção de ROS seja responsável pelo início e manutenção do processo inflamatório, quando a produção excessiva de ROS ativa a via do fator nuclear Kappa-B (NF-KB) e aumenta a transcrição de citocinas pró-inflamatórias, que levam ao recrutamento de neutrófilos e macrófagos para a região, aumentando a produção de ROS, perpetuando o ciclo (BERNARDI et al., 2013).

O defeito na neutralização dos ROS também pode ser responsável pelo estresse oxidativo nestes pacientes. A CFTR também está envolvida no transporte da Glutathione (GSH) nas células epiteliais. Assim, é possível que o transporte da GSH em células epiteliais de pacientes com FC. A GSH previne a degradação do inibidor da via NF-KB (I-KB) e, dessa forma, baixos níveis intracelulares de GSH podem promover a ativação da via NF-KB, aumentando ainda mais a concentração de citocinas pró-inflamatórias e, conseqüentemente, reduzindo a produção de citocinas antiinflamatórias (BERNARDI et al., 2013).

Este ciclo vicioso se desenvolve de tal modo que infecção por patógenos oportunistas persiste nos pulmões, provocando um intenso estado inflamatório, caracterizado por elevada produção de Interleucina-8 (IL-8) nas vias aéreas (HERSCOVITCH; DAULETBAEV; LANDS, 2014).

Quando o Fator de Necrose Tumoral (TNF- α) atinge a circulação sistêmica, atua sobre o metabolismo elevando o gasto energético de repouso e induzindo a lipólise, o catabolismo, a anorexia e a perda de peso. A Interleucina-1 (IL-1) participa do desenvolvimento da anorexia. Já a Interleucina-6 (IL-6) é uma potente indutora da resposta inflamatória aguda e a Interleucina-8 (IL-8) recruta quantidades elevadas de neutrófilos para as vias aéreas, contribuindo para a manutenção do ciclo vicioso da inflamação responsável pela deterioração da função pulmonar (KONSTAN; BERGER, 1997; COURTNEY; ENNIS; ELBORN, 2004).

Entre os marcadores da inflamação encontra-se a Proteína C Reativa (PCR), uma proteína de fase aguda. (SILVA; MORESCO, 2011). Outro biomarcador que vem ganhando espaço na avaliação clínica da atividade inflamatória no organismo é a Alfa-1-Glicoproteína Ácida (AGP-A), uma proteína de fase aguda e, como tal, tem a propriedade de aumentar a sua concentração plasmática em resposta ao estado inflamatório. Sua síntese ocorre principalmente no fígado, podendo também ser sintetizada pelos leucócitos e por células tumorais (PIERONI, 2003).

Além de promover a saúde óssea, vários estudos indicam propriedades antimicrobianas e antiinflamatórias da vitamina D, incluindo melhora da imunidade e supressão de citocinas pró-inflamatórias (HERSCOVITCH; DAULETBAEV; LANDS, 2014).

Ao avaliar a associação dos níveis séricos de 25(OH)D com biomarcadores de estresse oxidativo, inflamação e ativação endotelial em crianças obesas, pesquisadores encontraram concentrações séricas insuficientes de 25(OH)D (<20 ng/ml) em 5% das crianças do grupo controle e em 30% das crianças obesas. Além disso, nas crianças obesas com insuficiência de vitamina D, as concentrações dos marcadores inflamatórios (Incluindo IL-6) e de estresse oxidativo (Incluindo malondialdeído) foram substancialmente elevadas. Concluíram então que níveis insuficientes de 25(OH)D em crianças obesas estão associados ao aumento dos marcadores de estresse oxidativo, inflamação e ativação endotelial (CODOÑER-FRANCH et al., 2012).

Em um experimento com crianças portadoras de fibrose cística, ao avaliar a resposta inflamatória e o perfil imunológico, pesquisadores observaram que estes pacientes tiveram significativamente maior produção de IL-6, TNF- α , IFN- γ e IL-10, em comparação com

crianças saudáveis. IgA e IgM também foram maiores nestes pacientes (BERNARDI et al., 2013).

2.4 POLIMORFISMOS DO GENE VDR

Polimorfismo é uma variante genética que aparece em pelo menos 1% da população. Estas variações podem ocorrer em partes não-codificadoras do gene (Ítrons), o que não levaria a alterações na sequência da proteína, mas que podem afetar o grau de expressão do gene, e, assim, os níveis de proteína. Podem também ocorrer em partes exônicas do DNA, o que poderiam levar ou não a alterações na sequência da proteína. Variações genéticas identificadas no gene são denominadas de Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) (VALDIVIELSO; FERNANDEZ, 2006).

Estudos têm indicado a existência de vários SNPs no gene do VDR. Vários destes polimorfismos foram descritos como sendo capazes de alterar a atividade da proteína VDR e, conseqüentemente, os efeitos metabólicos mediados pela vitamina D (MACKAWY; BADAWI, 2014). Os mais frequentemente observados estão entre os éxons 8 e 9, tais como ApaI, BsmI e TaqI; e o FokI, localizado no éxon 2 (SCHUCH et al., 2013) (Figura 3).

Ao avaliar as associações entre a deficiência de vitamina D, polimorfismos do gene VDR e fatores de risco cardiovasculares em pacientes com diabetes tipo 2, pesquisadores observaram que a maior prevalência de deficiência de vitamina D esteve associada aos portadores dos polimorfismos FokI e ApaI (VÉLAYOUDOM-CÉPHISE et al., 2011).

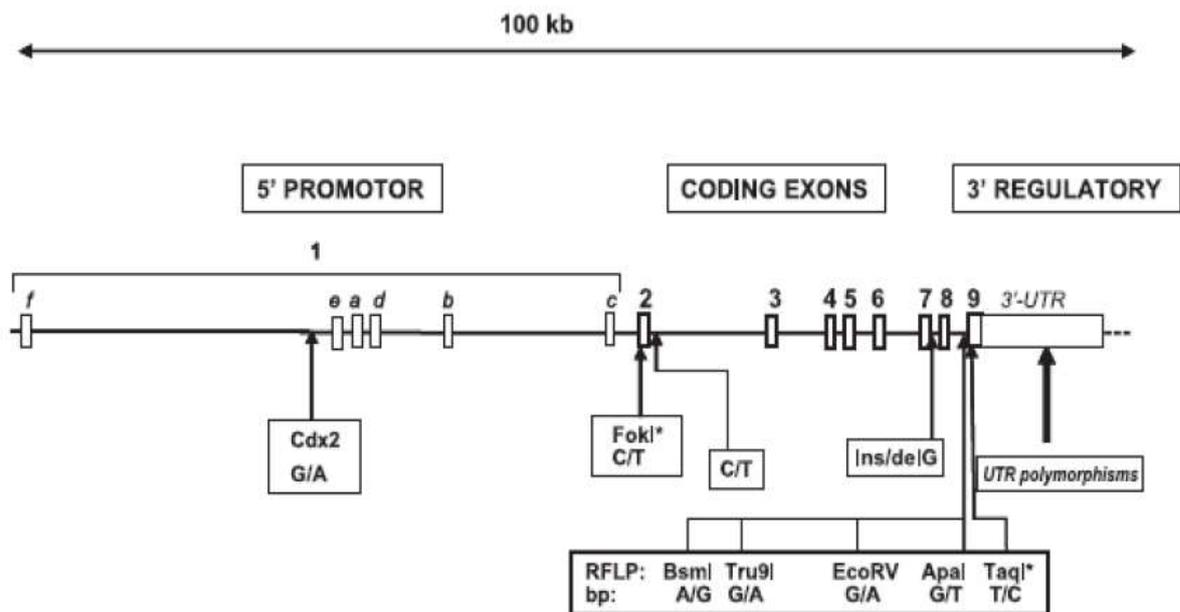
Com o objetivo de investigar a associação entre o polimorfismo FokI no gene VDR com a susceptibilidade ao desenvolvimento de diabetes tipo 2 (DM2) e se este polimorfismo é capaz de alterar a capacidade anti-inflamatória da vitamina D, Angel e colaboradores (2016) demonstraram que indivíduos com DM2 apresentam genotípica maior e frequências alélicas do polimorfismo FokI no VDR. As análises também revelaram que o genótipo ff e o alelo f do FokI foram associados com um risco aumentado de resistência à insulina. Também foi observada associação entre FokI (Ff e ff) e diabetes tipo 2 ($p = 0.003$).

A análise de regressão logística para avaliar a associação entre o polimorfismo FokI e DM2, ajustada por sexo, idade, IMC, vitamina D e componentes do DM2, mostrou uma associação significativa entre FokI (Ff e ff) e diabetes tipo 2 ($p = 0.003$). Os dados obtidos da subamostra de 40 indivíduos mostraram uma expressão diferenciada do RNAm do TNF- α em PBMC's, em relação à concentração de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ usada e ao genótipo FokI. A uma concentração de 10^{-8} M de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, foi observada uma expressão de TNF- α em PBMC's

com genótipo FF, que foi menor do que as de Ff ou ff. Esta expressão foi aumentada em portadores do alelo f. Situação semelhante foi observada com menor concentração de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

Mackawy e Badawi (2014) examinaram o papel do estado de vitamina D na inflamação crônica de baixa intensidade e resistência à insulina em pacientes com DM2. Além disso, investigaram a associação entre os polimorfismos FokI e BsmI do gene VDR com os componentes da síndrome metabólica de pacientes egípcios com DM2. Eles observaram que o polimorfismo FokI do gene VDR foi significativamente associado com os parâmetros do perfil lipídico, 25-hidroxivitamina D e concentrações séricas de IL-6 nos indivíduos diabéticos sem síndrome metabólica, e com a resistência à insulina, 25-hidroxivitamina D, circunferência da cintura e Índice de Massa Corporal (IMC) nos indivíduos diabéticos com síndrome metabólica.

Figura 3 – Posição dos Polimorfismos do gene VDR.



FONTE: Adaptado de UITTERLINDEN et al., 2004.

3 ABORDAGEM METODOLÓGICA

3.1 TIPO DO ESTUDO

Tratou-se de um estudo observacional do tipo transversal. Estudo seccional ou transversal é aquela estratégia de estudo epidemiológico que se caracteriza pela observação direta de determinada quantidade planejada de indivíduos em uma única oportunidade. Os termos seccional e transversal estão relacionados com a temporalidade, isto é, com a época da coleta de dados do estudo. Se, como quase sempre ocorre na prática, as informações individuais são coletadas num determinado prazo, o mais curto possível, decorrido entre as observações do primeiro e último indivíduo, a lógica da análise dos dados ignora este intervalo de tempo e considera que todas as observações foram feitas num mesmo instante (MEDRONHO et al., 2004)

3.2 ASPECTOS ÉTICOS

Previamente ao estudo, o projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley – CEP/UFPB da Universidade Federal da Paraíba, de acordo com a resolução nº 196/96 do CNS/MS, que regulamenta a ética da pesquisa em seres humanos. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê sob o protocolo nº 131145/16 (ANEXO A). Os pais ou responsáveis pelas crianças e adolescentes e os jovens adultos envolvidos no estudo foram previamente esclarecidos quanto aos propósitos e procedimentos aos quais seriam submetidos e, em seguida, foram solicitados a assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), bem como as crianças e adolescentes com idades entre 12 e 18 anos foram convidadas a assinarem o Termo de Assentimento, atendendo a resolução 466, de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012).

3.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA

A amostra da pesquisa foi não probabilística, por conveniência, composta por todas as crianças, adolescentes e jovens adultos (n=22) portadores de fibrose cística, de ambos os sexos, acompanhados no Ambulatório de Pediatria do Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW) / Universidade Federal da Paraíba, aos cuidados do professor Dr. Constantino Cartaxo. Quatro pacientes foram excluídos da pesquisa, dois por se recusarem a

participar, e outros dois por falta às consultas regulares. Dessa forma, um total de 18 pacientes participaram da pesquisa.

Para o diagnóstico de insuficiência/deficiência em vitamina D, foi utilizado o critério adotado pela diretriz da *Endocrine Society* (HOLICK et al., 2011), que considera a insuficiência como uma concentração entre 20 e 29 ng / mL (50 a 75 nmol / L) e a deficiência como níveis de 25 (OH) D abaixo de 20 ng / mL (50 nmol / L).

3.4 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE DA AMOSTRA

3.4.1 Critérios de inclusão

- Pacientes com diagnóstico de fibrose cística, em acompanhamento regular no ambulatório de Pediatria do Hospital Universitário Lauro Wanderley – UFPB;
- Pacientes ou responsáveis que concordaram com a participação e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), após esclarecimento dos procedimentos e finalidades da pesquisa;
- Pacientes com idades entre 12 e 18 anos que aceitaram participar da pesquisa e assinaram o Termo de Assentimento (TA).

3.4.2 Critérios de exclusão

- Presença de alterações bioquímicas que indicassem insuficiência hepática ou renal;
- Presença de doença crônica que altere o metabolismo da vitamina D.

3.5 DESENHO DO ESTUDO

3.5.1 Questionário

3.5.1.1 Dados Pessoais

Foram obtidos dados pessoais como: nome completo, nome do responsável, sexo, data de nascimento, telefone, grau de escolaridade do responsável e renda familiar.

3.5.1.2 Fototipo da Pele e Exposição ao Sol

O fototipo da pele foi estratificado de acordo com a classificação de Fitzpatrick (1988), que estima a tolerância da pele à luz ultravioleta com base em entrevista, explorando o histórico de queimaduras solares e capacidade de bronzeamento, classificando os tipos de pele de acordo com a tabela 1.

A exposição à luz solar foi definida pelo tempo médio de exposição por dia e não foram consideradas as variações sazonais, já que na região existe sol o ano inteiro.

