

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO**

Letícia Cristina Radin Pereira

**RESPOSTA INFLAMATÓRIA, ESTADO NUTRICIONAL E  
FUNÇÃO PULMONAR EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES  
COM FIBROSE CÍSTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Emilia Addison Machado Moreira, Dr<sup>a</sup>.

Florianópolis  
2012

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC

Pereira, Letícia Cristina Radin

Resposta inflamatória, estado nutricional e função pulmonar em crianças e adolescentes com fibrose cística

[dissertação] / Letícia Cristina Radin Pereira; orientadora, Emilia Addison Machado Moreira - Florianópolis, SC, 2012.

145 p. ; 21cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Nutrição.

Inclui referências

1. Nutrição. 2. Fibrose cística. 3. Resposta inflamatória. 4. Estado nutricional. 5. Função pulmonar. I. Moreira, Emilia Addison Machado. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. III. Título.

Letícia Cristina Radin Pereira

**RESPOSTA INFLAMATÓRIA, ESTADO NUTRICIONAL E  
FUNÇÃO PULMONAR EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES  
COM FIBROSE CÍSTICA**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre em Nutrição”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição, da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 15 de Junho de 2012

---

Prof<sup>ª</sup>. Rossana Pacheco da Costa Proença, Dr.  
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Nutrição/ UFSC/SC

**Banca Examinadora:**

---

Prof<sup>ª</sup>. Emilia Addison Machado Moreira, Dr.  
Orientadora  
Departamento de Nutrição/UFSC/SC - Presidente

---

Prof. Hélio Vannucchi, Dr.  
Departamento de Clínica Médica/FMUSP/RP - Membro

---

Prof<sup>ª</sup>. Tânia Silvia Fröde, Dr.  
Departamento de Análises Clínicas/UFSC/SC - Membro

---

Prof<sup>ª</sup>. Yara Maria Franco Moreno, Dr.  
Departamento de Nutrição/UFSC/SC - Membro



*Dedico este trabalho aos meus  
amores, meu Esposo Estácio e  
meus pais Leda e Arduino*



## AGRADECIMENTOS

À **Deus**, que me presenteou com o dom da vida, agradeço por todas as oportunidades e pessoas maravilhosas e competentes que o Senhor sempre colocou em meu caminho. Obrigada por tudo, pois sinto muito forte Sua luz iluminando a estrada da minha vida. Agradeço também pelo dom da sabedoria, discernimento, paciência e confiança.

Ao meu **esposo**, por sempre estar ao meu lado, por ser o meu melhor amigo e me auxiliar e incentivar em todos os momentos. Obrigada por cada dia dividido com você. Contigo eu sou mais forte e feliz. Te amo sem medida.

Aos meus **pais**, minha fortaleza e exemplo. Obrigada por acreditarem em mim e sempre me incentivarem nas minhas decisões. Com o apoio e amor de vocês eu sempre consigo voar mais alto. Amo vocês.

Aos meus irmãos **Rafael e Ana Carolina** por todo amor e cuidado que temos na nossa relação. No fim um de cada vez veio para a Capital, agora somos todos “Manezinhos da Ilha” e estamos perto novamente.

À professora **Emilia Addison Machado Moreira**, que generosamente compartilhou comigo seus conhecimentos e experiências, sem o que, nada teria sido possível. O conhecimento é um bem que se multiplica ao ser dividido, contudo, é necessário predisposição, competência, receptividade, acolhimento e carinho para fazê-lo. Agradeço a oportunidade de encontrá-la em meu caminho, para fazermos esta troca.

Aos **pacientes com fibrose cística**, pela confiança, abertura, empatia e estímulo que representaram nesta jornada. Espero que a ciência possa evoluir cada dia mais para presentear vocês com uma qualidade de vida melhor, vocês merecem!!!

Aos professores **Hélio Vannucchi, Tânia Silvia Fröde, Yara Maria Franco Moreno** por aceitarem participar da minha banca de defesa de dissertação de mestrado e pelas contribuições realizadas.

À professora **Tânia Silvia Fröde**, por abrir as portas do seu laboratório e tornar o trabalho possível. Obrigada pelo auxílio, competência e profissionalismo. Além disto, gostaria de agradecer à **Ziliane, Júlia, Marina, Rafael e Eduardo** pela disponibilidade em me auxiliar nas análises bioquímicas e acima de tudo pela paciência em me ensinar cada método passo-a-passo. Muito obrigada, vocês fizeram a diferença.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Nutrição** da UFSC e a todos os docentes, pelo conhecimento transmitido e pelas oportunidades que me foram oferecidas.

Aos professores **David Alejandro González Chica, Erasmo Benício Santos de Moraes Trindade e Yara Maria Franco Moreno**, pela constante paciência, competência, carinho e sabedoria com que me auxiliaram na elaboração deste trabalho. Talvez vocês não saibam, mas foram muito importantes para mim!!!

Aos meus **colegas de mestrado**, pela amizade, companhia e incentivo durante toda esta etapa, especialmente à **Maiara, Monique e Franciele** pela amizade que construímos durante estes dois anos, vocês foram anjos na minha vida!!!

Às minhas amigas **Maiara, Gabriela, Jowanka, Juliana e Diane** um agradecimento especial pelo auxílio e dedicação na pesquisa.

Aos profissionais da **Equipe Multidisciplinar de Estudos em Fibrose Cística** do Hospital Infantil Joana de Gusmão, especialmente à **Eliana Barbosa, Maria Cristina, Vanessa, Vera, Valmira, Aninha, Dr. Norberto e Dr. Fernando** pela seriedade, compreensão, disponibilidade e confiança com que abriram as portas de seu ambiente de trabalho.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior** (CAPES/PROF) pela concessão de uma bolsa de estudo com a qual foi possível dedicação exclusiva ao mestrado.

A todos que, direta ou indiretamente, permitiram que este sonho se concretizasse,

**Muito Obrigada!**

*“Senhor fazei de mim um instrumento de Vossa paz.  
Onde hover ódio, que eu leve o amor”.*  
(São Francisco de Assis)



PEREIRA, Letícia Cristina Radin. **Resposta inflamatória, estado nutricional e função pulmonar em crianças e adolescentes com fibrose cística**. Florianópolis, 2012. 145 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

## RESUMO

**Introdução:** as infecções das vias respiratórias e a ativação de processos inflamatórios promovem depleção nutricional e declínio da função pulmonar, representando as principais consequências da Fibrose Cística (FC). **Objetivo:** avaliar a relação entre resposta inflamatória, estado nutricional e função pulmonar em crianças e adolescentes com FC. **Sujeitos e Métodos:** estudo clínico-transversal realizado com 86 sujeitos distribuídos em Grupo Controle (GC, n= 31) e Grupo FC (GFC, n= 55), redistribuído em GFC bacteriologia negativa (GFCB<sup>-</sup>) ou GFC bacteriologia positiva (GFCB<sup>+</sup>) e GFC *Pseudomonas aeruginosa* negativa (GFCPa<sup>-</sup>) ou GFC *Pseudomonas aeruginosa* positiva (GFCPa<sup>+</sup>). A função pulmonar foi avaliada pelo Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo (VEF<sub>1</sub>) e o estado nutricional pelo z-escore de peso-para-idade (zP/I), estatura-para-idade (zE/I), índice de massa corporal-para-idade (zIMC/I), área muscular do braço (zAMB), área gordurosa do braço (zAGB) e percentual de gordura corporal (%GC). A resposta inflamatória foi avaliada pela dosagem de mieloperoxidase (MPO), interleucina-1beta (IL-1 $\beta$ ), fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), proteína C-reativa (PCR), metabólitos de óxido nítrico (NOx), adenosina deaminase (ADA) e contagem de leucócitos, neutrófilos, linfócitos e monócitos. A análise bacteriológica foi avaliada na secreção da cavidade orofaríngea. Foi adotado um nível de significância  $p < 0,05$ .

**Resultados:** o VEF<sub>1</sub> foi significativamente maior no GC (88,57%) comparado com GFC (66,77%;  $p=0,001$ ), GFCB<sup>+</sup> (57,87%;  $p < 0,001$ ) e GFCPa<sup>+</sup> (54,82%;  $p < 0,001$ ). Comparados ao GC e após análise ajustada para variáveis de confusão observou-se: redução do zIMC/I e zAMB no GFC ( $p=0,030$ ;  $p=0,019$ ), GFCB<sup>+</sup> ( $p=0,030$ ;  $p=0,029$ ), e GFCPa<sup>+</sup> ( $p=0,047$ ;  $p=0,026$ ). Aumento da MPO ( $p < 0,001$ , todos subgrupos), IL-1 $\beta$  ( $p < 0,001$ , todos subgrupos) e PCR (GFC:  $p=0,002$ ; GFCB<sup>-</sup>:  $p=0,007$ ; GFCB<sup>+</sup>:  $p=0,009$ ; GFCPa<sup>-</sup>:  $p=0,004$  e GFCPa<sup>+</sup>:  $p=0,020$ ). Nos GFCB<sup>+</sup> e GFCPa<sup>+</sup> o NOx ( $p=0,001$ ;  $p < 0,001$ ), leucócitos ( $p=0,002$ ;  $p=0,001$ ) e neutrófilos ( $p=0,003$ ;  $p < 0,001$ ) estavam aumentados. No GFC foi observada correlação positiva entre VEF<sub>1</sub> e zP/I ( $p=0,009$ ), zE/I

( $p=0,006$ ),  $zIMC/I$  ( $p=0,028$ ) e  $zAMB$  ( $p=0,027$ ) e negativa com leucócitos ( $p=0,008$ ) e neutrófilos ( $p=0,031$ ), correlação negativa entre  $zAMB$  e  $NO_x$  ( $p=0,028$ ). **Conclusão:** sujeitos com FC independente do tipo de infecção acometida apresentam resposta inflamatória importante caracterizada por aumento de MPO, IL-1 $\beta$  e PCR. A bacteriologia positiva apresentou efeito aditivo na resposta inflamatória levando ao aumento do  $NO_x$ , leucócitos e neutrófilos. A desnutrição, leucocitose e neutrofilia estão correlacionadas com a redução da função pulmonar.

**Palavras-chave:** Adolescentes. Crianças. Estado nutricional. Fibrose cística. Função pulmonar. Infecção. Inflamação.

PEREIRA, Letícia Cristina Radin. **Inflammatory response, nutritional status and pulmonary function in children and adolescents with cystic fibrosis**. Florianópolis, 2012. 145 f. Dissertation (Master in Nutrition) – Graduate Program in Nutrition, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Brazil, 2012.

## ABSTRAT

**Background:** the infections of the airways and the activation of immune and inflammatory process promote nutritional depletion and decline in lung function, representing the main consequences of cystic fibrosis (CF). **Aim:** evaluate the relationship between inflammatory response, nutritional status and pulmonary function in children and adolescents with CF. **Subjects and Methods:** clinical-cross-sectional study was conducted with 86 subjects distributed in Control Group (CG, n= 31) and CF Group (CFG, n= 55), redistributed in CFG bacteriology negative (CFGB<sup>-</sup>) or CFG bacteriology positive (CFGB<sup>+</sup>) and CFG *Pseudomonas aeruginosa* negative (CFGPa<sup>-</sup>) or CFG *Pseudomonas aeruginosa* positive (CFGPa<sup>+</sup>). Pulmonary function was assessed by Forced Expiratory Volume in the first second (FEV<sub>1</sub>) and the nutritional status by indicators in Z-score weight-for-age (zW/A), height-for-age (zH/A), body mass index-for-age (zBMI/A), arm muscle area (zAMA), arm fat area (zAFA) and percentage of body fat (%BF). Inflammatory response was assessed by measurement of myeloperoxidase (MPO), interleukin-1beta (IL-1β), tumor necrosis factor-alpha (TNF-α), C-reactive protein (CRP), nitric oxide metabolites (NOx), adenosine deaminase (ADA) and leukocytes, neutrophils, lymphocytes, monocytes counts. Bacteriological analysis was assessed in the secretion of the oropharyngeal cavity. Was adopted a significance level of  $p<0.05$ . **Results:** the FEV<sub>1</sub> was significantly higher in CG (88.57%) compared with CFG (66.77%,  $p=0.001$ ), CFGB<sup>+</sup> (57.87,  $p<0.001$ ) and CFGPa<sup>+</sup> (54.82,  $p<0.001$ ). Compared to CG and after adjustment for confounding variables was observed: reduction the zBMI/A and zAMA in CFG ( $p=0.030$ ;  $p=0.019$ ), CFGB<sup>+</sup> ( $p=0.030$ ;  $p=0.029$ ), and CFGPa<sup>+</sup> ( $p=0.047$ ;  $p=0.026$ ). Increased to MPO ( $p<0.001$ , all subgroups), IL-1β ( $p<0.001$ , all subgroups) and CRP (CFG:  $p=0.002$ ; CFGB<sup>-</sup>:  $p=0.007$ ; CFGB<sup>+</sup>:  $p=0.009$ ; CFGPa<sup>-</sup>:  $p=0.004$  and CFGPa<sup>+</sup>:  $p=0.020$ ). In the CFGB<sup>+</sup> and CFGPa<sup>+</sup>, the NOx ( $p=0.001$ ;  $p<0.001$ ), leukocytes ( $p=0.002$ ;  $p=0.001$ ) and neutrophils ( $p=0.003$ ;  $p<0.001$ ) was increased.

In the CFG was observed positive correlation between FEV<sub>1</sub> and zW/A ( $p=0.009$ ), zH/A ( $p=0.006$ ), zBMI/A ( $p=0.028$ ) and zAMA ( $p=0.027$ ) and negative with leukocytes ( $p=0.008$ ) and neutrophils ( $p=0.031$ ), negative correlation between zAMA and NO<sub>x</sub> ( $p=0.028$ ). **Conclusion:** subjects with CF independent of infection involved showed important inflammatory response characterized by increased MPO, IL-1 $\beta$  and CRP. The bacteriology positive had additive effect on the inflammatory response by increasing the NO<sub>x</sub>, leukocytes and neutrophils. Malnutrition, leukocytosis and neutrophilia are correlated with reduced lung function.

**Keywords:** Adolescents. Children. Nutritional status. Cystic fibrosis. Pulmonary function. Infection. Inflammation.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 -</b>	Grupos avaliados no estudo.....	49
-------------------	---------------------------------	----



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 -</b>	Composição nutricional dos suplementos vitamínicos Source CF <sup>®</sup> e ADEK's <sup>®</sup> .....	51
<b>Tabela 2 -</b>	Valores de referência para os parâmetros do leucograma avaliados.....	58



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%GC	Percentual de Gordura Corporal
B. cepacia	Burkholderia cepacia
ADA	Adenosina Deaminase
AGB	Área Gordurosa do Braço
AMB	Área Muscular do Braço
CB	Circunferência do Braço
CDC	Center for Disease Control and Prevention
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator (Proteína Reguladora da Condutância Transmembrana da Fibrose Cística)
CMB	Circunferência Muscular do Braço
CV	Coefficiente de Variação
DCB	Dobra Cutânea Bicipital
DCSE	Dobra Cutânea Subescapular
DCSI	Dobra Cutânea Supra-Iliaca
DCT	Dobra Cutânea Tricipital
DF508	Delta F508 (D= deleção e F= fenilalanina)
DNA	Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucleico)
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid (Ácido etilenodiamino tetra-acético)
E/I	Estatura-para-idade
ELISA	Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay (Enzimaimunoensaio)
EPM	Erro Padrão da Média
eNOS	endothelial Nitric Oxide Synthase (Óxido Nítrico Sintase endotelial)
Escore S-K	Escore de Shwachman-Kulczycki
FC	Fibrose Cística
GC	Grupo Controle
GFC	Grupo Fibrose Cística
GFCB <sup>-</sup>	Grupo Fibrose Cística bacteriologia negativa
GFCB <sup>+</sup>	Grupo Fibrose Cística bacteriologia positiva
GFCPa <sup>-</sup>	Grupo Fibrose Cística Pseudomonas aeruginosa negativa
GFCPa <sup>+</sup>	Grupo Fibrose Cística Pseudomonas aeruginosa positiva
HIJG	Hospital Infantil Joana de Gusmão
IL-10	Interleucina-10

IL-1 $\beta$	Interleucina-1beta
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
IMC	Índice de Massa Corporal
IMC/I	Índice de Massa Corporal-para-idade
iNOS	inducible Nitric Oxide Synthase (Óxido Nítrico Sintase induzida)
IQR	Interquartil
MPO	Mieloperoxidase
NCHS	National Center for HealthStatistics
NF- $\kappa$ B	Fator de transcriçãonuclearkappa B
nNOS	neuronal Nitric Oxide Synthase (Óxido Nítrico Sintase neuronal)
NO	Nitric Oxide (Óxido Nítrico)
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Nitrito
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nitrato
NOS	Nitric Oxide Synthase (Óxido Nítrico Sintase)
NOx	Nitric Oxide Metabolites (Metabólitos de Óxido Nítrico)
P/E	Peso-para-estatura
P/I	Peso-para-idade
PCR	Proteína C-reativa
P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
RDA	Recommended Dietary Allowances
RNAm	mensseger Ribonucleic Acid (Ácido Ribonucléico mensageiro)
rpm	Rotações por minuto
S. aureus	Staphylococcus aureus
TNF- $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral-alfa
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
VEF <sub>1</sub>	Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo
WHO	World Health Organization

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>23</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>25</b>
2.1	FIBROSE CÍSTICA.....	25
2.2	FIBROSE CÍSTICA, FUNÇÃO PULMONAR E ESTADO NUTRICIONAL.....	29
2.3	RESPOSTA INFLAMATÓRIA .....	33
2.3.1	Resposta inflamatória na fibrose cística.....	37
2.3.2	Resposta inflamatória e estado nutricional na fibrose cística.....	43
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>45</b>
3.1.	OBJETIVO GERAL .....	45
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	45
<b>4</b>	<b>SUJEITOS E MÉTODOS .....</b>	<b>47</b>
4.1	DELINEAMENTO DO ESTUDO .....	47
4.2	SUJEITOS.....	47
4.2.1	Grupo Controle .....	47
4.2.2	Grupos Fibrose Cística.....	48
4.3	PROTOCOLO DE PESQUISA .....	50
4.3.1	Protocolo de suplementação vitamínica do HIJG .....	50
4.4	AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL .....	51
4.4.1	Avaliação antropométrica .....	51
4.4.2	Composição corporal .....	52
4.5	AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PULMONAR .....	53
4.6	ESCORE DE SHWACHMAN-KULCZYCKI .....	53
4.7	AMOSTRAS BIOLÓGICAS.....	53
4.8	ANÁLISE BACTERIOLÓGICA.....	54
4.9	AVALIAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA .....	55
4.9.1	Atividade da enzima Mieloperoxidase.....	55
4.9.2	Concentração de Interleucina-1beta e Fator de Necrose..... Tumoral-alfa.....	55
4.9.3	Concentração da Proteína C-reativa.....	56
4.9.4	Concentração dos Metabólitos de Óxido Nítrico .....	56
4.9.5.	Atividade da enzima Adenosina Deaminase.....	57
4.9.6	Leucograma.....	57
4.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	58
<b>5</b>	<b>ARTIGO ORIGINAL.....</b>	<b>59</b>
<b>6</b>	<b>LIMITAÇÕES DO ESTUDO .....</b>	<b>93</b>

<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>95</b>
<b>8</b>	<b>SUGESTÕES DE PESQUISAS FUTURAS .....</b>	<b>97</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>99</b>
	<b>APÊNDICES .....</b>	<b>125</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>133</b>

# 1 INTRODUÇÃO

As infecções persistentes das vias respiratórias e a hiperresponsividade imune representam fatores importantes para o prognóstico da Fibrose Cística (FC). Uma das características da inflamação das vias aéreas na FC é a predominância, fluxo contínuo e acúmulo de neutrófilos (CONESE *et al.*, 2003; DOWNEY; BELL; ELBORN, 2009; KIENINGER; REGAMEY, 2010). Os neutrófilos liberam proteases, incluindo a elastase neutrofílica, sendo que esta enzima danifica diretamente a parede das vias aéreas por digerir a elastina e outras proteínas estruturais (COURTNEY; ENNIS; ELBORN, 2004; ELIZUR; CANNON; FERKOL, 2008). Além disto, a elastase neutrofílica prejudica as funções antibacterianas dos macrófagos e neutrófilos e estimula a liberação de quimiocinas de neutrófilos como a interleucina-8 (SAGEL; ACCURSO, 2002). As bactérias e seus produtos também estimulam a liberação de quimiocinas que recrutam mais neutrófilos para as vias aéreas, aumentando a resposta inflamatória (CHMIEL; KONSTAN, 2007).

O infiltrado persistente de neutrófilos nas vias aéreas favorece a resposta inflamatória com ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B). O NF- $\kappa$ B, por sua vez, promove a síntese de citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina-1beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina-6 e interleucina-8 (BERGER, 2002; ARMSTRONG *et al.*, 2005; MAITRA *et al.*, 2009; HANSEN *et al.*, 2010). A interleucina-6 e a inflamação persistente estimulam a produção hepática de proteínas de fase aguda como por exemplo a proteína C-reativa (PCR) (KIM; DEUTSCHMAN, 2000; JEAN-BAPTISTE, 2007). Ainda como resposta à inflamação a enzima mieloperoxidase (MPO) é secretada em grandes quantidades por neutrófilos ativados e produz os ácidos oxidantes hipocloroso, hipobromoso ou hipiodoso que apresentam atividade anti-bactericida (van der VEEN; WINTHER; HEERINGA, 2009; DAVIES, 2011).

Outra enzima que está presente neste processo é a adenosina deaminase (ADA) com atividade nos linfócitos T e macrófagos, sendo encontrada em altas concentrações nos tecidos linfóides (ALDRICH; BLACKBURN; KELLEMS, 2000). Por esta razão, a ADA tem sido considerada como um marcador de imunidade mediada por células e, em particular, como um marcador da ativação de linfócitos T (LANIADO-LABORÍN, 2005). A inflamação está associada, também, a alterações significativas na biossíntese de óxido nítrico (NO - do inglês, *Nitric Oxide*), um composto endógeno produzido a partir de L-arginina por

meio da ação da enzima óxido nítrico sintase (ADAMS-CHAPMAN; STOLL, 2001; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004). A produção de óxido nítrico sintase induzível pode ser desencadeada por diversos mecanismos, dentre eles endotoxinas, macrófagos ativados, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , interleucina-2, interferons, portanto, é uma enzima mediadora da inflamação (MONCADA; HIGGS, 2006; JEAN-BAPTISTE, 2007). O NO apresenta uma meia-vida curta, tornando-o muito difícil de aferir diretamente. Contudo, este composto é degradado em metabólitos (nitritos e nitratos), que são produtos mais estáveis, e têm sido utilizados como marcadores indiretos da síntese de NO (ADAMS-CHAPMAN; STOLL, 2001; CHOI *et al.*, 2001).

O defeito genético, caracterizado por mutações deletérias no gene que codifica a proteína reguladora da condutância transmembrana da FC (CFTR - do inglês, *Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator*) descrito na FC parece contribuir intensivamente para a persistência da inflamação e infecção. A relação sinérgica entre inflamação, infecção e lesão pulmonar resulta no progressivo declínio da função pulmonar e em morte prematura dos pacientes com FC (van der VLIET; CROSS, 2000; ROVEDDER *et al.*, 2008). Estudos comprovam que o declínio da função pulmonar e a desnutrição são fatores relacionados e dependentes, uma vez que, a ocorrência da desnutrição está associada à função pulmonar reduzida e a diminuição da sobrevida (STAPLETON *et al.*, 2001; KONSTAN *et al.*, 2003; PETERSON; JACOBS; MILLA, 2003; LUCIDI *et al.*, 2009). A perda de peso acentuada predispõe à diminuição de massa magra, com consequências sobre os músculos respiratórios e elasticidade pulmonar. Portanto, o estado nutricional está relacionado à integridade do sistema respiratório (GROENEWEG *et al.*, 2002; BILTON, 2008).

Uma das principais causas de depleção nutricional em pacientes com FC é o aumento do gasto energético devido às infecções de repetição, inflamação persistente e aumento do esforço respiratório (GROENEWEG *et al.*, 2002; ADDE; RODRIGUES; CARDOSO, 2004; BILTON, 2008; SALVATORE *et al.*, 2010). Além disto, o processo inflamatório gerado na FC é mediado por citocinas pró-inflamatórias, dentre elas TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , que têm efeitos anoréxicos (DODGE; TURCK, 2006).

A partir das considerações acima, o objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre resposta inflamatória, estado nutricional e função pulmonar em crianças e adolescentes com FC.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 FIBROSE CÍSTICA

A Fibrose Cística (FC) ou mucoviscidose é uma doença que ocorre em todo o mundo, em praticamente todos os grupos étnicos. Em caucasianos, é o mais comum dos distúrbios com herança autossômica recessiva e ocorre igualmente em ambos os sexos (HAMOSH *et al.*, 1998; SINAASAPPEL *et al.*, 2002). A FC é causada por mutações deletérias em um gene que codifica uma proteína do canal de cloro denominada proteína reguladora da condutância transmembrana da FC (CFTR - do inglês, *Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator*). A proteína CFTR está envolvida no transporte de íons e moléculas como, por exemplo, na regulação do fluxo de cloro, sódio e água por meio das membranas das células epiteliais nos pulmões, pâncreas, intestino, entre outros órgãos. Portanto, na FC ocorre o acometimento multissistêmico devido à alteração da função das glândulas exócrinas (ANDRADE *et al.*, 2001; BRICE; JARRETT; MUGFORD, 2007; ROSA *et al.*, 2008; CHAVES *et al.*, 2009; ZIEGLER *et al.*, 2009).

As primeiras referências sobre a doença aparecem descritas desde o século XVI. Landstainer, em 1905, publicou o primeiro relato de um recém-nascido com FC, relacionando o íleo meconial com a insuficiência pancreática exócrina (RIBEIRO; RIBEIRO; RIBEIRO, 2002). Em 1936, a FC foi descrita como uma doença com características clínicas semelhantes da síndrome celíaca, porém, com insuficiência pancreática exócrina associada, pâncreas fibroso, doença pulmonar e bronquiectasias (FANCONI; UEHLINGER; KNAUER, 1936). A FC foi reconhecida como uma doença diferenciada da síndrome celíaca em 1938, sendo caracterizada por má absorção de gordura e proteína, esteatorreia, déficit de crescimento e infecção pulmonar (ANDERSEN, 1938). O termo “mucoviscidose” foi descrito devido à obstrução por muco viscoso, espesso e pegajoso dos ductos das glândulas mucosas de todo organismo (FARBER, 1945).

Em 1953, a alteração no conteúdo de eletrólitos no suor foi reconhecida como sendo um defeito na FC (DI SANT’AGNESE *et al.*, 1953). No ano de 1959, foi padronizado o diagnóstico diferencial da FC, realizado pelo teste do suor, método que identifica alguns pacientes com FC sem insuficiência pancreática (GIBSON; COOKE, 1959). Este método diagnóstico ainda é utilizado na prática clínica atual (NELSON; ADAMSKI; TLUCZEK, 2011). Shwachman e Kulczycki (1958) estabeleceram um método de avaliação da gravidade da doença,

considerando a atividade geral do paciente, o exame físico, os aspectos nutricionais e os achados radiológicos. Este método compara as manifestações clínicas da FC entre os pacientes, avalia os efeitos do tratamento e atribui critérios de diagnóstico, utilizado até hoje na prática clínica sendo denominado escore de Shwachman-Kulczycki (STOLLAR *et al.*, 2011). Além disso, também foi observado que indivíduos com FC tinham um aumento sérico da enzima tripsina imunorreativa, sugerindo que este biomarcador poderia ser utilizado no recém-nascido como um teste de triagem para FC (CROSSLEY; ELLIOTT; SMITH, 1979).

A FC tem uma incidência de aproximadamente 1:3.000 nascidos vivos na população caucasiana, porém sua ocorrência é mundial (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004). A incidência para pessoas de origem europeia é de aproximadamente 1:2.500 nascidos vivos e 1:3.700 nascidos vivos dos Estados Unidos da América (HAMOSH *et al.*, 1998; SINAASAPPEL *et al.*, 2002; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004; VIDIGAL *et al.*, 2008; PLANELLS-CASES; JENTSCH, 2009).

No Brasil, a incidência estimada para a região Sul é mais próxima da população caucasiana centro-europeia, decrescendo em direção à região Sudeste e Norte do País (RASKIN *et al.*, 2008). Estudos regionais mostram dados estatísticos variáveis que sugerem uma incidência da doença na região Sul e Sudeste de aproximadamente 1:7.500 nascidos vivos (RASKIN *et al.*, 2008). Porém, não existem estudos epidemiológicos ou triagem neonatal abrangentes que permitam estimar a incidência da doença nas diversas regiões do país (ROSA *et al.*, 2008). Contudo, a *World Health Organization* (WHO) sugere uma incidência de aproximadamente 1:7.000 nascidos vivos no país como um todo (WHO, 2004). No Brasil existem aproximadamente 1.250 indivíduos com FC, dos quais 127 (10,2%) estão em Santa Catarina (BRASIL, 2009).

Quando na descoberta da doença, a sobrevida acima dos cinco anos de idade era rara, uma vez que 80% das crianças afetadas morriam no primeiro ano de vida. Com o crescente avanço no diagnóstico e estratégias terapêuticas desenvolvidas, a expectativa de vida destes pacientes tem sido elevada. Porém, ainda assim, de 15% a 20% das crianças com FC morrem antes de seu décimo ano de vida (ROSA *et al.*, 2008; ZIEGLER *et al.*, 2009). Nos Estados Unidos, a mediana de sobrevida aumentou de um ano de idade em 1940 para 20 anos de idade em 1980, chegando à 27,6 anos de idade em 1990 (KEREM *et al.*, 1992) e aumentando para 38,3 anos de idade em 2010 (CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION, 2011). Um estudo de coorte, realizado no Brasil entre

os anos de 1970-1994, com 111 pacientes diagnosticados com FC, mostrou que a média de sobrevivência dos pacientes foi 12,6 anos de idade (REIS; CAMARGOS; ROCHA, 1998). Em outro estudo Brasileiro foram avaliados 104 pacientes, atendidos entre os anos de 1990 e 2000, sendo observada uma mediana de sobrevivência de 18,4 anos de idade após o diagnóstico (ALVAREZ *et al.*, 2004).

O gene responsável pela FC isolado e sequenciado por Lap-Chee Tsui e Francis Collins em 1989 (KEREM *et al.*, 1989), localiza-se no braço longo do cromossomo 7, no locus q31 e é formado por ácido desoxirribonucleico (DNA - do inglês, *Deoxyribonucleic Acid*) de 250 quilobases, com 27 éxons, representando cerca de 5% do DNA genômico e tem a propriedade de codificar um ácido ribonucleico mensageiro (RNAm - do inglês, *Ribonucleic Acid messenger*) de 6,5 quilobases. Este RNAm transcreve a proteína CFTR, composta por 1.480 aminoácidos (ROSA *et al.*, 2008; STERPONE *et al.*, 2009; OOI *et al.*, 2011). A proteína CFTR é sintetizada no núcleo, tem maturação em organelas citoplasmáticas e é expressa na membrana das células epiteliais (ROSA *et al.*, 2008; PLANELLAS-CASES; JENTSCH, 2009; STERPONE *et al.*, 2009; ROLIM *et al.*, 2010).

O fenótipo clássico da FC caracteriza-se pelas infecções pulmonares, insuficiência pancreática, má absorção, doença hepática e perda de eletrólitos no suor. A heterogeneidade do fenótipo pode ser explicado pelas diversas classes de mutações do gene CFTR (SOUTHERN, 2007). Foram identificadas, até o momento, mais de 1.900 mutações do gene CFTR (CYSTIC FIBROSIS MUTATION DATABASE, 2011), as quais estão divididas em seis classes diferentes, baseadas nas alterações do comportamento molecular da proteína CFTR (DOULL, 2001; PLANELLAS-CASES; JENTSCH, 2009; ROLIM *et al.*, 2010). A mutação CFTR mais comum é uma deleção de três pares de bases, localizada no éxon 10, que resulta na deleção de um códon para fenilalanina na posição 508 da proteína. Esta mutação, classe II, é denominada delta F508,  $\Delta F508$  ou DF508, uma vez que “D” significa deleção e “F” fenilalanina (REIS; DAMACENO, 1998; CABELLO *et al.*, 2003; BRICE; JARRETT; MUGFORD, 2007; SOUTHERN, 2007).

O defeito genético responsável pelas manifestações da FC pode ser encontrado em todas as células secretoras do organismo. Compromete, principalmente, os pulmões, porém, os distúrbios no sistema gastrointestinal também estão presentes (MOSKOWITZ *et al.*, 2008; CHOE *et al.*, 2010) onde, a complicação mais frequente é a insuficiência exócrina do pâncreas, presente em 85% à 90% dos pacientes. Os sinais típicos da insuficiência pancreática são: diarreia,

com evacuações de fezes volumosas e fétidas, flatulência e distensão/dor abdominal. A principal consequência é a má digestão/absorção de macronutrientes, principalmente, lipídeos e proteínas, bem como das vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e dos minerais cálcio, magnésio e zinco (O'SULLIVAN; FREEDMAN, 2009; ROLIM *et al.*, 2010; WERLIN *et al.*, 2010). Os principais sinais clínicos da insuficiência pancreática são a esteatorreia e o déficit no crescimento, podendo ainda desenvolver perda óssea, devido à diminuição das concentrações séricas de metabólitos da vitamina D. O diagnóstico e acompanhamento clínico desta insuficiência é realizado pela dosagem da elastase fecal ou indiretamente pela gordura fecal, determinada pelos métodos Sudam III e Esteatócrito (van den NEUCKER *et al.*, 2001; WALKOWIAK; LISOWSKA; BLASZCZYNSKI, 2008).

O protocolo padrão de tratamento para a má absorção de macro e micronutrientes em pacientes com insuficiência pancreática exócrina, incluindo os pacientes com FC, é efetuado por meio da terapia de reposição enzimática e vitamínica. O princípio da reposição enzimática é complementar as enzimas protease, amilase e lipase que são produzidas e utilizadas inadequadamente na insuficiência pancreática (BOROWITZ; BAKER; STALLINGS, 2002; KREINDLER, 2010). As enzimas pancreáticas exógenas, extraídas de fontes suínas, também são chamadas de pancrelipase ou pancreatina e são apresentadas em cápsulas contendo microesferas para administração oral, com uma mistura de protease, amilase e lipase (SIKKENS *et al.*, 2010).

A dose de reposição enzimática é adaptada conforme o consumo de gordura do paciente. Preconiza-se uma dose de 500 a 2.500 UI de lipase/kg/refeição ou 400 a 4.000 UI de lipase/grama de gordura ingerida/dia, com valores máximos de 10.000 UI de lipase/kg/dia (BOROWITZ; BAKER; STALLINGS, 2002; SINAASAPPEL *et al.*, 2002; STALLINGS *et al.*, 2008). A dose é aumentada, progressivamente, para evitar a colonopatia fibrosante, considerando como sintomas o ganho ponderal e a perda de gordura nas fezes (SIKKENS *et al.*, 2010; SALVATORE *et al.*, 2011). As enzimas pancreáticas devem ser ingeridas com todos os alimentos (exceto frutas *in natura* e suco de frutas), em especial com os produtos lácteos, incluindo suplementos, dietas elementares e semi-elementares. Recomenda-se ingerir as enzimas antes da refeição, porém em refeições prolongadas, metade da dose deve ser ingerida no início da refeição e o restante no meio dela. Para os lactentes ou crianças com dificuldade de ingerir a cápsula inteira, recomenda-se abrir e oferecer as microesferas junto com o leite materno ou fórmula infantil (BOROWITZ; BAKER;

STALLINGS, 2002; SIKKENS *et al.*, 2010). A suplementação de vitaminas lipossolúveis faz parte do protocolo de tratamento de pacientes com FC e tem seguido as doses propostas pelo Consenso Americano de Fibrose Cística (BOROWITZ; BAKER; STALLINGS, 2002). A dose baseia-se na normalização das concentrações séricas das vitaminas, sem que cause hipervitaminose. Desta maneira, é necessário verificar as concentrações séricas das vitaminas após alguns meses de suplementação e/ou antes de uma mudança no tratamento de reposição enzimática (SINAASAPPEL *et al.*, 2002; KEREM *et al.*, 2005).

Outras manifestações na FC incluem o aparecimento da *diabetes mellitus*, ileo-meconial, constipação intestinal e colonopatia fibrosante (REIS; DAMACENO, 1998; DODGE; TURCK, 2006; O'SULLIVAN; FREEDMAN, 2009). As secreções intestinais espessas, a má absorção e a diminuição da motilidade intestinal podem levar à síndrome da obstrução intestinal distal ou constipação crônica (WILSCHANSKI; DURIE, 2007; O'SULLIVAN; FREEDMAN, 2009).

## 2.2 FIBROSE CÍSTICA, FUNÇÃO PULMONAR E ESTADO NUTRICIONAL

As principais repercussões clínicas da FC estão relacionadas ao comprometimento pulmonar, sendo as manifestações respiratórias responsáveis por 90% dos casos de morbidade e mortalidade. Ao nascimento, os pacientes com FC têm pulmões praticamente normais, contudo, já há presença de muco nas glândulas mucosas pulmonares (KHAN *et al.*, 1995). Nos pulmões, as alterações do transporte iônico promovem a redução do líquido da superfície das vias aéreas, desidratação do muco e aumento da concentração de mucina (BOUCHER, 2007a; ZIEGLER *et al.*, 2009). O aumento da concentração de mucina, por sua vez, promove condições hipoxêmica no muco, conduzindo à produção de secreções mucosas espessas, viscosas e aderentes. Consequentemente ocorre diminuição da depuração mucociliar acarretando, desta maneira, o acúmulo deste muco e a obstrução dos ductos das glândulas exócrinas (BRICE; JARRETT; MUGFORD, 2007; PISI; CHETTA, 2009; ZIEGLER *et al.*, 2009).

A obstrução dos ductos exócrinos facilita a formação de uma camada de aprisionamento para os microorganismos inalados, que não são eficazmente removidos das vias aéreas, predispondo à infecção bacteriana e desencadeamento de um processo inflamatório. As secreções das vias aéreas contêm citocinas pró-inflamatórias e proteases que destroem o tecido pulmonar, contribuindo para o desenvolvimento

de recorrentes exacerbações pulmonares e eventual falência respiratória (GELLER; RUBIN, 2009; PISI, CHETTA, 2009). Portanto, existe uma relação sinérgica entre infecção bacteriana, inflamação e destruição brônquica (van der VLIET; CROSS, 2000; ROVEDDER *et al.*, 2008). As anormalidades na função ventilatória em pacientes com FC correlacionam-se com a gravidade das alterações estruturais do pulmão e com as manifestações clínicas (ANDRADE *et al.*, 2001; ZIEGLER *et al.*, 2009).

Para avaliar a função pulmonar e a atividade e progressão da FC, utiliza-se a espirometria (LOEVE *et al.*, 2011). Normalmente, a avaliação espirométrica é realizada em cada consulta ambulatorial em crianças a partir de cinco anos de idade e permite identificar a presença de distúrbio ventilatório, assim como avaliar o grau de comprometimento das vias aéreas. A espirometria também é útil para monitorar a resposta às intervenções terapêuticas. A avaliação e a monitorização dos fluxos aéreos terminais permitem a detecção precoce e a prevenção de alterações funcionais maiores (KONSTAN *et al.*, 2007; BILTON, 2008; ROSENTHAL, 2008).

O Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo ( $VEF_1$ ) é um parâmetro frequentemente utilizado como indicador de deterioração pulmonar. Quanto menor o  $VEF_1$ , maior o esforço respiratório e este aumento está relacionado aos problemas na troca gasosa. Além disto, uma alteração na função pulmonar, ou seja, uma queda no percentual de  $VEF_1$  indica que a infecção ou inflamação está descontrolada e uma mudança no tratamento é necessária (GROSSMAN; GROSSMAN, 2005; BILTON 2008; ZIEGLER *et al.*, 2009). A taxa de declínio no  $VEF_1$  é em torno de 2% ao ano para os pacientes com FC. Porém, esta taxa varia de acordo com a frequência e gravidade das exacerbações pulmonares (REIS; DAMACENO, 1998; GROSSMAN; GROSSMAN, 2005).

Estudos comprovam que o declínio da função pulmonar e a desnutrição são fatores relacionados e dependentes, uma vez que a ocorrência da desnutrição está associada à função pulmonar reduzida e a diminuição da sobrevida (COREY *et al.*, 1988; THOMSON *et al.*, 1995; ELBORN; BELL, 1996; MAHADEVA *et al.*, 1998; STAPLETON *et al.*, 2001; KONSTAN *et al.*, 2003; PETERSON; JACOBS; MILLA, 2003; LUCIDI *et al.*, 2009). A perda de peso acentuada predispõe à diminuição de massa magra, com consequências sobre os músculos respiratórios e a elasticidade pulmonar. Portanto, a manutenção do estado nutricional adequado é fundamental para a integridade do sistema respiratório e aumento da sobrevida dos pacientes com FC

(GROENEWEG *et al.*, 2002; BILTON, 2008).

Em estudo que avaliou duas coortes com pacientes com FC, uma de Boston e a outra de Toronto, relatou maior sobrevida nos pacientes de Toronto, sendo esta atribuída ao seu melhor estado nutricional (COREY *et al.*, 1988). Em um estudo de acompanhamento, durante dois anos, com crianças com FC mostrou melhora no VEF<sub>1</sub> naquelas que ganharam peso em comparação com as que perderam (PETERSON; JACOBS; MILLA, 2003). Lucidi *et al.* (2009) avaliaram 620 pacientes com FC com idade entre 6 e 18 anos e observaram uma correlação positiva entre a função pulmonar e peso, altura e Índice de Massa Corporal (IMC). No passado, a desnutrição era comum e considerada uma característica clínica intrínseca da FC. No entanto, atualmente, a desnutrição e o retardo do crescimento apresentaram redução na prevalência em pacientes com FC (LUCIDI *et al.*, 2009). Os dados de registros de pacientes com FC nos Estados Unidos da América e na Europa têm mostrado uma melhora tanto no estado nutricional como na função pulmonar (DODGE *et al.*, 1997; LAI *et al.*, 1999; FOGARTY; HUBBARD; BRITTON, 2000).

A insuficiência nutricional, entretanto, continua sendo um problema para muitos pacientes com FC (LUCIDI *et al.*, 2009). Os problemas nutricionais envolvidos na FC são multifatoriais, sendo que existem três fatores principais que contribuem para a desnutrição: (1) ingestão insuficiente de energia; (2) aumento da perda energética; (3) aumento do gasto energético (SINAASAPPEL *et al.*, 2002). A ingestão insuficiente de energia, devido à anorexia, geralmente é causada pelos problemas respiratórios, refluxo gastroesofágico e tosse (PENCHARZ; DURIE, 2000; PINTO, SILVA, BRITTO, 2009). Além disto, o processo inflamatório gerado na FC é mediado por citocinas pró-inflamatórias, dentre elas o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) e interleucina-1beta (IL-1 $\beta$ ), que também têm efeitos anoréxicos (DODGE; TURCK, 2006). O aumento da perda energética ocorre, principalmente, devido às características de má digestão/absorção de nutrientes resultantes da insuficiência pancreática (SINAASAPPEL *et al.*, 2002; MATEL; MILLA, 2009). A glicosúria, presente em pacientes com *diabetes mellitus* relacionada à FC e a perda de proteína no escarro, também podem contribuir para as perdas energéticas (SINAASAPPEL *et al.*, 2002). O aumento do gasto energético ocorre devido às infecções de repetição, à inflamação persistente e ao aumento do esforço respiratório (ADDE; RODRIGUES; CARDOSO, 2004; BILTON, 2008; SALVATORE *et al.*, 2010). Ranganathan *et al.* (2011) avaliaram a relação entre a inflamação e o estado nutricional de 43 crianças e

adolescentes com FC e detectaram uma correlação negativa entre elastase neutrofílica e IMC. Portanto, existe uma relação sinérgica entre desnutrição e maior suscetibilidade a doenças infecciosas levando à repostas imunológicas e metabólicas alteradas que, por sua vez, alteram ainda mais o estado nutricional (KEUSCH, 2003). Para compensar este desequilíbrio energético recomenda-se um consumo de 110 a 200% a mais de calorias do que a quantidade diária estabelecida pelas *Recommended Dietary Allowances* (RDA) de 1989 (STALLINGS *et al.*, 2008).

Em 2002, o Consenso Americano de FC sugeriu utilizar as referências preconizadas pelo *National Center for Health Statistics* (NCHS) (1977) e *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) (KUCZMARSKI *et al.*, 2000) para avaliar o estado nutricional. No entanto, os instrumentos atuais para o diagnóstico nutricional são baseados nas curvas de crescimento publicadas pela WHO (2006/2007). A WHO reformulou as recomendações anteriores do NCHS (1977) e CDC (2000) para as crianças e Must *et al.* (1991) para os adolescentes com a incorporação das novas curvas de crescimento. As curvas de crescimento publicadas pela WHO em 2006 avaliam o crescimento e estado nutricional de crianças até a idade pré-escolar, crianças menores de 5 anos, utilizando os indicadores estatura-para-idade (E/I), peso-para-idade (P/I), peso-para-estatura (P/E) e índice de massa corporal-para-idade (IMC/I). Em relação ao conjunto de curvas, elaborado em 2007, este apresenta como público alvo crianças a partir dos 5 anos até adolescentes de 19 anos, utilizando os indicadores E/I, P/I e IMC/I.

A associação de medidas antropométricas aumenta a acurácia no diagnóstico nutricional e detecta alterações precoces do estado nutricional, antecipando as intervenções e retardando o declínio da função pulmonar nos pacientes com FC (RANGANATHAN *et al.*, 2011). As medidas de circunferência do braço (CB) e a dobra cutânea tricúspita (DCT), além de medidas adicionais calculadas à partir da CB e DCT, que são a Circunferência Muscular do Braço (CMB), Área Muscular do Braço (AMB) e Área gordurosa do Braço (AGB) fornecem informações clínicas mais precisas da massa muscular e massa gorda. A classificação de referência para estas medidas foram propostas por Frisancho (1981). A avaliação da associação de medidas do estado nutricional em crianças e adolescentes com FC mostrou que a CMB identificou um maior percentual de desnutrição (52%) do que o IMC/I, que apresentou 31,2% de desnutrição e 14,5% de risco nutricional. Observou-se ainda que, todos os pacientes com obstrução moderada ou grave da função pulmonar apresentavam desnutrição pelo critério da

CMB (CHAVES *et al.*, 2009). Assim, evidencia-se que a análise da composição corporal é relevante para uma melhor avaliação do estado nutricional, uma vez que o gasto energético aumentado devido a presença de inflamação e infecção é um dos principais responsáveis pela depleção nutricional (RANGANATHAN *et al.*, 2011).

### 2.3 RESPOSTA INFLAMATÓRIA

A resposta do organismo a uma infecção ou lesão tecidual é definida como inflamação, que é desencadeada para erradicar os microorganismos ou irritantes e potencializar a reparação tecidual (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004). Portanto, a inflamação é uma resposta imune essencial que permite a sobrevivência e mantém a homeostase do tecido em uma variedade de condições nocivas e geralmente se manifesta por sinais típicos de dor, calor, rubor, edema e perda da função (MEDZHITOV, 2010).

A inflamação é controlada e mediada pelo sistema imunológico, composto por dois subsistemas que interagem entre si: o inato e o adquirido (HERALD, 2010). O sistema imune inato pode ser considerado como a primeira linha de defesa, uma vez que o epitélio da pele e mucosa funciona como uma barreira mecânica à invasão de antígenos (TOSI, 2005; ELKIND, 2010). As fases de vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e infiltração celular são parte da resposta imune inata. Os principais componentes celulares desta resposta são os macrófagos, células dendríticas, células natural *killer* e neutrófilos. Além destes componentes celulares, as proteínas efetoras circulantes, como o sistema complemento e de coagulação, proteínas de fase aguda e as cininas desempenham um papel importante na imunidade inata (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004). Portanto, o sistema imune inato conta com a função de defesa de superfície, síntese de citocinas, ativação do sistema complemento e das respostas fagocitárias (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004; HERALD, 2010).

O sistema imune adquirido é desencadeado após o reconhecimento do antígeno pela resposta imune inata, sendo que este sistema apresenta uma resposta mais específica aos antígenos. Os linfócitos são os principais componentes celulares da resposta adquirida, sendo divididos em linfócitos T e linfócitos B. Os linfócitos T fazem a indução da resposta, são responsáveis pelas reações imunológicas mediadas por células e produzem citocinas que amplificam a resposta inflamatória. Os linfócitos B são responsáveis pela resposta humoral e

se diferenciam em plasmócitos, os quais produzem e secretam anticorpos (TOSI, 2005; HERALD, 2010). O objetivo do organismo com o processo de inflamação, como parte da resposta imunológica inata ou adquirida, é a destruição e eliminação do agente nocivo (CONE, 2001).

Portanto, o sistema imunológico atua numa rede de cooperação, envolvendo a participação de componentes estruturais, moleculares e celulares. Nesse cenário, encontra-se o estreito equilíbrio entre a saúde e a doença, em que tanto a deficiência, quanto a ativação da resposta inflamatória resultam em dano tecidual (TRACEY, 2002; MACHADO *et al.*, 2004). Uma resposta inflamatória típica consiste em quatro componentes: os indutores inflamatórios, como por exemplo, bactéria, vírus e parasitas; os sensores que detectam os indutores, denominados de células imunes; os mediadores inflamatórios secretados pelos sensores como, por exemplo, as citocinas, leucotrienos, tromboxanos e prostaglandinas; e os tecidos-alvo que são afetados pelos mediadores inflamatórios. Portanto, a via apropriada da resposta inflamatória dependerá do tipo de infecção, ou seja, da natureza do gatilho inflamatório, sendo que para manter a homeostase deve existir um equilíbrio entre os mediadores pró e anti-inflamatórios (ADAMS-CHAPMAN; STOLL, 2001; MEDZHITOV, 2010). Existem vários mediadores importantes que incluem proteases, constituintes do sistema complemento, citocinas, fator de ativação plaquetária, leucotrienos, tromboxanos, prostaglandinas, interferon-gama, óxido nítrico (NO - do inglês, *Nitric Oxide*), proteína C-reativa (PCR), além das enzimas mieloperoxidase (MPO) e adenosina deaminase (ADA) (ADAMS-CHAPMAN; STOLL, 2001; EISERICH *et al.*, 2002; NOVAKOVA; DOLEZAL, 2011).

A enzima MPO é uma peroxidase heme secretada pelos neutrófilos durante a ativação leucocitária. Esta enzima é a proteína mais abundante nos neutrófilos, representando 5% da massa seca (EISERICH *et al.*, 2002; van der VEEN; WINTHER; HEERINGA, 2009; DAVIES, 2011). Durante a ativação dos neutrófilos a MPO é liberada para o fagossomo e para o espaço extracelular. Quando ativada, a MPO forma peróxido de hidrogênio e com a adição de cloro, bromo ou iodo, produz os ácidos oxidantes hipocloroso, hipobromoso ou hipoiodoso, respectivamente. Estes oxidantes contribuem na atividade anti-bactericida dos neutrófilos (van der VEEN; WINTHER; HEERINGA, 2009; DAVIES, 2011). Os macrófagos expostos à MPO, enzimaticamente ativa, apresentam um aumento na secreção de citocinas, incluindo o TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e interferons, aumentando a

capacidade dos macrófagos em fagocitar os microorganismos (MALLE; BUCH; GRONE, 2003). Porém, a geração excessiva de oxidantes derivados de MPO, incluindo o ácido hipocloroso, tem sido associada ao dano tecidual em muitas doenças, especialmente àquelas caracterizadas por inflamação (HARWOOD *et al.*, 2009). Torna-se evidente, portanto, que a MPO exerce efeitos além de suas propriedades oxidantes, que afetam diversos processos envolvidos na sinalização celular e interações célula-célula e, portanto, a MPO é uma enzima capaz de modular a resposta inflamatória (KLEBANOFF, 2005; van der VEEN; WINTHER; HEERINGA, 2009).

As citocinas são um grupo de proteínas de baixo peso molecular, produzidas por células como, monócitos e macrófagos no foco inflamatório, que medeiam a imunidade inata e adquirida (CORNETTE, 2004). Estão envolvidas na sinalização entre as células do sistema imunológico e na modificação do metabolismo. Citocinas incluem as interleucinas, interferons, fatores estimuladores de colônias, TNF- $\alpha$  e quimiocinas (GRIMBLE, 1998; ADAMS-CHAPMAN; STOLL, 2001; AREND; GABAY, 2004). O TNF- $\alpha$  é uma citocina secretada pelos macrófagos e monócitos ativados em resposta às infecções por bactérias gram-negativas (JEAN-BAPTISTE, 2007). Porém, também desempenha função na resposta à outros organismos infecciosos (WARZOCHA *et al.*, 1995). Esta citocina é um mediador da cascata inflamatória, porque regula a produção de várias outras citocinas pró-inflamatórias, como por exemplo, a quimiocina denominada interleucina-8 (IL-8) (ADAMS-CHAPMAN; STOLL, 2001). O TNF- $\alpha$  é um potente ativador de neutrófilos e fagócitos mononucleares, além disto, estimula a secreção de quimiocinas e a síntese da enzima óxido nítrico sintase induzida (iNOS - do inglês, *inducible Nitric Oxide Synthase*) (KIM; DEUTSCHMAN, 2000; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004). A liberação sistêmica de TNF- $\alpha$  pode, no entanto, precipitar uma cascata destrutiva de acontecimentos que podem resultar em lesão tecidual e disfunção orgânica. Entre os efeitos sistêmicos do TNF- $\alpha$  estão a indução de febre, estimulação da secreção hepática de proteínas da fase aguda, dentre elas a PCR, a ativação da cascata de coagulação, indução de vasodilatadores sistêmicos, resultando em hipotensão, catabolismo e hipoglicemia (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004).

A IL-1 $\beta$ , secretada pelos monócitos, macrófagos, linfócitos e células endoteliais, (JEAN-BAPTISTE, 2007) é uma citocina pró-inflamatória, com função na cascata inflamatória que pode resultar em uma resposta sistêmica à infecção ou lesão. A IL-1 $\beta$  induz à hipotensão de forma independente e potencializa os efeitos do TNF- $\alpha$  e

interleucina-6 (IL-6), também é capaz de regular sua própria produção (ADAMS-CHAPMAN; STOLL, 2001). Os efeitos fisiológicos da IL-1 $\beta$  são semelhantes aos do TNF- $\alpha$  (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004). No organismo, a resposta de fase aguda é caracterizada pela secreção de uma série de proteínas, denominadas proteínas de fase aguda. Estas proteínas são produzidas predominantemente pelo fígado em resposta à lesão ou inflamação do tecido na tentativa de manter a homeostase. O TNF- $\alpha$ , a IL-1 $\beta$  e a IL-6 são indutores de proteínas de fase aguda (KIM; DEUTSCHMAN, 2000; JEAN-BAPTISTE, 2007). A proteína de fase aguda, PCR, apresenta propriedades de opsonização, processo que facilita a ação do sistema imunológico por fixar opsoninas na superfície bacteriana, facilitando o seu reconhecimento por receptores específicos, auxiliando na fagocitose do antígeno (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008). Esta propriedade de opsonização pode conferir um efeito protetor contra a infecção. A PCR também é capaz de ativar a IL-6, causando um efeito sinérgico, ou seja, um ciclo vicioso na produção destes marcadores na resposta inflamatória (JEAN-BAPTISTE, 2007).

A inflamação está associada ainda, à alterações significativas na biossíntese de NO, o qual é produzido a partir da L-arginina por meio da ação da enzima óxido nítrico sintase (NOS - do inglês, *Nitric Oxide Synthase*) (ADAMS-CHAPMAN; STOLL, 2001; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004). Existem três tipos de isoformas: óxido nítrico sintase neuronal (nNOS - do inglês, *neuronal Nitric Oxide Synthase*), óxido nítrico sintase endotelial (eNOS - do inglês, *endothelial Nitric Oxide Synthase*) e iNOS (CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002; JEAN-BAPTISTE, 2007). Em condições fisiológicas são detectáveis apenas nNOS e eNOS, regulados pelo fluxo de cálcio intracelular (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004). A produção de iNOS pode ser desencadeada por endotoxinas, macrófagos ativadas e TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , interleucina-2, interferons, portanto, é uma enzima mediadora da inflamação (MONCADA; HIGGS, 2006; JEAN-BAPTISTE, 2007). Além disto, o NO é responsável pela manutenção do fluxo sanguíneo tecidual e controle do extravasamento tecidual (FLORA-FILHO; ZILBERSTEIN, 2000; KIM; DEUTSCHMAN, 2000; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004).

No sistema bronco-pulmonar, o NO mantém o calibre brônquico e regula a frequência dos movimentos ciliares; na circulação pulmonar, o NO equilibra a relação ventilação-perfusão (FLORA-FILHO; ZILBERSTEIN, 2000). Porém, quando quantidades exageradas de NO são produzidos pelos macrófagos em processos inflamatórios, via

ativação da iNOS, pode gerar danos teciduais (CRAWFORD *et al.*, 2004). O NO apresenta uma meia-vida curta, tornando-o muito difícil de aferir diretamente. Contudo, este composto é degradado em metabólitos denominados de nitritos e nitratos (metabólitos de óxido nítrico, NOx - do inglês, *Nitric Oxide Metabolites*), que são produtos mais estáveis, e têm sido utilizados como medidas indiretas da síntese de NO (ADAMS-CHAPMAN; STOLL, 2001; CHOI *et al.*, 2001).

A enzima ADA é essencial na via catabólica das purinas, uma vez que catalisa a desaminação da adenosina e desoxiadenosina em inosina e desoxiinosina, respectivamente. A inosina e desoxiinosina podem, por sua vez, ser ainda mais degradadas à ácido úrico, ou retornarem para o *pool* de nucleotídeos de purina (NOVAKOVA; DOLEZAL, 2011). A enzima está presente em todos os tipos de células, mas sua quantidade varia entre os tecidos. As altas concentrações de ADA em humanos são encontradas em tecidos linfóides e, portanto, esta enzima está diretamente relacionada à ativação e a proliferação dos linfócitos, especialmente, os linfócitos T, durante a resposta celular (ALDRICH; BLACKBURN; KELLEMS, 2000; MORISSONT; NEVES, 2008). Os linfócitos liberam ADA quando estimulados na presença de microorganismos intracelulares vivos (LANIADO-LABORÍN, 2005). Consequentemente, em enfermidades em que há maior participação de linfócitos, a ADA geralmente é detectável em concentrações elevadas (KAISEMANN *et al.*, 2004). Por esta razão, a ADA tem sido considerada um marcador de imunidade mediada por células e, em particular, como um marcador da ativação de linfócitos T (LANIADO-LABORÍN, 2005).

### 2.3.1 Resposta inflamatória na fibrose cística

Na FC a progressiva e irreversível lesão pulmonar causada pela recorrente e crônica infecção e inflamação é a maior causa de morbidade e mortalidade entre os pacientes (SAGEL; ACCURSO, 2002; CORVOL *et al.*, 2008). Portanto, a inflamação desempenha um papel central na progressão da doença FC (SAGEL; CHMIEL; KONSTAN, 2007). A disfunção da CFTR resulta em infecção e inflamação, que contribuem para a patogênese da doença. Postula-se que a ausência ou diminuição da atividade CFTR promove à redução na secreção de cloro e uma hiper-absorção de sódio e água para manter o equilíbrio cloro/sódio dentro da célula. Isso resulta na redução do líquido da superfície das vias aéreas e, consequentemente, ocorre uma diminuição do volume do fluido periciliar, resultando em uma hipersecreção persistente de

mucina, prejudicando o *clearance* mucociliar (JACQUOT *et al.*, 2008; MATTOSCIO *et al.*, 2010). A obstrução dos ductos exócrinos de vários órgãos é decorrente do aumento da concentração de mucina. O muco no epitélio forma placas com ambiente hipóxico que podem conter bactérias, especialmente, a *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) com a formação de microcolônias com potencial de evolução em biofilme bacteriano (WINE, 1999; WORLITZSCH *et al.*, 2002; BOUCHER, 2007b; SOUTHERN, 2007; DAVIES; BILTON, 2009; GELLER; RUBIN, 2009; PLANELLS-CASES; JENTSCH, 2009).

Inicialmente, as crianças com FC são colonizadas por *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* e *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Dentro de um curto período de tempo, *P. aeruginosa* torna-se o organismo predominante encontrado nas vias aéreas (ROSENFELD; RAMSEY; GIBSON, 2003; CAMPODÓNICO *et al.*, 2008). Em crianças com idade entre 6-10 anos, as taxas de colonização por estas bactérias têm sido relatadas em 60% para *S. aureus*, 40% para *P. aeruginosa* e 25% para *Haemophilus influenzae*. Aproximadamente 80% dos adultos são cronicamente infectados, em suas vias aéreas, com *P. aeruginosa* e 35% por *S. aureus* (STEINKAMP *et al.*, 2005).

A aquisição e a persistência de *P. aeruginosa* no trato respiratório inferior de pacientes com FC estão associadas com maior morbidade e mortalidade (EMERSON *et al.*, 2002). Inicialmente, as cepas isoladas têm a aparência não-mucóide e são sensíveis aos antibióticos. Entretanto, ao longo do tempo, desenvolvem-se cepas de *P. aeruginosa* com fenótipo mucóide que sintetizam um revestimento de alginato, formando um biofilme (BJARNSHOLT *et al.*, 2009). Este biofilme, uma vez estabelecido, é de difícil tratamento com antibioticoterapia padrão e se associa a um declínio mais acelerado na função pulmonar (WORLITZSCH *et al.*, 2002; CAMPODÓNICO *et al.*, 2008; ROVEDDER *et al.*, 2008). As vias aéreas de pacientes com FC podem estar infectadas com outros agentes patogênicos, como *Burkholderia cepacia*, sendo que a infecção com esta bactéria pode causar um rápido declínio da função pulmonar e aumento da mortalidade em pacientes com FC (BOECK *et al.*, 2004; STEINKAMP *et al.*, 2005; ABBOTT *et al.*, 2009).

Na ausência da proteína CFTR funcional, o excesso de sódio e cloro pode ficar retido no líquido da superfície das vias aéreas, aumentando a concentração de cloretos na camada periciliar, que recobre os cílios da traquéia aos bronquíolos, prejudicando a ação de substâncias consideradas antibióticos naturais, como a  $\beta$ -defensina 1, lisozima e lactoferrina. Isto permite que as bactérias que são depuradas

por vias normais persistam nos pulmões de pacientes com FC (GOLDMAN *et al.*, 1997; WINE, 1999; DAVIES, 2002; O'SULLIVAN; FREEDMAN, 2009). Em uma pesquisa *in vitro*, realizada por Smith *et al.* (1996), foi mostrado que as defensinas, peptídeos com amplo espectro antimicrobiano e efeito imunomodulador (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008), são inativadas por concentrações de sal superiores a 50 mmol/L, facilitando assim a infecção e crescimento bacteriano.

A ativação da resposta inflamatória do indivíduo pode ser um defeito intrínseco na FC. O suporte para esta hipótese está no fato de que altas concentrações de mediadores inflamatórios são identificadas em pacientes com FC não infectados (TIROUVANZIAM *et al.*, 2000; MACHEN, 2006). Além disso, resultados de estudos com lavado bronco-alveolar mostram que a inflamação está presente em crianças a partir de quatro semanas de idade (KHAN *et al.*, 1995) e em crianças jovens (BALOUGH *et al.*, 1995) que estão aparentemente sem infecção. O resultado do estudo com crianças com FC mostrou que a resposta inflamatória foi maior neste grupo do que em indivíduos controle com a mesma carga de bactérias nas vias aéreas (MUHLEBACH *et al.*, 1999).

Sugere-se ainda, que em indivíduos sem FC, a *P. aeruginosa* liga-se a CFTR funcional dando início à resposta imune inata. Em pacientes com FC, a asialo-GM1, uma glicoproteína de superfície, pode atuar como receptor para ligação da *P. aeruginosa* ao epitélio das membranas das células. O que permite uma maior ligação de *P. aeruginosa* e *S. aureus* no epitélio das vias aéreas, sem o início da resposta imune mediada pela CFTR (IMUNDO *et al.*, 1995; BENTZMANN *et al.*, 1996; CAMPODÓNICO *et al.*, 2008). O resultado é que, na FC, a resposta imune inata, rápida e auto-limitante, que elimina *P. aeruginosa* das vias aéreas está ausente e ao mesmo tempo há maior fixação de bactérias na superfície epitelial (O'SULLIVAN; FREEDMAN, 2009).

Portanto, o excesso de inflamação nas vias aéreas pode ser devido à persistência de estímulos para a produção de citocinas como a presença de bactérias ou de uma anomalia constitutiva na regulação da produção de citocinas pelas células (COURTNEY; ENNIS; ELBORN, 2004). Porém, vale ressaltar que, independente de qual hipótese contribua mais para a fisiopatologia da doença, a FC apresenta como característica uma relação sinérgica entre obstrução das vias aéreas, infecção bacteriana e inflamação que resulta em progressão da doença e danos estruturais nas vias aéreas (van der VLIET; CROSS, 2000; ROVEDDER *et al.*, 2008).

Os protocolos clínicos consideram, dentre as principais bactérias patogênicas para a FC, a *P. aeruginosa* como sendo a mais agressiva (GRASSMÉ, *et al.*, 2010). Tem sido mostrado que, em resposta à infecção por *P. aeruginosa*, as células imunes produzem uma maior quantidade de citocinas pró-inflamatórias (HEIJERMAN, 2005). Estudos mostram também, que a função pulmonar se deteriora mais rapidamente em pacientes com FC infectados por *P. aeruginosa* do que aqueles que não estão infectados (NIXON *et al.*, 2001; EMERSON *et al.*, 2002). As vias respiratórias dos pacientes com FC infectadas por *P. aeruginosa* potencializam a proliferação da inflamação e a resposta contínua das células do sistema imune a esta infecção crônica resulta na destruição progressiva do pulmão, no aumento das exacerbações da doença e da mortalidade (MURPHY *et al.*, 2010).

Uma das características da inflamação das vias aéreas na FC é a predominância, fluxo contínuo e acúmulo de neutrófilos (CONESE *et al.*, 2003; DOWNEY; BELL; ELBORN, 2009; KIENINGER; REGAMEY, 2010). Os neutrófilos liberam proteases, incluindo a elastase neutrofílica, sendo que esta enzima danifica diretamente a parede das vias aéreas por digerir a elastina e outras proteínas estruturais (COURTNEY; ENNIS; ELBORN, 2004; ELIZUR; CANNON; FERKOL, 2008). A elastase neutrofílica também prejudica as funções antibacterianas dos macrófagos e neutrófilos e estimula a liberação de quimiocinas de neutrófilos como a IL-8 (SAGEL; ACCURSO, 2002). A IL-8 é produzida pelas células epiteliais das vias aéreas de forma endógena, ou em resposta à patógenos por meio da ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), sugerindo um papel central desta via na fisiopatologia da inflamação na FC (KIENINGER; REGAMEY, 2010). As bactérias e seus produtos também estimulam a liberação de quimiocinas que recrutam mais neutrófilos nas vias aéreas, aumentando a resposta inflamatória (CHMIEL; KONSTAN, 2007).

Os neutrófilos ativados secretam a enzima MPO, que produz os ácidos oxidantes com atividade anti-bactericida dos neutrófilos (van der VEEN; WINTHER; HEERINGA, 2009; DAVIES, 2011). A geração excessiva destes oxidantes tem sido associada ao dano pulmonar na FC (HARWOOD *et al.*, 2009). Os macrófagos expostos à MPO enzimaticamente ativa apresentam um aumento na secreção de citocinas, incluindo o TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  (MALLE; BUCH; GRONE, 2003). Portanto, concentrações elevadas de MPO têm sido detectadas em pacientes com FC (KOLLER *et al.*, 1994; KOLLER *et al.*, 1996; KETTLE *et al.*, 2004; THOMSON *et al.*, 2010). O estudo realizado com crianças sem e com FC avaliou a concentração da enzima MPO e dos ácidos hipobromoso e

hipocloroso associando com as características clínicas da FC. A concentração média de MPO foi significativamente maior no grupo FC comparado com o grupo controle. Além disto, as concentrações de MPO foram maiores nas crianças com FC infectadas com *P. aeruginosa* comparadas com àquelas sem infecção. Correlações positivas foram observadas no grupo FC entre as concentrações de 3-clorotirosina e MPO, assim como entre as concentrações de 3-bromotirosina e MPO. Os autores sugerem com este resultado que a MPO produz os ácidos hipobromoso e hipocloroso nas vias respiratórias das crianças com FC, sendo estes oxidantes envolvidos na exacerbação precoce da doença (THOMSON *et al.*, 2010).