Tabela 1 - Tipos de pele de acordo com a classificação de Fitzpatrick (1988)

tipo I: pele muito clara, sempre queima, nunca bronzeia;
 tipo II: pele clara, sempre queima e algumas vezes bronzeia;
 tipo III: Pele menos clara, algumas vezes queima e sempre bronzeia;
 tipo IV: Pele morena clara, raramente queima e sempre bronzeia;
 tipo V: Pele morena escura, nunca queima e sempre bronzeia;
 tipo VI: Pele negra, nunca queima e sempre bronzeia.

Fonte: FITZPATRICK, 1988.

3.5.1.3 Medicação

Todos os pacientes fazem uso de Creon e Pulmozyme. Creon é um medicamento que contém enzimas digestivas, destinado ao tratamento da insuficiência pancreática exócrina de adultos e crianças. O Pulmozyme é uma solução para inalação, usado em indivíduos com FC com o objetivo de reduzir a viscosidade do escarro, facilitando a expectoração. Cinquenta por cento dos pacientes fazem uso de suplemento vitamínico.

3.5.1.4 Avaliação Antropométrica

O estado nutricional foi avaliado através dos indicadores Índice de Massa Corporal (IMC)/idade e Circunferência do Braço (CB).

Para a avaliação do peso, as crianças menores de 2 anos foram pesadas completamente despidas, na presença da mãe ou responsável, através de uma balança pediátrica digital da marca Balmak, modelo ELP 25BB, com capacidade de 25kg e precisão de 5g. O prato da balança foi forrado com papel descartável para evitar erros de pesagem. A balança foi ligada

antes da criança ser colocada sobre o equipamento. As mesmas foram colocadas sentadas ou deitadas no centro do prato, de modo a distribuir o peso igualmente (MS, 2011).

Crianças maiores de 2 anos, adolescentes e jovens adultos foram pesados descalços e com roupas bem leves, na presença da mãe ou responsável, através de uma balança antropométrica digital da marca Líder, modelo LD1050, com capacidade de 200 kg e precisão de 50g. A balança foi ligada antes do paciente posicionar-se sobre o equipamento. O mesmo foi posicionado no centro do equipamento, ereto, de costas para a balança, descalço, com os pés juntos e os braços estendidos ao longo do corpo (MS, 2011).

A estatura das crianças menores de 2 anos foi avaliada com uso de infantômetro horizontal da marca Balmak, com capacidade para 100 cm e precisão de 1mm. As crianças foram posicionadas deitadas, no centro do infantômetro, descalças e com a cabeça livre de adereços. Com a ajuda da mãe ou responsável, a cabeça foi apoiada firmemente contra a parte fixa do equipamento, com o pescoço reto e o queixo afastado do peito (no plano de Frankfurt), ombros totalmente em contato com a superfície de apoio do infantômetro e braços estendidos ao longo do corpo. As nádegas e os calcanhares da criança ficaram em pleno contato com a superfície que apoia o infantômetro e os joelhos foram pressionados cuidadosamente para baixo, de modo que ficaram estendidos (MS, 2011).

A estatura das crianças maiores de 2 anos, adolescentes e jovens adultos foi avaliada com uso de estadiômetro da marca Sanny®, modelo Caprice ES2060, com capacidade para 115-210 cm e precisão de 1mm. Os pacientes foram posicionados de forma ereta, em apnéia respiratória, olhar frontal e a haste do estadiômetro foi posicionada sobre a cabeça. Durante a medição estavam descalços, sem adornos na cabeça e com os braços ao lado do corpo. Encostaram os calcanhares, as panturrilhas, os glúteos, as escápulas e a parte posterior da cabeça no estadiômetro. Quando não foi possível encostar esses cinco pontos, posicionaram no mínimo três deles (MS, 2011).

A circunferência do braço foi tomada no braço direito, estando este relaxado e flexionado em direção ao tórax, formando um ângulo de 90°. O ponto médio foi marcado entre o acrômio e o olecrano. Em seguida, o braço do paciente foi estendido ao longo do corpo, com a palma da mão voltada para a coxa. Com o auxílio de uma trena antropométrica inelástica, da marca Sanny, modelo TR4010, campo de uso de 2m e precisão em milímetros, o braço foi contornado no ponto médio marcado, de forma ajustada, evitando compressão ou folga (CUPPARI, 2002).

A classificação do estado nutricional foi realizada utilizando-se os indicadores IMC/Idade e CB. O IMC/idade foi avaliado de acordo com as curvas da OMS-2006 e OMS-

2007 (MS, 2010), para menores e maiores de 5 anos, respectivamente. Para classificação dos pacientes maiores de 18 anos, foram utilizados os valores propostos pela *World Health Organization* (WHO, 1998), apresentados na tabela 2.

Como referência para classificação da CB foi utilizada a tabela percentilar proposta por Frisancho (1990). A adequação da CB foi realizada pelo valor obtido da CB multiplicado por 100, dividido pelo valor da CB no percentil 50. A classificação do estado nutricional segundo a CB está apresentada na tabela 3.

Tabela 2 Classificação do Índice de Massa Corporal

IMC (kg/m ²)	CLASSIFICAÇÃO
<18,5	Baixo peso
18,5-24,9	Eutrofia
25-29,9	Sobrepeso
≥ 30	Obesidade

Fonte: WHO, 1998.

Tabela 3 Classificação do estado nutricional segundo adequação da CB

CB	DESNUTRIÇÃO			EUTROFIA	SOBREPESO	OBESIDADE
	GRAVE	MODERADA	LEVE			
	< 70%	70-80	80-90	90-100	110-120	>120%

Fonte: FRISANCHO, 1990.

3.5.2 Inquérito alimentar

O inquérito alimentar foi realizado por meio do “Questionário Quantitativo de Frequência do Consumo Alimentar” (QQFCA) (ANEXO A), validado a partir de 3 recordatórios de 24 horas aplicados em diferentes intervalos de tempo, para uma população de mulheres no município de João Pessoa/PB/Brasil, em parceria com a Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo e o Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição da Universidade Federal da Paraíba (LIMA et al., 2007; LIMA et al., 2008). A partir do qual foram realizadas a quantificação da frequência do consumo de peixe, fígado, ovo, leite integral e desnatado. A classificação do consumo foi: nunca, raramente, às vezes (1-3x/semana), frequentemente (>4x/semana) e diariamente.

3.5.3 Avaliação de parâmetros bioquímicos

As análises das enzimas hepáticas e renais foram realizadas no laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Lauro Wanderley / UFPB.

As atividades da Alanina Amino Transferase (ALT) e da Aspartato Amino Transferase (AST) foram quantificadas em modo cinético, de acordo com o Instituto de Materiais e Medidas de Referência, em soro, por meio dos kits comerciais da Wiener, seguindo as instruções do fabricante. As concentrações foram determinadas no analisador automático CMD800i, da Wiener.

As concentrações de creatinina, ureia e ácido úrico foram quantificadas em soro, por meio de kits comerciais da marca Wiener, conforme instruções do fabricante. As concentrações foram determinadas no analisador automático CMD800i, da Wiener.

As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas através de kit comercial da marca Wiener, conforme instruções do fabricante, utilizando o analisador CMD800i, da marca Wiener.

Os valores de referência para a variável perfil glicêmico estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4 Valores de referência para a variável perfil glicêmico de crianças e adultos

CATEGORIA	JEJUM
Glicemia normal	<100
Tolerância à glicose diminuída	>100 a <126
Diabetes <i>mellitus</i>	≥126

Fonte: SBD, 2014/2015.

3.5.5 Vitamina D [25(OH)D]

A dosagem da vitamina D também foi realizada no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Lauro Wanderley, por quimioluminescência, utilizando o equipamento Architect i2000, da marca Abbott.

A suficiência de vitamina D foi definida como uma concentração de 25 (OH) D \geq 30 ng / mL (75 nmol / L), a insuficiência como uma concentração entre 20 e 29,9 ng / mL (50 a 75 nmol / L), e a deficiência como níveis de 25 (OH) D abaixo de 20 ng / mL (50 nmol / L), de acordo com os critérios da *Endocrine Society* (HOLICK et al., 2011).

3.5.6 Paratormônio (PTH)

A análise de PTH foi realizada no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Lauro Wanderley, por quimioluminescência, utilizando o equipamento Architect i2000, da marca Abbott. Foram utilizados como valores de referência 7 a 53 pg/ml, segundo Silva et al. (2008).

3.5.7 Avaliação de marcadores inflamatórios

A PCR-us e a α -1 glicoproteína ácida foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Lauro Wanderley.

Para a análise da PCR-us foi utilizado o método imunonefelométrico, sendo considerados valores de referência para PCR entre 1 e 3 mg/L com base na IV Diretriz Brasileira sobre dislipidemia e prevenção da arterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC, 2007), que considera fator de risco para DCV proteína C reativa de alta sensibilidade > 3 mg/L (Na ausência de etiologia não esclerótica).

Para a análise de α -1-GPA foi utilizado o método imunonefelométrico, sendo adotado como referência de valores normais de 40 a 150 mg/dl (FERREIRA; PAIVA; ANDRADE, 2006).

3.5.8 Coleta e isolamento do DNA de leucócitos

Para obtenção de leucócitos foi feita coleta de 4 ml de sangue total obtido através de punção venosa em tubos estéreis contendo 7,2 mg de K3EDTA. As amostras coletadas foram levadas ao Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular Aplicada do Departamento de Biologia Molecular (DBM) da UFPB. Na impossibilidade de realização da extração do DNA no mesmo dia, as amostras foram estocadas sob -20°C por período máximo de 1 mês.

As amostras foram posteriormente diluídas em uma primeira solução de lise, contendo 10 mM Tris-HCl pH 8, 5 mM EDTA, 0,3 M sacarose, Triton-X-100 1%, afim de lisar as hemácias, deixando no entanto os leucócitos íntegros. Em seguida, seguiu-se a centrifugação à 3.200 rpm para descarte do sobrenadante. Esse processo foi repetido por 3 vezes no intuito de obter um precipitado de leucócitos livre de resquícios de hemoglobina. O precipitado foi então ressuspensionado em solução de lise contendo 10 mM Tris-HCl pH 8, 0,5% dodecil sulfato de sódio (SDS), 5 mM EDTA, 0,2 μg de proteinase K (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) e

incubado a 55°C em banho-maria. Após 7 horas de incubação foi adicionado 500 µl de uma solução aquosa de 1 mM EDTA e 7,5 M acetato de amônio. A mistura foi centrifugada por 10 min a 14.000g, a 4°C e 700 µl do sobrenadante foi transferido para um novo tubo onde foi realizada a precipitação do DNA com 540 µl de isopropanol. A seguir, o precipitado de DNA foi lavado com 70% etanol, centrifugado (12.000 g por 5min), seco e ressuspendido em tampão Tris-EDTA pH 8,0 (MILLER; DYKES; POLESKY, 1988).

3.5.9 Análise do polimorfismo rs2228570

Os genótipos foram determinados por PCR - RFLP. Foram utilizados os iniciadores: 5' _ - A G C T G G C C C T G G C A C T G A C T C T G C T C T - 3' _ ' (sense) e 5' _ - A T G G A A A C A C C T T G C T T C T T C T C C C T C - 3' _ ' (antisense) (CHIU; CHUANG; YOON, 2001) e a amplificação ocorreu nas seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C durante 5 minutos, 35 ciclos de desnaturação (30 segundos à 94°C), anelamento (30 segundos à 60°C) e extensão (30 segundos à 72°C) com uma etapa extra de extensão final de 10 minutos. O produto de 265 pb foi digerido com *FokI*, que reconhece e cliva o alelo polimórfico f, gerando dois fragmentos (196 pb e outro de 69 pb), enquanto o alelo ancestral F permanece com 265 pb. Os genótipos foram analisados através de eletroforese em gel de poliacrilamida 10% e coloração com nitrato de prata 0,5% (CHIU, CHUANG, YOON, 2001)

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos em porcentagem, média e desvio padrão da média. Todos os dados foram testados quanto à normalidade e homogeneidade pelo teste de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. As diferenças entre os grupos foram testadas pelo Teste t de Student independente ou seu correspondente não-paramétrico, o teste de Mann-Whitney. Análise Bivariada testou as associações estatísticas entre as variáveis sanguíneas e a 25-hidroxivitamina D dos grupos insuficientes/deficientes e suficientes, através do Teste do Qui-quadrado de Spearman e Correlação de Pearson. O Teste do Qui-quadrado de Spearman foi usado para verificar a influência do alelo dominante (F). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando os softwares Instat e SPSS versão 21, adotando-se nível de significância de 5%.