Além disto, o infiltrado persistente de neutrófilos nas vias aéreas favorece uma resposta inflamatória anormal, semelhante àquela induzida por lipopolissacarídeo, ou seja, com elevadas concentrações de NF- $\kappa$ B, que por sua vez promove a síntese de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8 (BARNES; KARIN, 1997; DIMANGO *et al.*, 1998; BERGER, 2002; ARMSTRONG *et al.*, 2005; HANSEN *et al.*, 2010). Portanto, as citocinas têm um papel importante na fisiopatologia da doença pulmonar da FC, uma vez que a ativação das citocinas tem sido mostrada em pacientes com FC comparados com controles (SAGEL; ACCURSO, 2002). Embora estas citocinas possam ser benéficas para eliminar a infecção bacteriana, estimulando as defesas do hospedeiro, a produção contínua em excesso contribui para a exacerbação da FC. Na circulação sistêmica o TNF- $\alpha$  altera o metabolismo intermediário, aumentando o gasto energético de repouso, estimulando a lipólise e catabolismo, causando anorexia e perda de peso (COURTNEY; ENNIS; ELBORN, 2004). Na avaliação de pacientes com FC cronicamente infectados por *P. aeruginosa* foram detectadas elevadas concentrações de TNF- $\alpha$  em comparação à controles saudáveis (NORMAN *et al.*, 1991). Outros estudos fornecem evidência do aumento das citocinas IL-4 e IL-8 no lavado broncoalveolar de pacientes com FC com infecção pulmonar, causada por *P. aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *S. Aureus* (HARTL *et al.*, 2006; DOUGLAS *et al.*, 2009; SAGEL *et al.*, 2009).

A IL-1 $\beta$  induz febre, estimula respostas de fase aguda e promove o catabolismo proteico muscular. Além disto, as citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  induzem à produção de IL-6 e IL-8 por macrófagos e células epiteliais (CHMIEL; BERGER; KONSTAN, 2002). Com os resultados do estudo realizado em cultura de células epiteliais brônquicas de pacientes com FC os autores concluíram que existe uma acelerada e exagerada produção de IL-8 e IL-6 nestas células

quando estimuladas com TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  (STECENKO *et al.*, 2001). Portanto, sugere-se que estas citocinas pró-inflamatórias sejam elementos integrantes da cascata inflamatória e responsáveis por manifestações clínicas da FC (CHMIEL; BERGER; KONSTAN, 2002). Além disto, estudos têm mostrado que as citocinas pró-inflamatórias, especialmente TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , são importantes promotoras da reabsorção óssea, além de inibirem a formação óssea. Em muitos pacientes com FC isto pode levar à ocorrência de baixa densidade mineral óssea, ocasionando a osteoporose e a osteomalácia (ROMAS; MARTIN, 1997; ARIS *et al.*, 2000; IONESCU *et al.*, 2000). No estudo conduzido em crianças, foram avaliadas as concentrações de IL-1 $\beta$ , e o grupo FC apresentou concentrações significativamente maiores comparado com o grupo controle (SMYTH *et al.*, 2000). Os pacientes com FC têm diminuição das concentrações de interleucina-10 (IL-10), citocina que tem propriedades anti-inflamatórias. Acredita-se que a diminuição da expressão da IL-10 contribui para a produção excessiva das citocinas pró-inflamatórias, impedindo a resolução da inflamação das vias aéreas (STAROSTA *et al.*, 2006). Contudo, o desequilíbrio resultante entre citocinas pró e anti-inflamatórias promove a amplificação da resposta inflamatória na FC (COURTNEY; ENNIS; ELBORN, 2004; CORVOL *et al.*, 2008).

O desequilíbrio das citocinas e a inflamação persistente observados nos pacientes com FC favorece a indução de proteínas de fase aguda como a PCR (KIM; DEUTSCHMAN, 2000; JEAN-BAPTISTE, 2007), sendo observadas concentrações elevadas deste marcador em pacientes com FC infectados por *P. aeruginosa* (ELBORN *et al.*, 1993; WATKIN *et al.*, 1994; MARTIN *et al.*, 2010). Avaliando-se a PCR em adolescentes com FC, observou-se que os valores foram elevados nos pacientes instáveis comparados com aqueles estáveis clinicamente (LUCIDI *et al.*, 2008). Da mesma forma, o estudo realizado com crianças com FC mostrou que 50% delas apresentaram valores acima dos desejáveis para PCR (SLOBODIANIK *et al.*, 2010). Atribui-se ainda à PCR ser um marcador substituto para IL-6, uma vez que a IL-6 apresenta-se como um potente indutor da resposta de fase aguda (COURTNEY; ENNIS; ELBORN, 2004).

No processo inflamatório, existem evidências que os metabólitos tóxicos de oxigênio e nitrogênio, também contribuam para a lesão pulmonar na FC (CHMIEL; KONSTAN, 2007). Porém, apesar da intensa resposta inflamatória, as concentrações de NO no ar exalado são, geralmente, mais baixos (GRASEMANN *et al.*, 1997; ROBROEKS *et al.*, 2008) ou similares (LUNDBERG *et al.*, 1996; FRANKLIN *et al.*,

2006) em pacientes com FC comparados com indivíduos sem a doença. Avaliando-se crianças e adolescentes observou-se concentrações baixas de NO no ar exalado dos pacientes com FC comparados com o grupo controle (KEEN *et al.*, 2010). Em contrapartida, outros estudos que avaliaram as concentrações de NO<sub>x</sub>, medidos no escarro de pacientes com FC, apresentaram concentrações elevadas, comparados com o grupo controle (LINNANE *et al.*, 1998; JONES *et al.*, 2000; FORMANEK *et al.*, 2002).

A adenosina é uma molécula mediadora da defesa imunológica inata dos pulmões e reguladora da CFTR nas vias aéreas por meio da estimulação de receptores próprios (LI *et al.*, 2006; HIRSH *et al.*, 2007). A atividade da ADA foi avaliada pelo método de Giusti e Galanti (1984) em crianças com FC e os resultados foram comparados com valores de referência obtidos de crianças sem FC. Observou-se um aumento da atividade da ADA nos pacientes com FC comparados com as crianças sem FC (PERRIS *et al.*, 2008).

### 2.3.2 Resposta inflamatória e estado nutricional na fibrose cística

A deficiência nutricional é geralmente associada com a deficiência das respostas imunes, em particular da imunidade celular como função de fagócitos, produção de citocinas, resposta de anticorpos e do sistema do complemento. A desnutrição é a causa mais comum de imunodeficiência (CHANDRA, 1996). Na FC vários fatores parecem contribuir para a desnutrição, dentre eles a insuficiência pancreática exócrina que causa má digestão/absorção de macronutrientes, bem como das vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e dos minerais cálcio, magnésio e zinco (O'SULLIVAN; FREEDMAN, 2009; ROLIM *et al.*, 2010; WERLIN *et al.*, 2010).

As dietas inadequadas resultam em inapetência e redução do crescimento. Assim, o consumo e a absorção de nutrientes importante para as respostas imunitárias (por exemplo, zinco, selênio, vitamina A, piridoxina, vitamina E) estão comprometidos (CHANDRA, 1996). As deficiências nutricionais são frequentes nos pacientes com FC, sendo estes indivíduos suscetíveis às infecções oportunistas (O'SULLIVAN; FREEDMAN, 2009).

A imunidade inata e o metabolismo dos nutrientes são sistemas biológicos complexos que trabalham em conjunto para preservar a homeostase do organismo. As células efetoras do sistema imune utilizam os nutrientes essenciais para fornecer energia, produzir precursores metabólicos para a biossíntese de macromoléculas e ajustar

suas respostas aos agentes infecciosos. Assim, com o estado nutricional comprometido existe um impacto substancial na competência imunológica resultando em aumento da susceptibilidade à infecção ou inflamação crônica (AFACAN; FJELL; HANCOCK, 2012).

Contudo, a principal causa da lesão pulmonar na FC é a inflamação persistente (SAGEL; ACCURSO, 2002; CORVOL *et al.*, 2008), confirmando que é essencial o entendimento da resposta inflamatória na FC, assim como, a sua relação com o estado nutricional e função pulmonar.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a relação entre resposta inflamatória, estado nutricional e função pulmonar em crianças e adolescentes com fibrose cística.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o estado nutricional pelos indicadores de peso-para-idade, estatura-para-idade, índice de massa corporal-para-idade em z-escore e a composição corporal pela área gordurosa do braço e área muscular do braço em z-escore e percentual de gordura corporal.
- Avaliar a função pulmonar pelo Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo (VEF<sub>1</sub>).
- Avaliar a resposta inflamatória por meio da dosagem de mieloperoxidase, interleucina-1beta, fator de necrose tumoral-alfa, proteína C-reativa, metabólitos de óxido nítrico e adenosina deaminase e da contagem de leucócitos, neutrófilos, linfócitos e monócitos.
- Correlacionar resposta inflamatória, estado nutricional e função pulmonar.



## 4 SUJEITOS E MÉTODOS

### 4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Este estudo foi realizado com pacientes com Fibrose Cística (FC), integrantes da Associação Catarinense de Assistência ao Mucoviscidótico atendidos no Hospital Infantil Joana de Gusmão (HIJG), Florianópolis/SC, e com um grupo controle sem diagnóstico de FC do mesmo hospital. Estudo clínico-transversal, realizado no período de abril de 2009 a dezembro de 2011, em nível ambulatorial. Este estudo é um subprojeto do estudo “Marcadores pró-inflamatórios, de estresse oxidativo e de disfagia em fibrocísticos”, financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (#474945/2008-1) (ANEXO A). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do HIJG (#048/2009) (ANEXO B) e está de acordo com *World Medical Association, Declaration of Helsinki* (2008). O estudo foi cadastrado no site de Registro de Ensaio Clínicos: Australian New Zealand Clinical Trials Registry (<http://www.anzctr.org.au/>) (#ACTRN12611001217998). Os sujeitos ou responsáveis foram esclarecidos sobre a pesquisa e avaliações, e após terem assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foram incluídos no estudo (APÊNDICE A).

### 4.2 SUJEITOS

A amostra do estudo foi não probabilística por conveniência, composta por sujeitos com FC (distribuídos em subgrupos pela análise bacteriológica) e indivíduos sem FC (grupo controle) com idades entre 1 a 16 anos.

#### 4.2.1 Grupo Controle (GC)

O GC (n= 31) foi selecionado entre os pacientes do ambulatório de puericultura do HIJG. *Crítérios de inclusão*: crianças e adolescentes sem diagnóstico de FC, pareadas em idade e sexo com os pacientes com FC e dentro da faixa de normalidade para peso-para-idade e estatura-para-idade em z-escore. *Crítérios de exclusão*: sujeitos com febre, diagnóstico de trauma, doenças inflamatórias (asma, doença inflamatória intestinal, doença reumática), psiquiátricas, degenerativas, cardiovasculares, diabetes, intolerância à glicose, insuficiência renal, imunodeficiência primária ou secundária. Sujeitos em uso de

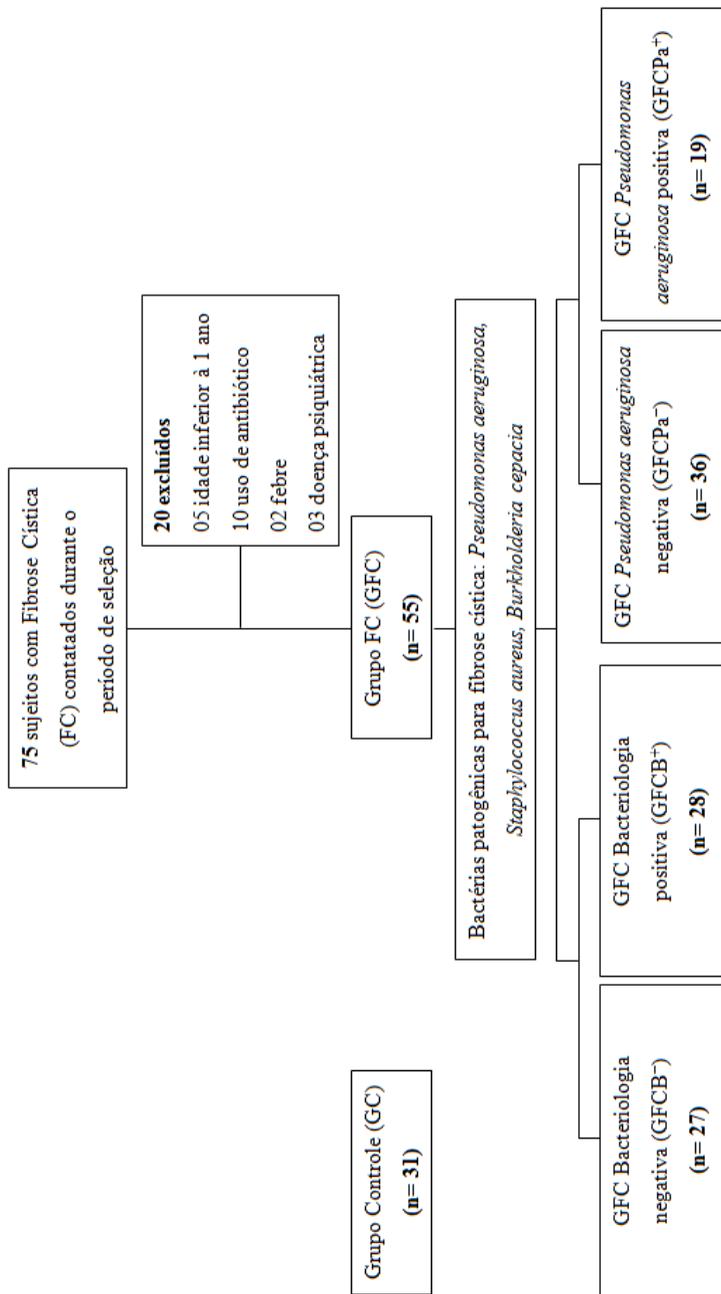
antibiótico, hormônio, anti-inflamatório não hormonal, imunossupressor e anti-histamínico, até 30 dias antes da coleta de dados.

#### 4.2.2 Grupos Fibrose Cística

O Grupo Fibrose Cística (GFC) (n= 55) foi selecionado entre os pacientes do ambulatório de FC do HJG. *Crítérios de inclusão*: sujeitos com diagnóstico de FC baseado no teste do suor (cloreto no suor  $\geq 60$  mmol/L), com idades entre 1 a 16 anos. *Crítérios de exclusão*: sujeitos com febre, diagnóstico de trauma, doenças inflamatórias (asma, doença inflamatória intestinal, doença reumática), psiquiátricas, degenerativas, cardiovasculares, diabetes, intolerância à glicose, insuficiência renal, imunodeficiência primária ou secundária. Sujeitos em uso de antibiótico, hormônio, anti-inflamatório não hormonal, imunossupressor e anti-histamínico, até 30 dias antes da coleta de dados. Excluiu-se ainda, os sujeitos em exacerbação pulmonar, definida como a presença de pelo menos três dos seguintes sintomas: 1) tosse aumentada; 2) produção de esputo aumentada e/ou alteração na aparência do esputo; 3) febre  $\geq 38^{\circ}\text{C}$  na semana anterior/mais de uma vez, por pelo menos 4 horas durante 24 horas; 4) frequência respiratória aumentada e/ou dificuldade de respirar (identificada por chiados, crepitação ou respiração ofegante); 5) tolerância reduzida aos exercícios; 6) redução no Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo ( $\text{VEF}_1$ )  $\geq 10\%$  do valor anterior dentro dos últimos 3 meses; 7) absenteísmo da escola devido à doença; 8) perda de peso  $\geq 1$  kg ou 5% do peso corporal, associada à anorexia e ingestão reduzida da dieta (FUCHS *et al.*, 1994).

De um total de 75 sujeitos contatados durante o período de seleção, houve uma exclusão de 20 sujeitos: cinco com idade inferior a 1 ano, 10 em tratamento com antibiótico, dois com febre e três com doença psiquiátrica, totalizando 55 sujeitos no GFC. O GFC foi redistribuído conforme análise bacteriológica de “swab” de orofaringe: 1) presença ou ausência de microorganismos patogênicos para FC (*Pseudomonas aeruginosa* - *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* - *S. aureus*, *Burkholderia cepacia* - *B. cepacia*): GFC bacteriologia negativa ( $\text{GFCB}^-$ , n= 27): sujeitos não infectados por microorganismos patogênicos para FC; ou GFC bacteriologia positiva ( $\text{GFCB}^+$ , n= 28): sujeitos infectados por microorganismos patogênicos para FC. 2) presença ou ausência de *P. aeruginosa*: GFC *P. aeruginosa* negativa ( $\text{GFCPa}^-$ , n= 36): sujeitos não infectados por *P. aeruginosa*; ou GFC *P. aeruginosa* positiva ( $\text{GFCPa}^+$ , n= 19): sujeitos infectados por *P. aeruginosa* (Figura 1).

**Figura 1** - Grupos avaliados no estudo



Fonte: do Autor.

### 4.3 PROTOCOLO DE PESQUISA

O protocolo de pesquisa envolveu os seguintes dados coletados do prontuário: dados de identificação e clínicos como idade, sexo, data de nascimento, data do diagnóstico da doença, teste do suor, protocolo de suplementação vitamínica. A função pulmonar, a secreção da cavidade orofaríngea e o sangue foram coletados por profissionais de enfermagem treinados do laboratório prestador de serviços ao HIJG, Ciência Laboratório Médico Ltda<sup>®</sup>, Florianópolis. O laboratório realizou as análises da função pulmonar, leucograma e bacteriologia (“*swab*” de orofaringe). No Laboratório de Pesquisa em Imunologia da Universidade Federal de Santa Catarina foram realizadas as análises dos marcadores inflamatórios. Os dados antropométricos de peso, altura, circunferência do braço e dobras cutâneas tricipital, bicipital, sub-escapular e supra-ílica foram coletados no ambulatório do HIJG por nutricionista treinado.

#### 4.3.1 Protocolo de suplementação vitamínica do HIJG

De acordo com o protocolo de tratamento administrado no HIJG, os sujeitos com idade maior ou igual à 1 ano até menores de 4 anos receberam 2 mL/dia do suplemento vitamínico SourceCF<sup>®</sup> (Eurand Pharmaceuticals, Huntsville, Alabama, EUA). Os sujeitos com idade maior ou igual à 4 até menores de 10 anos receberam 1 comprimido/dia e os com idade maior ou igual à 10 anos receberam 2 comprimidos/dia do suplemento vitamínico ADEK's<sup>®</sup> (Axcen Pharma, Birmingham, Alabama, EUA), seguindo as recomendações de Borowitz, Baker, Stallings (2002). A composição nutricional dos suplementos encontra-se na Tabela 1.

**Tabela 1** - Composição nutricional dos suplementos vitamínicos Source CF<sup>®</sup> e ADEK's<sup>®</sup>

<b>Cada porção contém</b>	<b>Source CF<sup>®</sup> (2 mL)</b>	<b>ADEK's<sup>®</sup> (1 comp.)</b>
Vitamina A (UI)	9.254	5.667
Vitamina D (UI)	1.000	400
Vitamina E (acetato de alfa-tocoferol) (UI)	100	150
Vitamina K (fitonadiona) (mcg)	800	150
Vitamina C (ascorbato sódico) (mg)	90	60
Tiamina (vitamina B <sub>1</sub> como tiamina HCl) (mg)	1,0	1,2
Riboflavina (mg)	1,2	1,3
Niacina (niacinamida) (mg)	12	10
Vitamina B <sub>6</sub> (cloridrato de piridoxina) (mg)	1,2	1,5
Ácido Fólico (mg)	NC	0,2
Vitamina B <sub>12</sub> (cianocobalamina) (mcg)	8,0	12
Biotina (mcg)	30	50
Ácido Pantotênico (d-Panthenol) (mg)	6,0	10
Zinco (gluconato de zinco) (mg)	10	7,5

Comp.= Comprimido; UI= unidade internacional; NC= não contém

Fonte: Source CF<sup>®</sup> (Eurand Pharmaceuticals, Huntsville, Alabama, EUA) e ADEK's<sup>®</sup> (Axcan Pharma, Birmingham, Alabama, EUA).

#### 4.4 AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL

##### 4.4.1 Avaliação antropométrica

As medidas antropométricas foram tomadas de acordo com a WHO (1995) por nutricionista treinado. O peso dos sujeitos até 2 anos foi aferido utilizando balança digital pediátrica, marca Filizola<sup>®</sup> (Santo André, São Paulo, Brasil) com capacidade máxima 15 kg, aproximação de 0,01 kg. Para os sujeitos maiores de 2 anos, foi utilizada balança digital BK 50 F (Balmak<sup>®</sup>, Santa Bárbara d'Oeste, São Paulo, Brasil), com capacidade máxima de 150 kg e aproximação de 0,1 kg. O sujeito foi pesado em jejum, com a bexiga vazia, sem sapatos e com roupas leves e o peso foi mensurado em kilos (WHO, 1995). A estatura (comprimento) dos sujeitos até 2 anos foi obtido com elas em posição de decúbito dorsal, cabeça fixada por um auxiliar, os joelhos estendidos e os pés formando um ângulo de 90°. Foi utilizado o estadiômetro infantil graduado de 0 a 150 cm (sensibilidade: 1 mm), com placa móvel (Sanny<sup>®</sup>, São Paulo, São Paulo, Brasil) (WHO, 1995). Nos sujeitos maiores de 2 anos, a estatura foi aferida por meio de um antropômetro (Alturaexata<sup>®</sup>, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), com escala de

precisão de 0,1 cm. O sujeito foi posicionado sobre a base do antropômetro, descalço, ereto, com o peso do corpo distribuído igualmente sobre ambos os pés, colocando as superfícies posteriores dos calcanhares, as nádegas e a região occipital em contato com a escala de medida e com a cabeça orientada de modo que a linha de visão ficasse perpendicular ao corpo, ou seja, paralela ao solo (Plano de Frankfurt). O sujeito foi orientado a inspirar profundamente e, em apneia respiratória, foi mensurada a estatura em metro e com uma aproximação de 0,1 cm. A referência para a mensuração foi o ponto mais alto da cabeça com pressão suficiente para comprimir o cabelo. Foram realizadas três medidas e calculado a média aritmética entre elas (WHO, 1995).

A classificação do estado nutricional foi realizada de acordo com as curvas de crescimento e pontos de corte da WHO (2006/2007), utilizando o programa Anthro versão 3.2.2 (sujeitos com idade entre zero e 60 meses) e AnthroPlus versão 1.0.3 (sujeitos com idade superior à 60 meses até 192 meses). Foram utilizados os indicadores peso-para-idade (P/I) (faixa etária de zero até 10 anos), estatura-para-idade (E/I) (faixa etária de zero até 16 anos) e índice de massa corporal-para-idade (IMC/I) (faixa etária de zero até 16 anos) em Z-escore.

#### 4.4.2 Composição corporal

Para estimativa do Percentual de Gordura Corporal (%GC) foram utilizadas as fórmulas propostas por Weststrate e Deurenberg (1989) de acordo com o sexo e faixa etária (zero à 16 anos), a partir do somatório de quatro dobras cutâneas: bicipital (DCB), tricipital (DCT), sub-escapular (DCSE) e supra-ílica (DCSI), que reflete uma relação entre o percentual de gordura e a densidade corporal. As fórmulas utilizadas para o cálculo da densidade corporal e do %GC estão descritas no ANEXO C.

As medidas das dobras cutâneas foram realizadas segundo a metodologia da WHO (1995), no lado direito do corpo, com o sujeito disposto em posição ereta. Foram aferidas as dobras cutâneas utilizando o Compasso de Dobras Cutâneas *Lange skinfold caliper*<sup>®</sup> (Beta Technology Corporated - Santa Cruz, Califórnia, EUA), com aproximação de 0,5 mm. DCT e DCB foram pinçadas no ponto médio do braço, sendo a DCB na face anterior e a DCT na posterior. DCSE foi pinçada abaixo do ângulo inferior da escápula direita, aproximadamente a 45° do plano horizontal, e DCSI foi obtida obliquamente em relação ao eixo longitudinal, na metade da distância entre o último arco costal e a crista ílica, sobre a linha axilar medial. A circunferência do braço

(CB) foi obtida no ponto médio lateral entre o ponto acromial da escápula e o olecrano da ulna com uma fita métrica inelástica, com aproximação de 0,1 centímetros. O sujeito foi orientado a permanecer de pé, com os braços estendidos livremente próximos ao corpo e com as palmas voltadas para as coxas. Para todas as medidas foram realizadas três aferições, sendo utilizada a média para as análises. A AMB e a AGB foram calculadas de acordo com as fórmulas propostas por Frisancho (1981) em Z-escore, utilizando o programa Siscrec Crescimento e Desenvolvimento (Campinas, São Paulo, Brasil).

#### 4.5 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PULMONAR

O exame da função pulmonar, espirometria, foi realizado pela equipe de enfermagem do HIJG nos pacientes com FC (n= 22) e GC (n= 14) com idade igual ou superior a cinco anos de idade. O equipamento utilizado foi o espirômetro modelo *Renaissance Spirometry System* (Puritan-Bennett Corporation<sup>®</sup>, Wilmington, Carolina do Norte, EUA). A metodologia para a realização do exame e a classificação da função pulmonar foi pelo VEF<sub>1</sub>, conforme Pellegrino *et al.* (2005). O grau de severidade foi considerado “na média” quando igual ou acima de 70%, “moderado” entre 60-69%, “moderadamente grave” entre 50-59%, “grave” entre 35-49% e “muito grave” quando menor de 35% (PELLEGRINO *et al.*, 2005).

#### 4.6 ESCORE DE SHWACHMAN-KULCZYCKI

O escore de Shwachman-Kulczycki (1958) foi utilizado para classificar a gravidade da doença. O escore pontua as atividades gerais, exame clínico, estado nutricional e achados radiológicos. Cada item apresenta o mesmo peso (25 pontos) e o total de 100 pontos representa o escore perfeito. O estado do paciente foi considerado “excelente” quando o escore foi igual ou acima de 86, “bom” quando o escore foi entre 71 e 85, “médio” entre 56 e 70, “moderado” entre 41 e 55, e “grave” quando igual ou inferior a 40 (ANEXO D).

#### 4.7 AMOSTRAS BIOLÓGICAS

As amostras biológicas foram coletadas com os sujeitos em jejum de 10 horas, por um profissional de enfermagem treinado do laboratório Ciência Laboratório Médico Ltda<sup>®</sup>. A secreção da cavidade orofaríngea foi obtida pela manhã, tendo o paciente sido orientado para higiene oral

apenas com água. As amostras de sangue total foram coletadas em tubos secos e em seguida foram centrifugadas à 2500 rotações por minuto (rpm) por 10 minutos para obtenção do soro para determinação dos marcadores inflamatórios. Após a centrifugação, as amostras de soro foram transferidas para frascos com tampa (tipo *ependorfs*), devidamente identificados com o código de pesquisa do sujeito e o marcador inflamatório correspondente. Em seguida, as alíquotas foram congeladas sob temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$  para posterior análise. Os marcadores inflamatórios foram analisados no Laboratório de Pesquisa em Imunologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

O leucograma foi analisado pelo laboratório, Ciência Laboratório Médico Ltda<sup>®</sup>, no sangue total, utilizando tubos contendo ácido etilendiamino tetra-acético - EDTA (do inglês, *Ethylenediamine tetraacetic acid*).

#### 4.8 ANÁLISE BACTERIOLÓGICA

A secreção da cavidade orofaríngea foi coletada com um “*swab*” estéril e avaliada microscopicamente (microscópio NIKON E200, Chiyoda, Tóquio, Japão) pelo método de Gram (GILLIGAN; KISKA; APPLEMAN, 2006). Os homogeneizados formados a partir de 0,5 mL da porção purulenta da secreção da cavidade orofaríngea adicionado a 1 mL de solução salina estéril foram inoculados em uma placa contendo ágar sangue de carneiro (Oxoid, São Paulo, Brasil), uma placa contendo ágar chocolate suplementado com 0,1% de extrato de levedo (Oxoid, São Paulo, Brasil) e com 20  $\mu\text{g/mL}$  de nicotinamida adenina dinucleotídeo (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, Saint Louis, Missouri, EUA), outra placa contendo o meio ágar Mack Conkey (Oxoid, São Paulo, Brasil), outra placa contendo o meio seletivo para *B. cepacia* (Oxoid, São Paulo, Brasil) e uma última placa contendo ágar Manitol (Oxoid, São Paulo, Brasil). A placa de ágar chocolate foi incubada em sistema de microaerofilia. As placas restantes foram incubadas em aerobiose, em estufa, a  $37^{\circ}\text{C}$ . As placas foram examinadas, por meio da contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC), após 48h, mantidas à temperatura ambiente e reexaminadas (nova contagem das UFC) após 96h do tempo inicial. A indicação de presença de infecção para FC foi realizada a partir da contagem das UFC ( $\geq 10^5$  UFC/mL de um patógeno).

## 4.9 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA

### 4.9.1 Atividade da enzima Mieloperoxidase

A atividade da mieloperoxidase (MPO) foi avaliada pelo método desenvolvido por Rao *et al.* (1993). Aliquotas de 20  $\mu\text{L}$  do soro dos sujeitos ou do padrão [MPO de neutrófilos humanos (0,7-140 mU/mL)] foram transferidos para placas com 96 poços de fundo chato (placas de ELISA) e a reação bioquímica iniciada com a adição de 180  $\mu\text{L}$  de solução tampão (0,167 mg/mL de o-dianisidina 2HCl e 0,0005% de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Após 15 minutos de incubação, à temperatura ambiente, a reação enzimática foi interrompida para a adição de 30  $\mu\text{L}$  de azida sódica (1%). Após a centrifugação (3000 rpm por 5 minutos), os sobrenadantes e as concentrações padrões de MPO foram mensurados pela medida colorimétrica (450 nm), em leitor ELISA (Organon-Tecknica®, Roseland, New Jersey, EUA), e os valores foram expressos em mU/mL, com o auxílio da equação da reta, sendo considerado aceitável um valor de “R” acima de 0,9.

### 4.9.2 Concentração de Interleucina-1beta e Fator de Necrose Tumoral alfa

As concentrações das citocinas Interleucina-1beta (IL-1 $\beta$ ) e Fator de Necrose Tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) foram quantificadas por meio da técnica de Enzimaimunoensaio - ELISA (do inglês, *Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay*). Os kits comerciais de ELISA foram utilizados conforme as instruções do fabricante (BD Biosciences, San José, Califórnia, EUA). Para cada citocina, foram utilizados anticorpos monoclonais específicos, anti-IL-1 $\beta$  e anti-TNF- $\alpha$ . As sensibilidades identificadas nos kits foram: IL-1 $\beta$ =0,8 pg/mL e TNF- $\alpha$ =2,0 pg/mL. Os coeficientes de variação (CV) intra e interensaios descritos pelo fabricante dos kits foram: CV intra: IL-1 $\beta$ = 2,01  $\pm$  2,80% e TNF- $\alpha$ = 4,90  $\pm$  3,67%; CV inter: IL-1 $\beta$ = 4,00  $\pm$  4,51% e TNF- $\alpha$ = 8,83  $\pm$  6,13%. As curvas-padrão com concentrações conhecidas de cada citocina, IL-1 $\beta$  (0-125 pg/mL) (Cat. n.º. 557966) e TNF- $\alpha$  (0-500 pg/mL) (Cat. n.º. 550610) também tiveram as suas densidades óticas determinadas, permitindo a quantificação dos valores desconhecidos. A mensuração das citocinas e das concentrações padrões foi realizada pela medida colorimétrica (absorbância a 450 nm) em um leitor ELISA (Organon-Tecknica®, Roseland, New Jersey, EUA), por interpolação a partir de uma curva padrão. Os resultados foram expressos em pg/mL, com o auxílio da

equação da reta, sendo considerado aceitável um valor de “R” acima de 0,9.

#### 4.9.3 Concentração da Proteína C-reativa

Os valores de proteína C-reativa (PCR) foram mensurados pelo método de nefelometria, utilizando o reagente CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP, Siemens Healthcare Diagnostics (Tarrytown, Nova Iorque, EUA) e o equipamento BN<sup>®</sup> II, Siemens Healthcare Diagnostics (Tarrytown, Nova Iorque, EUA). A quantificação de PCR pelo método de nefelometria consiste na determinação do movimento das partículas numa solução, formada pelo complexo antígeno-anticorpo (PCR ligada ao anticorpo monoclonal anti-PCR). Nesta técnica, partículas de poliestireno revestidas com anticorpo monoclonal específico contra a PCR humana, formam aglutinados quando colocadas frente a uma amostra que contenha PCR. Um feixe de luz incidente passa pela cuveta onde está ocorrendo a reação antígeno-anticorpo com consequente formação de aglutinados, e ocorre uma dispersão proporcional à concentração dos aglutinados no tubo. O feixe de luz que sofre a dispersão é detectado por sensores que o transformam em um sinal. Este sinal, plotado na curva de calibração, determinará a concentração de PCR da amostra na unidade desejada. Foram seguidas todas as recomendações solicitadas pelo fabricante referentes ao preparo do reagente e também foi seguido o protocolo do ensaio contido no manual de utilização do equipamento. Os resultados foram expressos em mg/L.

#### 4.9.4 Concentração dos Metabólitos de Óxido Nítrico

O óxido nítrico foi quantificado pela formação de seus metabólitos nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), utilizando a reação de Griess, conforme a metodologia descrita por Green *et al.* (1982). Inicialmente, a amostra de 300  $\mu\text{L}$  de soro de cada sujeito foi submetida à desproteinização, adicionando, para cada amostra, 30  $\mu\text{L}$  de solução de sulfato de zinco (20%), agitada em vórtex e incubada em banho de gelo (4° C) por 45 minutos. As amostras foram centrifugadas (2.500 rpm por 15 minutos) e o resultado final desta primeira etapa foi a obtenção de um sobrenadante que foi utilizado para reação de conversão com vanádio. A seguir, 100  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foram transferidos para uma cubeta e diluídos em solução contendo 200  $\mu\text{L}$  de solução saturada de cloreto de vanádio (0,8%) (p/v) e ácido clorídrico (3%) (p/v). Nesta mesma cubeta foram adicionados 200  $\mu\text{L}$  de solução de Griess: reagente

1 [sulfanilamida (1%) (v/v), ácido fosfórico (5%) (v/v)] e reagente 2 [alfa-naftil-etilenodiamina (0,1%) (p/v)] e incubada durante 40 minutos, à 37° C. A reação de  $\text{NO}_2^-$  com esse reagente produz uma coloração rósea, que foi quantificada por meio da leitura das densidades óticas em leitor ELISA (Organon-Technica®, Roseland, New Jersey, EUA) em 540 nm. As concentrações padrões de  $\text{NO}_2^-$  (0-150  $\mu\text{mol/L}$ ) também tiveram as densidades óticas determinadas, permitindo a quantificação dos valores de nitrito/nitrato na amostra, em  $\mu\text{mol/L}$ , com auxílio da equação da reta, sendo considerado aceitável um valor de “R” acima de 0,9.

#### 4.9.5 Atividade da enzima Adenosina Deaminase

A adenosina deaminase (ADA) foi avaliada de acordo com o método desenvolvido por Giusti e Galanti (1984). Inicialmente, amostras com concentrações conhecidas (volume final 250  $\mu\text{L}$ ) de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (35 mM),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  (15 mM) e  $\text{NH}_3\text{SO}_4$  (15 mM) foram preparadas com a finalidade de obter uma curva-padrão com concentrações conhecidas (10-50 U/L). As amostras de 20  $\mu\text{L}$  de soro dos sujeitos foram transferidas para cubetas e a reação enzimática foi iniciada com a adição da solução de adenosina fosfato [pH 6,5, 500  $\mu\text{L}$ , composição:  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (35 mM),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  (15 mM) e adenosina (0,5 mM)] e em seguida foram incubadas por 1 h à 37°C. Após o período de incubação, a reação enzimática foi bloqueada pela adição da solução (1000  $\mu\text{L}$ ) de fenol (1 mM), nitroprussiato de sódio (0,17 mM) e tampão fosfato (1000  $\mu\text{L}$ : NaOCl: 11 mM). Esta solução também foi adicionada as cubetas contendo concentrações diferentes das amostras padrão (volume final 2500  $\mu\text{L}$ ). As absorvâncias das amostras foram lidas em 620 nm em leitor ELISA (Organon-Technica®, Roseland, New Jersey, EUA). Os resultados foram expressos em U/L, com auxílio da equação da reta, sendo considerado aceitável um valor de “R” acima de 0,9.

#### 4.9.6 Leucograma

O leucograma foi analisado pelo método semi-automatizado, utilizando o equipamento Heco 5 Plus Radim Company® (Pomezia, Roma, Itália). Os valores de referência estão apresentados na Tabela 2 (WALLACH, 2003).

**Tabela 2** - Valores de referência para os parâmetros do leucograma avaliados

Análise Laboratorial	Valor de Referência	Faixa Etária
Leucócitos totais (cél./mm <sup>3</sup> )	6.000 - 14.000	01 - 23 meses
	4.000 - 12.000	02 - 09 anos
	4.000 - 10.500	10 - 17 anos
Neutrófilos (cél./mm <sup>3</sup> )	1.000 - 6.000	01 - 23 meses
	1.200 - 6.000	02 - 09 anos
	1.300 - 6.000	10 - 17 anos
Linfócitos (cél./mm <sup>3</sup> )	1.800 - 9.000	01 - 23 meses
	1.000 - 5.500	02 - 09 anos
	1.000 - 3.500	10 - 17 anos
Monócitos (cél./mm <sup>3</sup> )	< 1.000	01 - 23 meses
	< 1.000	02 - 09 anos
	< 1.000	10 - 17 anos

**Fonte:** Wallach, 2003

#### 4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram digitados com dupla entrada para comparação e detecção de possíveis erros. A normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias foram avaliadas pelo teste *Shapiro-Wilk*. As variáveis contínuas foram expressas em média  $\pm$  erro padrão da média, caso apresentassem distribuição simétrica, ou em mediana e intervalo interquartil (IQR: 25 a 75°) caso apresentassem distribuição assimétrica. As variáveis categóricas foram apresentadas por frequência de distribuição.

A análise de regressão linear múltipla foi realizada entre o GC *v.s.* GFC e GC *v.s.* todos os subgrupos do GFC (GFCB<sup>-</sup>, GFCB<sup>+</sup>, GFCPa<sup>-</sup> e GFCPa<sup>+</sup>), utilizando o teste de *Wald* para obter o valor da significância estatística. As variáveis de confusão foram sexo e idade e as variáveis de mediação foram zP/I, zE/I, zIMC/I, %GC, zAGB, zAMB. Na análise de regressão todas as variáveis assimétricas foram transformadas em log natural para a normalização. Para a comparação dos valores em média e mediana dos desfechos entre o GC e os grupos FC utilizou-se a significância representada pelos valores de “*p*” bruto da análise de regressão linear múltipla.

A análise de correlação foi realizada no GFC e GC pelo teste de *Pearson* ou *Spearman*, quando apropriado. Os softwares *Microsoft Office Excel 2007*<sup>®</sup> (Microsoft Office XP, Redmond, Washington, EUA) e *STATA*<sup>®</sup> versão 11.0. (Stata Corp., College Station, Texas, EUA) foram utilizados para a análise dos dados. Foi adotada uma significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

## 5 ARTIGO ORIGINAL

### Relação entre resposta inflamatória, estado nutricional e função pulmonar em crianças e adolescentes com fibrose cística

**Título abreviado:** Inflamação, estado nutricional e fibrose cística

#### RESUMO

**Objetivo:** Avaliar a relação entre resposta inflamatória, estado nutricional e função pulmonar em crianças e adolescentes com Fibrose Cística (FC). **Métodos:** Estudo clínico-transversal com 86 sujeitos distribuídos em Grupo Controle (GC, n=31) e Grupo FC (GFC, n=55), redistribuído em GFC bacteriologia negativa (GFCB<sup>-</sup>) ou GFC bacteriologia positiva (GFCB<sup>+</sup>) e GFC *Pseudomonas aeruginosa* negativa (GFCPa<sup>-</sup>) ou GFC *Pseudomonas aeruginosa* positiva (GFCPa<sup>+</sup>). Estado nutricional avaliado pelo z-escore de peso-para-idade (zP/I), estatura-para-idade (zE/I), índice de massa corporal-para-idade (zIMC/I), área muscular do braço (zAMB), área gordurosa do braço (zAGB) e percentual de gordura corporal (%GC) e função pulmonar pelo Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo (VEF<sub>1</sub>). Resposta inflamatória avaliada pela dosagem de mieloperoxidase (MPO), interleucina-1beta (IL-1β), fator de necrose tumoral-alfa (TNF-α), proteína C-reativa (PCR), metabólitos de óxido nítrico (NOx), adenosina deaminase (ADA) e contagem de leucócitos, neutrófilos, linfócitos e monócitos. **Resultados:** Comparados ao GC e após análise ajustada para variáveis de confusão observou-se: redução do zIMC/I e zAMB no GFC ( $p=0,030$ ;  $p=0,019$ ), GFCB<sup>+</sup> ( $p=0,030$ ;  $p=0,029$ ), e GFCPa<sup>+</sup> ( $p=0,047$ ;  $p=0,026$ ). Aumento da MPO ( $p<0,001$ , todos subgrupos), IL-1β ( $p<0,001$ , todos subgrupos) e PCR (GFC:  $p=0,002$ ; GFCB<sup>-</sup>:  $p=0,007$ ; GFCB<sup>+</sup>:  $p=0,009$ ; GFCPa<sup>-</sup>:  $p=0,004$  e GFCPa<sup>+</sup>:  $p=0,020$ ). Nos GFCB<sup>+</sup> e GFCPa<sup>+</sup>, NOx ( $p=0,001$ ;  $p<0,001$ ), leucócitos ( $p=0,002$ ;  $p=0,001$ ) e neutrófilos ( $p=0,003$ ;  $p<0,001$ ) estavam aumentados. No GFC foi observada correlação positiva entre VEF<sub>1</sub> e zP/I ( $p=0,009$ ), zE/I ( $p=0,006$ ), zIMC/I ( $p=0,028$ ) e zAMB ( $p=0,027$ ) e negativa com leucócitos ( $p=0,008$ ) e neutrófilos ( $p=0,031$ ), correlação negativa entre zAMB e NOx ( $p=0,028$ ). **Conclusão:** sujeitos com FC independente do tipo de infecção acometida apresentam resposta inflamatória importante caracterizada por aumento de MPO, IL-1β e PCR. A bacteriologia positiva apresentou efeito aditivo na resposta inflamatória levando ao aumento do NOx, leucócitos e neutrófilos. A

desnutrição, leucocitose e neutrofilia estão correlacionadas com a redução da função pulmonar.

**Palavras-chave:** Adolescentes, Crianças, Estado nutricional, Fibrose cística, Função pulmonar, Infecção, Inflamação.

## INTRODUÇÃO

As infecções persistentes e a ativação da resposta inflamatória representam fatores importantes para o prognóstico da Fibrose Cística (FC) [1]. O infiltrado persistente de neutrófilos favorece a resposta inflamatória com ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), que promove a síntese do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) e da interleucina-1beta (IL-1 $\beta$ ) [2]. Estas citocinas e a inflamação persistente favorecem a produção hepática da proteína C-reativa (PCR) [3].

Ainda como resposta à inflamação a enzima mieloperoxidase (MPO), secretada pelos neutrófilos ativados, produz ácidos oxidantes, que geram danos teciduais [4]. Outra enzima que está presente neste processo é a adenosina deaminase (ADA), que apresenta atividade nos linfócitos T e macrófagos, sendo encontrada em altas concentrações nos tecidos linfóides [5]. Neste processo inflamatório, há ainda evidências de que a alteração na biossíntese de óxido nítrico, um composto endógeno produzido pela ação da enzima óxido nítrico sintase (NOS), também contribua para a lesão pulmonar na FC [6]. Desta maneira, evidencia-se a relação sinérgica entre inflamação e lesão pulmonar resultando no progressivo declínio da função pulmonar em pacientes com FC [7].

A função pulmonar e a depleção nutricional são fatores relacionados e dependentes [8], pois ambas são decorrentes do aumento do gasto energético devido às infecções de repetição, à inflamação persistente e ao aumento do esforço respiratório [9]. Além disto, o processo inflamatório gerado na FC é mediado por citocinas pró-inflamatórias, o TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , que apresentam efeitos anoréxicos [10]. Assim, a perda de peso predispõe à diminuição de massa magra, com consequências sobre os músculos respiratórios e a elasticidade pulmonar [9].

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre resposta inflamatória, estado nutricional e função pulmonar em crianças e adolescentes com FC.

## MÉTODOS

### *Delineamento do estudo*

Estudo clínico-transversal (Abril 2009 - Dezembro 2011) realizado no Hospital Infantil Joana de Gusmão (HIJG), Florianópolis/SC, Brasil. Estudo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do HIJG (#048/2009) e registrado no *Australian New Zealand Clinical Trials Registry* (#ACTRN12611001217998). O Termo de

Consentimento Livre e Esclarecido foi assinado pelos responsáveis dos sujeitos incluídos no estudo.

### **Sujeitos**

A amostra, não-probabilística por conveniência, incluiu 86 crianças e adolescentes distribuídos em seis grupos: Grupo Controle (GC) com 31 sujeitos (n= 19, sexo feminino), idade mediana de 4,62, Interquartil (IQR) (3,04 - 8,91) anos e 55 sujeitos no Grupo FC (GFC) (n= 29, sexo feminino) com mediana de idade de 3,89 (IQR: 1,77 - 8,52) anos. O GFC (n= 55) foi distribuído de acordo com a presença ou ausência de microorganismos patogênicos para FC: *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Burkholderia cepacia* (*B. cepacia*) em GFC bacteriologia negativa (GFCB<sup>-</sup>, n= 27) ou GFC bacteriologia positiva (GFCB<sup>+</sup>, n= 28) e pela presença ou ausência de *P. aeruginosa* em GFC *P. aeruginosa* negativa (GFCPa<sup>-</sup>, n= 36) ou GFC *P. aeruginosa* positiva (GFCPa<sup>+</sup>, n= 19) (Figura 1).

Os critérios de inclusão para o GC foram: sujeitos sem FC com a mesma idade e sexo do GFC, dentro da faixa de normalidade para peso-para-idade e estatura-para-idade e para o GFC foram: sujeitos com diagnóstico de FC baseado no teste do suor (cloreto no suor  $\geq 60$  mmol/L) e com idade entre um e 16 anos. Excluiu-se do GC e GFC os sujeitos com febre, diagnóstico de trauma, doenças inflamatórias, psiquiátricas, degenerativas, cardiovasculares, diabetes, intolerância à glicose, insuficiência renal, imunodeficiência primária ou secundária e em uso de: antibióticos, hormônios, anti-inflamatórios não hormonais, imunossupressores e anti-histamínicos, até 30 dias antes da coleta de dados. Do GFC foram excluídos ainda os sujeitos em exacerbação pulmonar (definida pela presença de pelo menos três dos seguintes sintomas): 1) tosse aumentada; 2) produção de esputo aumentada e/ou alteração na aparência do esputo; 3) febre  $\geq 38^{\circ}\text{C}$  na semana anterior/mais de uma vez, por pelo menos 4 horas durante 24 horas; 4) frequência respiratória aumentada e/ou dificuldade de respirar (identificada por chiados, crepitação ou respiração ofegante); 5) tolerância reduzida aos exercícios; 6) redução no Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo (VEF<sub>1</sub>)  $\geq 10\%$  do valor anterior dentro dos últimos 3 meses; 7) absenteísmo da escola devido à doença; 8) perda de peso  $\geq 1$  kg ou 5% do peso corporal, associada à anorexia e ingestão reduzida da dieta [11]. De um total de 75 sujeitos com FC contactados durante o período de seleção, houve uma exclusão de 20 sujeitos: cinco com idade inferior a um ano, 10 em tratamento com antibiótico, dois com febre e três com doença psiquiátrica.

### ***Avaliação Nutricional***

Os dados antropométricos foram aferidos por nutricionista treinado segundo a *World Health Organization* (WHO, 1995) [12]. Para os sujeitos até 2 anos e  $\geq 2$  anos: o peso foi aferido em balança digital pediátrica da marca Filizola<sup>®</sup> (Santo André, São Paulo, Brasil) e com a balança digital BK 50 F (Balmak<sup>®</sup>, Santa Bárbara d'Oeste, São Paulo, Brasil), respectivamente e a estatura foi aferida com o estadiômetro infantil (Sanny<sup>®</sup>, São Paulo, São Paulo, Brasil) e com o antropômetro (Alturaexata<sup>®</sup>, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), respectivamente. O diagnóstico nutricional foi estabelecido pela WHO (2006/2007) [13, 14], utilizando o programa Anthro versão 3.2.2 e AnthroPlus versão 1.0.3 (Geneva, EUA). Foram utilizados os indicadores em Z-escore de peso-para-idade (zP/I) (sujeitos com idade até 10 anos), estatura-para-idade (zE/I) e índice de massa corporal-para-idade (zIMC/I).

O Percentual de Gordura Corporal (%GC) foi estimado à partir das dobras cutâneas: bicipital (DCB), tricípital (DCT), subescapular (DCSE) e supra-íliaca (DCSI), aferidas com o Compasso de Dobras Cutâneas *Lange skinfold caliper*<sup>®</sup> (Beta Technology Corporated-Santa Cruz, Califórnia, EUA), segundo as fórmulas propostas por Weststrate e Deurenberg (1989) [15] e a Circunferência do Braço (CB) foi obtida com uma fita métrica inelástica [12]. O Z-escore da Área Muscular do Braço (zAMB) e a Área Gordurosa do Braço (zAGB) foram avaliadas segundo Frisancho (1981) [16], com o auxílio do Programa Siscrec Crescimento e Desenvolvimento (Campinas, São Paulo, Brasil).

O protocolo de tratamento do HIJG prescreve para aqueles com idade  $\geq 1$  ano até  $<4$  anos, 2 mL/dia do suplemento vitamínico SourceCF<sup>®</sup> (Eurand Pharmaceuticals, Huntsville, Alabama, EUA) e para os demais com idade  $\geq 4$  até  $<10$  anos, 1 comprimido/dia e com idade  $\geq 10$  anos, 2 comprimidos/dia do suplemento vitamínico ADEK's<sup>®</sup> (Axcan Pharma, Birmingham, Alabama, EUA), seguindo as recomendações de Borowitz, Baker e Stallings (2002) [17].

### ***Escore de Shwachman-Kulczycki e Função Pulmonar***

O Escore de Shwachman-Kulczycki (escore S-K) (1958) [18] foi utilizado para classificar a gravidade da doença. O estado clínico do sujeito foi considerado “excelente” quando o escore foi  $\geq 86$ , “bom” entre 71 e 85, “médio” entre 56 e 70, “moderado” entre 41 e 55, e “grave” quando  $\leq 40$ . A função pulmonar foi avaliada para os sujeitos  $\geq 5$  anos (n= 36), pelo VEF<sub>1</sub> [19], com o espirômetro modelo *Renaissance Spirometry System* (Puritan-Bennett Corporation<sup>®</sup>, Wilmington, Carolina do Norte, EUA).

### **Análise Bacteriológica**

A secreção da cavidade orofaríngea foi coletada com um “swab” estéril, com os sujeitos em jejum de 10 horas, e avaliada microscopicamente (microscópio NIKON E200, Chiyoda, Tóquio, Japão) pelo método de Gram [20]. Os homogeneizados formados a partir de 0,5 mL da porção purulenta do escarro adicionado a 1 mL de solução salina estéril foram inoculados em uma placa contendo ágar sangue de carneiro (Oxoid, São Paulo, Brasil), uma placa contendo ágar chocolate suplementado com 0,1% de extrato de levedo (Oxoid, São Paulo, Brasil) e com 20 µg/mL de nicotinamida adenina dinucleotídeo (Sigma-Aldrich®, Saint Louis, Missouri, EUA), outra placa contendo o meio ágar Mack Conkey (Oxoid, São Paulo, Brasil), outra placa contendo o meio seletivo para *B. cepacia* (Oxoid, São Paulo, Brasil) e uma última placa contendo ágar Manitol (Oxoid, São Paulo, Brasil). A indicação de presença de infecção para FC foi realizada a partir da contagem das UFC ( $\geq 10^5$  UFC/mL) [20].

### **Avaliação da Resposta Inflamatória**

As amostras de sangue foram coletadas com os sujeitos em jejum de 10 horas. A mieloperoxidase (MPO), fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1-beta (IL-1 $\beta$ ), proteína C-reativa (PCR), metabólitos de óxido nítrico (NOx) e adenosina deaminase (ADA) foram analisados no soro, utilizando tubos secos. As alíquotas foram congeladas sob temperatura de -80 °C para posterior análise. O leucograma foi analisado no sangue total, utilizando tubos contendo ácido etilendiamino tetraacético - EDTA (do inglês, *Ethylenediamine tetraacetic acid*).

### **Atividade das enzimas MPO e ADA**

A atividade da MPO e ADA foi avaliada de acordo com o método desenvolvido por Rao *et al.* (1993) [21] e Giusti e Galanti (1984) [22], respectivamente. A reação foi estimada pela medida colorimétrica (absorbância a 450 e 620 nm, respectivamente), em leitor ELISA (Organon-Tecknica®, Roseland, New Jersey, EUA), por interpolação a partir da curva padrão de cada enzima.

### **Concentração de IL-1 $\beta$ e TNF- $\alpha$**

As concentrações das citocinas foram mensuradas pela técnica de Enzimaímunensaio - ELISA (do inglês, *Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay*). Os kits de ELISA foram utilizados conforme as instruções do fabricante (BD Biosciences®, San José, Califórnia, EUA). Para cada citocina foram utilizados anticorpos monoclonais

específicos, anti-TNF- $\alpha$  e anti-IL-1 $\beta$ . A mensuração das citocinas e das concentrações padrões foram realizadas pela medida colorimétrica (absorbância a 450 nm) em um leitor ELISA (Organon-Tecknica<sup>®</sup>, Roseland, New Jersey, EUA), por interpolação a partir de uma curva padrão.

#### *Concentração da PCR*

A dosagem da PCR foi realizada de acordo com o método de nefelometria, utilizando o reagente CardioPhase<sup>®</sup> hsCRP, Siemens Healthcare Diagnostics (Tarrytown, Nova Iorque, EUA) e o equipamento BN<sup>®</sup> II, Siemens Healthcare Diagnostics (Tarrytown, Nova Iorque, EUA), conforme as instruções do fabricante.

#### *Concentração dos NO<sub>x</sub>*

O óxido nítrico foi determinado pela mensuração das concentrações de nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) e nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), utilizando a reação de Griess, conforme a metodologia descrita por Green *et al.* (1982) [23]. A reação foi estimada pela medida colorimétrica (absorbância 540 nm) em leitor ELISA (Organon-Tecknica<sup>®</sup>, Roseland, New Jersey, EUA), por interpolação a partir de uma curva padrão.

#### *Leucograma*

O leucograma foi analisado pelo método semi-automatizado, utilizando o equipamento Heco 5 Plus Radim Company<sup>®</sup> (Pomezia, Roma, Itália) [24].

#### *Análise estatística*

A normalidade da distribuição dos dados e a homogeneidade das variâncias foram avaliadas pelo teste *Shapiro-Wilk*. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  erro padrão da média quando a distribuição foi simétrica e em mediana e intervalo interquartil quando assimétrica. A análise de regressão linear múltipla foi realizada entre o GC *v.s.* GFC e GC *v.s.* todos os subgrupos do GFC (GFCB<sup>-</sup>, GFCB<sup>+</sup>, GFCPa<sup>-</sup> e GFCPa<sup>+</sup>), utilizando o teste de *Wald* para obter o valor da significância estatística. Estabeleceu-se como variáveis de confusão o sexo e a idade, e como variáveis de mediação o zP/I, zE/I, zIMC/I, zAGB, zAMB e %GC. Na análise de regressão todas as variáveis assimétricas foram transformadas em log natural para a normalização. Para a comparação dos valores em média e mediana dos desfechos entre o GC *v.s.* grupos FC utilizou-se a significância representada pelos valores de “*p*” bruto da análise de regressão linear múltipla. Foi aplicada a análise de correlação

No GFC e GC pelos testes de *Pearson* ou *Spearman* quando apropriado. O software estatístico STATA<sup>®</sup> versão 11.0. (Stata Corp., College Station, Texas, EUA) foi utilizado para a análise dos dados. Foi adotada uma significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS

### *Características clínicas da população*

A média de idade do diagnóstico no GFC foi  $1,78 \pm 0,40$  anos, a qual foi maior para os GFCB<sup>+</sup> e GFCPa<sup>+</sup> (2,65 e 2,59 anos, respectivamente). O valor médio do Escore S-K no GFC foi  $87,55 \pm 2,41$  pontos, sendo classificado: “excelente” para 76,36% (n= 42), “bom” para 12,73% (n= 7), “médio” para 3,64% (n= 2), “moderado” para 1,82% (n= 1) e “grave” para 5,45% (n= 3) (Tabela 1). As bactérias patogênicas prevalentes foram *S. aureus* e *P. aeruginosa*, ambas com 34,54% (n=19), seguida pela *B. cepacia* com 5,45% (n= 3).

O valor médio do VEF<sub>1</sub> foi significativamente maior no GC (n= 14;  $88,57 \pm 2,67\%$ ) comparado com o GFC (n= 22;  $66,77 \pm 4,51\%$ ,  $p= 0,001$ ). O VEF<sub>1</sub> mostrou uma significativa redução no GFCB<sup>+</sup> ( $57,87 \pm 4,71\%$ ) e no GFCPa<sup>+</sup> ( $54,82 \pm 5,10\%$ ) (Tabela 1), comparado com o GC (ambos,  $p < 0,001$ ) (Tabelas 3 e 4). Após a análise ajustada para variáveis de mediação o GFCPa<sup>+</sup> manteve a significância ( $p= 0,046$ ) (Tabela 4), porém, houve a perda da significância no GFC ( $p= 0,207$ ) (Tabela 2) e no GFCB<sup>+</sup> ( $p= 0,108$ ) (Tabela 3), ou seja, a associação foi mediada pelo estado nutricional nestes dois grupos.

Tabelas 1, 2, 3 e 4

### *Estado Nutricional*

Os grupos FC não apresentaram diferenças no zPI e zE/I comparados com o GC (Tabelas 2, 3 e 4). O zIMC/I foi em média menor no GFC ( $-0,26 \pm 0,15$ ), GFCB<sup>+</sup> ( $-0,38 \pm 0,24$ ) e no GFCPa<sup>+</sup> ( $-0,35 \pm 0,32$ ) comparados com o GC ( $0,30 \pm 0,22$ ) (Tabela 1), mesmo após a análise ajustada (GFC:  $p= 0,030$ ; GFCB<sup>+</sup>:  $p= 0,030$  e GFCPa<sup>+</sup>:  $p= 0,047$ ) (Tabelas 2, 3 e 4). Não foi observado diferenças no %GC e zAGB nos grupos FC comparados com o GC (Tabelas 2, 3 e 4). Observou-se diminuição da massa muscular, avaliada pela mediana da zAMB, no GFC ( $-1,38$ ), GFCB<sup>+</sup> ( $-1,68$ ) e GFCPa<sup>+</sup> ( $-1,57$ ), comparados com o GC ( $-0,59$ ) (Tabela 1), mesmo após a análise ajustada (GFC:  $p= 0,019$ ; GFCB<sup>+</sup>:  $p= 0,029$ ; GFCPa<sup>+</sup>:  $p= 0,026$ ) (Tabelas 2, 3 e 4).

### **Resposta Inflamatória**

A atividade da enzima MPO foi significativamente menor ( $p < 0,001$ ) no GC (mediana: 195,47 mU/mL) comparada com o GFC (mediana: 387,82 mU/mL). As concentrações da MPO, no  $\text{GFCB}^-$  (mediana: 364,44 mU/mL) e  $\text{GFCB}^+$  (mediana: 408,45 mU/mL), foram significativamente maiores comparada com o GC (ambos,  $p < 0,001$ ). O mesmo foi observado no  $\text{GFCPa}^-$  (mediana: 380,68 mU/mL) e  $\text{GFCPa}^+$  (mediana: 378,68 mU/mL) comparados com o GC (ambos,  $p < 0,001$ ) (Figura 2 a). Após a análise ajustada para variáveis de confusão e mediação a diferença permaneceu estatisticamente significativa (Tabelas 2, 3 e 4).

A mediana de concentração da IL-1 $\beta$  mostrou diferença entre os grupos, GFC (10,43 pg/mL),  $\text{GFCB}^-$  (10,21 pg/mL),  $\text{GFCB}^+$  (10,78 pg/mL),  $\text{GFCPa}^-$  (10,15 pg/mL) e  $\text{GFCPa}^+$  (10,92 pg/mL), comparados com o GC (4,43 pg/mL) (todos os grupos,  $p < 0,001$ ) (Figura 2 b). Esta diferença ( $p < 0,001$ ) permaneceu após a análise ajustada para variáveis de confusão e mediação (Tabelas 2, 3 e 4).

Na análise bruta a concentração de PCR foi maior em todos os grupos FC (GFC: 0,65 mg/L;  $\text{GFCB}^-$ : 0,43 mg/L;  $\text{GFCB}^+$ : 0,69 mg/L;  $\text{GFCPa}^-$ : 0,56 mg/L e  $\text{GFCPa}^+$ : 0,65 mg/L) comparados com o GC (0,28 mg/L) (Figura 2 c). Após a análise ajustada os grupos GFC,  $\text{GFCB}^-$  e  $\text{GFCPa}^-$  mantiveram a significância ( $p = 0,020$ ;  $p = 0,017$  e  $p = 0,013$ , Tabelas 2, 3 e 4, respectivamente). Porém, nos  $\text{GFCB}^+$  e  $\text{GFCPa}^+$  após o ajuste para as variáveis de mediação houve a perda da significância ( $\text{GFCB}^+$ :  $p = 0,102$  e  $\text{GFCPa}^+$ :  $p = 0,155$ , Tabelas 3 e 4, respectivamente), ou seja, existe associação, mas o efeito foi mediado pelo estado nutricional.

Figura 2 a, 2 b e 2 c

Em comparação com o GC (35,15  $\mu\text{mol/L}$ ), as concentrações de NOx no GFC (36,45  $\mu\text{mol/L}$ ), foram significativamente maiores ( $p = 0,034$ ) (Figura 3 a). Após o ajuste para as variáveis de confusão o valor de significância ficou limitrofe ( $p = 0,054$ ) (Tabela 2). Nos  $\text{GFCB}^+$  (38,50  $\mu\text{mol/L}$ ) e  $\text{GFCPa}^+$  (55,20  $\mu\text{mol/L}$ ) as concentrações de NOx foram maiores comparadas com o GC ( $\text{GFCB}^+$ :  $p = 0,002$  e  $\text{GFCPa}^+$ :  $p < 0,001$ ) (Figura 3 a) mantendo a significância após a análise ajustada ( $\text{GFCB}^+$ :  $p = 0,044$  e  $\text{GFCPa}^+$ :  $p = 0,007$ ) (Tabelas 3 e 4).

Em relação à concentração de TNF- $\alpha$ , atividade da enzima ADA e contagem de linfócitos e monócitos, não foi observado diferenças de nenhum dos grupos de FC comparados com o GC, tanto na análise bruta quanto na análise ajustada (Tabelas 2, 3 e 4). Na análise bruta a

contagem de leucócitos e neutrófilos, no GFC (leucócitos:  $p= 0,011$  e neutrófilos:  $p= 0,018$ ), GFCB<sup>+</sup> (leucócitos:  $p= 0,005$  e neutrófilos:  $p= 0,004$ ) e GFCPa<sup>+</sup> (leucócitos:  $p= 0,003$  e neutrófilos:  $p= 0,001$ ) (Figura 3 b e 3 c) foram maiores comparadas com o GC. Após a análise ajustada para as variáveis de mediação os grupos GFCB<sup>+</sup> (leucócitos:  $p= 0,005$  e neutrófilos:  $p= 0,049$ ) e GFCPa<sup>+</sup> (leucócitos:  $p= 0,001$  e neutrófilos:  $p= 0,002$ ) mantiveram a significância (Tabelas 3 e 4), porém no GFC houve a perda da significância para leucócitos ( $p= 0,057$ ) e neutrófilos ( $p= 0,111$ ) (Tabela 2), ou seja, existe associação, mas o efeito foi mediado pelo estado nutricional.

Figura 3 a, 3 b e 3 c

No APÊNDICE B encontra-se a tabela suplementar com os valores em mediana e intervalo interquartil para MPO, IL-1 $\beta$ , PCR, NOx, leucócitos e neutrófilos do GC e subgrupos de FC.

### ***Correlações entre a resposta inflamatória, estado nutricional e função pulmonar***

No GFC a função pulmonar, avaliada pelo VEF<sub>1</sub>, apresentou correlação positiva significativa com o estado nutricional [zP/I ( $r= 0,67$ ;  $p= 0,009$ ), zE/I ( $\rho= 0,57$ ;  $p= 0,006$ ), zIMC/I ( $r= 0,47$ ;  $p= 0,028$ ) e zAMB ( $\rho= 0,47$ ;  $p= 0,027$ )], ao contrário do que foi observado no GC, onde não houve correlação significativa para os mesmos indicadores (Figura 4 a, 4 b, 4 c e 4 d). A resposta inflamatória avaliada pelos leucócitos ( $\rho= -0,55$ ;  $p= 0,008$ ) e neutrófilos ( $\rho= -0,46$ ;  $p= 0,031$ ) mostrou correlação negativa significativa com o VEF<sub>1</sub>, o mesmo não ocorreu no GC (Figura 5 a e 5 b). O estado nutricional, avaliado pela zAMB, mostrou correlação negativa significativa com a inflamação (NOx:  $r= -0,30$ ;  $p= 0,028$ ), somente no GFC (Figura 5 c).

Figura 4 a, 4 b, 4 c e 4 d

Figura 5 a, 5 b e 5 c

## **DISCUSSÃO**

A infecção tem um impacto negativo na função pulmonar, medida pelo VEF<sub>1</sub>, considerando os dados do presente estudo onde este marcador foi menor em ambos os GFC infectados. Este dado também foi observado em crianças e adolescentes com FC infectadas com *P. aeruginosa*, que foram acompanhadas por dois anos, onde o VEF<sub>1</sub> foi reduzido neste grupo quando comparado àquele não infectado [25].

Os subgrupos com FC apresentaram os indicadores zP/I e zE/I inferiores

ao GC, apesar de não apresentarem diferença estatística. Porém, a média de zP/I para indivíduos com FC foi superior àquela observada nos dados do Registro Brasileiro de FC (-0,67) e semelhante para mediana de zE/I (-0,71) [26]. O melhor estado nutricional observado neste estudo poderia ser explicado pela idade do diagnóstico, pois os dados do Registro Brasileiro de FC apontam uma idade superior (5,36 anos) [26] àquela observada nesta investigação e, além disso, devido às condições clínicas, pois nos dados do Registro Brasileiro de FC 36,5% dos indivíduos foram classificados como “excelente” pelo escore S-K, sendo este percentual inferior ao deste estudo [26].

Em relação ao zIMC/I, correspondente ao percentil médio de 39,74° (dados não apresentados), este foi inferior à média encontrada nos EUA de 48,7° [27]. Observou-se ainda, que o zIMC/I foi menor nos grupos GFC, GFCB<sup>+</sup> e GFCPa<sup>+</sup> comparados com o GC. Resultado semelhante foi encontrado em um estudo realizado em pacientes com FC infectados por *P. aeruginosa*, com zIMC/I médio inferior (-1,04 ± 1,52) comparados com os não infectados (0,28 ± 1,03,  $p=0,02$ ) [28]. Ressalta-se, entretanto, que os estudos acima relacionados utilizaram como referência na avaliação nutricional as curvas do *Center for Disease Control and Prevention* (CDC), 2000. Este fato limita a comparação e interpretação dos resultados, porém as curvas estabelecidas pela WHO (2006/2007) representam os instrumentos atuais com melhor descrição do crescimento e desenvolvimento de crianças e adolescentes. Em um estudo realizado com 21 pacientes com FC (idade entre zero e 18 anos) observou-se 67% de déficit nutricional (Z-escore < -1 desvio padrão) diagnosticado pelos padrões propostos pela WHO em comparação com 33% de déficit nutricional pelo CDC [29].

A associação da avaliação da composição corporal detecta de forma mais precisa e precoce as alterações nutricionais, antecipando as intervenções, retardando o declínio da função pulmonar e reduzindo o risco de infecções [30]. No presente estudo foi observada depleção muscular, avaliada pela zAMB, nos grupos: GFC, GFCB<sup>+</sup> e GFCPa<sup>+</sup> em comparação com o GC. Dado semelhante foi observado em 114 crianças e adolescentes com FC sendo que o Z-escore de massa magra destes pacientes foi significativamente abaixo da normalidade (Z-escore < -2) [31].