REFERÊNCIAS

- ANGEL, B. et al. FokI polymorphism in vitamin D receptor gene: Differential expression of TNF α in peripheral mononuclear cells of type 2 diabetic subjects. **Meta Gene**. v.7, p. 1-6, 2016.
- BERNARDI, D. M. et al. The impact of cystic fibrosis on the immunologic profile of pediatric patients. **Jornal de Pediatria**. v. 89, n. 1, p. 40-47, 2013.
- BONDIA-PONS, I.; RYAN, L.; MARTINEZ, J. A. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity. **Journal of Physiology and Biochemistry**. v. 68, n. 4, p. 701-711, 2012.
- BRASIL. Resolução nº 466 de 12 de dezembro de 2012. **Regulamenta pesquisas envolvendo seres humanos**. Conselho Nacional de Saúde, Brasília/DF, 2012.
- BRUSCIA, E. M. et al. Macrophages directly contribute to the exaggerated inflammatory response in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. **American Journal of Respiratory and Cell Molecular Biology**. v. 40, p. 295–304, 2009.
- CABRAL, M. A. et al. Prevalence of vitamin D deficiency during the summer and its relationship with sun exposure and skin phototype in elderly men living in the tropics. **Journal of Clinical Interventions in Aging**. v. 8, p. 1347-1351, 2013.
- CANTIN, A. M. et al. Inflammation in cystic fibrosis lung disease: Pathogenesis and therapy. **Journal of Cystic Fibrosis**. v. 14, p. 419-430, 2015.
- CASTRO, L. C. O sistema endocrinológico vitamina D. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**. v. 55, n. 8, p. 566-575, 2011.
- CAVALCANTE, I. G. M. et al. Effect of vitamin D3 supplementation and influence of BsmI polymorphism of the VDR gene of the inflammatory profile and oxidative stress in elderly women with vitamin D insufficiency Vitamin D3 megadose reduces inflammatory markers. **Experimental Gerontology**. v. 66, p. 10-16, 2015.
- CHAVES, C. R. M. M.; CUNHA, A. L. P. Avaliação e recomendações nutricionais para crianças e adolescentes com fibrose cística. **Revista Paulista de Pediatria**. v. 30, n. 1, p. 131-138, 2012.
- CHIU, K. C.; CHUANG, L. M.; YOON, C. The vitamin D receptor polymorphism in the translation initiation codon is a risk factor for insulin resistance in glucose tolerant Caucasians. **BMC Medical Genetics**. v.2, n.2, 2001.

COAKLEY, R. D. et al. Abnormal surface liquid pH regulation by cultured cystic fibrosis bronchial epithelium. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**. v. 100, p. 16083–16088, 2003.

CODOÑER-FRANCH, P. et al. Vitamin D status is linked to biomarkers of oxidative stress, inflammation, and endothelial activation in obese children. **The Journal of Pediatrics**. v. 161, p. 848-54, 2012.

COHEN, T. S.; PRINCE, A. Cystic fibrosis: a mucosal immunodeficiency syndrome. **Nature Medicine**. v. 18, p. 509-519, 2012.

CUPPARI, L. **Guia de nutrição: nutrição clínica no adulto**, 1ª ed., p. 75, 2002.

CHRISTAKOS, S. et al. Vitamin D: Metabolism. **Rheumatic Disease Clinics of North America**. v. 38, n. 1, p. 1-11, 2010.

COURTNEY, J.; ENNIS, M.; ELBORN, J. Cytokines and inflammatory mediators in cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis**. v. 3, p. 223–231, 2004.

DOBNIG, H. A review of the health consequences of the vitamin D deficiency pandemic. **Journal of the Neurological Sciences**. v. 311, p. 15–18, 2011.

ENGELN, M. P. K. J. et al. Use of body mass index percentile to identify fat-free mass depletion in children with cystic fibrosis. **Clinical Nutrition**. v. 31, p. 927-933, 2012.

FERREIRA, B. M.; PAIVA, L. V.; ANDRADE, A. **Validação do reagente alfa-1-glicoproteína ácida turbidimétrico**, 2006.

FIRMIDA, M. C.; MARQUES, B. L.; COSTA, C. H. Fisiopatologia e manifestações clínicas da fibrose cística. **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**. 2011.

FITZPATRICK, T. B. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. **Archives of Dermatology**. v. 124, n. 4, p. 869–871, 1988.

FRISANCHO, A. R. **Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status**, 1990.

GIRÓN-MORENO, R. M. et al., Role of C-reactive protein as a biomarker for prediction of the severity of pulmonary exacerbations in patients with cystic fibrosis. **BMC Pulmonary Medicine**. v. 14, n. 150, p. 1-8, 2014.

HAACK, A.; ARAGÃO, G. G.; NOVAES, M. R. C. G. Pathophysiology of cystic fibrosis and drugs used in associated digestive tract diseases. **World Journal of Gastroenterology**. v. 19, p. 8552-8561, 2013.

HERSCOVITCH, k.; DAULETBAEV, N.; LANDS, L.C. Vitamin D as an anti-microbial and anti-inflammatory therapy for Cystic Fibrosis. **Paediatric Respiratory Reviews**. v. 15, p. 154-162, 2014.

HOLICK, M. F. et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 96, p. 1911-1930, 2011.

HOPKINS, M. H. et al. Effects of supplemental vitamin D and calcium on biomarkers of inflammation in colorectal adenoma patients: a randomized, controlled clinical trial. **Cancer Prevention Research**. v. 4, n. 10, p. 1645–1654, 2011.

JONES, G. Assay of vitamins D2 and D3, and 25-hydroxyvitamins D2 and D3 in human plasma by high-performance liquid chromatography. **Clinical Chemistry**. v. 24, n. 2, p. 287-98, 1978.

KONSTAN, M. W.; BERGER, M. Current understanding of the inflammatory process in cystic fibrosis: onset and etiology. **Pediatrics Pulmonology**. v. 24, p. 137–42, 1997.

LANSZKE B.; RAZZAQUE M. S. Vitamin and aging: old concepts and news insights. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 18, n. 12, p. 771-777, 2007.

LIMA, F. E. L. et al. Validade de um questionário quantitativo de frequência alimentar desenvolvido para população feminina no nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. v. 10, n. 4, p. 483-490, 2007.

LIMA, F. E. L. et al. Diet and cancer in northeastern Brazil: evaluation of eating habits and food group consumption in relation to breast cancer. **Cadernos de Saúde Pública (FIOCRUZ)**. v.24, n. 4, p. 820-828, 2008.

MACKAWY, A. M. H.; BADAWI, M. E. H. Association of vitamin D and vitamin D receptor gene polymorphisms with chronic inflammation, insulin resistance and metabolic syndrome components in type 2 diabetic Egyptian patients. **Meta Gene**. v.2, p. 540-556, 2014.

MEDRONHO, R. A. et al. **Epidemiologia**. São Paulo: Editora Atheneu, p. 125, 2004.

MILLER, A. S.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**. v.16, n. 3, 1988.

MORETON, R. E.; KENNEDY, C. R. C reactive protein concentrations in cystic fibrosis. **Archives of Disease in Childhood**. v. 63, p. 958-960, 1988.

MS - MINISTÉRIO DA SAÚDE. **SISVAN (Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional)**. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

_____. **Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde : norma técnica do sistema de vigilância alimentar e nutricional – SISVAN**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

NTIMBANE, T. et al. Oxidative stress and cystic fibrosis-related diabetes: a pilot study in children. **Journal of Cystic Fibrosis**. v. 7, p. 373-384, 2008.

PEDROSA, M. A. C.; CASTRO, M. S. Papel da vitamina D na função neuro-muscular. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**. v. 49, n. 4, p. 495-502, 2005.

PIERONI, I. Níveis de proteína C reativa circulante em adultos e relação com o índice de massa corporal. **Revista de Nutrição**. v. 29, n.1, p. 133, 2003.

RAMAN, M. et al. Vitamin D and gastrointestinal diseases: inflammatory bowel disease and colorectal cancer. **Therapeutic Advances Gastroenterology**. v. 4, n. 1, p. 49-62, 2011.

REIS, F. J.; DAMACENO, N. Cystic fibrosis. **Jornal de Pediatria**. v. 74, n. 1, p. 76-94, 1998.

RIORDAN, J. R. et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. **Science**. v. 245, p. 1066–1073, 1989.

ROVNER, A. J. et al. Vitamin D insufficiency in children, adolescents, and young adults with cystic fibrosis despite routine oral supplementation. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.86, p. 1694-9, 2007.

SALVA, P. S. et al. TNF-alpha, IL-8, soluble ICAM-1, and neutrophils in sputum of cystic fibrosis patients. **Pediatric Pulmonology**. v. 21, p. 11–19, 1996.

SBC - SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 88, suplemento I, abr., 2007.

SBD – SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2014-2015**. São Paulo: AC Farmacêutica, 2015.

SCHUCH, N. J.; GARCIA, V. C.; VÍVOLO, S. R. et al. Relationship between Vitamin D Receptor gene polymorphisms and the components of metabolic syndrome. **Nutrition Journal**. v. 12, n. 96, p. 1-7, 2013.

SEXAUER, W. P. et al. Vitamin D deficiency is associated with pulmonary dysfunction in cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis**. v. 14, n.4, p. 497-506, 2014.

SHAB-BIDAR, S.; NEYESTANI, T. R.; DJAZAYERY, A. Efficacy of vitamin D3-fortified-yogurt drink on anthropometric, metabolic, inflammatory and oxidative stress biomarkers according to vitamin D receptor gene polymorphisms in diabetic patients: a study protocol for a randomized controlled clinical trial. **BMC Endocrine Disorders**. v.11, n.12, p.1-10 ,2011.

SHEPHERD, D. et al. Single high-dose oral vitamin D3 (stoss) therapy — a solution to vitamin D deficiency in children with cystic fibrosis? **Journal of Cystic Fibrosis**. v. 12, p. 177-182, 2013.

SILVA, B. C. C. et al. Prevalência de deficiência e insuficiência de vitamina D e sua correlação com PTH, marcadores de remodelação óssea e densidade mineral óssea, em pacientes ambulatoriais. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. v.52, n.3, p. 482-488, 2008.

SILVA, S. H.; MORESCO, R. N. Biomarcadores cardíacos na avaliação da síndrome coronariana aguda. **Scientia Medica**. v. 21, n. 3, p. 132-142, 2011.

SOETERS, P. B.; SCHOLS, A. M. W. J. Advances in understanding and assessing malnutrition. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolism Care**. v. 12, p. 487–494, 2009.

STALLINGS, V. A. et al. Clinical practice guidelines on growth and nutrition subcommittee, et al. Evidence-based practice recommendations for nutrition-related management of children and adults with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency: results of a systematic review. **Journal of the American Dietetic Association**. v. 108, n. 5, p. 832-839, 2008.

TANGPRICHA, V. et al. An update on the screening, diagnosis, management, and treatment of vitamin D deficiency in individuals with cystic fibrosis: evidence-based recommendations from the cystic fibrosis foundation. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 97, n. 4, p. 1082-1093, 2012.

UITTERLINDEN, A. G. et al. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. **Gene**. v. 338, n. 2, p. 143-156, 2004.

VALDIVIELSO, J. M.; FERNANDEZ, E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. **Clinica Chimica Acta**. v. 371, p. 1–12, 2006.

VÉLAYOUDOM-CÉPHISE F. L. et al. Vitamin D deficiency, vitamin D receptor gene polymorphisms and cardiovascular risk factors in Caribbean patients with type 2 diabetes. **Diabetes & Metabolism**. v. 37, p. 540-545, 2011.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: preventing and managing the global epidemic.** Geneva: WHO, 1998.

WOESTENENK, J. W. et al. Dietary intake in children and adolescents with cystic fibrosis. **Clinical Nutrition.** v. 33, p. 528-532, 2014.

YOSHIMURA, K. et al. Expression of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene in cells of non-epithelial origin. **Nucleic Acids Research.** v. 19, p. 5417–5423, 1991.

APÊNDICES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

Título da Pesquisa: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM MEGADOSE DE VITAMINA D3 NO PROCESSO INFLAMATÓRIO EM CRIANÇAS, ADOLESCENTES E JOVENS ADULTOS PORTADORES DE FIBROSE CÍSTICA.

TERMO DE CONCENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a),

Temos o prazer em convidar o seu filho (a) para participar de uma pesquisa, que está sendo desenvolvida por Milena Luana Coelho de Assis, nutricionista e mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição – Nutrição Clínica e Epidemiologia – UFPB, sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves. Esta pesquisa tem como objetivo avaliar o efeito da suplementação com megadose de vitamina D3 sobre os níveis sanguíneos de vitamina D, paratormônio, cálcio e marcadores da inflamação (Proteína C Reativa Ultrassensível e α -1 Glicoproteína Ácida) em crianças, adolescentes e jovens adultos portadores de fibrose cística, bem como avaliar o estado nutricional, o consumo alimentar e outros exames bioquímicos.

Solicitamos sua colaboração para a realização dos procedimentos necessários para a realização do estudo. Durante a pesquisa será realizado o preenchimento de um questionário, avaliação antropométrica (Peso, altura e circunferência do braço), avaliação do consumo alimentar e realização de exames bioquímicos (ALT, AST, uréia, creatinina, ácido úrico, glicemia de jejum e hemograma).

Todos os responsáveis pelas crianças que participarem da pesquisa receberão frascos contendo solução sublingual contendo a megadose de vitamina D e orientação nutricional com o intuito de aumentar a ingestão de vitamina D pelo paciente.

Essa intervenção ocorrerá em um período de oito semanas, sendo a suplementação realizada diariamente e o seguimento será feito com avaliação nutricional e bioquímica antes e após a intervenção. Portanto serão três encontros.

Estes procedimentos poderão trazer alguns riscos previsíveis, como dor na hora da coleta de sangue, constrangimento durante a entrevista para preenchimento do questionário e durante a aferição de medidas antropométricas para avaliação nutricional. Entre os benefícios, prover um tratamento de baixo custo sem efeitos colaterais com orientações sobre alimentação adequada para cada paciente, com o intuito de controlar a sintomatologia e a progressão da doença, proporcionando melhor qualidade de vida.

A participação do seu filho (a) não é obrigatória e você pode se recusar a autorizar. Para isto, basta que não assine o termo de consentimento, devolvendo ao pesquisador. Se você autorizar a participação do seu filho (a) e durante o experimento sentir que não quer que o mesmo (a) prossiga, basta informar ao pesquisador o seu desejo.

A participação do seu filho (a) é de fundamental importância, pois contribuirá muito para a realização do nosso trabalho. Os resultados desta pesquisa podem ser publicados em artigos, congressos e em outros eventos científicos, contudo, a identidade do seu filho (a) será mantida no mais rigoroso sigilo. Serão omitidas todas as informações que permitam identificá-lo (a). Informamos ainda que não haverá custos para os participantes da pesquisa.