A depleção do estado nutricional observada no presente estudo também teve impacto negativo na função pulmonar, assim como a infecção. Na pesquisa que avaliou 620 pacientes com FC entre 6 e 18 anos de idade, também encontrou correlação positiva significativa entre VEF<sub>1</sub> e zE/I, zP/I e zIMC/I [8]. Em um estudo de acompanhamento, durante dois

anos, com 319 crianças com FC mostrou melhora no  $VEF_1$  naquelas que ganharam peso em comparação com as que perderam ( $p= 0,01$ ) [32]. Os autores justificam que o mecanismo desta interação poderia ser explicado pela dependência entre a preservação do estado nutricional e a manutenção da contratibilidade dos músculos respiratórios.

O estado nutricional medido pela AMB e a inflamação avaliada pelo NOx mostrou correlação negativa. Em um estudo que avaliou a relação entre a inflamação e o estado nutricional em 42 crianças e adolescentes com FC, também detectou uma correlação negativa entre zIMC e elastase neutrofílica ( $r= -0,43$ ;  $p= 0,022$ ) [30]. A correlação negativa verificada neste estudo entre o  $VEF_1$  e inflamação medida pela contagem de leucócitos e neutrófilos também foi observada em outro estudo que avaliou a função pulmonar e a contagem de neutrófilos [( $r= -0,26$ ; intervalo de confiança 95% (-0,42 até -0,08)] [33]. Este fato pode ser em parte explicado, pelo processo inflamatório contínuo associado ao estado de catabolismo protéico favorecer a redução de massa muscular e consequentemente à perda da função pulmonar.

Independente da análise bacteriológica as concentrações de MPO estavam aumentadas nos subgrupos de FC comparados com o GC. Resultado semelhante foi encontrado no estudo que avaliou crianças com FC ( $n= 29$ ) e sem FC ( $n= 16$ ), onde a MPO foi significativamente maior no grupo FC comparado com os controles ( $p= 0,001$ ). Entretanto, diferente do presente estudo, as concentrações de MPO foram maiores nas crianças com FC infectadas com *Pseudomonas aeruginosa* ( $n= 5$ ) comparadas àquelas sem infecção ( $n= 24$ ) ( $p= 0,003$ ) [34].

No presente estudo as concentrações de IL-1 $\beta$  e PCR também estavam aumentadas nos subgrupos de FC comparados com o GC, independente da análise bacteriológica. Dado contrário foi observado no estudo que avaliou um grupo de indivíduos com FC não infectado por *P. aeruginosa* ( $n= 23$ , mediana de 13 anos de idade), no qual as concentrações de IL-1 $\beta$  e PCR foram significativamente menores comparado ao grupo FC infectado por *P. aeruginosa* ( $n= 25$ , mediana de 16,5 anos de idade) ( $p < 0,050$  e  $p= 0,030$  respectivamente) [35].

Estes resultados mostram a presença de inflamação sistêmica nestes pacientes e confirmam que a enzima MPO parece ser a principal peroxidase identificada nas vias aéreas de pacientes com FC [34]. Contudo, a MPO produz oxidantes nas vias respiratórias, entre eles o ácido hipobromoso e hipocloroso, exacerbando a lesão pulmonar [4]. Destaca-se ainda, que o aumento da citocina IL-1 $\beta$  tem sido associado à anorexia e caquexia com consequente redução de peso [36]. Estudos indicam que a proteína CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane*

*Regulator*) apresenta propriedades anti-inflamatórias [37, 38]. Pesquisadores sugerem que a CFTR é supressora da inflamação, pois regula a resposta imune à infecção pelo controle da atividade do NF- $\kappa$ B, impedindo assim que se inicie a cascata pró-inflamatória exacerbada [37]. Na FC, portanto, a sinalização inflamatória via NF- $\kappa$ B está aumentada devido à falta de sua inibição pela CFTR, aumentando a produção de citocinas pró-inflamatórias tais como IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  [37]. Desta maneira, este fato pode explicar a presença de uma inflamação sistêmica independente da infecção bacteriana, observada neste estudo.

No presente estudo as concentrações de NO $_x$  estavam aumentadas nos grupos GFCB<sup>+</sup> e GFCPa<sup>+</sup> em comparação com o GC. Resultados divergentes foram observados no estudo que avaliou o escarro de adultos com FC não observando diferença estatística, mas ao analisar o NO no ar exalado, observou-se uma redução de 2-3 vezes nos pacientes com FC, comparados com o GC [39]. Outros pesquisadores detectaram que os pacientes com FC infectados com *P. aeruginosa* (n= 14) apresentaram concentrações elevadas de nitrito no ar exalado, comparados com os pacientes com FC não infectados (n= 20) ( $p= 0,040$ ) [40]. Este fato indica que o metabolismo do óxido nítrico está alterado, porém a interpretação dos dados para efeito de comparação entre os estudos é prejudicada devido à utilização de metodologias diferentes na avaliação do óxido nítrico [40]. A baixa concentração de óxido nítrico no ar exalado e a alta concentração de metabólitos do óxido nítrico na circulação sistêmica em pacientes com FC pode ser explicado pelo fato do ânion superóxido, liberado pelos neutrófilos ativados, reagir com o óxido nítrico formando peroxinitrito e, subsequentemente nitrato, diminuindo as concentrações do NO no ar exalado e aumentando as concentrações de nitrato na circulação sistêmica [41].

No presente estudo não foram observadas alterações nas concentrações de TNF- $\alpha$  entre os subgrupos de FC comparados com o GC. Resultado divergente do presente estudo foi observado na pesquisa que avaliou a concentração de TNF- $\alpha$  no soro de sujeitos com FC com idade  $\geq 15$  anos, sendo significativamente maior em todos os subgrupos de FC (n= 17, sem infecção crônica; n= 21, cronicamente infectados com *P. aeruginosa*; n= 11, cronicamente infectados com *Achromobacter xylooxidans*; e n= 11, cronicamente infectados com *B. cepacia*), comparados com o GC (n= 11) ( $p < 0,003$ ) [42]. Ressalta-se que apesar de não existir diferença nas concentrações de TNF- $\alpha$  no presente estudo, clinicamente este fato deve ser considerado, uma vez que, foi observado um aumento em valor absoluto desta citocina na circulação sistêmica em

todos os subgrupos com FC, podendo alterar o metabolismo energético de repouso, estimulando a lipólise e catabolismo, causando anorexia e perda de peso [43].

Não foram observadas alterações nas concentrações de ADA nos subgrupos de FC comparados com o GC neste estudo. Resultados divergentes do presente estudo foram descritos por outros autores que avaliaram a atividade desta enzima em 17 crianças com FC, encontrando um aumento da mesma, em comparação com crianças sem FC ( $p < 0,001$ ) [44]. Uma possível explicação para este resultado é o fato de que as altas concentrações de ADA são encontradas em tecidos linfóides e sua atividade está relacionada com a proliferação e ativação dos linfócitos durante a resposta celular [5]. Assim, a falta de alterações na atividade da ADA pode estar relacionada, neste estudo, ao fato de não ter ocorrido alterações na contagem de linfócitos entre os grupos avaliados.

Não foram observadas alterações na contagem de linfócitos e monócitos entre os subgrupos de FC comparados com o GC neste estudo. Assim como, em outro estudo observou-se que os pacientes adultos com FC infectados com *P. aeruginosa* ( $n = 12$ ) comparados com aqueles não infectados ( $n = 11$ ) apresentavam aumento no número de leucócitos totais, fato não observado nos linfócitos e monócitos [45]. A contagem de leucócitos e neutrófilos estavam aumentadas nos grupos GFCB<sup>+</sup> e GFCPa<sup>+</sup> em comparação com o GC. Resultado semelhante foi encontrado no estudo em que os infectados com *P. aeruginosa* apresentaram um aumento na contagem de leucócitos e neutrófilos comparado àqueles com bacteriologia negativa [46].

## CONCLUSÃO

Observa-se nesta investigação que as crianças e adolescentes com FC independente do tipo de infecção acometida apresentam resposta inflamatória importante caracterizada por aumento de MPO, IL-1 $\beta$  e PCR. A bacteriologia positiva apresentou efeito aditivo na resposta inflamatória levando ao aumento do NOx, leucócitos e neutrófilos. A desnutrição, leucocitose e neutrofilia estão correlacionadas com a redução da função pulmonar.

## LIMITAÇÕES

Um estudo transversal só pode examinar associações e não causalidade. Portanto, este estudo não permite a avaliação da evolução natural e das

interações causais entre infecção, inflamação, estado nutricional e função pulmonar ao longo do tempo. Além disto, não foi avaliada a obediência dos pacientes com FC em relação ao protocolo prescrito referente à suplementação de vitaminas e minerais. Adicionalmente, não foi avaliada a influência desta suplementação na resposta inflamatória e estado nutricional dos pacientes com FC.

**Conflito de interesses:** O financiador deste projeto não teve nenhum envolvimento na concepção e condução do estudo, coleta, análise e interpretação dos dados e nem na aprovação do manuscrito ou decisão de submeter o manuscrito. Não existem conflitos de interesse a declarar.

**Financiamento:** Este estudo recebeu suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (#474945/2008-1). Bolsa de produtividade, Programa Institucional de Iniciação Científica (PIBIC), Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Bolsas Demanda Social/Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

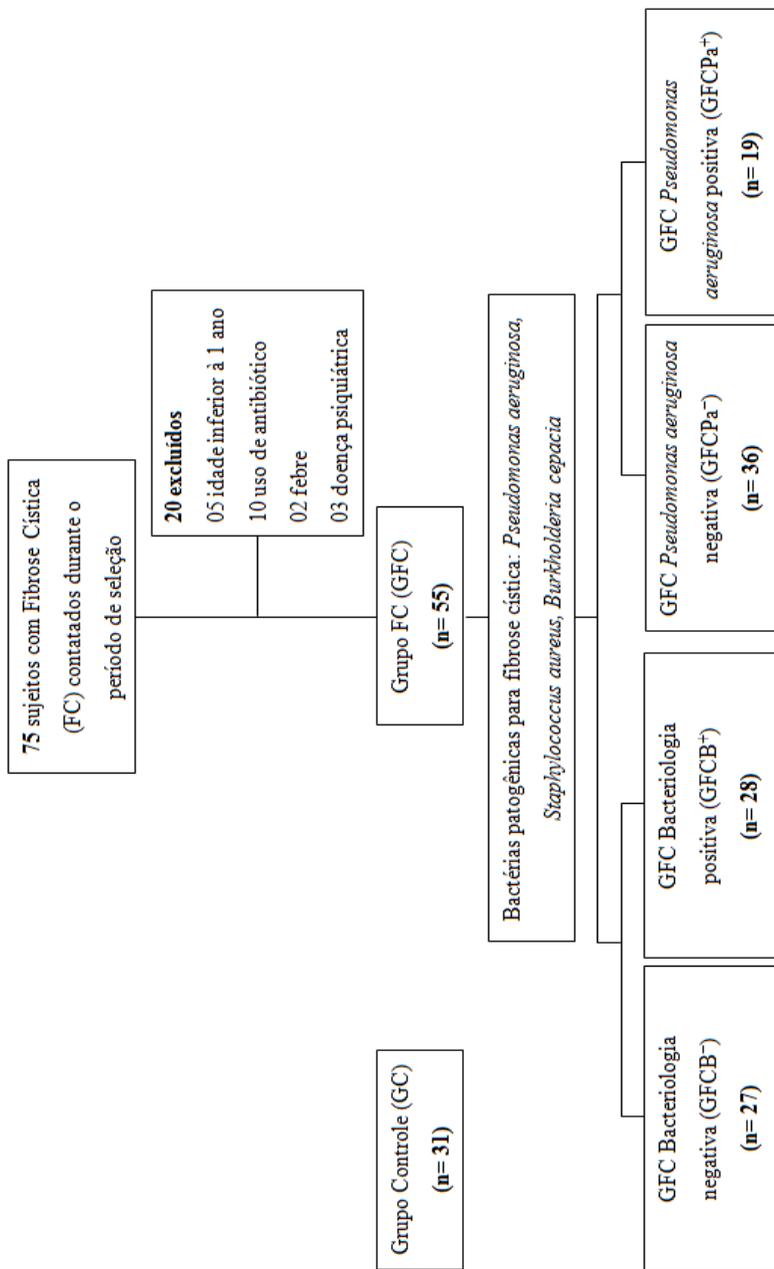
## REFERÊNCIAS

1. Kieninger E, Regamey N. Targeting inflammation in cystic fibrosis. *Respiration* 2010; 79: 189-190.
2. Maitra R, Porter MA, Huang S, *et al.* Inhibition of NFκB by the natural product Withaferin A in cellular models of Cystic Fibrosis inflammation. *J Inflamm* 2009; 6: 1-5.
3. Jean-Baptiste E. Cellular mechanisms in sepsis. *J Intensive Care Med* 2007; 22: 63-72.
4. Davies MJ. Myeloperoxidase-derived oxidation: mechanisms of biological damage and its prevention. *J Clin Biochem Nutr* 2011; 48: 8-19.
5. Aldrich MB, Blackburn MR, Kellems RE. The importance of adenosine deaminase for lymphocyte development and function. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 272: 311-315.
6. Chmiel JF, Konstan MW. Inflammation and anti-inflammatory therapies for cystic fibrosis. *Clin Chest Med* 2007; 28: 331-346.
7. Pillarisetti N, Williamson E, Linnane B, *et al.* Infection, inflammation, and lung function decline in infants with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 184: 75-81.
8. Lucidi V, Alghisi F, Raia V, *et al.* Growth assessment of paediatric

- patients with CF comparing different auxologic indicators: a multicentre Italian study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009; 49: 335-342.
9. Groeneweg M, Tan S, Boot AM, *et al.* Assessment of nutritional status in children with cystic fibrosis: conventional anthropometry and bioelectrical impedance analysis. A cross-sectional study in Dutch patients. *J Cyst Fibros* 2002; 1: 276-280.
  10. Dodge JA, Turck D. Cystic fibrosis: nutritional consequences and management. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 531-546.
  11. Fuchs HJ, Borowitz DS, Christiansen DH, *et al.* Effect of aerosolized recombinant human DNase on exacerbations of respiratory symptoms and pulmonary function in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1994; 331: 637-642.
  12. World Health Organization. Physical Status: The use and interpretation of anthropometry. Geneva, WHO Technical Report Series, 1995.
  13. World Health Organization. WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age. Methods and development. Geneva, WHO Multicentre Growth Reference Study Group, 2006.
  14. World Health Organization. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ* 2007.
  15. Weststrate J, Deurenberg P. Body composition in children: proposal for a method to calculate body fat percentage from total body density or skinfold-thickness measurements. *Am J Clin Nutr* 1989; 50: 1104-1115.
  16. Frisancho AR. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 2540-2545.
  17. Borowitz D, Baker RD, Stallings V. Consensus report on nutrition for pediatric patients with cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35: 246-259.
  18. Shwachman H, Kulczycki LL. Long-term study of one hundred five patients with cystic fibrosis: studies made over a five- to fourteen-year period. *AMA J Dis Child* 1958; 96: 6-15.
  19. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, *et al.* Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J* 2005; 26: 948-968.
  20. Gilligan PH, Kiska DL, Appleman MD. Cumitech 43, Cystic

- Fibrosis Microbiology. Coordinating ed., M. D. Appleman. ASM Press, Washington, D.C., 2006.
21. Rao TS, Currie JL, Shaffer AL, *et al.* Comparative evaluation of arachidonic acid (AA)- and tetradecanoylphorbol acetate (TPA)-induced dermal inflammation. *Inflammation* 1993; 17: 723-741.
  22. Giusti, G, Galanti, B. Adenosine deaminase: colourimetric method. *In* Bergmeyer, HU, ed. *Methods of enzymatic analyses*. Weinheim, Verlag Chemie, Germany, 1984; pp. 315-323.
  23. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, *et al.* Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982; 126: 131-138.
  24. Wallach J. *Interpretação de exames laboratoriais*. 7rd. Edn. Medsi, Rio de Janeiro, 2003.
  25. Steinkamp G, Wiedemann B. Relationship between nutritional status and lung function in cystic fibrosis: cross sectional and longitudinal analyses from the German CF quality assurance (CFQA) project. *Thorax* 2002; 57: 596-601.
  26. Brasil. Registro Brasileiro de fibrose cística. *1º Relatório Anual* 2009.
  27. Cystic Fibrosis Foundation. *Patient Registry: Annual Data Report 2010*, 2011. Bethesda.
  28. Barja S, Espinoza T, Cerda J, *et al.* Evolución nutricional y función pulmonar en niños y adolescentes chilenos com fibrosis quística. *Rev Med Chil* 2011; 139: 977-984.
  29. Pinto ICS, Silva CP, Britto MCA. Perfil nutricional, clínico e socioeconômico de pacientes com fibrose cística atendidos em um centro de referência no nordeste do Brasil. *J Bras Pneumol* 2009; 35: 137-143.
  30. Ranganathan SC, Parsons F, Gangell C, *et al.* Evolution of pulmonary inflammation and nutritional status in infants and young children with cystic fibrosis. *Thorax* 2011; 66: 408-413.
  31. Sermet-Gaudelus I, Souberbielle JC, Ruiz JC. Low Bone Mineral Density in Young Children with Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 951-957.
  32. Peterson ML, Jacobs DR, Milla CE. Longitudinal changes in growth parameters are correlated with changes in pulmonary function in children with cystic fibrosis. *Pediatrics* 2003; 112: 588-592.
  33. Mayer-Hamblett N, Aitken ML, Accurso FJ, *et al.* Association between Pulmonary Function and Sputum Biomarkers in Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 822-828.

34. Thomson E, Brennan S, Senthilmohan R, *et al.* Identifying peroxidases and their oxidants in the early pathology of cystic fibrosis. *Free Radic Biol Med* 2010; 49: 1354-1360.
35. Murphy BS, Bush HM, Sundareshan V, *et al.* Characterization of macrophage activation states in patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2010; 9: 314-322.
36. Schmitt-Grohé S, Hippe V, Igel M, *et al.* Lipopolysaccharide binding protein, cytokine production in whole blood, and lipoproteins in cystic fibrosis. *Pediatr Res* 2005; 58: 903-907.
37. Vij N, Mazur S, Zeitlin PL. CFTR is a negative regulator of NF- $\kappa$ B mediated innate immune response. *PLoS ONE* 2009; 4: 1-10.
38. Hunter MJ, Treharne KJ, Winter AK, *et al.* Expression of Wild-Type CFTR suppresses NF- $\kappa$ B-driven inflammatory signalling. *PLoS ONE* 2010; 5: 1-9.
39. Chapman ALP, Morrissey BM, Vasu VT, *et al.* Myeloperoxidase-dependent oxidative metabolism of nitric oxide in the cystic fibrosis airway. *J Cyst Fibros* 2010; 9: 84-92.
40. Robroeks CMHHT, Roozeboom MH, de Jong PA, *et al.* Structural lung changes, lung function, and noninvasive inflammatory markers in cystic fibrosis. *Pediatr Allergy Immunol* 2010; 21: 493-500.
41. Jones KL, Bryan TW, Jinkins PA, *et al.* Superoxide release from neutrophils causes a reduction in nitric oxide gas. *Am J Physiol* 1998; 275: 1120-1126.
42. Hansen CR, Pressler T, Nielsen KG, *et al.* Inflammation in *Achromobacter xylosoxidans* infected cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 2010; 9: 51-58.
43. Courtney JM, Ennis M, Elborn JS. Cytokines and inflammatory mediators in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2004; 3: 223-231.
44. Perris P, Feliu MS, Slobodianik N. Plasma adenosine deaminase activity in a group of children suffering cystic fibrosis: preliminary study. *FASEB J* 2009; 23: 909-910.
45. Hartl D, Griese M, Kappler M, *et al.* Pulmonary TH2 response in *Pseudomonas aeruginosa* infected patients with cystic fibrosis. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 204-211.
46. Sagel SD, Ronald L, Gibson MD, *et al.* Impact of *Pseudomonas* and *Staphylococcus* infection on inflammation and clinical status in young children with cystic fibrosis. *J Pediatr* 2009; 154: 183-188.



**Figura 1** - Grupos avaliados no estudo

**Tabela 1** - Descrição das características clínicas, nutricionais e inflamatórias do grupo controle e grupos fibrose cística (continua).

Variáveis	GC		GFC		GFC Bacteriologia		GFC Pseudomonas aeruginosa	
	(n= 31)	(n= 55)	Negativa (n=27)	Positiva (n=28)	Negativa (n=36)	Positiva (n=19)		
<b>Características clínicas</b>								
<b>Sexo (n, % F)</b>	19 (61,29)	29 (52,73)	14 (51,85)	15 (53,57)	19 (52,78)	10 (52,63)		
<b>Idade (anos) #</b>	4,62 (3,04–8,91)	3,89 (1,77–8,52)	2,82 (1,57–5,34)	6,35 (3,49–9,57)	3,38 (1,67–6,11)	6,47 (3,84–10,58)		
<b>ID (anos) §</b>	NA	1,78 (0,40)	0,88 (0,33)	2,65 (0,69)	1,36 (0,45)	2,59 (0,78)		
<b>Escore S-K (pontos) §</b>	NA	87,55 (2,41)	88,70 (3,70)	86,43 (3,15)	89,03 (2,88)	84,73 (4,37)		
<b>VEF<sub>1</sub> (%) §</b>	88,57 (2,67)	66,77 (4,51)	85,86 (4,91)	57,87 (4,71)	78,73 (5,56)	54,82 (5,10)		
<b>Estado nutricional</b>								
<b>P/I (Z-escore) §</b>	-0,12 (0,19)	-0,49 (0,15)	-0,54 (0,24)	-0,43 (0,18)	-0,56 (0,19)	-0,32 (0,25)		
<b>E/I (Z-escore) #</b>	-0,15 (-0,97–0,43)	-0,71 (-1,46–0,18)	-0,48 (-1,49–0,16)	-0,74 (-1,31–0,32)	-0,74 (-1,37–0,13)	-0,26 (-1,53–0,36)		
<b>IMC/I (Z-escore) §</b>	0,30 (0,22)	-0,26 (0,15)	-0,14 (0,18)	-0,38 (0,24)	-0,22 (0,16)	-0,35 (0,32)		
<b>GC (%) #</b>	21,28 (17,75–26,82)	22,11 (20,72–25,66)	23,1 (20,9–25,66)	22,04 (19,82–26,09)	22,17 (20,90–25,55)	22,04 (19,84–28,02)		
<b>AGB (Z-escore) §</b>	-0,20 (0,22)	-0,55 (0,14)	-0,44 (0,18)	-0,66 (0,22)	-0,59 (0,16)	-0,46 (0,29)		
<b>AMB (Z-escore) #</b>	-0,59 (-1,20–0,10)	-1,38 (-2,00–0,11)	-0,9 (-2,00–0,09)	-1,68 (-2,06–0,11)	-0,96 (-2,00–0,09)	-1,57 (-2,06–0,11)		

**Tabela 1** - Descrição das características clínicas, nutricionais e inflamatórias do grupo controle e grupos fibrose cística (conclusão).

Variáveis	GC (n=31)		GFC (n=55)		GFC Bacteriologia (n=27)		GFC Pseudomonas aeruginosa (n=19)	
					Negativa (n=27)	Positiva (n=28)	Negativa (n=36)	Positiva
<b>Resposta inflamatória</b>								
<b>TNF-<math>\alpha</math></b> (pg/mL) #	48,88 (40,18–58,16)	53,76 (37,61–68,07)	55,59 (37,61–67,34)	52,66 (38,53–73,21)	53,21 (37,25–66,61)		61,83 (43,12–81,65)	
<b>ADA</b> (U/L) #	11,82 (10,35–13,18)	11,53 (10,33–15,77)	11,53 (10,21–16,77)	11,64 (10,62–15,56)	11,47 (10,24–15,57)		12,13 (10,61–17,63)	
<b>Linf.</b> (cels./mm <sup>3</sup> x 10 <sup>3</sup> ) #	3,432 (2,420–4,494)	3,472 (2,232–4,587)	3,840 (1,980–4,958)	3,301 (2,752–4,255)	3,810 (2,075–4,831)		3,264 (2,880–4,429)	
<b>Mon.</b> (cels./mm <sup>3</sup> ) #	390 (309–665)	396 (306–600)	384,00 (237–528)	405,50 (341–646)	378 (244,50–551)		411 (356–640)	

GC: grupo controle; GFC: grupo fibrose cística; % F: percentual de meninas; ID: idade de diagnóstico; Escore S-K: escore de *Shwachman-Kulczycki*; VEF<sub>1</sub>: volume expiratório forçado no primeiro segundo; P/I: peso-para-idade; E/I: estatura-para-idade; IMC/I: índice de massa corporal-para idade; GC: gordura corporal; AGB: área gordurosa do braço; AMB: área muscular do braço; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral-alfa; ADA: adenosina deaminase; Linf.: linfócitos; Mon.: monócitos. #Valores apresentados em mediana (Intervalo Interquartil 25<sup>o</sup> - 75<sup>o</sup> percentil). \*Valores apresentados em média  $\pm$  erro padrão da média. Os valores de significância das comparações entre o GC vs grupos FC estão representados pelos valores de “p” bruto da análise de regressão linear múltipla.

**Tabela 2** - Análise de regressão linear múltipla entre o Grupo Controle (n=31) vs Grupo Fibrose Cística (n=55).

Variáveis	Bruto			Ajustado		
	Coefficiente $\beta$ 0 (EPM)	p	Coefficiente $\beta$ 1 (EPM)	p	Coefficiente $\beta$ 2 (EPM)	p
<b>VEF<sub>1</sub></b> (%)	-21,80 (6,07)	<b>0,001</b>	-21,74 (5,89)	<b>0,001</b>	-13,58 (12,49)	0,297
<b>P/I</b> (Z-escore)	-0,37 (0,24)	0,139	-0,32 (0,25)	0,195	-	-
<b>E/I</b> (Z-escore)	-0,50 (0,27)	0,070	-0,45 (0,27)	0,103	-	-
<b>IMC/I</b> (Z-escore)	-0,56 (0,26)	<b>0,034</b>	-0,58 (0,26)	<b>0,030</b>	-	-
<b>GC</b> (%)	0,03 (0,06)	0,655	0,03 (0,06)	0,539	-	-
<b>AGB</b> (Z-escore)	-0,35 (0,25)	0,166	-0,29 (0,25)	0,238	-	-
<b>AMB</b> (Z-escore)	-1,04 (0,44)	<b>0,019</b>	-1,05 (0,44)	<b>0,019</b>	-	-
<b>MPO</b> (mU/mL)	0,65 (0,07)	<b>&lt;0,001</b>	0,65 (0,06)	<b>&lt;0,001</b>	0,68 (0,07)	<b>&lt;0,001</b>
<b>IL-1<math>\beta</math></b> (pg/mL)	1,05 (0,12)	<b>&lt;0,001</b>	1,02 (0,12)	<b>&lt;0,001</b>	1,02 (0,16)	<b>&lt;0,001</b>
<b>PCR</b> (mg/L)	0,71 (0,23)	<b>0,003</b>	0,75 (0,24)	<b>0,002</b>	0,66 (0,27)	<b>0,020</b>
<b>NOx</b> ( $\mu$ mol/L)	0,17 (0,08)	<b>0,034</b>	0,16 (0,08)	0,054	0,04 (0,10)	0,665
<b>TNF-<math>\alpha</math></b> (pg/mL)	0,15 (0,11)	0,165	0,13 (0,11)	0,223	0,09 (0,13)	0,495
<b>ADA</b> (U/L)	0,07 (0,07)	0,322	0,05 (0,07)	0,449	0,01 (0,08)	0,896
<b>Leucócitos</b> (cels./mm <sup>3</sup> )	0,19 (0,07)	<b>0,011</b>	0,18 (0,07)	<b>0,013</b>	0,16 (0,08)	0,057
<b>Neutrófilos</b> (cels./mm <sup>3</sup> )	0,24 (0,10)	<b>0,018</b>	0,28 (0,10)	<b>0,006</b>	0,20 (0,12)	0,111
<b>Linfócitos</b> (cels./mm <sup>3</sup> )	-0,11 (0,21)	0,601	-0,18 (0,20)	0,380	-0,15 (0,23)	0,500
<b>Monócitos</b> (cels./mm <sup>3</sup> )	-0,05 (0,16)	0,760	-0,07 (0,16)	0,685	-0,03 (0,20)	0,895

$\beta$ : beta; EPM: erro padrão da média; VEF<sub>1</sub>: volume expiratório forçado no primeiro segundo; P/I: peso-para-idade; E/I: estatura-para-idade; IMC/I: índice de massa corporal-para idade; GC: gordura corporal; AGB: área gordurosa do braço; AMB:

área muscular do braço; MPO: mieloperoxidase; IL-1 $\beta$ : interleucina 1-beta; PCR: proteína C-reativa; NOx: metabólitos de óxido nítrico; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral-alfa ADA: adenosina deaminase. Coeficiente  $\beta$  0: valores brutos; Coeficiente  $\beta$  1: valores ajustados para variáveis de confusão (sexo e idade); Coeficiente  $\beta$  2: valores ajustados para variáveis de mediação (zP/I, zE/I, zIMC/I, %GC, zAGB e zAMB). Os valores de “p” são derivados do teste de *Wald* da análise de regressão linear múltipla.

**Tabela 3** - Análise de regressão linear múltipla entre o Grupo Controle (n= 31) vs Grupo Fibrose Cística bacteriologia negativa e entre Grupo Controle vs Grupo Fibrose Cística bacteriologia positiva (continua).

Variáveis	Grupo Fibrose Cística bacteriologia negativa (n=27)						Grupo Fibrose Cística bacteriologia positiva (n=28)					
	Bruto			Ajustado			Bruto			Ajustado		
	Coef. $\beta 0$ (EPM)	p	Coef. $\beta 1$ (EPM)	Coef. $\beta 2$ (EPM)	p	Coef. $\beta 0$ (EPM)	Coef. $\beta 1$ (EPM)	p	Coef. $\beta 1$ (EPM)	Coef. $\beta 2$ (EPM)	p	
<b>VEF<sub>1</sub></b>	-2,71	0,689	-4,09	-1,99	0,891	-30,70	-30,16	<0,001	-30,16	-23,97	0,108	
(%)	(6,72)		(6,71)	(14,22)		(5,40)	(5,38)		(5,38)	(13,80)		
<b>P/I</b>	-0,42	0,144	-0,32	-	-	-0,31	-0,32	0,295	-0,32	-	-	
(Z-score)	(0,28)		(0,29)			(0,29)	(0,29)		(0,29)			
<b>E/I</b>	-0,47	0,147	-0,33	-	-	-0,53	-0,55	0,098	-0,55	-	-	
(Z-score)	(0,32)		(0,33)			(0,31)	(0,31)		(0,31)			
<b>IMC/I</b>	-0,44	0,156	-0,47	-	-	-0,68	-0,68	<b>0,027</b>	-0,68	-	-	
(Z-score)	(0,30)		(0,32)			(0,30)	(0,31)		(0,31)			
<b>GC</b>	0,07	0,338	0,07	-	-	-0,01	0,002	0,858	0,002	-	-	
(%)	(0,07)		(0,07)			(0,07)	(0,06)		(0,06)			
<b>AGB</b>	-0,24	0,426	-0,06	-	-	-0,46	-0,50	0,118	-0,50	-	-	
(Z-score)	(0,29)		(0,30)			(0,29)	(0,29)		(0,29)			
<b>AMB</b>	-0,90	0,086	-0,95	-	-	-1,18	-1,13	<b>0,022</b>	-1,13	-	-	
(Z-score)	(0,52)		(0,53)			(0,51)	(0,51)		(0,51)			
<b>MPO</b>	0,65	<0,001	0,66	0,66	<0,001	0,65	0,67	<0,001	0,67	0,69	<0,001	
(mU/mL)	(0,08)		(0,08)	(0,09)		(0,08)	(0,07)		(0,07)	(0,09)		
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	1,04	<0,001	0,99	0,10	<0,001	1,05	1,05	<0,001	1,05	1,06	<0,001	
(pg/mL)	(0,14)		(0,15)	(0,19)		(0,14)	(0,14)		(0,14)	(0,18)		
<b>PCR</b>	0,67	<b>0,018</b>	0,78	0,81	<b>0,017</b>	0,75	0,73	<b>0,007</b>	0,73	0,53	0,102	
(mg/L)	(0,28)		(0,28)	(0,33)		(0,27)	(0,27)		(0,27)	(0,32)		
<b>NOx</b>	0,05	0,604	-0,01	-0,15	0,159	0,29	0,30	<b>0,002</b>	0,30	0,21	<b>0,044</b>	
( $\mu$ mol/L)	(0,09)		(0,09)	(0,11)		(0,09)	(0,09)		(0,09)	(0,10)		
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	0,14	0,276	0,10	0,14	0,379	0,16	0,16	0,202	0,16	0,05	0,756	
(pg/mL)	(0,12)		(0,13)	(0,16)		(0,12)	(0,12)		(0,12)	(0,15)		
<b>ADA</b>	0,07	0,378	0,04	0,003	0,972	0,07	0,07	0,418	0,07	0,02	0,849	
(U/L)	(0,08)		(0,08)	(0,10)		(0,08)	(0,08)		(0,08)	(0,10)		

**Tabela 3** - Análise de regressão linear múltipla entre o Grupo Controle (n= 31) vs Grupo Fibrose Cística bacteriologia negativa e entre Grupo Controle vs Grupo Fibrose Cística bacteriologia positiva (conclusão).

Variáveis	Grupo Fibrose Cística bacteriologia negativa (n=27)						Grupo Fibrose Cística bacteriologia positiva (n=28)					
	Bruto			Ajustado			Bruto			Ajustado		
	Coef. $\beta 0$ (EPM)	P	Coef. $\beta 1$ (EPM)	P	Coef. $\beta 2$ (EPM)	P	Coef. $\beta 0$ (EPM)	P	Coef. $\beta 1$ (EPM)	P	Coef. $\beta 2$ (EPM)	P
<b>Leucócitos</b> (cells./mm <sup>3</sup> )	0,13 (0,08)	0,120	0,09 (0,08)	0,280	0,04 (0,10)	0,696	0,24 (0,08)	<b>0,005</b>	0,26 (0,08)	<b>0,002</b>	0,27 (0,09)	<b>0,005</b>
<b>Neutrófilos</b> (cells./mm <sup>3</sup> )	0,15 (0,12)	0,218	0,20 (0,12)	0,100	0,11 (0,15)	0,469	0,34 (0,12)	<b>0,004</b>	0,35 (0,11)	<b>0,003</b>	0,28 (0,14)	<b>0,049</b>
<b>Linfócitos</b> (cells./mm <sup>3</sup> )	-0,04 (0,25)	0,886	-0,22 (0,24)	0,362	-0,33 (0,27)	0,229	-0,18 (0,24)	0,458	-0,14 (0,23)	0,557	-0,003 (0,26)	0,989
<b>Monócitos</b> (cells./mm <sup>3</sup> )	-0,15 (0,19)	0,435	-0,24 (0,19)	0,218	-0,30 (0,23)	0,197	0,05 (0,19)	0,808	0,09 (0,19)	0,643	0,21 (0,22)	0,342

Coef.  $\beta$ : Coeficiente beta; EPM: erro padrão da média; VEF<sub>1</sub>: volume expiratório forçado no primeiro segundo; P/I: peso-para-idade; E/I: estatura-para-idade; IMC/I: índice de massa corporal-para idade; GC: gordura corporal; AGB: área gordurosa do braço; AMB: área muscular do braço; MPO: mieloperoxidase; IL- $\beta$ : interleucina 1-beta; PCR: proteína C-reativa; NOx: metabólitos de óxido nítrico; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral alfa; ADA: adenosina deaminase. Coeficiente  $\beta 0$ : valores brutos; Coeficiente  $\beta 1$ : valores ajustados para variáveis de confusão (sexo e idade); Coeficiente  $\beta 2$ : valores ajustados para variáveis de medição (zP/I, zE/I, zIMC/I, %GC, zAGB, zAMB). Os valores de “p” são derivados do teste de *Wald* da análise de regressão linear múltipla.

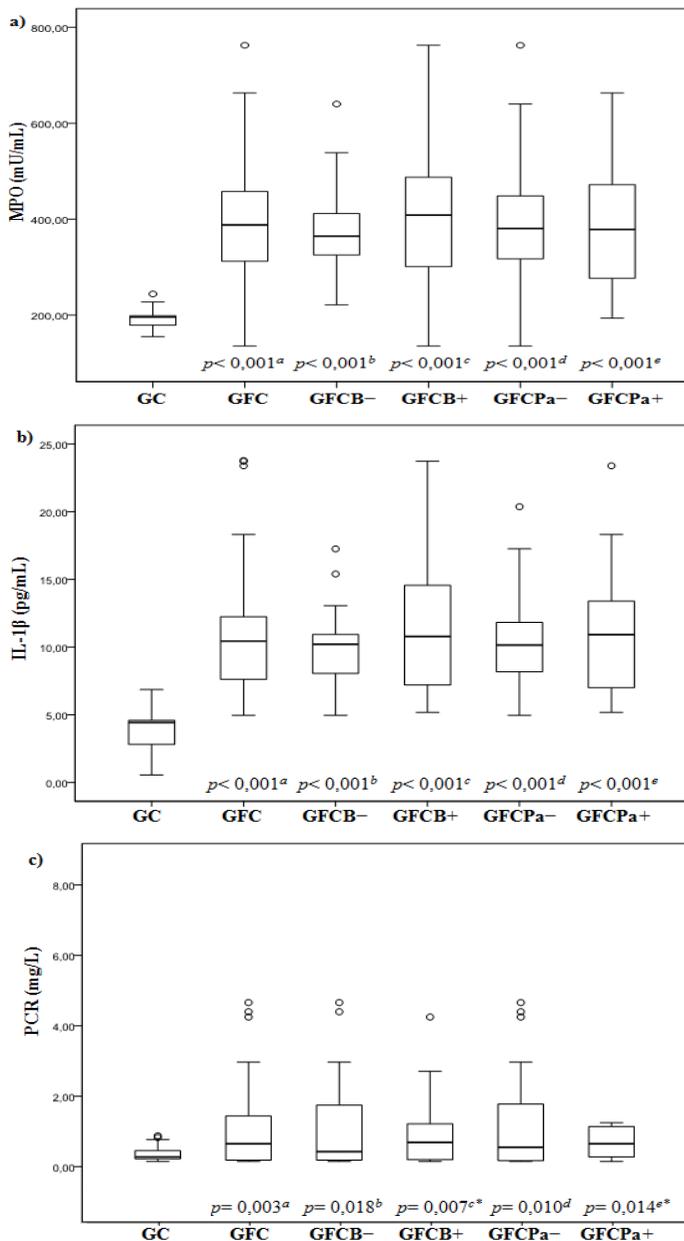
**Tabela 4** - Análise de regressão linear múltipla entre Grupo Controle (n= 31) vs Grupo Fibrose Cística *Pseudomonas aeruginosa* positiva e entre Grupo Controle vs Grupo Fibrose Cística *Pseudomonas aeruginosa* positiva (continua).

Variáveis	Grupo Fibrose Cística <i>Pseudomonas aeruginosa</i> negativa (n=36)				Grupo Fibrose Cística <i>Pseudomonas aeruginosa</i> positiva (n=19)									
	Bruto		Ajustado		Bruto		Ajustado							
	Coef. $\beta$ 0 (EPM)	<i>p</i>	Coef. $\beta$ 1 (EPM)	<i>p</i>	Coef. $\beta$ 0 (EPM)	<i>p</i>	Coef. $\beta$ 1 (EPM)	<i>p</i>						
<b>VEF<sub>1</sub></b> (%)	-9,84 (6,10)	0,116	-10,91 (6,08)	0,082	-13,68 (12,02)	0,279	-33,75 (6,10)	<0,001	-32,68 (11,99)	<0,001	<0,001	-26,94 (11,99)	<0,001	<b>0,046</b>
<b>P/I</b> (Z-escore)	-0,44 (0,26)	0,099	-0,37 (0,27)	0,168	-	-	-0,20 (0,33)	0,567	-0,21 (0,33)	0,567	0,532	-	-	-
<b>E/I</b> (Z-escore)	-0,53 (0,30)	0,079	-0,58 (0,31)	0,065	-	-	-0,44 (0,35)	0,213	-0,46 (0,35)	0,213	0,197	-	-	-
<b>IMC/I</b> (Z-escore)	-0,52 (0,28)	0,075	-0,55 (0,29)	0,065	-	-	-0,65 (0,34)	<b>0,039</b>	-0,64 (0,34)	<b>0,039</b>	<b>0,047</b>	-	-	-
<b>GC</b> (%)	0,04 (0,06)	0,573	0,04 (0,06)	0,530	-	-	0,01 (0,08)	0,925	0,03 (0,07)	0,925	0,721	-	-	-
<b>AGB</b> (Z-escore)	-0,39 (0,27)	0,154	-0,27 (0,28)	0,326	-	-	-0,26 (0,33)	0,425	-0,33 (0,33)	0,425	0,312	-	-	-
<b>AMB</b> (Z-escore)	-0,87 (0,48)	0,071	-0,93 (0,48)	0,057	-	-	-1,37 (0,57)	<b>0,018</b>	-1,28 (0,56)	<b>0,018</b>	<b>0,026</b>	-	-	-
<b>MPO</b> (mU/mL)	0,66 (0,07)	<0,001	0,66 (0,07)	<0,001	0,60 (0,09)	<0,001	0,62 (0,09)	<0,001	0,64 (0,08)	<0,001	<0,001	0,71 (0,10)	<0,001	<0,001
<b>IL-1<math>\beta</math></b> (pg/mL)	1,05 (0,13)	<0,001	1,02 (0,14)	<0,001	1,03 (0,19)	<0,001	1,03 (0,16)	<0,001	1,03 (0,16)	<0,001	<0,001	1,01 (0,22)	<0,001	<0,001
<b>PCR</b> (mg/L)	0,68 (0,26)	<b>0,010</b>	0,77 (0,26)	<b>0,004</b>	0,77 (0,30)	<b>0,013</b>	0,77 (0,31)	<b>0,014</b>	0,73 (0,31)	<b>0,014</b>	<b>0,020</b>	0,50 (0,35)	0,155	0,155
<b>NOx</b> ( $\mu$ mol/L)	0,07 (0,08)	0,407	0,03 (0,08)	0,744	-0,06 (0,10)	0,553	0,36 (0,10)	0,553	0,38 (0,10)	0,553	<0,001	0,34 (0,12)	<0,001	<b>0,007</b>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b> (pg/mL)	0,10 (0,12)	0,375	0,07 (0,12)	0,570	0,08 (0,15)	0,613	0,23 (0,14)	0,613	0,23 (0,14)	0,613	0,103	0,23 (0,14)	0,094	0,418
<b>ADA</b> (U/L)	0,05 (0,08)	0,531	0,02 (0,08)	0,819	-0,03 (0,08)	0,761	0,11 (0,09)	0,761	0,12 (0,09)	0,761	0,207	0,12 (0,10)	0,207	0,173

**Tabela 4** - Análise de regressão linear múltipla entre Grupo Controle (n= 31) vs Grupo Fibrose Cística *Pseudomonas aeruginosa* negativa e entre Grupo Controle vs Grupo Fibrose Cística *Pseudomonas aeruginosa* positiva (conclusão).

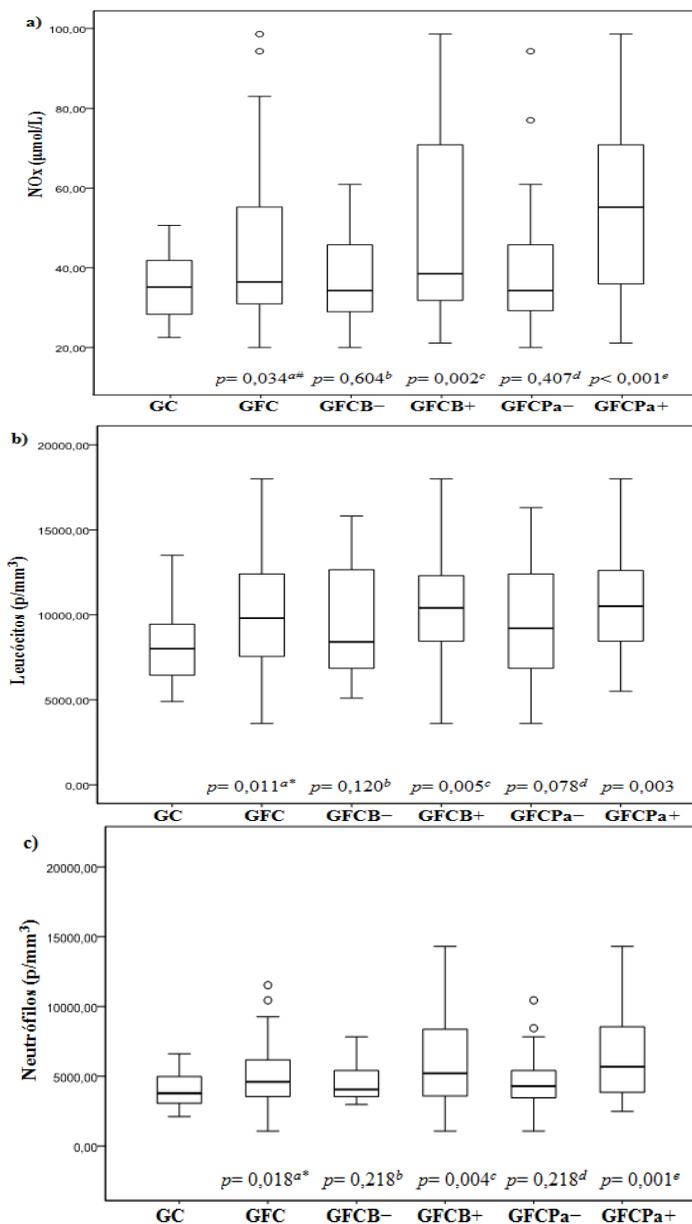
Variáveis	Grupo Fibrose Cística <i>Pseudomonas aeruginosa</i> negativa (n=36)				Grupo Fibrose Cística <i>Pseudomonas aeruginosa</i> positiva (n=19)							
	Bruto		Ajustado		Bruto		Ajustado					
	Coef. $\beta$ 0 (EPM)	p	Coef. $\beta$ 1 (EPM)	p	Coef. $\beta$ 0 (EPM)	p	Coef. $\beta$ 1 (EPM)	p				
<b>Leucócitos</b> (cels./mm <sup>3</sup> )	0,14 (0,08)	0,078	0,11 (0,08)	0,162	0,11 (0,09)	0,221	0,28 (0,09)	0,003	0,31 (0,09)	0,001	0,35 (0,10)	0,001
<b>Neutrófilos</b> (cels./mm <sup>3</sup> )	0,13 (0,11)	0,218	0,17 (0,11)	0,117	0,07 (0,14)	0,589	0,46 (0,13)	0,001	0,46 (0,12)	<0,001	0,50 (0,16)	0,002
<b>Linfócitos</b> (cels./mm <sup>3</sup> )	-0,10 (0,23)	0,674	-0,24 (0,22)	0,275	-0,34 (0,25)	0,177	-0,13 (0,27)	0,624	-0,06 (0,26)	0,822	0,22 (0,29)	0,449
<b>Monócitos</b> (cels./mm <sup>3</sup> )	-0,12 (0,18)	0,513	-0,18 (0,18)	0,313	-0,003 (0,22)	0,990	0,08 (0,21)	0,717	0,14 (0,21)	0,522	0,25 (0,25)	0,319

Coef.  $\beta$ : Coeficiente beta; EPM: erro padrão da média; VEF<sub>1</sub>: volume expiratório forçado no primeiro segundo; P/I: peso-para-idade; E/I: estatura-para-idade; IMC/I: índice de massa corporal-para idade; GC: gordura corporal; AGB: área gordurosa do braço; AMB: área muscular do braço; MPO: mieloperoxidase; IL-1 $\beta$ : interleucina 1-beta; PCR: proteína C-reativa; NOx: metabólitos de óxido nítrico; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral alfa; ADA: adenosina deaminase. Coeficiente  $\beta$  0: valores brutos; Coeficiente  $\beta$  1: valores ajustados para variáveis de confusão (sexo e idade); Coeficiente  $\beta$  2: valores ajustados para variáveis de mediação (zP/I, zE/I, zIMC/I, %GC, zAGB, zAMB). Os valores de “p” são derivados do teste de *Wald* da análise de regressão linear múltipla.



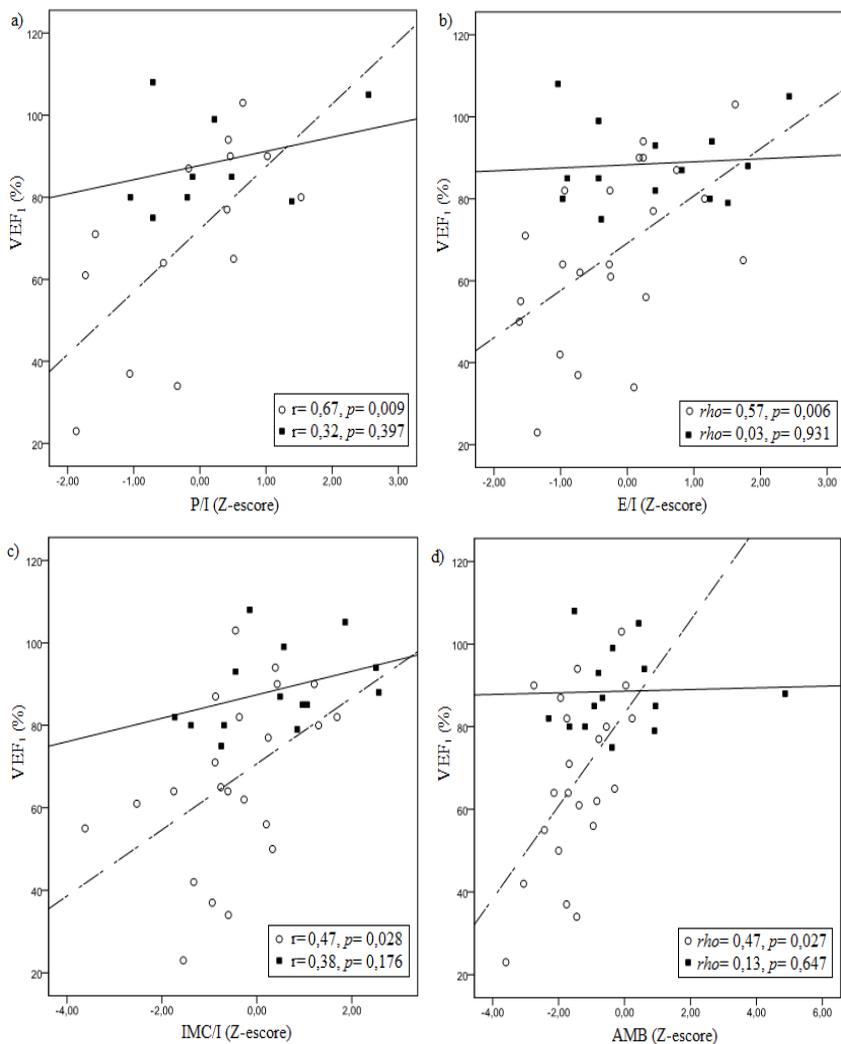
**Figura 2 a, 2 b e 2 c-** Concentrações de (2 a) mieloperoxidase (MPO), (2 b) interleucina 1-beta (IL-1 $\beta$ ), (2 c) proteína C-reativa (PCR) nos grupos com FC

(GFC= Grupo Fibrose Cística, GFCB<sup>-</sup>= Grupo Fibrose Cística bacteriologia negativa, GFCB<sup>+</sup>= Grupo Fibrose Cística bacteriologia positiva, GFCPa<sup>-</sup>= Grupo Fibrose Cística *Pseudomonas aeruginosa* negativa, GFCPa<sup>+</sup>= Grupo Fibrose Cística *Pseudomonas aeruginosa* positiva) comparados com o GC (Grupo controle).  $p^a$ = GC vs GFC;  $p^b$ = GC vs GFCB<sup>-</sup>;  $p^c$ = GC vs GFCB<sup>+</sup>;  $p^d$ = GC vs GFCPa<sup>-</sup>;  $p^e$ = GC vs GFCPa<sup>+</sup>; \*Após a análise ajustada para variáveis de mediação houve a perda da significância. Box plots: limite inferior das caixas= percentil 25, linha dentro das caixas= mediana, limite superior das caixas= percentil 75. Seguimento de reta acima e abaixo fora das caixas= valores mínimos e máximos. Círculos abertos= outliers. Os valores de “ $p$ ” são derivados do teste de *Wald* da análise bruta de regressão linear múltipla.

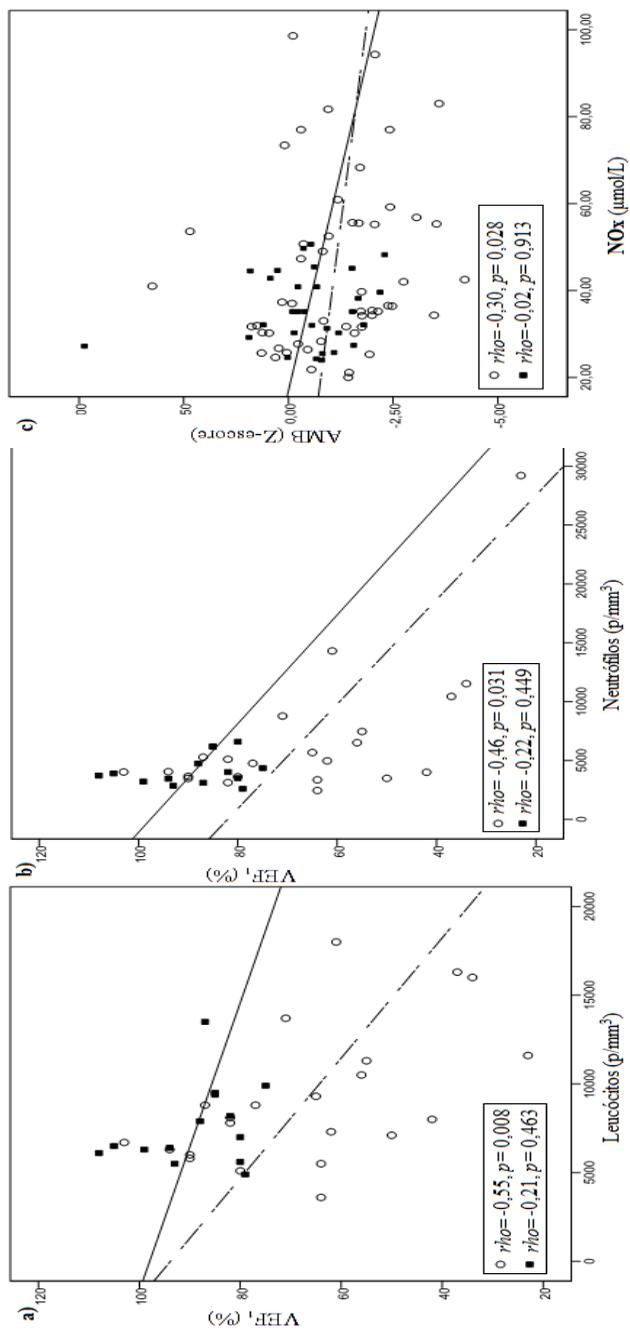


**Figura 3** - Concentrações de (3 a) metabólitos de óxido nítrico (NO<sub>x</sub>), (3 b) leucócitos, (3 c) neutrófilos nos grupos com FC (GFC= Grupo Fibrose Cística,

GFCB<sup>-</sup> = Grupo Fibrose Cística bacteriologia negativa, GFCB<sup>+</sup> = Grupo Fibrose Cística bacteriologia positiva, GFCPa<sup>-</sup> = Grupo Fibrose Cística *Pseudomonas aeruginosa* negativa, GFCPa<sup>+</sup> = Grupo Fibrose Cística *Pseudomonas aeruginosa* positiva) comparados com o GC (Grupo controle).  $p^a$  = GC vs GFC;  $p^b$  = GC vs GFCB<sup>-</sup>;  $p^c$  = GC vs GFCB<sup>+</sup>;  $p^d$  = GC vs GFCPa<sup>-</sup>;  $p^e$  = GC vs GFCPa<sup>+</sup>. #Após a análise ajustada para variáveis de confusão houve a perda da significância. \*Após a análise ajustada para variáveis de mediação houve a perda da significância. Box plots: limite inferior das caixas= percentil 25, linha dentro das caixas= mediana, limite superior das caixas= percentil 75. Seguimento de reta acima e abaixo fora das caixas= valores mínimos e máximos. Círculos abertos= outliers. Os valores de “ $p$ ” são derivados do teste de *Wald* da análise bruta de regressão linear múltipla.



**Figura 4** - Correlação entre Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo (VEF<sub>1</sub>) vs (4 a) peso-para-idade (P/I), (4 b) estatura-para-idade (E/I), (4 c) índice de massa corporal-para-idade (IMC/I) e (4 d) área muscular do braço (AMB) em pacientes com fibrose cística e grupo controle.  $r$ = correlação de *Pearson*,  $\rho$ = correlação de *Spearman*. Grupo Fibrose Cística (—○—); Grupo Controle (—■—).



**Figura 5** - Correlação entre Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo ( $VEF_1$ ) vs **(5 a)** leucócitos e **(5 b)** neutrófilos e **(5 c)** correlação entre área muscular do braço (AMB) vs metabólitos de óxido nítrico ( $NO_x$ ) em pacientes com fibrose cística e grupo controle.  $r_{ho}$ = correlação de *Spearman*. Grupo Fibrose Cística (---○---); Grupo Controle (---■---).



## 6 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

- Um estudo transversal só pode examinar associações e não causalidade. Portanto, este estudo não permite a avaliação da evolução natural e das interações causais entre infecção (particularmente a *P. aeruginosa*), inflamação, estado nutricional e função pulmonar ao longo do tempo.
- Não foi avaliada a obediência dos pacientes com FC em relação ao protocolo prescrito referente à suplementação de vitaminas e minerais. Adicionalmente, não foi avaliada a influência desta suplementação na resposta inflamatória e estado nutricional dos pacientes com FC.



## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta investigação avaliou a resposta inflamatória, o estado nutricional e a função pulmonar de crianças e adolescentes com FC. Para esta avaliação foi considerada a presença ou ausência de bactérias patogênicas para a FC e a presença ou ausência de *P. aeruginosa* nos pacientes com FC, os quais foram comparados com um grupo controle. Concluindo, observa-se nesta investigação que as crianças e adolescentes com FC:

- 1) Apresentaram concentrações elevadas de MPO, PCR e IL-1 $\beta$  independente da infecção acometida, caracterizando uma resposta inflamatória sistêmica. Aparentemente, a presença de infecção não foi determinante para o estabelecimento de uma resposta inflamatória alterada.
- 2) A bacteriologia positiva teve um efeito aditivo na resposta inflamatória aumentando as concentrações de NO $x$ , e a contagem de leucócitos e neutrófilos.
- 3) Não apresentaram alterações nas concentrações de ADA, TNF- $\alpha$ , e na contagem de linfócitos e monócitos.
- 4) O GFC, GFCB<sup>+</sup> e GFCPa<sup>+</sup> apresentaram redução do zIMC/I e da massa muscular avaliada pela zAMB em comparação com o GC. Porém, não houve alteração nos indicadores zP/I, zE/I, %GC e zAGB.
- 5) No GFC o estado nutricional, avaliado pelo zAMB, apresentou correlação negativa com a resposta inflamatória, avaliada pelo NO $x$ .
- 6) No GFC a função pulmonar apresentou correlação positiva com o estado nutricional (zP/I, zE/I, zIMC/I, zAMB) e correlação negativa com a resposta inflamatória (leucócitos e neutrófilos).



## **8 SUGESTÕES DE PESQUISAS FUTURAS**

- Realizar estudos longitudinais que permitam verificar a causalidade entre infecção, inflamação, estado nutricional e função pulmonar para definir indicadores inflamatórios e nutricionais que permitam avaliar a evolução clínica e resposta ao tratamento dos pacientes com FC.
- Realizar estudos de intervenção nutricional com nutrientes imunomoduladores para avaliar o efeito no estado nutricional, resposta inflamatória e prognóstico destes pacientes.



## REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 576 p.

ABBOTT, J.; HOLT, A.; HART, A.; MORTON, A. M.; MACDOUGALL, L.; POGSON, M.; MILNE, G.; RODGERS, H. C.; CONWAY, S. P. What defines a pulmonary exacerbation? The perceptions of adults with cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 8, n. 5, p. 356-359, 2009.

ADAMS-CHAPMAN, I.; STOLL, B. J. Systemic inflammatory response syndrome. **Seminars in Pediatric Infectious Diseases**, v. 12, n. 1, p. 5-16, 2001.

ADDE, F. V.; RODRIGUES, J. C.; CARDOSO, A. L. Seguimento nutricional de pacientes com fibrose cística: papel do aconselhamento nutricional. **Jornal de Pediatria**, v. 80, n. 6, p. 475-482, 2004.

AFACAN, N. J.; FJELL, C. D.; HANCOCK, R. E. W. A systems biology approach to nutritional immunology – Focus on innate immunity. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 33, n. 1, p. 14-25, 2012.

ALDRICH, M. B.; BLACKBURN, M. R.; KELLEMS, R. E. The importance of adenosine deaminase for lymphocyte development and function. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 272, n. 2, p. 311-315, 2000.

ALVAREZ, A. E.; RIBEIRO, A. F.; HESSEL, G.; BERTUZZO, C. S.; RIBEIRO, J. D. Fibrose cística em um centro de referência no Brasil: características clínicas e laboratoriais de 104 pacientes e sua associação com o genótipo e a gravidade da doença. **Jornal de Pediatria**, v. 80, n. 5, p. 371-379, 2004.

ANDERSEN, D. H. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease. **American Journal of Diseases of Children**, v. 56, n. 2, p. 344-399, 1938.

ANDRADE, E. F.; FONSECA, D. L. O.; ABREU E SILVA, F. A.; MENNA-BARRETO, S. S. Avaliação evolutiva da espirometria na fibrose cística. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 27, n. 3, p. 130-

136, 2001.

AREND, W. P.; GABAY, C. Cytokines in the rheumatic diseases. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v. 30, n. 1, p. 41-67, 2004.

ARIS, R. M.; STEPHENS, A. R.; ONTJES, D. A.; DENENE-BLACKWOOD, A.; LARK, R. K.; HENSLER, M. B.; NEURINGER, I. P.; LESTER, G. E. Adverse alterations in bone metabolism are associated with lung infection in adults with cystic fibrosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 162, n. 5, p. 1674-1678, 2000.

ARMSTRONG, D. S.; HOOK, S. M.; JAMSEN, K. M.; NIXON, G. M.; CARZINO, R.; CARLIN, J. B.; ROBERTSON, C. F.; GRIMWOOD, K. Lower airway inflammation in infants with cystic fibrosis detected by newborn screening. **Pediatric Pulmonology**, v. 40, n. 6, p. 500-510, 2005.

BALOUGH, K.; MCCUBBIN, M.; WEINBERGER, M.; SMITS, W.; AHRENS, R.; FICK, R. The relationship between infection and inflammation in the early stages of lung disease from cystic fibrosis. **Pediatric Pulmonology**, v. 20, n. 2, p. 63-70, 1995.

BARJA, S.; ESPINOZA, T.; CERDA, J.; SÁNCHEZ, I. Evolución nutricional y función pulmonar en niños y adolescentes chilenos con fibrosis quística. **Revista Médica de Chile**, v. 139, n. 8, p. 977-984, 2011.

BARNES, P. J.; KARIN, M. Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. **The New England Journal of Medicine**, v. 336, n. 15, p. 1066-1071, 1997.

BENTZMANN, S.; ROGER, P.; DUPUIT, F.; BAJOLET-LAUDINAT, O.; FUCHEY, C.; PLOTKOWSKI, M. C.; PUCHELLE, E. Asialo GM1 is a receptor for *Pseudomonas aeruginosa* adherence to regenerating respiratory epithelial cells. **Infection and Immunity**, v. 64, n. 5, p. 1582-1588, 1996.

BERGER, M. Inflammatory mediators in cystic fibrosis lung disease. **Allergy and Asthma Proceedings**, v. 23, n. 1, p. 19-25, 2002.

BILTON, D. Cystic fibrosis. **Medicine**, v. 36, n. 5, p. 273-278, 2008.

BJARNSHOLT, T.; JENSEN, P. Ø.; FIANDACA, M. J.; PEDERSEN, J.; HANSEN, C. R.; ANDERSEN, C. B.; PRESSLER, T.; GIVSKOV, M.; HØIBY, N. Pseudomonas aeruginosa biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. **Pediatric Pulmonology**, v. 44, n. 6, p. 547-558, 2009.

BOECK, K. D.; MALFROOT, A.; van SCHIL, L.; LEBECQUE, P.; KNOOP, C.; GOVAN, J. R. W.; DOHERTY, C.; LAEVENS, S.; VANDAMME, P. Epidemiology of Burkholderia cepacia complex colonisation in cystic fibrosis patients. **European Respiratory Journal**, v. 23, n. 6, p. 851-856, 2004.

BOROWITZ, D.; BAKER, R. D.; STALLINGS, V. Consensus report on nutrition for pediatric patients with cystic fibrosis. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 35, n. 3, p. 246-259, 2002.

BOUCHER, R. C. Cystic fibrosis: a disease of vulnerability to airway surface dehydration. **Trends in Molecular Medicine**, v. 13, n. 6, p. 231-240, 2007a.

BOUCHER, R. C. Airway surface dehydration in cystic fibrosis: pathogenesis and therapy. **Annual Review of Medicine**, v. 58, p. 157-170, 2007b.

BRASIL. Registro Brasileiro de fibrose cística. **1º Relatório Anual**, 2009. 52 p.

BRICE, P.; JARRETT, J.; MUGFORD, M. Genetic screening for cystic fibrosis: An overview of the science and the economics. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 6, n. 4, p. 255-261, 2007.

CABELLO, G. M. K.; CABELLO, P. H.; ROIG, S. R. S.; FONSECA, A.; CARVALHO, E. C. D.; FERNANDES, O. Rastreamento da fibrose cística usando-se a análise combinada do teste de IRT neonatal e o estudo molecular da mutação  $\Delta F508$ . **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 1, p. 15-20, 2003.

CAMPODÓNICO, V. L.; GADJEVA, M.; PARADIS-BLEAU, C.; ULUER, A.; PIER, G. B. Airway epithelial control of *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. **Trends in Molecular Medicine**, v. 14, n. 3, p. 120-133, 2008.

CERQUEIRA, N. F.; YOSHIDA, W. B. Óxido nítrico. Revisão. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 17, n. 6, p. 417-423, 2002.

CHANDRA, R. K. Nutrition, immunity and infection: From basic knowledge of dietary manipulation of immune responses to practical application of ameliorating suffering and improving survival. **Proceedings of the National Academic of Sciences of the United States of America**, v. 93, p. 14304-14307, 1996.

CHAPMAN, A. L. P.; MORRISSEY, B. M.; VASU, V. T.; JUAREZ, M. M.; HOUGHTON, J. S.; LI, C.; CROSS, C. E.; EISERICH, J. P. Myeloperoxidase-dependent oxidative metabolism of nitric oxide in the cystic fibrosis airway. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 9, n. 2, p. 84-92, 2010.

CHAVES, C. R. M. M.; BRITTO, J. A. A.; OLIVEIRA, C. Q.; GOMES, M. M.; CUNHA, A. L. P. Associação entre medidas do estado nutricional e a função pulmonar de crianças e adolescentes com fibrose cística. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 35, n. 5, p. 409-414, 2009.

CHMIEL, J. F.; BERGER, M.; KONSTAN, M. W. The Role of Inflammation in the Pathophysiology of CF Lung Disease. **Clinical Reviews in Allergy and Immunology**, v. 23, n. 1, p. 5-27, 2002.

CHMIEL, J. F.; KONSTAN, M. W. Inflammation and anti-inflammatory therapies for cystic fibrosis. **Clinics in Chest Medicine**, v. 28, n. 2, p. 331-346, 2007.

CHOE, Y. J.; KO, J. S.; SEO, J. K.; HAN, J. J.; SHIM, J. O.; KOH, Y. Y.; LEE, R.; KI, C. S.; KIM, J. W.; KIM, J. H. Novel CFTR Mutations in a Korean infant with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency. **Journal of Korean Medical Science**, v. 25, n. 1, p. 163-165, 2010.

CHOI, J. W.; PAI, S. H.; KIM, S. K.; ITO, M.; PARK, C. S.; CHA, Y. N. Increases in nitric oxide concentrations correlate strongly with body

fat in obese humans. **Clinical Chemistry**, v. 47, n. 6, p. 1106-1109, 2001.

CONE, J. B. Inflammation. **The American Journal of Surgery**, v. 182, n. 6, p. 558-562, 2001.

CONESE, M.; COPRENI, E.; di GIOIA, S.; de RINALDIS, P.; FUMARULO, R. Neutrophil recruitment and airway epithelial cell involvement in chronic cystic fibrosis lung disease. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 2, n. 3, p. 129-135, 2003.