Tendo sido esclarecido (a) sobre os objetivos do estudo e do sigilo em relação a participação do seu filho (a), onde inclusive ressalta o meu direito de dispensa do meu filho (a) a qualquer momento sem qualquer prejuízo ou ônus, autorizo a sua participação nesta pesquisa.

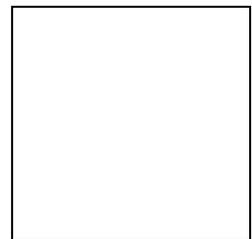
Assinatura do Responsável pelo Participante da pesquisa

Assinatura de Testemunha

Atenciosamente,

Assinatura do Pesquisador Responsável

Assinatura do Pesquisador Participante



Pesquisadores (as) Participantes:

Milena Luana Coelho de Assis – Servidora técnico-administrativa da UFPB (Cargo-Nutricionista/Lotação: Restaurante Universitário); Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição/CCS/UFPB - (83) 99679-7720.

Prof^a. Dr^a. Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves - Proponente da pesquisa, é professora do Departamento de Nutrição/CCS/UFPB e do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição/CCS/UFPB - (83) 98844-6602.

Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley

Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley - 2º andar - Campus I - UFPB.

Bairro: Cidade Universitária CEP: 58.059-900 Telefone: (83) 3216-7964

APÊNDICE B - TERMO DE ASSENTIMENTO

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

Título da Pesquisa: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM MEGADOSE DE VITAMINA D3 NO PROCESSO INFLAMATÓRIO EM CRIANÇAS, ADOLESCENTES E JOVENS ADULTOS PORTADORES DE FIBROSE CÍSTICA.

TERMO DE ASSENTIMENTO

Você está convidado (a) para participar de uma pesquisa, que está sendo desenvolvida por Milena Luana Coelho de Assis, nutricionista e mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição – Nutrição Clínica e Epidemiologia – UFPB, sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves. Queremos avaliar o efeito de uma suplementação com vitamina D no processo inflamatório de pacientes com diagnóstico de fibrose cística, bem como avaliar seu estado nutricional e consumo alimentar.

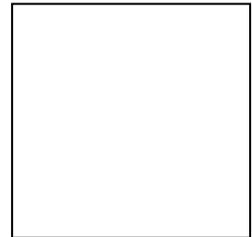
Participarão desta pesquisa crianças, adolescentes e jovens adultos com idades entre 0 a 25 anos. Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu. A pesquisa será feita no Ambulatório de Pediatria do Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW) – UFPB, onde será realizado o preenchimento de um questionário, avaliação antropométrica (Peso, altura e circunferência do braço), avaliação do consumo alimentar e realização de exames de sangue, além da intervenção com megadose de vitamina D. Será feito também acompanhamento nutricional, com o intuito de aumentar a ingestão de Vitamina D pelo paciente.

Estes procedimentos poderão trazer alguns riscos previsíveis, como dor na hora da coleta de sangue, constrangimento durante a entrevista para preenchimento do questionário e durante a aferição de medidas antropométricas para avaliação nutricional. Tem como benefícios prover um tratamento de baixo custo sem efeitos colaterais com orientações sobre alimentação adequada, com o intuito de controlar a sintomatologia e a progressão da doença, proporcionando melhor qualidade de vida.

A sua participação é de fundamental importância, pois contribuirá muito para a realização do nosso trabalho. Os resultados desta pesquisa podem ser publicados em artigos, congressos e em outros eventos científicos, contudo, sua identidade será mantida no mais rigoroso sigilo. Serão omitidas todas as informações que permitam identificá-lo (a). Informamos ainda que não haverá custos para os participantes da pesquisa.

Fui esclarecido (a) sobre os objetivos do estudo e do segredo em relação a minha participação, onde inclusive ressalta o meu direito de dispensa a qualquer momento sem qualquer prejuízo ou ônus. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com meus responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento, li e concordo em participar da pesquisa.

Assinatura do Participante da Pesquisa



Assinatura de Testemunha

Atenciosamente,

Assinatura do Pesquisador Responsável

Assinatura do Pesquisador Participante

Pesquisadores (as) Participantes:

Milena Luana Coelho de Assis – Servidora técnico-administrativa da UFPB (Cargo- Nutricionista/Lotação: Restaurante Universitário); Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição/CCS/UFPB - (83) 99679-7720.

Prof^a. Dr^a. Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves - Proponente da pesquisa, é professora do Departamento de Nutrição/CCS/UFPB e do Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição/CCS/UFPB - (83) 98844-6602.

Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley

Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley - 2º andar - Campus I - UFPB.

Bairro: Cidade Universitária CEP: 58.059-900 Telefone: (83) 3216-7964

APÊNDICE C – QUESTIONÁRIO

1. IDENTIFICAÇÃO

Nº REGISTRO: _____

Nome: _____

Responsável: _____

Sexo () Masculino () Feminino

Idade: _____ Data de Nascimento: ____/____/____.

Endereço: _____

Telefone: (____) _____

Grau de instrução do responsável:

() Analfabeto () 1º Grau () 2º Grau () Graduação () Pós Graduação

Renda familiar (salários mínimos por mês): 1 a < 5 () ; 5 a 10 () e > 10 ()

2. FOTOTIPO DA PELE E EXPOSIÇÃO SOLAR

Tipos de pele:

Tipo I: pele muito clara, sempre queima, nunca bronzeia. ()

Tipo II: pele clara, sempre queima e algumas vezes bronzeia. ()

Tipo III: Pele menos clara, algumas vezes queima e sempre bronzeia. ()

Tipo IV: Pele morena clara, raramente queima e sempre bronzeia. ()

Tipo V: Pele morena escura, raramente queima e sempre bronzeia. ()

Tipo VI: pele negra, nunca queima e sempre bronzeia. ()

Exposição solar:

Tempo (minutos) por dia de exposição ao sol: _____

Áreas expostas diariamente: circular as opções abaixo

Ambos os braços () / ambas as pernas () / parte anterior do tronco () / parte posterior do tronco () / cabeça () / períneo ()

Uso de veste específica que limite exposição solar: _____

3. MEDICAÇÕES

4. AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Peso atual (kg): _____

Estatura (cm): _____

IMC (kg/m²): _____ CB (cm): _____

Estado nutricional: _____

5 RESULTADOS DOS EXAMES LABORATORIAIS

EXAME	RESULTADO DO 1º MOMENTO	RESULTADO DO 3º MOMENTO
Vitamina D		
PTH		
Ca+		
α-1 GPA		
PCR-us		
TGO		
TGP		
Uréia		
Creatinina		
Ácido Úrico		
Glicemia		
Neutrófilos		

Data de aplicação do questionário: ____/____/____

ANEXOS

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

	UFPB - HOSPITAL UNIVERSITÁRIO LAURO WANDERLEY DA	
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP		
DADOS DA EMENDA		
Título da Pesquisa: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM MEGADOSE DE VITAMINA D3 NO PROCESSO INFLAMATÓRIO EM CRIANÇAS, ADOLESCENTES E JOVENS ADULTOS PORTADORES DE FIBROSE CÍSTICA		
Pesquisador: Milena Luana Coelho de Assis		
Área Temática:		
Versão: 5		
CAAE: 52248815.9.0000.5183		
Instituição Proponente: Hospital Universitário Lauro Wanderley/UFPB		
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio		
DADOS DO PARECER		
Número do Parecer: 1.932.568		
Apresentação do Projeto:		
<p>Esta é a versão nº 5 do projeto e trata-se de uma emenda apresentada pela pesquisadora Milena Luana Coelho de Assis, com a finalidade de justificar a necessidade de prolongar o período da pesquisa até março de 2017. A pesquisadora apresentou a justificativa, conforme apresentado abaixo:</p> <p>"Pôde-se observar alteração na metodologia, bem como no cronograma de execução. Esta mudança deve-se à dificuldade na coleta dos dados dos pacientes da pesquisa. Uma vez que a consulta no ambulatório do HU, com Dr. Constantino, é mensal, e os pacientes não comparecem regularmente às consultas, isso levou a uma demora na coleta dos dados. Os pacientes que apresentaram insuficiência/deficiência em vitamina D foram suplementados, porém não será possível avaliar a eficácia dessa suplementação nestes pacientes, uma vez que tenho um prazo para defender até março/2017, e uma nova coleta sanguínea exigiria mais tempo. Contudo, estes pacientes continuam sendo acompanhados por Dr. Constantino, e os resultados da eficácia dessa suplementação serão avaliados por minha orientadora em um momento posterior."</p>		
Objetivo da Pesquisa:		
Objetivo Primário: Conhecendo-se os efeitos deletérios da inflamação crônica presente nestes		
<p>Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley - 2º andar - Campus I - UFPB. Bairro: Cidade Universitária CEP: 58.059-900 UF: PB Município: JOAO PESSOA Telefone: (83)3216-7964 Fax: (83)3216-7522 E-mail: comitedeetica@hulw.ufpb.br</p>		
 Milena Luana Coelho de Assis Acadêmica em Parasitologia Pós-Graduação em Parasitologia - W - 4552981 - UFPB		



UFPB - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO LAURO
WANDERLEY DA



Continuação do Parecer: 1.932.668

pacientes sobre o estado nutricional, os efeitos antiinflamatórios da vitamina D e a influência dos polimorfismos do gene VDR na modulação da atividade da mesma, teve-se como objetivo principal avaliar a prevalência da insuficiência/deficiência de vitamina D em pacientes portadores de Fibrose Cística e sua associação com o perfil inflamatório e polimorfismo FokI do gene VDR.

Objetivo Secundário: identificar a prevalência da deficiência/insuficiência de vitamina D; avaliar a prevalência do polimorfismo FokI do gene VDR e sua relação com a insuficiência/deficiência de vitamina D; relacionar insuficiência/deficiência de vitamina e o polimorfismo com o perfil inflamatório; verificar o estado nutricional dos pacientes através dos indicadores Índice de Massa Corporal para Idade (IMC/Idade) e Circunferência do Braço (CB).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Estes procedimentos poderão trazer alguns riscos previsíveis, como dor na hora da coleta de sangue, constrangimento durante a entrevista para preenchimento do questionário e durante a aferição de medidas antropométricas para avaliação nutricional.

Benefícios: Entre os benefícios, prover um tratamento de baixo custo sem efeitos colaterais com orientações sobre alimentação adequada para cada paciente, com o intuito de controlar a sintomatologia e a progressão da doença, proporcionando melhor qualidade de vida.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisadora apresentou o novo cronograma, com final da pesquisa para o dia 28/04/2017 e está de acordo com a solicitação na emenda.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentados adequadamente.

Recomendações:

Recomenda-se que a pesquisadora responsável e demais colaboradores, cumpram, em todas as fases do estudo, a metodologia proposta e aprovada pelo cep-hulw. Caso ocorram intercorrências durante ou após o desenvolvimento da pesquisa, a exemplo de alteração de título, mudança de local da pesquisa, população envolvida, entre outras, o pesquisador responsável deverá solicitar a este CEP, via Plataforma Brasil, aprovação de tais alterações, ou buscar devidas orientações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O Colegiado do CEP/HULW considera viável a emenda referente ao protocolo de pesquisa em tela, sem pendências e/ou inadequações a declarar.

Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley - 2º andar - Campus I - UFPB
Bairro: Cidade Universitária CEP: 58.059-900
UF: PB Município: JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7964 Fax: (83)3216-7522 E-mail: comitedeetica@hulw.ufpb.br



UFPB - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO LAURO
WANDERLEY DA



Continuação do Parecer: 1.932.558

Considerações Finais a critério do CEP:

Ratificamos o parecer de APROVAÇÃO da EMENDA do protocolo de pesquisa, emitido pelo Colegiado do CEP/HULW, em reunião ordinária realizada em 14 de fevereiro de 2017.

OBSERVAÇÕES IMPORTANTES

. O participante da pesquisa deverá receber uma via do Termo de Consentimento na íntegra, com assinaturas do pesquisador responsável e do participante e/ou do responsável legal. O pesquisador deverá manter em sua guarda uma via do TCLE assinado pelo participante por cinco anos.

. Se o TCLE contiver mais de uma folha, todas devem ser rubricadas e apor assinatura na última folha.

. O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer dano ou prejuízo à assistência que esteja recebendo.

. O pesquisador deverá desenvolver a pesquisa conforme delineamento aprovado no protocolo de pesquisa e só descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade, pelo CEP que o aprovou, aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa que requeiram ação imediata.

. Eventuais modificações – EMENDAS – ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP/HULW de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

. Lembramos que é de responsabilidade do pesquisador assegurar que o local onde a pesquisa será realizada ofereça condições plenas de funcionamento garantindo assim a segurança e o bem estar dos participantes da pesquisa e de quaisquer outros envolvidos.

O pesquisador deverá apresentar Relatório parcial no curso do estudo, e Relatório final em no máximo 30 dias após o seu término ao CEP/HULW, via Plataforma Brasil, para emissão da Certidão Definitiva por este CEP.

Dr. Elton Wanderley Freire
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa
C.A. - EBSERH UFPB

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_825925 E3.pdf	15/12/2016 20:56:50		Aceito

Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley - 2º andar - Campus I - UFPB.
Bairro: Cidade Universitária CEP: 58.069-900
UF: PB Município: JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7964 Fax: (83)3216-7522 E-mail: comitedeetica@hulw.ufpb.br



UFPB - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO LAURO
WANDERLEY DA



Continuação do Parecer: 1.932.958

Outros	CAPA_PROJETO.doc	13/11/2016 23:34:46	Milena Luana Coelho de Assis	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.doc	13/11/2016 23:34:18	Milena Luana Coelho de Assis	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TA.doc	13/03/2016 16:01:41	Milena Luana Coelho de Assis	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	13/03/2016 16:01:22	Milena Luana Coelho de Assis	Aceito
Outros	CERTIDAO.pdf	29/12/2015 16:13:02	Milena Luana Coelho de Assis	Aceito
Outros	FICHA_DE_CADASTRO_PROJETO.pdf	29/12/2015 16:10:09	Milena Luana Coelho de Assis	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO_PROJETO.pdf	29/12/2015 16:06:24	Milena Luana Coelho de Assis	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JOAO PESSOA, 20 de Fevereiro de 2017

Assinado por
MARIA ELIANE MOREIRA FREIRE
(Coordenador)

Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley - 2º andar - Campus I - UFPB.
Bairro: Cidade Universitária CEP: 58.059-900
UF: PB Município: JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7964 Fax: (83)3216-7522 E-mail: comitedeetica@hufw.ufpb.br

ANEXO B – QUESTIONÁRIO QUANTITATIVO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR

(Assinalar com X, N = nas refeições e E = entre as refeições (lanches, onde existir).

SOPAS e MASSAS	QUANTAS VEZES VOCE COME	UNIDAD E	PORÇÃO MÉDIA(M)	SUA PORÇÃO	↙ não escrever aqui ↘
Sopas (de legumes, canja, cremes etc.).	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	2 conchas médias (260ml)	P M G E O O O O	— — — —
Macarronada, lasanha.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 escumadeira rasa ou ½ prato (75 g)	P M G E O O O O	— — — —
Pizza.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 pedaço médio (130g)	P M G E O O O O	— — — —
Pastelaria, empada, esfiha, pastel, kibe, coxinha.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 O O O O O O O O O O O	D S M A O O O O	1 unidade ou 1 pedaço médio (60g)	P M G E O O O O	— — — —
CARNES PEIXES	E QUANTAS VEZES VOCE COME	UNIDAD E	PORÇÃO MÉDIA(M)	SUA PORÇÃO	↙ não escrever aqui ↘
		1 2 3 4		O 1 2 3 4	
Peixe cozido, assado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	1 unidade grande	P M G	

ou grelhado.	O O O O O O O O O O O O	A	ou 3 pedaços (100g)	E	— — —
		O O O O		O O O	—
		O		O	
Peixe frito.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	1 posta média ou 1 filé médio (120 g)	P M G	— — —
	O O O O O O O O O O O O	A		E	— — —
		O O O O		O O O	—
		O		O	
Carne de boi cozida, assada, grelhada, churrasco.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	3 fatias/pedaços ou 1 bife médio (100 g)	P M G	— — —
	O O O O O O O O O O O O	A		E	— — —
		O O O O		O O O	—
		O		O	
Bife.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	1 unidade grande (150g)	P M G	— — —
	O O O O O O O O O O O O	A		E	— — —
		O O O O		O O O	—
		O		O	
Carne de charque, carne de sol.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	1 pedaço grande (60g)	P M G	— — —
	O O O O O O O O O O O O	A		E	— — —
		O O O O		O O O	—
		O		O	
Lingüiça, salsicha, presunto, outros frios.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	1 unidade, 1 gomo ou 2 fatias(40g)	P M G	— — —
	O O O O O O O O O O O O	A		E	— — —
		O O O O		O O O	—
		O		O	
Frango frito, à milanesa, nuggets.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	2 pedaços ou 1 filé médio (90g)	P M G	— — —
	O O O O O O O O O O O O	A		E	— — —
		O O O O		O O O	—
		O		O	
Frango guisado, grelhado, assado, espeto.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	3-4 pedaços médios (120g)	P M G	— — —
	O O O O O O O O O O O O	A		E	— — —
		O O O O		O O O	—
		O		O	
Miúdos de frango.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	3 pedaços(60g)	P M G	— — —
	O O O O O O O O O O O O	A		E	— — —

		O	O O O		O O O	—
		O			O	
Fígado bovino.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	1 filé médio (60	P M G		
	O O O O O O O O O O 0	A	g)	E	— — —	
	O	O O O		O O O	—	
		O		O		
LEGUMINOSAS E OVOS	QUANTAS VEZES VOCE COME	UNIDAD E	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO	↙ não escrever aqui ↘	
		1 2 3		O		
		4		1 2 3		
				4		
Feijão roxo, carioca, preto, verde.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	1 concha média	P M G		
	O O O O O O O O O O 0	A	ou	E	— — —	
	O	O O O	4 colheres de	O O O	—	
		O	sopa (90g)	O		
Ovos (cozido, cru, frito).	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	1 unidade média	P M G		
	O O O O O O O O O O 0	A	(60g)	E	— — —	
	O	O O O		O O O	—	
		O		O		
Milho verde, ervilha, vagem (fresco, cong. ou enlatado).	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	2 colheres de	P M G		
	O O O O O O O O O O 0	A	sopa (60g)	E	— — —	
	O	O O O		O O O	—	
		O		O		
ARROZ TUBÉRCULOS	QUANTAS VEZES VOCE COME	UNIDAD E	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO	↙ não escrever aqui ↘	
		1 2 3		O		
		4		1 2 3		
				4		
Arroz branco cozido com óleo e temperos.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	3-4 colheres de	P M G		
	O O O O O O O O O O 0	A	sopa (90g)	E	— — —	
	O	O O O		O O O	—	
		O		O		
Batata frita ou	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	2 colheres de	P M G		

mandioca frita.	O O O O O O O O O O O O O	A	sopa (50g)	E	— — —
		O O O O		O O O	—
		O		O	
Batata, mandioca, inhame - assado/cozido.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	3 pedaços médios(180g)	P M G	— — —
	O O O O O O O O O O O O O	A		E	— — —
		O O O O		O O O	—
		O		O	
Salada de maionese com legumes.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	3 colheres de sopa (90g)	P M G	— — —
	O O O O O O O O O O O O O	A		E	— — —
		O O O O		O O O	—
		O		O	
Batata doce ou abóbora.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	3 pedaços médios ou 1 unidade média (90g)	P M G	— — —
	O O O O O O O O O O O O O	A		E	— — —
		O O O O		O O O	—
		O		O	
Farofa, farinha de mandioca.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	2 colheres de sopa (30g)	P M G	— — —
	O O O O O O O O O O O O O	A		E	— — —
		O O O O		O O O	—
		O		O	
Cuscuz de milho ou com leite, angu, pirão, canjica.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	1 pedaço médio (135g)	P M G	— — —
	O O O O O O O O O O O O O	A		E	— — —
		O O O O		O O O	—
		O		O	
LEITE DERIVADOS, CEREAIS MATINAIS	QUANTAS VEZES VOCE COME	UNIDA DE	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO	↙ não escrever aqui ↘
		1 2 3 4		O 1 2 3 4	
Leite. Tipo: () integral () desnat. () semidesnat.	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	1 copo (150 ml)	P M G	— — —
	O O O O O O O O O O O O O	A		E	— — —
		O O O O		O O O	—
		O		O	
Açúcar adicionado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 1	D S M	3 colheres de	P M G	

ao leite. () N () E	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	A <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	chá (12g)	E <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	— — — —
Neston, aveia.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1,5 colher de sopa (18g)	P M G E <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	— — — —
Iogurte ou coalhada tipo: () natural () com frutas	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 copo americano (165ml)	P M G E <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	— — — —
Vitamina de leite ou leite batido com fruta.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 copo (150 ml)	P M G E <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	— — — —
Queijo minas ou ricota, requeijão light. () N () E	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 fatia peq. ou 1 colher de sopa rasa (20g)	P M G E <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	— — — —
Queijo coalho, mant. prato, mussa, requeijão. () N () E	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	2 fatias médias ou 1 colher de sopa (30g)	P M G E <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	— — — —
VEGETAIS	QUANTAS VEZES VOCE COME											UNIDA DE 1 2 3 4	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO <input type="checkbox"/> 1 2 3 4	↙ não escrever aqui ↘		
Alface.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	3 folhas médias (30g)	P M G E <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	— — — —
Tomate cru.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 unidade	P M G	

	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A	pequena ou	E	—	—	—				
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	4 fatias (70g)	O	O	O	—				
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O		O							
Couve, espinafre, cozido.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	3 colheres de	P	M	G				
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	sopa (60g)	E				—	—	—
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O		O	O	O	—				
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O		O							
Beterraba, crua ou cozida.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	4 fatias ou 2,5	P	M	G				
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	colheres de sopa	E				—	—	—
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	(50g)	O	O	O	—				
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O		O							
Cenoura crua ou cozida.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	2 fatias ou	P	M	G				
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	2 colheres de	E				—	—	—
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	sopa (30g)	O	O	O	—				
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O		O							
Pepino, pimentão.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	2 colheres de	P	M	G				
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	sopa (20g)	E				—	—	—
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O		O	O	O	—				
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O		O							
MOLHOS	QUANTAS VEZES VOCE COME											UNIDA	PORÇÃO	SUA	↙ não escrever aqui ↘							
												DE	MÉDIA	PORÇÃ								
												1	2	3	(M)	O						
												4				1	2	3				
																4						
Óleo, azeite ou vinagre em saladas.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	3 colheres de	P	M	G				
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	sobremesa (15g)	E				—	—	—
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O		O	O	O	—				
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O		O							
Catchup ou mostarda.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 colher de sopa	P	M	G				
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	(10g)	E				—	—	—
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O		O	O	O	—				
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O		O							
Maionese, molho	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 colher de sopa	P	M	G				

rosê (também em pães).	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			(15g)	E				—	—	—
													O	O	O		O	O	O		—		
													O				O						
FRUTAS E SUCOS	QUANTAS VEZES VOCE COME											UNIDA DE	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO	↙ não escrever aqui ↘								
													1	2	3		O						
													4				1	2	3				
																	4						
Laranja, mexerica.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	2 unid. pequenas (180g)	P	M	G					
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A				E				—	—	—	
												O	O	O		O	O	O		—			
												O				O							
Banana.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 unidade média (60g)	P	M	G					
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A				E				—	—	—	
												O	O	O		O	O	O		—			
												O				O							
Mamão.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 fatia grande ou meio papaya (180g)	P	M	G					
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A				E				—	—	—	
												O	O	O		O	O	O		—			
												O				O							
Maçã.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 unidade média (130g)	P	M	G					
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A				E				—	—	—	
												O	O	O		O	O	O		—			
												O				O							
Melancia, melão.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 fatia média (150 g)	P	M	G					
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A				E				—	—	—	
												O	O	O		O	O	O		—			
												O				O							
Manga (na época).	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 unidade grande (220g)	P	M	G					
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A				E				—	—	—	
												O	O	O		O	O	O		—			
												O				O							
Abacaxi.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	2,5 fatias médias	P	M	G					

	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A	(260g)	E	—	—	—			
													O		O	O	O	—			
													O		O						
Goiaba (na época).	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 unidade	P	M	G			
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			pequena (60g)	E			—	—	—
																O	O	O	—		
																O					
Suco de caju(na época).	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 copo	P	M	G			
()N ()E	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			(200ml)	E			—	—	—
																O	O	O	—		
																O					
Suco de acerola.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 copo	P	M	G			
()N ()E	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			(200ml)	E			—	—	—
																O	O	O	—		
																O					
Suco de laranja natural.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 copo	P	M	G			
()N ()E	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			(200ml)	E			—	—	—
																O	O	O	—		
																O					
Suco natural de outras frutas	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 copo	P	M	G			
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			(200ml)	E			—	—	—
																O	O	O	—		
																O					
PÃES	E	QUANTAS VEZES VOCE										UNIDA	PORÇÃO	SUA	↙ não escrever aqui ↘						
BISCOITOS		COME										DE	MÉDIA	PORÇÃ							
												1	2	3		O					
												4				1	2	3	4		
Pão francês, pão de forma, integral, pão doce, torrada.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 unidade ou 2 fatias (50g)	P	M	G			
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A				E			—	—	—
																O	O	O	—		
																O					
Biscoito salgado,	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	5 a 6 unidades	P	M	G			

Biscoito doce <i>sem recheio.</i>	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A	(30g)	E	—	—	—		
													O		O	O	O	—		
													O		O					
Biscoito doce <i>recheado, amanteigado.</i>	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	3unidades (40g)	P	M	G		
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			E			—	—	—
												O	O	O	O	O	O	—		
												O			O					
Margarina passada no pão () comum () light.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	2 pontas de faca (5g)	P	M	G		
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			E			—	—	—
												O	O	O	O	O	O	—		
												O			O					
Manteiga passada no pão.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	2 pontas de faca (5g)	P	M	G		
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			E			—	—	—
												O	O	O	O	O	O	—		
												O			O					
BEBIDAS	QUANTAS VEZES VOCE COME											UNIDA DE	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃ O	↙ não escrever aqui ↘					
												1	2	3						
												4								
Cerveja.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 lata (350 ml) ou 2 copos americanos	P	M	G		
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			E			—	—	—
												O	O	O	O	O	O	—		
												O			O					
Cachaça, whisky, vodka.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	2 doses (60 ml)	P	M	G		
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			E			—	—	—
												O	O	O	O	O	O	—		
												O			O					
Vinho.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	2 cálices de vinho ou um copo (120 ml)	P	M	G		
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			E			—	—	—
												O	O	O	O	O	O	—		
												O			O					
Café com açúcar.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 xícara de chá	P	M	G		

() N () E	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			grande	E	—	—	—			
													O	O	O	(200 ml)	O	O	O	—			
													O				O						
Café sem açúcar.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 xícara de chá	P	M	G					
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			grande	E			—	—	—		
															(200 ml)	O	O	O	—				
																O							
Adoçante artificial.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	3 a 4 gotas ou 1	P	M	G					
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			envelope	E			—	—	—		
															(0,8g)	O	O	O	—				
																O							
DOCES, SOBREMESAS E APERITIVOS	QUANTAS VEZES VOCE COME											UNIDA DE	PORÇÃO MÉDIA (M)	SUA PORÇÃO	↙ não escrever aqui ↘								
												1	2	3			O	1	2	3			
												4						4					
Chocolates, bombons, brigadeiro. () N () E	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	2 unidades ou 1	P	M	G					
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			barra (30g)	E			—	—	—		
																O	O	O	—				
																O							
Doces de frutas. () N () E	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 pedaço médio	P	M	G					
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			(60g)	E			—	—	—		
																O	O	O	—				
																O							
Bolos e tortas. () N () E	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 fatia média	P	M	G					
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			(50g)	E			—	—	—		
																O	O	O	—				
																O							
Sorvete. () N () E	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	2 picolés ou 1	P	M	G					
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A			taça (2 bolas)	E			—	—	—		
															(120g)	O	O	O	—				
																O							
Doce de abóbora ou	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 pedaço	P	M	G					

goiabada (em lata ou caseiro. ()N ()E	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A		pequeno (35g)	E		—	—	—	
													O	O	O	O	O	O	—		
													O			O					
Pipoca, salgadinhos, chips, torresmo.	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 porção (45g)	P	M	G			
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A				E			—	—	—
												O	O	O		O	O	O	—		
												O				O					
Refrigerantes. Tipo: () não-dietéticos () dietéticos ()N ()E . Usa canudo ()	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	D	S	M	1 copo de 200 ml	P	M	G			
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	A				E			—	—	—
												O	O	O		O	O	O	—		
												O				O					

Quando você come carne bovina ou de porco, você costuma comer a gordura visível?