COREY, M.; MCLAUGHLIN, F. J.; WILLIAMS, M.; LEVISON, H. A comparison of survival, growth, and pulmonary function in patients with cystic fibrosis in Boston and Toronto. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 41, n. 6, p. 583-591, 1988.

CORNETTE, L. Fetal and neonatal inflammatory response and adverse outcome. **Seminars in Fetal and Neonatal Medicine**, v. 9, n. 6, p. 459-470, 2004.

CORVOL, H.; BOELLE, P.; BROUARD, J.; KNAUER, N.; CHADELAT, K.; HENRION-CAUDE, A.; FLAMANT, C.; MUSELET-CHARLIER, C.; BOULE, M.; FAUROUX, B.; VALLET, C.; FEINGOLD, J.; RATJEN, F.; GRASEMANN, H.; CLEMENT, A. Genetic variations in inflammatory mediators influence lung disease progression in cystic fibrosis. **Pediatric Pulmonology**, v. 43, n. 12, p. 1224-1232, 2008.

COURTNEY, J. M.; ENNIS, M.; ELBORN, J. S. Cytokines and inflammatory mediators in cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 3, n. 4, p. 223-231, 2004.

CRAWFORD, J. H.; CHACKO, B. K.; PRUITT, H. M.; PIKNOVA, B.; HOGG, N.; PATEL, R. P. Transduction of NO-bioactivity by the red blood cell in sepsis: novel mechanisms of vasodilation during acute inflammatory disease. **Blood**, v. 104, n. 5, p. 1375-1382, 2004.

CROSSLEY, J. R.; ELLIOTT, R. B.; SMITH, P. A. Dried-blood spot screening for cystic fibrosis in the newborn. **The Lancet**, v. 1, n. 8114, p. 472-474, 1979.

CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION. **Patient Registry: Annual Data Report, 2010**. Bethesda, 2011. 32 p.

CYSTIC FIBROSIS MUTATION DATABASE. **Cystic fibrosis mutation database statistics**, 2011. Disponível em: <<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/StatisticsPage.html>>. Acesso em: 07 maio 2012.

DAVIES, J. C. Pseudomonas Aeruginosa in cystic fibrosis: pathogenesis and persistence. **Paediatric Respiratory Reviews**, v. 3, n. 2, p. 128-134, 2002.

DAVIES, M. J. Myeloperoxidase-derived oxidation: mechanisms of biological damage and its prevention. **Journal of Clinical Biochemistry Nutrition**, v. 48, n. 1, p. 8-19, 2011.

DAVIES, J. C.; BILTON, D. Bugs, biofilms, and resistance in cystic fibrosis. **Respiratory Care**, v. 54, n. 5, p. 628-640, 2009.

DIMANGO, E.; RATNER, A. J.; BRYAN, R.; TABIBI, S.; PRINCE, A. Activation of NF- $\kappa$ B by adherent Pseudomonas aeruginosa in normal and cystic fibrosis respiratory epithelial cells. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 101, n. 11, p. 2598-2605, 1998.

DI SANT'AGNESE, P. A.; DARLING, R. C.; PERERA, G. A.; SHEA, E. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas. Clinical significance and relationship to disease. **Pediatrics**, v. 12, n. 5, p. 549-563, 1953.

DODGE, J. A.; MORISON, S.; LEWIS, P. A.; COLES, E. C.; GEDDES, D.; RUSSELL, G.; LITTLEWOOD, J. M.; SCOTT, M. T. Incidence, population and survival of cystic fibrosis in the UK, 1968-1995. **Archives of Disease in Childhood**, v. 77, n. 6, p. 493-496, 1997.

DODGE, J. A.; TURCK, D. Cystic fibrosis: nutritional consequences and management. **Best Practice and Research Clinical Gastroenterology**, v. 20, n. 3, p. 531-546, 2006.

DOUGLAS, T. A.; BRENNAN, S.; GARD, S.; BERRY, L.; GANGELL, C.; STICK, S. M.; CLEMENTS, B. S. Acquisition and eradication of P. aeruginosa in young children with cystic fibrosis. **The**

**European Respiratory Journal**, v. 33, n. 2, p. 305-311, 2009.

DOULL, I. J. M. Recent advances in cystic fibrosis. **Archives of Disease in Childhood**, v. 85, n. 1, p. 62-66, 2001.

DOWNEY, D. G.; BELL, S. C.; ELBORN, J. S. Neutrophils in cystic fibrosis. **Thorax**, v. 64, n. 1, p. 81-88, 2009.

EISERICH, J. P.; BALDUS, S.; BRENNAN, M. L.; MA, W.; ZHANG, C.; TOUSSON, A.; CASTRO, L.; LUSIS, A. J.; NAUSEEF, W. M.; WHITE, C. R.; FREEMAN, B. A. Myeloperoxidase, a leukocyte-derived vascular NO oxidase. **Science**, v. 296, n. 5577, p. 2391-2394, 2002.

ELBORN, J. S.; BELL, S. C. Nutrition and survival in cystic fibrosis. **Thorax**, v. 51, n. 10, p. 971-972, 1996.

ELBORN, J. S.; CORDON, S. M.; PARKER, D.; DELAMERE, F. M.; SHALE, D. J. The host inflammatory response prior to death in patients with cystic fibrosis and chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection. **Respiratory Medicine**, v. 87, n. 8, p. 603-607, 1993.

ELIZUR, A.; CANNON, C. L.; FERKOL, T. W. Airway inflammation in cystic fibrosis. **Chest**, v. 133, n. 2, p. 489-495, 2008.

ELKIND, M. S. V. Impact of innate inflammation in population studies. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1207, p. 97-106, 2010.

EMERSON, J.; ROSENFELD, M.; MCNAMARA, S.; RAMSEY, B.; GIBSON, R. L. *Pseudomonas Aeruginosa* and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis. **Pediatric Pulmonology**, v. 34, n. 2, p. 91-100, 2002.

FANCONI, G.; UEHLINGER, E.; KNAUER, C. Das coeliakie syndrom bei angeborener zystischer pankreas fibromatose und bronchiectasien. **Wiener klinische Wochenschrift**, v. 86, p. 753-758, 1936.

FARBER, S. Some organic digestive disturbances in early life. **The Journal of the Michigan State Medical Society**, v. 44, p. 587-594, 1945.

FLORA-FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. *Metabolismo, síntese e funções*. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 265-271, 2000.

FOGARTY, A.; HUBBARD, R.; BRITTON, J. International comparison of median age at death from cystic fibrosis. **Chest**, v. 117, n. 6, p. 1656-1660, 2000.

FORMANEK, W.; INCI, D.; LAUENER, R. P.; WILDHABER, J. H.; FREY, U.; HALL, G. L. Elevated nitrite in breath condensates of children with respiratory disease. **The European Respiratory Journal**, v. 19, n. 3, p. 487-491, 2002.

FRANKLIN, P. J.; HALL, G. L.; MOELLER, A.; HORAK JÚNIOR, F.; BRENNAN, S.; STICK, S. M. Exhaled nitric oxide is not reduced in infants with cystic fibrosis. **The European Respiratory Journal**, v. 27, n. 2, p. 350-353, 2006.

FRISANCHO, A. R. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 34, n. 11, p. 2540-2545, 1981.

FUCHS, H. J.; BOROWITZ, D. S.; CHRISTIANSEN, D. H.; MORRIS, E. M.; NASH, M. L.; RAMSEY, B. W.; ROSENSTEIN, B. J.; SMITH, A. L.; WOHL, M. E. Effect of aerosolized recombinant human DNase on exacerbations of respiratory symptoms and pulmonary function in patients with cystic fibrosis. **The New England Journal of Medicine**, v. 331, n. 10, p. 637-642, 1994.

GELLER, D. E.; RUBIN, B. K. Respiratory care and cystic fibrosis. **Respiratory Care**, v. 54, n. 6, p. 796-800, 2009.

GIBSON, L. E.; COOKE, R. E. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. **Pediatrics**, v. 23, n. 3, p. 545-549, 1959.

GILLIGAN, P. H.; KISKA, D. L.; APPLEMAN, M. D. **Cumitech 43: Cystic Fibrosis Microbiology**. Coordinating ed., M. D. Appleman. Washington, D.C: ASM Press, 2006, 72 p.

GIUSTI, G.; GALANTI, B. Adenosine-deaminase: Colorimetric method. In: **Methods of enzymatic analyses**. 3th ed. Bergmeyer (H.U.): Weinheim; Germany: Verlag Chemie Press; 1984. p. 315-323.

GOLDMAN, M. J.; ANDERSON, G. M.; STOLZENBERG, E. D.; KARI, U. P.; ZASLOFF, M.; WILSON, J. M. Human  $\beta$ -defensin-1 is a salt-sensitive antibiotic in lung that is inactivated in cystic fibrosis. **Cell**, v. 88, n. 4, p. 553-560, 1997.

GRASEMANN, H.; MICHLER, E.; WALLOT, M.; RATJEN, F. Decreased concentration of exhaled nitric oxide (NO) in patients with cystic fibrosis. **Pediatric Pulmonology**, v. 24, n. 3, p. 173-177, 1997.

GRASSMÉ, H.; BECKER, K. A.; ZHANG, Y.; GULBINS, E. CFTR-dependent susceptibility of the cystic fibrosis-host to *Pseudomonas aeruginosa*. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 300, n. 8, p. 578-583, 2010.

GREEN, L. C.; WAGNER, D. A.; GLOGOWSKI, J.; SKIPPER, P. L.; WISHNOK, J. S.; TANNENBAUM, S. R. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. **Analytical Biochemistry**, v. 126, n. 1, p. 131-138, 1982.

GRIMBLE, R. F. Nutritional modulation of cytokine biology. **Nutrition**, v. 14, n. 7-8, p. 634-640, 1998.

GROENEWEG, M.; TAN, S.; BOOT, A. M.; JONGSTE, J. C.; BOUQUET, J.; SINAASAPPEL, M. Assessment of nutritional status in children with cystic fibrosis: conventional anthropometry and bioelectrical impedance analysis. A cross-sectional study in Dutch patients. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 1, n. 4, p. 276-280, 2002.

GROSSMAN, S.; GROSSMAN, L. C. Pathophysiology of cystic fibrosis: implications for critical care nurses. **Critical Care Nurse**, v. 25, n. 4, p. 46-51, 2005.

HAMOSH, A.; FITZSIMMONS, S. C.; MACEK, M.; KNOWLES, M. R.; ROSENSTEIN, B. J.; CUTTING, G. R. Comparison of the clinical manifestations of cystic fibrosis in black and white patients. **The**

**Journal of Pediatrics**, v. 132, n. 2, p. 255-259, 1998.

HANSEN, C. R.; PRESSLER, T.; NIELSEN, K. G.; JENSEN, P. Ø.; BJARNSHOLT, T.; HØIBY, N. Inflammation in *Achromobacter xylosoxidans* infected cystic fibrosis patients. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 9, n. 1, p. 51-58, 2010.

HARTL, D.; GRIESE, M.; KAPPLER, M.; ZISSEL, G.; REINHARDT, D.; REBHAN, C.; SCHENDEL, D. J.; KRAUSS-ETSCHMANN, S. Pulmonary TH2 response in *Pseudomonas aeruginosa* infected patients with cystic fibrosis. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 117, n. 1, p. 204-211, 2006.

HARWOOD, D. T.; KETTLE, A. J.; BRENNAN, S.; WINTERBOURN, C. C. Simultaneous determination of reduced glutathione, glutathione disulphide and glutathione sulphonamide in cells and physiological fluids by isotope dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 877, n. 28, p. 3393-3399, 2009.

HEIJERMAN, H. Infection and inflammation in cystic fibrosis: a short review. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 4, p. 3-5, 2005. Suplemento 2.

HERALD, M. C. General model of inflammation. **Bulletin of Mathematical Biology**, v. 72, n. 4, p. 765-779, 2010.

HIRSH, A. J.; STONEBRAKER, J. R.; van HEUSDEN, C. A.; LAZAROWSKI, E. R.; BOUCHER, R. C.; PICHER, M. Adenosine deaminase 1 and concentrative nucleoside transporters 2 and 3 regulate adenosine on the apical surface of human airway epithelia: implications for inflammatory lung diseases. **Biochemistry**, v. 46, n. 36, p. 10373-10383, 2007.

HUNTER, M. J.; TREHARNE, K. J.; WINTER, A. K.; CASSIDY, D. M.; LAND, S.; MEHTA, A. Expression of Wild-Type CFTR suppresses NF- $\kappa$ B-driven inflammatory signalling. **PLoS ONE**; v. 5, n. 7, p. 1-9, 2010.

IMUNDO, L.; BARASCH, J.; PRINCE, A.; AL-AWQATI, Q. Cystic fibrosis epithelial cells have a receptor for pathogenic bacteria on their

apical surface. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 92, n. 7, p. 3019-3023, 1995.

IONESCU, A. A.; NIXON, L. S.; EVANS, W. D.; STONE, M. D.; LEWIS-JENKINS, V.; CHATHAM, K.; SHALE, D. J. Bone density, body composition, and inflammatory status in cystic fibrosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 162, n. 3, p. 789-794, 2000.

JACQUOT, J.; TABARY, O.; LE ROUZIC, P.; CLEMENT, A. Airway epithelial cell inflammatory signalling in cystic fibrosis. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 40, n. 9, p. 1703-1715, 2008.

JEAN-BAPTISTE, E. Cellular mechanisms in sepsis. **Journal of Intensive Care Medicine**, v. 22, n. 2, p. 63-72, 2007.

JONES, K. L.; BRYAN, T. W.; JINKINS, P. A.; SIMPSON, K. L.; GRISHAM, M. B.; OWENS, M. W.; MILLIGAN, S. A.; MARKEWITZ, B. A.; ROBBINS, R. A. Superoxide release from neutrophils causes a reduction in nitric oxide gas. **The American Journal Physiology**, v. 275, n. 6, p. 1120-1126, 1998.

JONES, K. L.; HEGAB, A. H.; HILLMAN, B. C.; SIMPSON, K. L.; JINKINS, P. A.; GRISHAM, M. B.; OWENS, M. W.; SATO, E.; ROBBINS, R. A. Elevation of nitrotyrosine and nitrate concentrations in cystic fibrosis sputum. **Pediatric Pulmonology**, v. 30, n. 2, p. 79-85, 2000.

KAISEMANN, M. C.; KRITSKI, A. L.; PEREIRA, M. F. C.; TRAJMAN, A. Dosagem da atividade da adenosina deaminase no líquido pleural para o diagnóstico da tuberculose pleural. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 30, n. 6, p. 549-556, 2004.

KEEN, C.; GUSTAFSSON, P.; LINDBLAD, A.; WENNERGREN, G.; OLIN, A. C. Low levels of exhaled nitric oxide are associated with impaired lung function in cystic fibrosis. **Pediatric Pulmonology**, v. 45, n. 3, p. 241-248, 2010.

KEREM, B.; ROMMENS, J. M.; BUCHANAN, J. A.; MARKIEWICZ, D.; COX, T. K.; CHAKRAVARTI, A.; BUCHWALD, M.; TSUI, L.C.

Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. **Science**, v. 245, n. 4922, p. 1073-1080, 1989.

KEREM, E.; CONWAY, S.; ELBORN, S.; HEIJERMAN, H. Standards of care for patients with cystic fibrosis: a European consensus. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 4, n. 1, p. 7-26, 2005.

KEREM, E.; REISMAN, J.; COREY, M.; CANNY, G. J.; LEVISON, H. Prediction of mortality in patients with cystic fibrosis. **The New England Journal of Medicine**, v. 326, n. 18, p. 1187-1191, 1992.

KETTLE, A. J.; CHAN, T.; OSBERG, I.; SENTHILMOHAN, R.; CHAPMAN, A. L. P.; MOCATTA, T. J.; WAGENER, J. S. Myeloperoxidase and protein oxidation in the airways of young children with cystic fibrosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 170, n. 12, p. 1317-1323, 2004.

KEUSCH, G. T. The history of nutrition: malnutrition, infection and immunity. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 1, p. 336-340, 2003. Suplemento.

KHAN, T. Z.; WAGENER, J. S.; BOST, T.; MARTINEZ, J.; ACCURSO, F. J.; RICHES, D. W. Early pulmonary inflammation in infants with cystic fibrosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 151, n. 4, p. 1075-1082, 1995.

KIENINGER, E.; REGAMEY, N. Targeting inflammation in cystic fibrosis. **Respiration**, v. 79, n. 3, p. 189-190, 2010.

KIM, P. K.; DEUTSCHMAN, C. S. Inflammatory responses and mediators. **Critical Care of the Trauma Patient**, v. 80, n. 3, p. 885-894, 2000.

KLEBANOFF, S. J. Myeloperoxidase: friend and foe. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 77, n. 5, p. 598-625, 2005.

KOLLER, D. Y.; GOTZ, M.; EICHLER, I.; URBANEK, R. Eosinophilic activation in cystic fibrosis. **Thorax**, v. 49, n. 5, p. 496-499, 1994.

KOLLER, D. Y.; GOTZ, M.; WOJNAROWSKI, C.; EICHLER, I.

Relationship between disease severity and inflammatory markers in cystic fibrosis. **Archives of Disease in Childhood**, v. 75, n. 6, p. 498-501, 1996.

KONSTAN, M. W.; BUTLER, S. M.; WOHL, M. E. B.; STODDARD, M.; MATOUSEK, R.; WAGENER, J. S.; JOHNSON, C. A.; MORGAN, W. J. Growth and nutritional indexes in early life predict pulmonary function in cystic fibrosis. **The Journal of Pediatrics**, v. 142, n. 6, p. 624-630, 2003.

KONSTAN, M. W.; MORGAN, W. M.; BUTLER, S.; PASTA, D. J.; CRAIB, M. L.; SILVA, S. J.; STOKES, D.; WOHL, M. E. B.; WAGENER, J. S.; REGELMANN, W. E.; JOHNSON, C. A. Risk factors for rate of decline in forced expiratory volume in one second in children and adolescents with cystic fibrosis. **The Journal of Pediatrics**, v. 151, n. 2, p. 134-139, 2007.

KREINDLER, J. L. Cystic fibrosis: exploiting its genetic basis in the hunt for new therapies. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 125, n. 2, p. 219-229, 2010.

KUCZMARSKI, R. J.; OGDEN, C. L.; GUO, S. S.; GRUMMER-STRAWN, L. M.; FLEGAL, K. M.; SHUMEI, S. G.; WEI, R.; CURTIN, L. R.; ROCHE, A. F.; JOHNSON, C. **CDC growth charts: United States**. Hyattsville MD: US Department of Health and Human Services, 2000. NCHS Advance Data Report n. 314. Disponível em: <http://www.cdc.gov/nchs/data/ad/ad314.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2012.

LAI, H. C. J.; COREY, M.; FITZSIMMONS, S.; KOSOROK, M. R.; FARRELL, P. M. Comparison of growth status of patients with cystic fibrosis between the United States and Canada. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 3, p. 531-538, 1999.

LANIADO-LABORÍN, R. Adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusion: is it really an ideal test? A word of caution. **Chest**, v. 127, n. 2, p. 417-418, 2005.

LI, Y.; WANG, W.; PARKER, W.; CLANCY, J. P. Adenosine regulation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator through prostenoids in airway epithelia. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 34, n. 5, p. 600-608, 2006.

LINNANE, S. J.; KEATINGS, V. M.; COSTELLO, C. M.; MOYNIHAN, J. B.; O'CONNOR, C. M.; FITZGERALD, M. X.; MCLOUGHLIN, P. Total sputum nitrate plus nitrite is raised during acute pulmonary infection in cystic fibrosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 158, n. 1, p. 207-212, 1998.

LOEVE, M.; GERBRANDS, K.; HOP, W. C.; ROSENFELD, M.; HARTMANN, I. C.; TIDDENS, H. A. Bronchiectasis and pulmonary exacerbations in children and young adults with cystic fibrosis. **Chest**, v. 140, n. 1, p. 178-185, 2011.

LUCIDI, V.; CIABATTONI, G.; BELLA, S.; BARNES, P. J.; MONTUSCHI, P. Exhaled 8-isoprostane and prostaglandin E (2) in patients with stable and unstable cystic fibrosis. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 45, n. 6, p. 913-919, 2008.

LUCIDI, V.; ALGHISI, F.; RAIA, V.; RUSSO, B.; VALMARANA, L.; VALMARANA, R.; CORUZZO, A.; BESCHI, S.; DESTER, S.; RINALDI, D.; MAGLIERI, M.; GUIDOTTI, M. L.; RAVAIOLI, E.; PESOLA, M.; ALESSANDRI, A.; PADOAN, R.; GRYNZICH, L.; RATCLIF, L.; REPETTO, T.; AMBRONI, M.; PROVENZANO, E.; TOZZI, A.; COLOMBO, C. Growth assessment of paediatric patients with CF comparing different auxologic indicators: a multicentre Italian study. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 49, n. 3, p. 335-342, 2009.

LUNDBERG, J. N.; NORDVALL, S. L.; WEITZBERG, E.; KOLLBERG, H.; ALVING, K. Exhaled nitric oxide in paediatric asthma and cystic fibrosis. **Archives of Disease in Childhood**, v. 75, n. 4, p. 323-326, 1996.

MACHADO, P. R. L.; PAULO, R. L.; ARAÚJO, M. I. A. S.; CARVALHO, L.; CARVALHO, E. M. Mecanismos de resposta imune às infecções. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 79, n. 6, p. 647-664, 2004.

MACHEN, T. E. Innate immune response in CF airway epithelia: hyperinflammatory? **American Journal of Physiology. Cell Physiology**, v. 291, n. 2, p. 218-230, 2006.

MAHADEVA, R.; WEBB, K.; WESTERBEEK, R. C.; CARROLL, N. R.; DODD, M. E.; BILTON, D.; LOMAS, D. A. Clinical outcome in relation to care in centres specialising in cystic fibrosis: cross sectional study. **British Medical Journal**, v. 316, n. 7147, p. 1771-1775, 1998.

MAITRA, R.; PORTER, M. A.; HUANG, S.; GILMOUR, B. P. Inhibition of NF $\kappa$ B by the natural product Withaferin A in cellular models of Cystic Fibrosis inflammation. **Journal of Inflammation**, v. 6, n. 15, p. 1-5, 2009.

MALLE, E.; BUCH, T.; GRONE, H. J. Myeloperoxidase in kidney disease. **Kidney International**, v. 64, n. 6, p. 1956-1967, 2003.

MARTIN, S. L.; MOFFITT, K. L.; MCDOWELL, A.; GREENAN, C.; BRIGHT-THOMAS, R. J.; JONES, A. M.; WEBB, A. K.; ELBORN, J. S. Association of airway cathepsin B and S with inflammation in cystic fibrosis. **Pediatric Pulmonology**, v. 45, n. 9, p. 860-868, 2010.

MATEL, J. L.; MILLA, C. E. Nutrition in cystic fibrosis. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 30, n. 5, p. 579-586, 2009.

MATTOSCIO, D.; EVANGELISTA, V.; CRISTOFARO, R.; RECCHIUTI, A.; PANDOLFI, A.; SILVESTRE, S. D.; MANARINI, S.; MARTELLI, N.; ROCCA, B.; PETRUCCI, G.; ANGELINI, D. F.; BATTISTINI, L.; ROBUFFO, I.; PENSABENE, T.; PIERONI, L.; FURNARI, M. L.; PARDO, F.; QUATTRUCCI, S.; LANCELLOTTI, S.; DAVÌ, G.; ROMANO, M. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) expression in human platelets: impact on mediators and mechanisms of the inflammatory response. **The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 24, n. 10, p. 3970-3980, 2010.

MAYER-HAMBLETT, N.; AITKEN, M. L.; ACCURSO, F. J.; KRONMAL, R. A.; KONSTAN, M. W.; BURNS, J. L.; SAGEL, S. D.; RAMSEY, B. W. Association between Pulmonary Function and Sputum Biomarkers in Cystic Fibrosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care**, v. 175, n. 8, p. 822-828, 2007

MEDZHITOV, R. Inflammation 2010: new adventures of an old flame. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 771-776, 2010.

MONCADA, S.; HIGGS, E. A. Nitric oxide and the vascular endothelium. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 176, n. 1, p. 213-254, 2006.

MORISSONT, P.; NEVES, D. D. Avaliação da adenosina desaminase no diagnóstico da tuberculose pleural: uma metanálise brasileira. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 34, n. 4, p. 217-224, 2008.

MOSKOWITZ, S. M.; CHMIEL, J. F.; STERNEN, D. L.; CHENG, E.; GIBSON, R. L.; MARSHALL, S. G.; CUTTING, G. R. Clinical practice and genetic counseling for cystic fibrosis and CFTR-related disorders. **Genetics in Medicine**, v. 10, n. 12, p. 851-868, 2008.

MUHLEBACH, M. S.; STEWART, P. W.; LEIGH, M. W.; NOAH, T. L. Quantitation of inflammatory responses to bacteria in young cystic fibrosis and control patients. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 160, n. 1, p. 186-191, 1999.

MURPHY, B. S.; BUSH, H. M.; SUNDARESHAN, V.; DAVIS, C.; HAGADONE, J.; CORY, T. J.; HOY, H.; HAYES JÚNIOR, D.; ANSTEAD, M. I.; FEOLA, D. J. Characterization of macrophage activation states in patients with cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 9, n. 5, p. 314-322, 2010.

MUST, A.; DALLAL, G. E.; DIETZ, W. H. Reference data for obesity: 85th and 95th percentiles of body mass index (wt/ht<sup>2</sup>) and triceps skinfold thickness. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, n. 4, p. 839-846, 1991.

NCHS - NATIONAL CENTER HEALTH STATISTICS. **Growth curves for children birth to 18 years: United States Department of Health Education and Welfare, Vital and Health Statistic**. Series 11. n. 165, 1977.

NELSON, M.R.; ADAMSKI, C. R.; TLUCZEK, A. Clinical practices for intermediate sweat tests following abnormal cystic fibrosis newborn screens. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 10, n. 6, p. 460-465, 2011.

NIXON, G. M.; ARMSTRONG, D. S.; CARZINO, R.; CARLIN, J. B.; OLINSKY, A.; ROBERTSON, C. F.; GRIMWOOD, K. Clinical

outcome after early *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. **The Journal of Pediatrics**, v. 138, n. 5, p. 699-704, 2001.

NORMAN, D.; ELBORN, J. S.; CORDON, S. M.; RAYNER, R. J.; WISEMAN, M. S.; HILLER, E. J.; SHALE, D. J. Plasma tumor necrosis factor alpha in cystic fibrosis. **Thorax**, v. 46, n. 2, p. 91-95, 1991.

NOVAKOVA, M.; DOLEZAL, D. Expression of drosophila adenosine deaminase in immune cells during inflammatory response. **PloS One**, v. 6, n. 3, p. 1-9, 2011.

OOI, C. Y.; DORFMAN, R. CIPOLLI, M.; GONSKA, T.; CASTELLANI, C.; KEENAN, K.; FREEDMAN, S.; ZIELENSKI, J.; BERTHIAUME, Y.; COREY, M.; SCHIBLI, S.; TULLIS, E.; DURIE, P. Type of CFTR mutation determines risk of pancreatitis in patients with cystic fibrosis. **Gastroenterology**, v. 140, n. 1, p. 153-161, 2011.

O'SULLIVAN, B. P; FREEDMAN, S. D. Cystic fibrosis. **The Lancet**, v. 373, n. 9678, p. 1891-1904, 2009.

PELLEGRINO, R.; VIEGI, G.; BRUSASCO, V.; CRAPO, R. O.; BURGOS, F.; CASABURI, R.; COATES, A.; van der GRINTEN, C. P. M.; GUSTAFSSON, P.; HANKINSON, J.; JENSEN, R.; JOHNSON, D. C.; MACINTYRE, N.; MCKAY, R.; MILLER, M. R.; NAVAJAS, D.; PEDERSEN, O. F.; WANGER, J. Interpretative strategies for lung function tests. **The European Respiratory Journal**, v. 26, n. 5, p. 948-968, 2005.

PENCHARZ, P. B.; DURIE, P. R. Pathogenesis of malnutrition in cystic fibrosis, and its treatment. **Clinical Nutrition**, v. 19, n. 6, p. 387-394, 2000.

PERRIS, P.; FELIU, M. S.; BARBEITO, S.; STRASNOY, I.; FERRARO, M.; SLOBODIANIK, N. Serum C3c and C4c concentrations and adenosine deaminase activity of children with cystic fibrosis: preliminary study. In: International Immunonutrition Workshop, 1., 2007, Valencia. **Proceedings of the Nutrition Society**. Valencia; 2008. v. 67, n. OCE 1, p. E59.

PERRIS, P.; FELIU, M. S.; SLOBODIANIK, N. Plasma adenosine

deaminase activity in a group of children suffering cystic fibrosis: preliminary study. **The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 23, p. 909-910, 2009.

PETERSON, M. L.; JACOBS, D. R.; MILLA, C. E. Longitudinal changes in growth parameters are correlated with changes in pulmonary function in children with cystic fibrosis. **Pediatrics**, v. 112, n. 3, p. 588-592, 2003.

PILLARISSETTI, N.; WILLIAMSON, E.; LINNANE, B.; SKORIC, B.; ROBERTSON, C. F.; ROBINSON, P.; MASSIE, J.; HALL, G. L.; SLY, P.; STICK, S.; RANGANATHAN, S. Infection, inflammation, and lung function decline in infants with cystic fibrosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 184, n. 1, p. 75-81, 2011.

PINTO, I. C. S.; SILVA, C. P.; BRITTO, M. C. A. Perfil nutricional, clínico e socioeconômico de pacientes com fibrose cística atendidos em um centro de referência no nordeste do Brasil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 35, n. 2, p. 137-143, 2009.

PISI, G.; CHETTA, A. Airway clearance therapy in cystic fibrosis patients. **Acta BioMedica**, v. 80, n. 2, p. 102-106, 2009.

PLANELLS-CASES, R.; JENTSCH, T. J. Chloride channelopathies. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1792, n. 3, p. 173-189, 2009.

RANGANATHAN, S. C.; PARSONS, F.; GANGELL, C.; BRENNAN, S.; STICK, S. M.; SLY, P. D. Evolution of pulmonary inflammation and nutritional status in infants and young children with cystic fibrosis. **Thorax**, v. 66, n. 5, p. 408-413, 2011.

RAO, T. S.; CURRIE, J. L.; SHAFFER, A. L.; ISAKSON, P. C. Comparative evaluation of arachidonic acid (AA)- and tetradecanoylphorbol acetate (TPA)-induced dermal inflammation. **Inflammation**, v. 17, n. 6, p. 723-741, 1993.

RASKIN, S.; PEREIRA-FERRARI, L.; REIS, F. C.; ABREU, F.; MAROSTICA, P.; ROZOV, T.; CARDIERI, J.; LUDWIG, N.; VALENTIN, L.; ROSARIO FILHO, N. A.; CAMARGO NETO, E.; LEWIS, E.; GIUGLIANI, R.; DINIZ, E. M. A.; CULPI, L.; PHILLIP III, J. A.; CHAKRABORTY, R. Incidence of cystic fibrosis in five

different states of Brazil as determined by screening of p.F508del, mutation at the CFTR gene in newborns and patients. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 7, n. 1, p. 15-22, 2008.

REIS, F. J. C.; CAMARGOS, P. A. M.; ROCHA, S. F. Survival analysis for cystic fibrosis in Minas Gerais State, Brazil. **Journal of Tropical Pediatrics**, v. 44, n. 6, p. 329-331, 1998.

REIS, F. J. C.; DAMACENO, N. Fibrose cística. **Jornal de Pediatria**, v. 74, p. 76-94, 1998. Suplemento 1.

RIBEIRO, J. D.; RIBEIRO, M. A. G. O.; RIBEIRO, A. F. Controvérsias na fibrose cística: do pediatra ao especialista. **Jornal de Pediatria**, v. 78, p. 171-186, 2002. Suplemento 2.

ROBROEKS, C. M. H. H. T.; ROSIAS, P. P. R.; van VLIET, D.; JÖBSIS, Q.; YNTEMA, J. B. L.; BRACKEL, H. J. L.; DAMOISEAUX, J. G. M.C.; den HARTOG, G. M.; WODZIG, W. K. W. H.; DOMPELING, E. Biomarkers in exhaled breath condensate indicate presence and severity of cystic fibrosis in children. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 19, n. 7, p. 652-659, 2008.

ROBROEKS, C. M. H. H. T.; ROOZEBOOM, M. H.; de JONG, P. A.; TIDDENS, H. A. W. M.; JÖBSIS, Q.; HENDRIKS, H. J.; YNTEMA, J. B. L.; BRACKEL, H. J. L.; van GENT, R.; ROBBEN, S.; DOMPELING, E. Structural lung changes, lung function, and noninvasive inflammatory markers in cystic fibrosis. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 21, n. 3, p. 493-500, 2010.

ROLIM, A. L.; LINDSEY, S. C.; KUNII, I. S.; FUJIKAWA, A. M.; SOARES, F. A.; CHIAMOLERA, M. I.; MACIEL, R. M. B.; SILVA, M. R. D. Ion channelopathies in endocrinology: recent genetic findings and pathophysiological insights. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 54, n. 8, p. 673-681, 2010.

ROMAS, E.; MARTIN, T. J. Cytokines in the pathogenesis of osteoporosis. **Osteoporosis International**, v. 7, p. 47-53, 1997. Suplemento 3.

ROSA, F. R.; DIAS, F. G.; NOBRE, L. N.; MORAIS, H. A. Fibrose cística: uma abordagem clínica e nutricional. **Revista de Nutrição**, v.

21, n. 6, p. 725-737, 2008.

ROSENFELD, M.; RAMSEY, B. W.; GIBSON, R. L. Pseudomonas acquisition in young patients with cystic fibrosis: pathophysiology, diagnosis, and management. **Current Opinion Pulmonary Medicine**, v. 9, n. 6, p. 492-497, 2003.

ROSENTHAL, M. Annual assessment spirometry, plethysmography, and gas transfer in cystic fibrosis: do they predict death or transplantation. **Pediatric Pulmonology**, v. 43, n. 10, p. 945-952, 2008.

ROVEDDER, P. M. E.; ZIEGLER, B.; PASIN, L. R.; PINOTTI, A. F. F.; MENNA-BARRETO, S. S.; DALCIN, P. T. R. Infecção bacteriana crônica e indicadores ecocardiográficos de hipertensão pulmonar em pacientes com fibrose cística. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 34, n. 7, p. 461-467, 2008.

SAGEL, S. D.; ACCURSO, F. J. Monitoring inflammation in CF. Cytokines. **Clinical Reviews in Allergy and Immunology**, v. 23, n. 1, p. 41-57, 2002.