(1) nunca ou raramente (2) algumas vezes (3) sempre (9) não sabe

Quando você come carne de frango ou peru, você costuma comer a pele?

(1) nunca ou raramente (2) algumas vezes (3) sempre (9) não sabe

Condimentos comprados por mês (quantidade):

Óleo de soja (ml)

Vinagre (ml)

Sal (kg)

Açúcar (kg)

↙ não escrever

Por favor, liste qualquer outro alimento ou preparação importante que você costuma comer ou beber pelo menos UMA VEZ POR SEMANA que não foram citados aqui (por exemplo: fibrax, leite-de-coco, outros tipos de carnes, receitas caseiras, creme de leite, leite condensado, gelatina e outros doces etc).

ALIMENTO	FREQUÊNCIA SEMANA	POR	QUANTIDADE CONSUMIDA	COD	CONS

--	--	--	--	--

ARTIGO

**ASSOCIAÇÃO DO PERFIL HEMATOLÓGICO COM OS VALORES SÉRICOS DE
25-HIDROXIVITAMINA D E POLIMORFISMO FOKI EM INDIVÍDUOS
PORTADORES DE FIBROSE CÍSTICA**

PERIÓDICO: Revista de Nutrição

ÁREA: Nutrição

QUALIS: B2

ISSN: 1678-9865

FATOR DE IMPACTO: 0,445

**ASSOCIAÇÃO DO PERFIL HEMATOLÓGICO COM OS VALORES SÉRICOS DE
25-HIDROXIVITAMINA D E POLIMORFISMO FOKI EM INDIVÍDUOS
PORTADORES DE FIBROSE CÍSTICA**

Título abreviado: 25(OH)D e hemoglobina em fibrocísticos

Milena Luana Coelho de Assis¹; Constantino Giovanni Braga Cartaxo²; Maria José de
Carvalho Costa³; Dayanna Joyce Marques Queiroz⁴; Darlene Carmati Persuhn⁵; Maria da
Conceição Rodrigues Gonçalves⁶

¹Especialista. Pós-graduação em Ciências da Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, Campus I, Cidade Universitária, s/n., Castelo Branco, CEP 58051-900, João Pessoa, PB, Brasil.

Telefone: (83) 99679-7720

E-mail para correspondência: milenaluanac@gmail.com

Endereço para correspondência: Rua Maestro Osvaldo Evaristo da Costa, nº 146 / APT 905, Residencial Amazônia, CEP: 58030-218, Bairro dos Estados, João Pessoa, PB, Brasil.

Contribuição: concepção e desenho do estudo, aquisição de dados, análise e interpretação dos dados, elaboração do artigo.

²Doutor. Departamento de Pediatria e Genética, Centro de Ciências Médicas, Universidade Federal da Paraíba.

Telefone: (83) 99954-0702

E-mail para correspondência: constancartaxo@gmail.com

Contribuição: concepção e desenho do estudo, análise e interpretação dos dados, elaboração do artigo, revisão e aprovação da versão final do artigo para submissão.

³Doutora. Pós-graduação em Ciências da Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba.

Telefone: (83) 98753-3355

E-mail para correspondência: mjc.costa@terra.com.br

Contribuição: concepção e desenho do estudo, análise e interpretação dos dados, elaboração do artigo, revisão e aprovação da versão final do artigo para submissão.

⁴Mestre. Pós-graduação em Ciências da Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba.

Telefone: (83) 99629-6511

E-mail para correspondência: dayannajoyse@hotmail.com

Contribuição: aquisição de dados, análise e interpretação dos dados, revisão e aprovação da versão final do artigo para submissão.

⁵Doutora. Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba.

Telefone: (83) 9942-3268

E-mail para correspondência: darlenecp@hotmail.com

Contribuição: concepção e desenho do estudo, análise e interpretação dos dados, elaboração do artigo, revisão e aprovação da versão final do artigo para submissão.

⁶Doutora. Pós-graduação em Ciências da Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba.

Telefone: (83) 98844-6602

E-mail para correspondência: raulceica@ig.com.br

Contribuição: concepção e desenho do estudo, análise e interpretação dos dados, elaboração do artigo, revisão e aprovação da versão final do artigo para submissão.

Categoria: Artigo original

Área temática: Nutrição Clínica

Número total de ilustrações: 4

Dados oriundos de uma dissertação.

Título / autoria / universidade / ano de conclusão da dissertação: Prevalência da insuficiência/deficiência de vitamina D em pacientes portadores de fibrose cística: associação com o perfil inflamatório e polimorfismo FokI do gene VDR / Milena Luana Coelho de Assis / Universidade Federal da Paraíba / 2017.

REGISTRO NO ORCID: ORCID.ORG/0000-0002-8000-0806

RESUMO

Objetivo: Investigar a associação do perfil hematológico com os valores séricos de 25-hidroxitamina D e polimorfismo FokI do gene receptor da vitamina D de indivíduos portadores de fibrose cística acompanhados em um centro de referência do Nordeste Brasileiro. **Métodos:** Estudo transversal, realizado com 18 indivíduos portadores de fibrose cística, de ambos os sexos, com idades entre 0-25 anos. Foram coletadas informações sócio demográficas e fatores associados à exposição solar. Também foram aferidas medidas antropométricas de peso, altura e circunferência do braço. Sangue foi coletado para análise dos parâmetros bioquímicos (25-hidroxitamina D, paratormônio, cálcio e hemograma) e para verificar a presença do polimorfismo FokI do gene receptor da vitamina D. **Resultados:** A maioria dos participantes era do sexo masculino (55,6%). Da amostra total, 33,33% (n=6) apresentou insuficiência/deficiência de vitamina D (19.60 ± 6.180 ng/ml) e 27,8% (n=5) anemia e baixo peso para a idade. No tocante aos genótipos, 5,6% (n=1) apresentou genótipo FF, 72,3% (n=13) apresentou genótipo Ff e 22,2% (n=4) apresentou genótipo ff. Houve associação entre os valores séricos de 25-hidroxitamina D com os de hemoglobina ($p=0.008$), hematócrito ($p=0.019$) e leucócitos ($p=0.0114$). Não houve associação entre os valores de 25-hidroxitamina D e os genótipos (FF, Ff e ff) ($p=0.2451$). Além disso, houve associação entre o polimorfismo FokI e a contagem total de leucócitos ($p=0.01$). **Conclusão:** O presente estudo encontrou associação entre os valores séricos de 25-hidroxitamina D e os de hemoglobina, hematócrito e leucócitos nos indivíduos analisados. Além disso, encontrou-se associação do polimorfismo FokI com a contagem total de leucócitos.

Palavras-chave: Fibrose Cística. Hemoglobina. Vitamina D. Polimorfismo.

ABSTRACT

Aim: To investigate the association of the hematological profile with serum 25-hydroxyvitamin D and Fok-I polymorphism of the vitamin D receptor gene in individuals with cystic fibrosis followed at a reference center in northeastern Brazil. **Methods:** A cross-sectional study was performed with 18 individuals aged 0-25 years with cystic fibrosis of both sexes. Socio-demographic information and factors associated with sun exposure were collected. Anthropometric measures of weight, height and arm circumference were also collected. Blood was collected for analysis of biochemical parameters (25-hydroxyvitamin D, parathyroid hormone, calcium and blood count) and to verify the presence of Fok-I polymorphism of the vitamin D receptor gene. **Results:** The majority of participants were male (55.6%). Of the total sample, 33.33% (n = 6) had vitamin D insufficiency / deficiency (19.60 ± 6.180 ng / ml) and 27.8% (n = 5) anemia and low weight for age. Regarding genotype, 5.6% (n = 1) presented FF genotype, 72.3% (n = 13) had Ff genotype and 22.2% (n = 4) had ff genotype. Serum 25-hydroxyvitamin D levels were associated with hemoglobin (p = 0.008), hematocrit (p = 0.019), and leukocytes (p = 0.0114). There was no association between 25-hydroxyvitamin D values and genotypes (FF, Ff and ff) (p = 0.2451). In addition, there was an association between Fok-I polymorphism and total leukocyte count (p = 0.01). **Conclusion:** The present study found an association between serum of 25-hydroxyvitamin D levels and those of hemoglobin, hematocrit and leukocytes in the individuals analyzed. In addition, association between Fok-I polymorphism and total leukocyte count was found.

Keywords: Cystic fibrosis. Hemoglobin. Vitamin D. Polymorphism.

INTRODUÇÃO

Fibrose cística (FC) é uma doença autossômica recessiva, letal, mais comum em brancos, causada por mutações no gene Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR). A disfunção deste canal conduz a alterações na viscosidade, volume e concentração de sal nos fluidos corporais, levando à formação de secreção espessa, que impede a hidratação das vias aéreas e forma um ambiente favorável à colonização bacteriana, inflamação crônica e eventual insuficiência respiratória. Cerca de 90% dos pacientes apresentam também insuficiência pancreática, resultando em má absorção e risco de deficiência de vitaminas lipossolúveis, incluindo a vitamina D^{1,2,3}.

A incidência da doença varia de acordo com a etnia, de 1/1800 a 1/5000 em caucasianos nascidos vivos na Europa, nos estados Unidos e no Canadá, 1/14000 nos afro-americanos e 1/40000 na Finlândia. É considerada uma doença rara entre asiáticos e africanos. No Brasil, a incidência é de aproximadamente 1/7000, sujeita a variações regionais¹.

Nas últimas décadas, a mediana de sobrevida destes indivíduos aumentou de 10-12 anos para mais de 37 anos de idade, sendo um dos principais fatores contribuintes a compreensão do papel da nutrição no estado de saúde geral destes indivíduos⁴.

A anemia é um problema nutricional comum em saúde pública, que resulta em fadiga, dispneia de ar e diminuição da capacidade física e, se for suficientemente grave, em morbidade e mortalidade cardiovascular⁵. Em pacientes adultos com FC, a deficiência de ferro é comum e principalmente funcional, devido à inflamação crônica⁶. Já em crianças com FC, a anemia pode ser devida à desnutrição ou eritropoiese inadequada, ou ambos².

A vitamina D é mais comumente associada à má formação óssea. Contudo, seu papel na saúde continua a ser definida, particularmente em termos de funções extra-esqueléticas. Recentemente a vitamina D tem sido associada a vários outros estados de doença, incluindo hipertensão, diabetes mellitus, doenças cardiovasculares, câncer e doença pulmonar obstrutiva crônica, e implicada em uma ampla gama de ações biológicas, incluindo fortalecimento muscular, proliferação e diferenciação celular e modulação do sistema imunológico. Sua associação com a anemia tem sido sugerida nos últimos anos, indicando seu papel na homeostase do ferro e na eritropoiese^{3,5,7}. A insuficiência de vitamina D tem demonstrado estar associada a uma maior prevalência de anemia através dos ciclos da vida, desde crianças até adultos saudáveis e idosos⁸.

A descoberta de que a maioria dos tecidos do corpo e as células abrigam receptores de vitamina D e que vários destes tecidos possuem o equipamento enzimático para converter a

forma primária da vitamina D em circulação em sua forma ativa, proporcionou novos conhecimentos sobre a função deste hormônio esteróide⁹. Além disso, a concentração de 1,25 – hidroxivitamina D é centenas de vezes maior na medula óssea em comparação com o plasma. Estes novos *insights* sobre as funções biológicas da vitamina D levaram ao interesse pelas consequências clínicas da sua deficiência e reforçam a hipótese de que existe uma relação entre vitamina D e hemoglobina e que este fenômeno pode ser influenciado por polimorfismos no gene receptor da vitamina D (VDR)^{10,11}. Atualmente, esses polimorfismos têm sido associados à insuficiência renal, diabetes, hipertensão e doenças autoimunes¹².

Estudos têm indicado a existência de vários SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) no gene do VDR. Vários destes polimorfismos foram descritos como sendo capazes de alterar a atividade da proteína VDR¹³. Os mais frequentemente observados estão entre os éxons 8 e 9, tais como ApaI, BsmI e TaqI; e o FokI, localizado no éxon 2¹⁴.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo investigar a associação do perfil hematológico com os valores séricos de 25-hidroxivitamina D e polimorfismo FokI do gene receptor da vitamina D de indivíduos portadores de fibrose cística acompanhados em um centro de referência do Nordeste Brasileiro.

MÉTODOS

Características e desenho do estudo

Este estudo observacional, do tipo transversal, incluiu uma amostra não probabilística, por conveniência, de 22 pacientes portadores de FC, de ambos os sexos, com idades entre 0 e 25 anos, acompanhados no Ambulatório de Pediatria do Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW) / Universidade Federal da Paraíba (UFPB), na cidade de João Pessoa (PB), cujos pacientes ou responsáveis tenham assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, ou pacientes com idades entre 12 e 18 anos tenham assinado o Termo de Assentimento. Os dados foram coletados entre maio e setembro de 2016. Na região do estudo, as quatro estações do ano não estão bem definidas, uma vez que a região tem características de verão durante todo o ano, com alguns meses com mais chuva e dias nublados, com temperaturas entre 23° a 34°C.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba, sob CAAE 52248815.9.0000.5183. Os

procedimentos do estudo obedeceram à Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde / Ministério da Saúde.

Inicialmente, os participantes ou responsáveis responderam a um questionário, onde foram abordados dados pessoais gerais (Nome, data de nascimento, renda familiar e grau de escolaridade do responsável), fototipo da pele e tempo médio de exposição ao sol, uso de produtos farmacêuticos e vestimentas. O questionário foi aplicado por pesquisadores treinados.

O estado nutricional foi avaliado através dos indicadores Índice de Massa Corporal (IMC)/idade e Circunferência do Braço (CB). A avaliação nutricional do IMC foi dada pela divisão do peso pelo quadrado da altura. Circunferência do braço foi medida com o auxílio de uma trena antropométrica inelástica. A medição foi feita no ponto médio entre o acrômio e o olécrano¹⁵. O Índice de Massa Corporal foi classificado de acordo com as curvas da OMS-2006 e OMS-2007¹⁶, para pacientes menores de 5 anos. Para a classificação dos pacientes maiores de 18 anos, foram utilizados os valores propostos pela *World Health Organization*¹⁷. Como referência para classificação da CB foi utilizada a tabela percentilar proposta por Frisancho¹⁸.

Avaliação Bioquímica

Para a avaliação bioquímica, os participantes foram instruídos a um jejum de 12 horas. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do HULW/UFPB, em João Pessoa. Para análise de cálcio e hemograma foram utilizados kits comerciais da Wiener, de acordo com as instruções do fabricante, utilizando o analisador CMD 800i (Argentina), da marca Wiener ou o XN1000, da marca Sysmex (Brasil). Os valores de referência adotados foram os recomendados pelo fabricante. Paratormônio e 25(OH) D foram determinados por quimioluminescência, utilizando o equipamento Architect i2000, da marca Abbott.

A concentração sérica de 25 (OH) D foi classificada como recomendado pela *Endocrine Society*, que considera a insuficiência como uma concentração entre 20 e 29 ng / mL (50 a 75 nmol / L) e a deficiência como níveis de 25 (OH) D abaixo de 20 ng / mL (50 nmol / L)¹⁹. O valor de referência estipulado para o cálcio foi de 8,8 a 11,0 mg/dl, e para o PTH foram de 15,0 a 68,3 pg/ml. O ponto de corte utilizado para diagnóstico de anemia foi de 12ng/dl.

Determinação do genótipo FokI do gene VDR

Para isolamento de DNA foram coletados 4ml de sangue total, obtido através de punção venosa em tubos estéreis contendo 7,2 mg de K3EDTA. A extração de DNA genômico foi realizada conforme metodologia estudo prévio²⁰.

Os genótipos foram determinados por PCR-RFLP. Foram utilizados os iniciadores: 5' - A G C T G G C C C T G G C A C T G A C T C T G C T C T - 3' (sense) e 5' - A T G G A A A C A C C T T G C T T C T T C T C C C T C - 3' (antisense) e a amplificação ocorreu nas seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C durante 5 minutos, 35 ciclos de desnaturação (30 segundos à 94°C), anelamento (30 segundos à 60°C) e extensão (30 segundos à 72°C) com uma etapa extra de extensão final de 10 minutos. O produto de 265 pb foi digerido com *FokI*, que reconhece e cliva o alelo polimórfico f, gerando dois fragmentos (196 pb e outro de 69 pb), enquanto o alelo ancestral F permanece com 265 pb. Os genótipos foram analisados através de eletroforese em gel de poliacrilamida 10% e coloração com nitrato de prata 0,5%²¹.

Análise estatística

Os dados foram expressos em porcentagem, média e desvio padrão da média. Todos os dados foram testados quanto à normalidade e homogeneidade pelo teste de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. As diferenças entre os grupos foram testadas pelo Teste t de Student independente ou seu correspondente não-paramétrico, o teste de Mann-Whitney. Análise Bivariada testou as associações estatísticas entre as variáveis sanguíneas e a 25-hidroxitamina D dos grupos insuficientes/deficientes e suficientes, através do Teste do Qui-quadrado de Spearman e Correlação de Pearson. O Teste do Qui-quadrado de Spearman foi usado para verificar a influência do alelo dominante (F). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando os softwares Instat e SPSS versão 21, adotando-se nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Do total de 22 indivíduos previstos para a pesquisa, foram analisados 18 em virtude da perda de 18,2% (n = 4) da amostra, decorrente de problemas relacionados à coleta dos dados ou recusa em participar da pesquisa. Não foram encontradas alterações bioquímicas que

indicassem insuficiência hepática ou renal nos indivíduos analisados. Também não foi detectada a presença de doença crônica que altere o metabolismo da vitamina D.

A amostra foi constituída por indivíduos com idade média de $10,61 \pm 6,57$ anos, sendo composta por 55,6% (n=10) de indivíduos do sexo masculino e 44,4% (n=8) do sexo feminino. Tabela 1. Os valores séricos médios de 25(OH) D da população geral se apresentaram dentro do parâmetro de normalidade (média de $34,63 \pm 13,768$ ng/dl), com 33,33% (n=6) apresentando valores inferiores a 30ng/dl. Tabela 2. No tocante aos genótipos, 5,6% (n=1) apresentou genótipo FF, 72,3% (n=13) apresentou genótipo Ff e 22,2% (n=4) apresentou genótipo ff. Além disso, a amostra apresentou uma prevalência de 27,8% (n=5) de anemia e de baixo peso para a idade. Dados não apresentados.

Indivíduos com insuficiência/deficiência de vitamina D apresentaram menores valores séricos de hemoglobina ($p=0,008$) e hematócrito ($p=0,019$) quando comparados ao grupo de indivíduos suficientes, e estes valores foram positivamente correlacionados com os valores de 25-hidroxivitamina D (0.592 e 0.512, respectivamente). Além disso, estes indivíduos apresentaram maior contagem de leucócitos ($p=0,0114$).

Com base na análise utilizada observou-se ainda que não houve associação entre os genótipos (FF, Ff e ff) e a 25-hidroxivitamina D ($p=0,2451$) (Tabela 4). Houve associação dos genótipos FF/Ff com a contagem total de leucócitos ($p=0,01$).

DISCUSSÃO

Estudos não foram realizados relatando a associação do perfil hematológico com os valores séricos de 25-hidroxivitamina D e polimorfismo FokI do gene VDR em indivíduos com fibrose cística, o que torna o presente estudo inédito. Além disso, por ser uma doença rara, a amostra de 18 pacientes torna-se representativa, e os resultados encontrados tornam-se relevantes.

Com base nos dados do presente estudo, houve associação entre os valores séricos de 25-hidroxivitamina D e os de hemoglobina ($p=0,008$), hematócrito ($p=0,019$) e contagem total de leucócitos ($p=0,0114$). Indivíduos insuficientes/deficientes em 25-hidroxivitamina D apresentaram valores séricos menores de hemoglobina e hematócrito e maior contagem total de leucócitos quando comparados ao grupo de indivíduos suficientes. Além disso, não foi encontrada correlação entre os genótipos (FF, Ff e ff) e os valores séricos de 25-hidroxivitamina D ($p=0,2451$).

Resultados semelhantes foram encontrados na literatura²². Ao examinarem as interrelações entre o ferro e a vitamina D e seus hormônios em adolescentes grávidas, Thomas *et al*²³ observaram que a 25-hidroxivitamina D materna foi positivamente associada à hemoglobina materna no início da gestação, bem como no parto ($p < 0.01$ para ambos). Além disso, a 25-hidroxivitamina D materna foi inversamente associada com a eritropoietina no início da gestação ($p < 0.05$) e no parto ($p < 0.001$).

Mais recentemente, Silva *et al*²⁴, ao investigarem a associação do perfil hematológico com os níveis séricos de 25-hidroxivitamina D e polimorfismo BsmI do gene vitamina D receptor de idosos não institucionalizados, demonstraram que a deficiência de vitamina D está associada a baixos valores de hemoglobina na população estudada. A influência do estado nutricional sobre a anemia foi avaliada neste grupo, não sendo observada nenhuma relação, o que fortalece a associação da vitamina D com os valores da hemoglobina.

Nos últimos anos a atenção científica tem-se centrado nas associações da vitamina D com múltiplas doenças crônicas e degenerativas. Estes efeitos têm sido atribuídos principalmente para as ações imunomoduladoras e antiinflamatórias da vitamina D. As células envolvidas nestes processos expressam o Receptor da Vitamina D (VDR) e podem produzir e responder a sua forma ativa²⁵.

Ao avaliar a associação dos níveis séricos de 25-hidroxivitamina D com biomarcadores de estresse oxidativo, inflamação e ativação endotelial em crianças obesas, pesquisadores encontraram concentrações séricas insuficientes de 25(OH)D (< 20 ng/ml) em 5% das crianças do grupo controle e em 30% das crianças obesas. Além disso, nas crianças obesas com insuficiência de vitamina D, as concentrações dos marcadores inflamatórios foram substancialmente elevadas²⁶.

Estudiosos têm demonstrado que polimorfismos do gene receptor da vitamina D afetam a atividade da sua proteína codificadora e, conseqüentemente, os efeitos metabólicos mediados pela vitamina D. O polimorfismo FokI tem sido associado ao aumento da susceptibilidade ao câncer gástrico, de próstata, fígado e mama^{27,28,29,30,31}. Também tem sido associado à massa óssea e componentes da síndrome metabólica^{32,13}.

Bhanushali *et al*³³ encontraram correlação entre os valores séricos de 25-hidroxivitamina D ($p < 0,05$) e TaqI, mas não com FokI ($p > 0,05$) em indivíduos indianos saudáveis.

Por outro lado, contrapondo-se aos resultados do estudo mencionado, Mackawy & Badawi¹³, ao investigarem o papel da vitamina D na inflamação crônica e resistência à insulina em indivíduos egípcios com Diabetes tipo 2 (DM2), com ou sem Síndrome

Metabólica (SM), observaram que o polimorfismo FokI está associado aos valores séricos de 25-hidroxivitamina D nos indivíduos com DM2, com ou sem SM.

Não foram encontrados estudos prévios que avaliassem a associação do polimorfismo FokI do gene VDR com o estado inflamatório em indivíduos portadores de fibrose cística, como foi o caso do presente estudo, onde pôde-se demonstrar que os indivíduos portadores do polimorfismo FokI do gene VDR apresentaram estado inflamatório aumentado, observado através do aumento da contagem total de leucócitos.

No presente estudo apenas um polimorfismo do gene VDR foi analisado, sendo necessários outros estudos que investiguem a influência de outros polimorfismos no perfil hematológico e no metabolismo da 25-hidroxivitamina D nesta população. Além disso, como foi um estudo transversal, não é possível determinar uma relação causal entre polimorfismo FokI e contagem total de leucócitos, bem como dos valores séricos de 25-hidroxivitamina D e valores de hemoglobina, hematócrito e contagem total de leucócitos.

Apesar de trazer dados relevantes para a literatura, este estudo possui como limitação o tamanho reduzido da amostra. Entretanto, ainda assim forneceu resultados inéditos ao observar as associações propostas, sugerindo que o mesmo seja reproduzível em amostras com tamanhos maiores, em pacientes fibrocísticos.

CONCLUSÕES

As evidências sugerem que a vitamina D desempenhe um papel na regulação da resposta imunológica. No presente estudo a insuficiência/deficiência de 25-hidroxivitamina D se associou com os valores séricos de hemoglobina, hematócrito e contagem total de leucócitos nos indivíduos analisados. Além disso, encontrou-se associação do polimorfismo FokI com a contagem total de leucócitos.

REFERÊNCIAS

1. Haack A, Aragão GG, Novaes MR. Pathophysiology of cystic fibrosis and drugs used in associated digestive tract diseases. *World J Gastroenterol* 2013; 19:8552-61. doi: 10.3748/wjg.v19.i46.8552
2. Woestenenk JW, Castelijns SJAM, Van der Ent CK, Houwen RHJ. Dietary intake in children and adolescents with cystic fibrosis. *Clin Nutr.* 2014; 33: 528-32. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2013.07.011>
3. Sexauer WP, Hadeh A, Ohman-Strickland PA, Zanni RL, Varlotta L, Holsclaw D, et al. Vitamin D deficiency is associated with pulmonary dysfunction in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2015; 14: 497-506. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2014.12.006>
4. Engelen MPKJ, Schroder R, Van der Hoorn K, Deutz NEP, Com G. Use of body mass index percentile to identify fat-free mass depletion in children with cystic fibrosis. *Clin Nutr* 2012; 31: 927-33. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2012.04.012>
5. Smith EM, Tangpricha V. Vitamin D and anemia: insights into an emerging Association. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2015; 22: 432–38. doi: 10.1097/MED.0000000000000199
6. Uijterschout L, Nuijsink M, Hendriks D, Vos R, Brus F. Iron Deficiency Occurs Frequently in Children With Cystic Fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2014; 49:458–62. doi: 10.1002/ppul.22857
7. Sim JJ, Lac PT, Liu ILA, Meguerditchian SO, Kumar VA, Kujubu DA, et al. Vitamin D deficiency and anemia: a cross-sectional study. *Ann Hematol* 2010; 89:447–52. doi: 10.1007/s00277-009-0850-3
8. Thomas CE, Guillet R, Queenan RA, Cooper EM, Kent TR, Pressman, et al. Vitamin D status is inversely associated with anemia and serum erythropoietin during pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2015; 102: 1088-95. doi: <http://ajcn.nutrition.org/content/suppl/2015/10/07/ajcn.115.116756.DCSupplemental.html>
9. Cabral MA, Borges CN, Maia JMC, Aires CAM, Bandeira F. Prevalence of vitamin D deficiency during the summer and its relationship with sun exposure and skin phototype in elderly men living in the tropics. *J Clin Interventions Aging* 2013; 8: 1347-51. doi: <http://dx.doi.org/10.2147/CIA.S47058>
10. Sezer S, Tatal E, Bilgic A, Ozdemir FN, Haberal M. Possible Influence of Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms on Recombinant Human Erythropoietin Requirements in

- Dialysis Patients. *Transplant Proc* 2007; 39 (1): 40 – 4. doi: 10.1016/j.transproceed.2006.10.214.
11. Amato M, Pacini S, Aterini S, Punzi T, Gulisano M, Ruggiero M. Iron Indices and Vitamin D Receptor Polymorphisms in Hemodialysis Patients. *Advances Chron Kidney Dis* 2008; 15(2): 186-90. doi: 10.1053/j.ackd.2008.01.013.
12. Perlstein TS, Pande R, Berliner N, Vanasse GJ. Prevalence of 25-hydroxyvitamin D deficiency in subgroups of elderly persons with anemia: association with anemia of inflammation. *Blood* 2011; 117 (10): 2800-06. doi: 10.1182/blood-2010-09-309708.
13. Mackawy AMH, Badawi MEH. Association of vitamin D and vitamin D receptor gene polymorphisms with chronic inflammation, insulin resistance and metabolic syndrome components in type 2 diabetic Egyptian patients. *Meta Gene* 2014; 540:56, <http://dx.doi.org/10.1016/j.mgene.2014.07.002>
14. Schuch NJ, Garcia VC, Vívoló SR, Martini LA. Relationship between Vitamin D Receptor gene polymorphisms and the components of metabolic syndrome. *Nutr. J* 2013; 12 (96): 1-7. doi: 10.1186/1475-2891-12-96
15. Cuppari L, Schor N. *Guia de Nutrição: Nutrição Clínica no Adulto*. 1ª ed. Barueri: Manole; 2002.
16. Ministério da Saúde. *Coordenação Geral de Alimentação e nutrição. SISVAN (Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional)*. 2010.
17. World Health Organization. *Physical status: The use and interpretation of anthropometry*. Geneva: WHO; 1995.
18. Frisancho AR. *Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status*, 1990.
19. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(7): 1911- 30. doi: <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2011-0385>
20. Miller AS, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16(3): 1215.
21. Chiu KC, Chuang LM, Yoon C. The vitamin D receptor polymorphism in the translation initiation codon is a risk factor for insulin resistance in glucose tolerant Caucasians. *BMC Med Genetics* 2001; 2: 2. doi: <http://www.biomedcentral.com/1471-2350/2/2>
22. Sakka ASE, Imam SS, Amer HÁ, Moustafa AS. Vitamin D deficiency and low hemoglobin level as risk factors for severity of acute lower respiratory tract infections in

- Egyptian children: A case-control study. *Egyptian Pediatric Association Gazette* 2014; 62(1): 1-7.
23. Thomas CE, Guillet R, Queenan RA, Cooper EM, Kent TR, Pressman EK et al. Vitamin D status is inversely associated with anemia and serum erythropoietin during pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2015; 102:1088–95.
24. Silva AS, Issa CTM, Queiroz DJM, Persuhn DC, Araújo EPS, Gonçalves MCR. Association of hematology profile with serum 25-hydroxy vitamin D and Bsm1 polymorphism in community-dwelling older adults. *Rev Nutr* 2016; 29(5): 655-64.
25. Angel B et al. FokI polymorphism in vitamin D receptor gene: Differential expression of TNF α in peripheral mononuclear cells of type 2 diabetic subjects. *Meta Gene* 2016; 7: 1-6.
26. Codoñer-Franch P et al. Vitamin D status is linked to biomarkers of oxidative stress, inflammation, and endothelial activation in obese children. *The Journal of Pediatrics* 2012; 161: 848-54.
27. Xu H, Li S, Qiu JQ, Gao XL, Zhang P, Yang YX. The VDR gene FokI polymorphism and ovarian cancer risk. *Tumor Biol* 2013; 34: 3309. doi: 10.1007/s13277-013-0826-8
28. Cong L, Wang W, Liu Qi, Du J. FokI Polymorphism of the Vitamin D Receptor Gene Is Associated with Susceptibility to Gastric Cancer: A Case-Control Study. *Tohoku J. Exp. Med* 2015; 236: 219-24. doi: 10.1620/tjem.236.219
29. Falletti E, Bitetto D, Fabris C, Cussigh A, Fontanini E, Fornasiere E, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and hepatocellular carcinoma in alcoholic cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3016–24. doi: 10.3748/wjg.v16.i24.3016
30. McKay JD, McCullough ML, Ziegler RG, Kraft P, Saltzman BS, Riboli E, et al. Vitamin D receptor polymorphisms and breast cancer risk: results from the National Cancer Institute Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2009; 18: 297–305. doi:10.1158/1055-9965.EPI-08-0539
31. Li H, Stampfer MJ, Hollis JB, Mucci LA, Gaziano JM, Hunter D, et al. A prospective study of plasma vitamin D metabolites, vitamin D receptor polymorphisms, and prostate cancer. *PLoS Med* 2007; 4: e103. doi:10.1371/journal.pmed.0040103
32. Falchetti A, Sferrazza C, Cepollaro C, Gozzini A, Del Monte F, Masi L, et al. FokI Polymorphism of the Vitamin D Receptor Gene Correlates with Parameters of Bone Mass and Turnover in a Female Population of the Italian Island of Lampedusa. *Calcif Tissue Int* 2007; 80: 15-20. doi: 10.1007/s00223-005-0295-1

33. Bhanushali A, Lajpal N, Kulkarni S, Chavan S, Bagadi S, Das B. Frequency of fokI and taqI polymorphism of vitamin D receptor gene in Indian population and its association with 25-hydroxyvitamin D levels. *Indian J Hum Genetics* 2009; 15(3): 108.

TABELAS DO ARTIGO

TABELA 1. Caracterização da amostra e relação entre os valores séricos de 25-hidroxivitamina D e os dados sócio demográficos de indivíduos portadores de fibrose cística. João Pessoa – PB, Brasil, 2016.

VARIÁVEIS	GERAL (n = 18)		25 (OH) D* SUFICIENTES (n = 12)		25 (OH) D** INSUFICIENTES / DEFICIENTES (n = 6)	
	Prevalência	n	Prevalência	n	Prevalência	n
Sexo						
Masculino	55,6%	10	75%	9	16,67%	1
Feminino	44,4%	8	25%	3	83,33%	5
Grau de instrução do responsável						
Analfabeto	-	-	-	-	-	-
1º grau	44,45%	8	58,33%	7	16,67%	1
2º grau	44,45%	8	41,67%	5	50%	3
Graduação	11,10%	2	-	-	33,33%	2
Pós-graduação	-	-	-	-	-	-
Renda familiar						
1 a <5 salários mínimos	88,88%	16	100%	12	66,66%	4
5 a 10 salários mínimos	5,56%	1	-	-	16,67%	1
>10 salários mínimos	5,56%	1	-	-	16,67%	1
Cor da pele						
Muito clara	16,67%	3	-	-	50%	3
Clara	22,22%	4	16,67%	2	33,33%	2
Menos clara	16,67%	3	16,67%	2	16,67%	1
Morena clara	16,67%	3	25%	3	-	-
Morena escura	22,22%	4	33,33%	4	-	-
Negra	5,55%	1	8,33%	1	-	-
	Média / DP		Média / DP		Média / DP	P[†]
Idade (anos)	10,61±6,57		11,03±4,400		9,66±10,13	0,6797
IMC (kg/m²)	15,10±2,13		15,38±2,541		14,63±0,93	0,52
Exposição solar (minutos)	20±19,92		24,54±23,71		11,66±4,02	0,11

Os dados são expressos em média e desvio padrão da média (DP).

25(OH) D = 25-hidroxivitamina D; IMC = Índice de Massa Corporal; PTH = paratormônio.

*25(OH) D ≥ 75nmol/L (30ng/ml)

**25(OH) D < 75nmol/L (30ng/ml)

†Valores de p referentes à comparação entre os grupos, segundo o Teste t de Student independente.

TABELA 2. Variáveis bioquímicas de acordo com os valores séricos de 25-hidroxivitamina D em indivíduos portadores de fibrose cística. João Pessoa – PB, Brasil, 2016.

VARIÁVEIS	GERAL (n = 18)	25 (OH) D* SUFICIENTES (n = 12)	IC95%	25 (OH) D** INSUFICIENTE S/ DEFICIENTES (n = 6)	IC95%	TESTE t
	Média / DP	Média / DP		Média / DP		P [†]
25(OH) D	34.63±13.768	42.15±9.53	36.09-48.02	19.60±6.18	13.11-26.08	<0.0001
PTH	41.1±17.717	42.38±18.25	30.78-53.98	38.53±17.96	19.68-57.38	0.6772
CÁLCIO	9.87±0.6097	10.08±0.31	9.87-10.29	9.47±0.83	8.59-10.34	0.2161
HEMOGLOBINA	12.91±1.602	13.56±1.26	12.76-14.36	11.53±1.44	10.06-13.09	0.008
HEMATÓCRITO	39.09±4.700	40.85±3.84	38.40-43.29	35.56±4.49	30.84-40.28	0.019
LEUCÓCITOS	10.286,11±3.847,8	8.790,8±2.556,2	7.166,7-10.415	13.277±4.457,1	8.598,4-17.955	0.0114

Os dados são expressos em média e desvio padrão da média (DP).

25(OH) D = 25-hidroxivitamina D; PTH = paratormônio.

*25(OH) D ≥ 75nmol/L (30ng/ml)

**25(OH) D < 75nmol/L (30ng/ml)

†Valores de p referentes à comparação entre os grupos, segundo o Teste t de Student independente.

TABELA 3. Variáveis bioquímicas de acordo com distribuição alélica do polimorfismo FokI do gene VDR em indivíduos portadores de fibrose cística. João Pessoa – PB, Brasil, 2016.

VARIÁVEIS	GENÓTIPOS FF / Ff (n=14)	IC95%	GENÓTIPO ff (n=4)	IC95%	TESTE t
	Média / DP		Média / DP		P [†]
25(OH) D	32.35±14.02	24.26-40.45	42.60±10.62	25.71-59.49	0.19
PTH	37.60±13.10	30.03-45.12	53.35±27.80	8.99-97.72	0.11
CÁLCIO	9.778±0.61	9.42-10.13	10.19±0.40	9.55-10.83	0.27
HEMOGLOBINA	12.59±1.30	11.82-13.33	14.05±2.21	10.53-17.57	0.10
HEMATÓCRITO	38.54±4.11	36.16-40.91	41.00±6.75	30.24-51.75	0.37
LEUCÓCITOS	11.428±3.560,4	9.372,5-13.483	6.290±1.262,7	4.281,1-8.298,9	0.01

Os dados são expressos em média e desvio padrão da média (DP).

25(OH) D = 25-hidroxivitamina D; PTH = paratormônio.

*25(OH) D ≥ 75nmol/L (30ng/ml)

**25(OH) D < 75nmol/L (30ng/ml)

†Valores de p referentes à comparação entre os grupos, segundo o Teste t de Student independente.

TABELA 4 – Associação dos genótipos com os valores séricos de 25-hidroxivitamina D em indivíduos portadores de fibrose cística. João Pessoa – PB, Brasil, 2016.

	25(OH) D					
	Suficientes* (n=12)	Insuficientes/deficientes** (n=6)	Geral (18)	OR	IC95%	P
Genótipos FF/Ff	44 % (8)	33% (6)	78 % (14)	0,1453	0,0065-3.212	0,2451
Genótipo ff	22 % (4)	0	22 % (4)			

OR = *Odds Ratio*; IC95% = Intervalo de Confiança 95%; p = valor de p segundo o teste do Qui-Quadrado.

25(OH) D = 25-hidroxivitamina D.

*25(OH) D \geq 75nmol/L (30ng/ml)

**25(OH) D < 75nmol/L (30ng/ml)

OUTROS RESULTADOS

Tabela 1 – Distribuição da frequência de consumo de alimentos fontes de vitamina D.

ALIMENTO	FREQUÊNCIA DE CONSUMO				
	NUNCA	RARAMENTE	ÀS VEZES	FREQUENTEMENTE	DIARIAMENTE
PEIXE FRITO	31,25%	43,75%	12,5%	0%	0%
PEIXE COZIDO	43,75%	50%	18,75%	0%	0%
FÍGADO	25%	37,5%	31,75%	6,25%	0%
OVO	12,5%	25%	25%	6,25%	31,25%
LEITE	0%	0%	0%	0%	100%