SAGEL, S. D.; CHMIEL, J. F.; KONSTAN, M. W. Sputum biomarkers of inflammation in cystic fibrosis lung disease. **Proceedings of the American Thoracic Society**, v. 4, n. 4, p. 406-417, 2007.

SAGEL, S. D.; RONALD, L.; GIBSON, M. D.; EMERSON, J.; MCNAMARA, S.; BURNS, J.; WAGENER, J. S.; RAMSEY, B. W. Impact of Pseudomonas and Staphylococcus infection on inflammation and clinical status in young children with cystic fibrosis. **The Journal of Pediatrics**, v. 154, n. 2, p. 183-188, 2009.

SALVATORE, D.; BUZZETTI, R.; BALDO, E.; FORNERIS, M. P.; LUCIDI, V.; MANUNZA, D.; MARINELLI, I.; MESSORE, B.; NERI, A. S.; RAI, V.; FURNARI, M. L.; MASTELLA, G. An overview of international literature from cystic fibrosis registries 2. Neonatal screening and nutrition/growth. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 9, n. 2, p. 75-83, 2010.

SALVATORE, D.; BUZZETTI, R.; BALDO, E.; FORNERIS, M. P.; LUCIDI, V.; MANUNZA, D.; MARINELLI, I.; MESSORE, B.; NERI, A. S.; RAI, V.; FURNARI, M. L.; MASTELLA, G. An overview of

international literature from cystic fibrosis registries 3. Disease incidence, genotype/phenotype correlation, microbiology, pregnancy, clinical complications, lung transplantation, and miscellanea. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 10, n. 2, p. 71-85, 2011.

SCHMITT-GROHÉ, S.; HIPPE, V.; IGEL, M.; von BERGMANN, K.; POSSELT, H. G.; KRAHL, A.; SMACZNY, C.; WAGNER, T. O. F.; NIKOLAZIK, W.; SCHUBERT, R.; LENTZE, M. J.; ZIELEN, S. Lipopolysaccharide binding protein, cytokine production in whole blood, and lipoproteins in cystic fibrosis. **Pediatric Research**, v. 58, n. 5, p. 903-907, 2005.

SERMET-GAUDELUS, I.; SOUBERBIELLE, J. C.; RUIZ, J. C.; VRIELYNCK, S.; HEUILLON, B.; AZHAR, I.; CAZENAVE, A.; LAWSON-BODY, E.; CHEDEVERGNE, F.; LENOIR, G. Low Bone Mineral Density in Young Children with Cystic Fibrosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 175, n. 9, p. 951-957, 2007.

SHERWOOD, E. R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 18, n. 3, p. 385-405, 2004.

SHWACHMAN, H.; KULCZYCKI, L. L. Long-term study of one hundred five patients with cystic fibrosis: studies made over a five- to fourteen-year period. **American Medical Association Journal of Diseases of Children**, v. 96, n. 1, p. 6-15, 1958.

SIKKENS, E. C. M.; CAHEN, D. L.; KUIPERS, E. J.; BRUNO, M. J. Pancreatic enzyme replacement therapy in chronic pancreatitis. **Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology**, v. 24, n. 3, p. 337-347, 2010.

SINAASAPPEL, M.; STERN, M.; LITTLEWOOD, J.; WOLFE, S.; STEINKAMP, G.; HEIJERMAN, H. G. M.; ROBBERECHT, E.; DÖRING, G. Nutrition in patients with cystic fibrosis: a European Consensus. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 1, n. 2, p. 51-75, 2002.

SLOBODIANIK, N. H.; FELIU, M. S.; PERRIS, P.; BARBEITO, S.; STRASNOY, I.; FRANCHELLO, A.; FERRARO, M. Inflammatory biomarker profile in children with cystic fibrosis: preliminary study.

**The Proceedings of the Nutrition Society**, v. 69, n. 3, p. 354-356, 2010.

SMITH, J. J.; TRAVIS, S. M.; GREENBERG, E. P.; WELSH, M. J. Cystic fibrosis airway epithelia fail to kill bacteria because of abnormal airway surface fluid. **Cell**, v. 85, n. 2, p. 229-236, 1996.

SMYTH, R. L.; CROFT, N. M.; O'HEA, U.; MARSHALL, T. G.; FERGUSON, A. Intestinal inflammation in cystic fibrosis. **Archives of Diseases in Childhood**, v. 82, n. 5, p. 394-399, 2000.

SOUTHERN, K. W. Cystic fibrosis and formes frustes of CFTR-related disease. **Respiration**, v. 74, n. 3, p. 241-251, 2007.

STALLINGS, V. A.; STARK, L. J.; ROBINSON, K. A.; FERANCHAK, A. P.; QUINTON, H. 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.

STAPLETON, D.; KERR, D.; GURRIN, L.; SHERRIFF, J.; SLY, P. Height and weight fail to detect early signs of malnutrition in children with cystic fibrosis. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 33, n. 3, p. 319-325, 2001.

STAROSTA, V.; RATJEN, F.; RIETSCHER, E.; PAUL, K.; GRIESE, M. Anti-inflammatory cytokines in cystic fibrosis lung disease. **The European Respiratory Journal**, v. 28, n. 3, p. 581-587, 2006.

STECENKO, A. A.; KING, G.; TORII, K.; BREYER, R. M.; DWORSKI, R.; BLACKWELL, T. S.; CHRISTMAN, J. W.; BRIGHAM, K. L. Dysregulated cytokine production in human cystic fibrosis bronchial epithelial cells. **Inflammation**, v. 25, n. 3, p. 145-155, 2001.

STEINKAMP, G.; WIEDEMANN, B.; RIETSCHER, E.; KRAHL, A.; GIELEN, J.; BÄRMEIER, H.; RATJEN, F. Prospective evaluation of emerging bacteria in cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 4, n. 1, p. 41-48, 2005.

STEINKAMP G, WIEDEMANN B. Relationship between nutritional status and lung function in cystic fibrosis: cross sectional and longitudinal analyses from the German CF quality assurance (CFQA) project. **Thorax**, v. 57, n. 7, p. 596-601, 2002.

STERPONE, S.; CORNETTA, T.; ANGIONI, A.; FISCARELLI, E.; LUCIDI, V.; TESTA, A.; COZZI, R. DNA damage and related modifier genes in Italian Cystic fibrosis patients. **Biological Research**, v. 42, n. 4, p. 477-486, 2009.

STOLLAR, F.; ADDE, F. V.; CUNHA, M. T.; LEONE, C.; RODRIGUES, J. C. Shwachman-Kulczycki score still useful to monitor cystic fibrosis severity. **Clinical Science**, v. 66, n. 6, p. 979-983, 2011.

THOMSON, E.; BRENNAN, S.; SENTHILMOHAN, R.; GANGELL, C. L.; CHAPMAN, A. L.; SLY, P. D.; KETTLE, A. J. Identifying peroxidases and their oxidants in the early pathology of cystic fibrosis. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 49, n. 9, p. 1354-1360, 2010.

THOMSON, M. A.; QUIRK, P.; SWANSON, C. E.; THOMAS, B. J.; HOLT, T. L.; FRANCIS, P. J.; SHEPHERD, R. W. Nutrition growth retardation is associated with defective lung growth in cystic fibrosis: a preventable determinant of progressive pulmonary dysfunction. **Nutrition**, v. 11, n. 4, p. 350-354, 1995.

TIROUVANZIAM, R.; de BENTZMANN, S.; HUBEAU, C.; HINNRSKY, J.; JACQUOT, J.; PÉAULT, B.; PUCHELLE, E. Inflammation and infection in naive human cystic fibrosis airway grafts. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 23, n. 2, p. 121-127, 2000.

TOSI, M. F. Innate immune responses to infection. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 116, n. 2, p. 241-249, 2005.

TRACEY, K. J. The inflammatory reflex. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 853-859, 2002.

van den NEUCKER, A. M.; KERKVLIT, E. M.; THEUNISSEN, P. M. V. M.; FORGET, P. P. Acid steatocrit: a reliable screening tool for steatorrhea. **Acta Paediatrica**, v. 90, n. 8, p. 873-875, 2001.

van der VEEN, B. S.; WINTHER, M. P. J.; HEERINGA, P. Myeloperoxidase: molecular mechanisms of action and their relevance to human health and disease. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 11, n. 11, p. 2899-2937, 2009.

van der VLIET, A.; CROSS, C. E. Phagocytosis oxidants and nitric oxide in cystic fibrosis: new therapeutic targets? **Current Opinion in Pulmonary Medicine**, v. 6, n. 6, p. 533-539, 2000.

VIDIGAL, P. V. T.; REIS, F. J. C.; BOSON, W. L. M.; DE MARCO, L. A.; BRASILEIRO-FILHO, G. p.F508del in a heterogeneous cystic fibrosis population from Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 41, n. 8, p. 643-647, 2008.

VIJ, N.; MAZUR, S.; ZEITLIN, P. L. CFTR is a negative regulator of NF- $\kappa$ B mediated innate immune response. **PLoS ONE**, v. 4, n. 2, p. 1-10, 2009.

WALKOWIAK, J.; LISOWSKA, A.; BLASZCZYNSKI, M. The changing face of the exocrine pancreas in cystic fibrosis: pancreatic sufficiency, pancreatitis and genotype. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, v. 20, n. 3, p. 157-160, 2008.

WALLACH, J. **Interpretação de exames laboratoriais**. 7. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2003. 1068 p.

WARZOCHA, K.; BIENVENU, J.; COIFFIER, B.; SALLES, G. Mechanisms of action of the tumor necrosis factor and lymphotoxin ligand-receptor system. **European Cytokine Network**, v. 6, n. 2, p. 83-96, 1995.

WATKIN, S. L.; ELBORN, J. S.; CORDON, S. M.; HILLER, E. J.; SHALE, D. J. C-reactive protein is not a useful indicator of intermittent bacterial colonization in early lung disease of patients with cystic fibrosis. **Pediatric Pulmonology**, v. 17, n. 1, p. 6-10, 1994.

WERLIN, S. L.; BENURI-SILBIGER, I.; KEREM, E.; ADLER, S. N.; GOLDIN, E.; ZIMMERMAN, J.; MALKA, N.; COHEN, L.; ARMONI, S.; YATZKAN-ISRAELIT, Y.; BERGWERK, A.; AVIRAM, M.; BENTUR, L.; MUSSAFFI, H.; BJARNASSON, I.; WILSCHANSKI, M. Evidence of intestinal inflammation in patients with cystic fibrosis.

**Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 51, n. 3, p. 304-308, 2010.

WESTSTRATE, J.; DEURENBERG, P. Body composition in children: proposal for a method to calculate body fat percentage from total body density or skinfold-thickness measurements. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 50, n. 5, p. 1104-1115, 1989.

WILSCHANSKI, M.; DURIE, P. R. Patterns of GI disease in adulthood associated with mutations in the CFTR gene. **Gut**, v. 56, n. 8, p. 1153-1163, 2007.

WINE, J. J. The genesis of cystic fibrosis lung disease. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 103, n. 3, p. 309-312, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Physical Status: The use and interpretation of anthropometry**. Geneva, 1995. (WHO - Technical Report Series, 854). 1995. 460 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The molecular genetic epidemiology of cystic fibrosis**. Genoa, 2002. (Report of a joint meeting of WHO/ECFTN/ICF(M)A/ECFS). 2004. 26 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age. Methods and development**. Geneva, 2006. (WHO - Multicentre Growth Reference Study Group). 2006. 336 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 85, n. 9, p. 660-667, 2007.

WORLD MEDICAL ASSOCIATION. **Declaration of Helsinki, Seoul, 59nd General Assembly-WMA**. 2008. Disponível em: <<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>>. Acesso em: 27 abr. 2012.

WORLITZSCH, D.; TARRAN, R.; ULRICH, M.; SCHWAB, U.; CEKICI, A.; MEYER, K. C.; BIRRER, P.; BELLON, G.; BERGER, J.; WEISS, T.; BOTZENHART, K.; YANKASKAS, J. R.; RANDELL, S.;

BOUCHER, R.; DÖRING, G. Effects of reduced mucus oxygen concentration in airway Pseudomonas infections of cystic fibrosis patients. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 109, n. 3, p. 317-325, 2002.

ZIEGLER, B.; ROVEDDER, P. M. E.; DALCIN, P. T. R.; MENNA-BARRETO, S. S. Padrões ventilatórios na espirometria em pacientes adolescentes e adultos com fibrose cística. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 35, n. 9, p. 854-859, 2009.

## **APÊNDICES**



## APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

#### **“Marcadores pró-inflamatórios, de estresse oxidativo e de disfagia em fibrocísticos”**

*Senhores Pais:*

*Por Favor, leiam atentamente as instruções abaixo antes de decidir com seu (sua) filho (a) se ele (a) deseja participar do estudo e se o Senhor (a) concorda com que ele (a) participe do presente estudo. Se possível, discuta esse assunto com seu (sua) filho (a) para que seja uma decisão em conjunto.*

Eu, \_\_\_\_\_ confirmo que Diane de Lima Oliveira, Gabriela Datsch Bennemann ou Letícia Cristina Radin Pereira discutiram comigo este estudo.

1. O presente estudo é parte do trabalho de dissertação de Mestradas pesquisadoras Diane, Gabriela e Letícia.
2. O objetivo deste estudo é avaliar a deglutição, a respiração, o estado nutricional, os níveis de estresse oxidativo e de marcadores inflamatórios dos pacientes com Fibrose Cística.
3. Minha participação e do meu filho colaborando neste trabalho é muito importante porque permitirá observar se existem ou não alterações na deglutição associadas ao comprometimento respiratório e quais os marcadores de inflamação e estresse oxidativo (processo que ocorre nas células onde ocorre o acúmulo de substâncias que aceleram o envelhecimento destas células, e o aparecimento de doenças) apresentam alterações significativas nos níveis séricos, encontrando-se relacionados à Fibrose Cística. A participação do meu filho na pesquisa implica em eu responder a algumas perguntas sobre a Fibrose Cística e o pesquisador irá examinar dados do prontuário, avaliar a deglutição com exame de imagem, avaliar estado nutricional, analisar exames de sangue e exame da função respiratória. Fui esclarecido de que os riscos e desconfortos relacionados à pesquisa são os seguintes:
  - a) será realizada coleta de sangue,
  - b) o exame de imagem será utilizado com RX e contraste. Esse contraste

será misturado ao alimento que será oferecido ao paciente, o qual deverá engolir.

4. Eu autorizo os pesquisadores desta pesquisa a utilizar fotos e imagens das avaliações, desde que em nenhum momento apareça a imagem de forma que a criança possa ser identificada. Fui esclarecido também de que estas imagens serão utilizadas somente para esta pesquisa e serão guardadas em local seguro, sob a responsabilidade do pesquisador, durante cinco anos e que, somente as pessoas envolvidas diretamente com a pesquisa terão acesso a elas.

5. O Hospital Infantil Joana de Gusmão também está interessado no presente estudo e já deu a permissão por escrito para que esta pesquisa seja realizada. Porém minha participação e de meu filho (a), ou não no estudo não implicará em nenhum benefício ou restrição de qualquer ordem para meu (sua) filho (a) ou para mim.

6. Eu também sou livre para não participar desta pesquisa se não quiser. Isto não implicará em quaisquer prejuízos pessoais ou no atendimento de meu filho (a). Além disto, estou ciente de que em qualquer momento, ou por qualquer motivo, eu ou minha família podemos desistir de participar da pesquisa.

7. Estou ciente de que o meu nome e o do meu filho não serão divulgados e que somente as pessoas diretamente relacionadas à pesquisa terão acesso aos dados e que todas as informações serão mantidas em segredo e somente serão utilizados para este estudo.

8. Se eu tiver alguma dúvida a respeito da pesquisa, eu posso entrar em contato com Diane pelo telefone (48) 88343012, Gabriela pelo telefone (48) 9113 0043 e Letícia pelo telefone (47) 9975 8192

9. Eu concordo em participar deste estudo.

Nome e assinatura de participante maior de 14 anos: \_\_\_\_\_

Nome e assinatura do responsável legal pela criança: \_\_\_\_\_

Entrevistador: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

## APÊNDICE B - Material suplementar do artigo original

**Tabela suplementar -** Descrição das características inflamatórias do grupo controle e grupos fibrose cística.

Variáveis	GC (n= 31)	GFC (n= 55)		GFC Bacteriologia		GFC Pseudomonas aeruginosa	
		Negativa (n=27)	Positiva (n=28)	Negativa (n=36)	Positiva (n=19)		
Mediana (Intervalo Interquartil 25° - 75° percentil)							
<b>Resposta inflamatória</b>							
<b>MPO</b> (mU/mL)	195,47 (177,95–199,96)	387,82 (312,06–462,92)	364,44 (317,29–426,25)	408,45 (300,75–487,54)	380,68 (317,30–448,25)	378,68 (263,86–480,73)	
<b>IL-1β</b> (pg/mL)	4,43 (2,39–4,73)	10,43 (7,53–12,55)	10,21 (7,69–11,10)	10,78 (7,19–14,56)	10,15 (8,17–11,83)	10,92 (6,85–14,84)	
<b>PCR</b> (mg/L)	0,28 (0,23–0,46)	0,65 (0,18–1,57)	0,43 (0,18–1,93)	0,69 (0,2–1,22)	0,56 (0,18–1,78)	0,65 (0,24–1,19)	
<b>NOx</b> (μmol/L)	35,15 (27,40–42,83)	36,45 (30,30–55,30)	34,30 (27,70–49,00)	38,50 (31,80–70,85)	34,30 (29,25–45,75)	55,20 (35,40–73,40)	
<b>Leucócitos</b> (cels./mm <sup>3</sup> x 10 <sup>3</sup> )	8,000 (6,400–9,500)	9,800 (7,300–12,400)	8,400 (6,700–12,900)	10,400 (8,450–12,300)	9,200 (6,850–12,400)	10,500 (8,100–13,600)	
<b>Neutrófilos</b> (cels./mm <sup>3</sup> x 10 <sup>3</sup> )	3,772 (2,987–5,115)	4,582 (3,480–6,384)	4,050 (3,480–5,418)	5,1915 (3,5755–8,364)	4,277 (3,452,50–5,397)	5,673 (3,672–8,768)	

GC: grupo controle; GFC: grupo fibrose cística; MPO: mieloperoxidase; IL-1β: interleucina 1-beta, PCR: proteína C-reativa; NOx: metabólitos de óxido nítrico. Os valores de significância das comparações entre o GC vs grupos FC estão representados pelos valores de “p” bruto da análise de regressão linear múltipla.



## APÊNDICE C - Nota de imprensa

### **Pesquisa mostra que indivíduos com fibrose cística independente da infecção acometida apresentam quadro inflamatório importante, além de diminuição da função pulmonar e nutricional**

Pesquisa realizada pela mestrandia Letícia Cristina Radin Pereira, sob orientação da Profa. Emilia Addison Machado Moreira, junto ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina, reforça o fato dos indivíduos com fibrose cística apresentarem quadro inflamatório importante, diminuição da função pulmonar e perda nutricional, independentemente do tipo de infecção acometida.

O trabalho avaliou a relação entre resposta inflamatória, estado nutricional e função pulmonar em 55 crianças e adolescentes com fibrose cística e comparou os resultados com 31 crianças saudáveis. A conclusão final indicou que os pacientes com fibrose cística apresentavam diminuição do índice de massa corporal e massa muscular, além de redução da função pulmonar. Foi observado também que, independente de estarem infectados pelas bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Burkholderia cepacia*, os pacientes apresentavam aumento nas concentrações de marcadores inflamatórios como *mieloperoxidase*, *interleucina-1beta* e *proteína C-reativa*, caracterizando um processo inflamatório sistêmico. A infecção pelas bactérias citadas anteriormente apresentou um efeito aditivo no quadro inflamatório aumentando as concentrações de outro marcador inflamatório denominado *óxido nítrico* e, além disto, aumentou o número das células como leucócitos e neutrófilos.

Em sua dissertação Letícia discute os mecanismos desta interação e justifica que a ocorrência da desnutrição está associada à função pulmonar reduzida e que ganhos no estado nutricional, contribuem para a melhoria da função pulmonar e redução do processo inflamatório.

A pesquisa confirma que a ativação de processos inflamatórios desencadeia perda nutricional e declínio da função pulmonar, representando as principais consequências da fibrose cística e destaca a importância de futuros estudos de intervenção nutricional com nutrientes imunomoduladores para avaliar seu efeito no estado nutricional, resposta inflamatória e prognóstico destes pacientes.

**Financiamento:** Este estudo recebeu suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (#474945/2008-1). Bolsa de produtividade, Programa Institucional de Iniciação Científica (PIBIC), Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Bolsas Demanda Social/Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

**Maiores informações:** **Leticia Cristina Radin Pereira** / [letinutry@yahoo.com.br](mailto:letinutry@yahoo.com.br) / (47) 9975-8192

## **ANEXOS**



# ANEXO A - Termo de concessão e aceitação de apoio financeiro a projeto



791093420148526

## TERMO DE CONCESSÃO E ACEITAÇÃO DE APOIO FINANCEIRO A PROJETO

### CONCEDENTE

Nome:  
CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO  
CNPQ/ME:  
33.654.831/0001.36

### BENEFICIÁRIO

Nome:  
Emília Addison Machado Moreira  
CPF/MF:  
983.128.808.44

### 1. FINALIDADE

Concessão de auxílio financeiro a projeto de natureza científica, tecnológica ou de inovação.

#### 1.1. TÍTULO DO PROJETO

Marcadores pró inflamatórios, de estresse oxidativo e de disfagia em Fibrocísticos

#### 1.2. IDENTIFICAÇÃO DO PROCESSO

Número do processo:  
474945/2008.1

Edital/Chamada:  
Edital MCT/CNPq 14/2008 Universal Faixa B De R\$ 20.001,00 a R\$ 50.000,00

### 2. VALOR GLOBAL DA CONCESSÃO

#### AUXÍLIO FINANCEIRO

Custeio: R\$ 37.176,00

Valor Global: R\$ 37.176,00

2.1. Os recursos serão liberados pelo CNPq em função de suas disponibilidades financeiras e orçamentárias.

2.2. As despesas decorrentes da execução do objeto do presente Termo, em exercício futuro, por parte do CNPq, correrão à conta de suas dotações orçamentárias do respectivo exercício, sendo objeto de apostila, a indicação dos créditos e empenhos para sua cobertura em exercício subsequente.

2.3. O pagamento das bolsas de longa duração será efetuado diretamente ao bolsista, mediante depósito em conta corrente aberta junto ao Banco do Brasil, conforme instruções do CNPq, ou na modalidade cartão, quando for o caso.

2.4. O pagamento de bolsas de curta duração será efetuado pelo BENEFICIÁRIO do auxílio, coordenador do projeto, que deverá prestar contas de acordo com as normas do CNPq e manter cópias dos recibos dos pagamentos efetuados, segundo modelo disponível na página do CNPq na Internet.

2.5. A vigência das bolsas não poderá ultrapassar a vigência do presente instrumento.

### 3. INSTITUIÇÃO DE VÍNCULO FUNCIONAL/EMPREGATÍCIO

Nome:  
Universidade Federal de Santa Catarina/UFSC SC  
CNPJ:  
83899526000182

### 4. INSTITUIÇÃO DE EXECUÇÃO DO PROJETO

**Nome:**  
Universidade Federal de Santa Catarina  
**CNPQ:**  
83899526000182

#### 5. DECLARAÇÃO:

Ao enviar este documento ao CNPq, o BENEFICIÁRIO DECLARA FORMALMENTE:

- a) conhecer o Protocolo de Cooperação Técnica firmado entre a instituição indicada como executora deste projeto e o CNPq e as *Condições Gerais* que regem o presente Termo;
- b) saber que os documentos referidos na alínea 'a' são parte integrante do presente Termo, e que foram publicados no Diário Oficial e reproduzidos na página do CNPq na Internet;
- c) subscrever e concordar integralmente com os referidos Termos;
- d) conhecer e cumprir as normas do CNPq, ora em validade, sobre a modalidade de auxílio que lhe é concedida e que também são consideradas parte integrante deste documento;
  - saber que a eventual mudança dessas normas não afeta, altera ou incide sobre o presente Termo, exceto quando proposta pelo CNPq e formalmente aceita pelo BENEFICIÁRIO.
- e) possuir anuência formal da INSTITUIÇÃO de execução do projeto, seja sob a forma de vínculo empregatício ou funcional ou, na ausência deste, sob a forma de declaração de autoridade institucional competente, segundo modelo disponível na página do CNPq na Internet, para a utilização de sua infra estrutura e facilidades pertinentes para a execução do projeto;
- f) dispor das autorizações legais cabíveis de instituições como Instituto Brasileiro de Meio Ambiente IBAMA, Fundação do Nacional do Índio FUNAI, Comitê de Ética na Pesquisa CEP, Comissão Nacional de Ética em Pesquisa CONEP, das Comissões de Ética em pesquisa com animais, Comissão Nacional de Energia Nuclear CNEN e outras, no caso em que a natureza do projeto as exigir;
- g) no caso de o projeto incluir a concessão de bolsas:
  - indicará bolsista com titulação e nível correspondentes ao da bolsa concedida, pelo tempo estipulado, por meio do formulário pertinente e que responderá integralmente pela adequação e correção desta indicação;
  - comunicará ao CNPq, por meio do formulário pertinente, a substituição do bolsista nos casos em que isso seja previsto e permitido;
  - manterá sob sua custódia, documento assinado pelo bolsista, segundo modelo disponível na página do CNPq na internet, declarando conhecer as regras da bolsa que receberá e comprometendo se a acatará las integralmente.
- h) que manterá sob sua guarda, os documentos comprobatórios referidos no item 2.4 e nas alíneas "e", "f" e "g.3" deste item, até 5 (cinco) anos após a aprovação final das contas do CNPq pelo Tribunal de Contas da União;
- i) que conferiu as informações constantes de seu currículo Lattes e as declara corretas e atualizadas;
- j) que tem ciência de que esta declaração é feita sob pena da incidência nos artigos 297 299 do Código Penal Brasileiro sobre a falsificação de documento público e falsidade ideológica, respectivamente, disponível na página do CNPq, na Internet.

#### 6. LEGISLAÇÃO APLICÁVEL

Sujeita-se o BENEFICIÁRIO às normas do CNPq, às condições contidas na Instrução Normativa nº 01, de 15 de janeiro de 1997, da Secretaria do Tesouro Nacional, nas Leis nº 8.666/93 e nº 10.973/04, nos Decretos nº 93.872/86 e nº 5.563/05 e na Lei n.º 8.112/90, de 11 de dezembro de 1990, no que couber, bem como nos demais instrumentos legais pertinentes.

#### 7. DA VIGÊNCIA e ALTERAÇÕES

- 7.1. O presente Termo terá vigência pelo prazo máximo constante no Edital/Chamada correspondente.
- 7.2. O aceite deste Termo deve ser devidamente enviado ao CNPq. O prazo para utilização dos recursos para custeio/capital e/ou bolsas começa a vigorar a partir da data da publicação, pelo CNPq, no Diário Oficial da União, do presente Termo de Concessão e Aceitação, pelo período de 24 (vinte e quatro) meses.
- 7.3. Este instrumento poderá ser alterado, por meio de termos aditivos, com as devidas e aceitas justificativas apresentadas no prazo mínimo de 30 (trinta) dias antes da data que se pretenda o implemento das alterações, exceto o aditamento com o intuito de alterar sua finalidade, sendo nulo de pleno direito qualquer ato nesse sentido.

#### 8. DA NOTIFICAÇÃO E PUBLICAÇÃO

- 8.1. O CNPq notificará o BENEFICIÁRIO, por via eletrônica, a aprovação de seu projeto.
- 8.2. Por razões orçamentárias, o BENEFICIÁRIO terá o prazo estipulado na notificação eletrônica para retornar ao CNPq o presente Termo de Concessão e Aceitação.
- 8.3. O não cumprimento do prazo definido, exceto quando plenamente justificável a critério da Diretoria do CNPq, implica

irrecorrivelmente no cancelamento da concessão. Não são justificativas aceitáveis: endereços errados na Plataforma Lattes; não abertura do e mail institucional; esquecimento; viagens e problemas com o computador ou na transmissão em tempo hábil.

8.4. A publicação do extrato deste Termo no Diário Oficial da União será providenciada pelo CNPq, até o quinto dia útil do mês seguinte ao de sua assinatura, devendo ocorrer no prazo de 20 (vinte) dias daquela data.

#### **9. ACEITE**

Ao enviá-lo ao CNPq, o BENEFICIÁRIO declara que leu e aceitou integralmente os termos deste documento.

*Termo de aceitação Registrado eletronicamente através da internet junto ao CNPq, pelo agente receptor 10.0.0.232(srv215.cnpq.br), mediante uso de senha pessoal do Beneficiário em 17/11/2008 13:55:43, originário do número IP 150.162.122.64(150.162.122.64) e número de controle 2051511820515118:2117598214 491060027.*

Para visualizar este documento novamente ou o PDF assinado digitalmente, acesse:  
<http://efomento.cnpq.br/efomento/termo?numeroAcesso=3791093420148526>.



## ANEXO B - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Infantil Joana de Gusmão



Hospital Infantil Joana de Gusmão  
Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER 004/2009

NOME DO PROJETO: Fibrose cística: Interferência da disfagia na função respiratória e estado nutricional	
PESQUISADORA: Diane de Lima Oliveira	
ORIENTADORA: Emília Addison Machado Moreira	
INSTITUIÇÃO RESPONSÁVEL: HIJG	
DATA DO PARECER: 02/09/2008	REGISTRO NO CEP: 048/2008
GRUPO E ÁREA TEMÁTICA: Grupo III – 4.05	

DOCUMENTOS SOLICITADOS	SITUAÇÃO
1.FOLHA DE ROSTO	OK
2.PROJETO DE PESQUISA	OK
3.CURRÍCULO DO PESQUISADOR	OK
4.CARTA DE ENCAMINHAMENTO AO CEP	OK
5.TERMO DE COMPROMISSO ÉTICO	OK
6.CONCORDÂNCIA DO SERVIÇO	OK
7.DECLARAÇÃO ASSINADA PELA DIREÇÃO DO HIJG	OK
8. SUMÁRIO DO PROJETO	OK
9. FÓRMULÁRIO DE AVALIAÇÃO ECONÔMICO FINANCEIRA	OK
10. DECLARAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO E RELATÓRIO FINAL	OK

CEP- HIJG - Rua Rui Barbosa, 152  
Bairro Agrônômica, Florianópolis, Santa Catarina  
Fone: (48) 32519092

Registro aprovado no CONEP, conforme Carta Circular nº 168 CONEP/CNS/MS de 07 de março de 2005 e renovado em 14 de fevereiro de 2008.  
e-mail: [cephijg@saude.sc.gov.br](mailto:cephijg@saude.sc.gov.br)

#### OBJETIVOS

**Geral:** Identificar marcadores inflamatórios, estresse oxidativo e de disfagia em portadores de fibrose cística (FC).

**Específicos:**

- Avaliar o estado nutricional determinando o índice de massa corporal e os percentis de peso/estatura e peso/idade;
- Avaliar a resposta inflamatória, medindo-se enzimas mielo-oxidase (MPO), adenosinadeaminase (ADA) e citocinas pró-inflamatórias (fator de necrose tumoral alfa, interleucina 1beta), proteína C reativa, e dos metabólitos do óxido nítrico (NOx);
- Avaliar o estresse oxidativo medindo-se os níveis de glutatona reduzida (GCH), as atividades enzimáticas da catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx) e níveis de peroxidação lipídica (TBAR s) e proteína carbolinada;
- Correlacionar estresse oxidativo e resposta inflamatória;
- Avaliar a presença de disfagia através da deglutição, função pulmonar, fluxo e pH salivar;
- Correlacionar IMC com os marcadores inflamatórios, estresse oxidativo e de disfagia;
- Correlacionar a resposta inflamatória com a função pulmonar, deglutição, fluxo e pH salivar;
- Correlacionar o estado nutricional com função pulmonar.

#### SUMÁRIO DO PROJETO

Estudo tipo caso-controle, a ser realizado no ambulatório interdisciplinar de FC do HIJG, durante um período de 24 meses. Serão avaliados 30 pacientes com FC, atendidos neste hospital, com idade entre 6 e 16 anos, pareados com indivíduos saudáveis, eutróficos, de acordo com idade e sexo. Para inclusão no estudo, os pacientes e/ou responsáveis deverão ter concordado com a realização da pesquisa, por meio do TCLE. Para o grupo controle serão excluídos os portadores de doenças inflamatórias, neurológicas, degenerativas, com insuficiência renal e/ou diabetes, uso de antibióticos e/ou hormônios, drogas anti-inflamatórias não hormonais, seis meses antes da coleta do estudo. Os pacientes com FC serão divididos em três grupos (sem inflamação, com inflamação e sem refluxo e, com inflamação e com refluxo gastroesofageano (RGE)). Caso a proposta de financiamento não seja aprovada, os pacientes com FC serão divididos em dois grupos (com e sem RGE).

Avaliação nutricional: antropométrica por meio dos percentis e escore z dos indicadores

CEP- HIJG - Rua Rui Barbosa, 152  
Bairro Agronômica, Florianópolis, Santa Catarina  
Fone: (48) 32519092

Registro aprovado no CONEP, conforme Carta Circular nº 168 CONEP/CNS/MS de 07 de março de 2005 e renovado em 14 de fevereiro de 2008.  
e-mail: [cephijg@saude.sc.gov.br](mailto:cephijg@saude.sc.gov.br)

peso/estatura, peso/idade e estatura/idade, IMC; utilizando-se as referências da OMS 206 e CDC 2000. A composição corporal será avaliada por meio da impedância bioelétrica (não citada nos objetivos específicos), por meio da balança bipolar modelo BF-698. Avaliação bioquímica: hemograma, proteína total, albumina, ferritina, sudam III, esteatócrito.

Avaliação de anti-oxidantes e estresse oxidativo: dosagem sérica de GCH, catalase, GPx, substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARs), proteína carbonilada.

Avaliação da resposta inflamatória: dosagem sérica de proteína C reativa, metabólitos do ácido nítrico, atividade da mieloperoxidase, TNF-alfa, interleucina 1-beta, adenosina deaminase.

Avaliação da função respiratória: espirometria e escore de Schwachman-Hulczycki.

Avaliação do RGE: pHmetria esofágica de 24 horas (será aceito exame realizado em até 3 meses antes da inclusão no estudo).

Avaliação da deglutição: por meio de avaliação clínica fonoaudiológica, observando-se a deglutição de 3 consistências alimentares (sólido, pastoso e líquido). Será avaliado também o fluxo salivar e a capacidade de tampão pH salivar.

#### JUSTIFICATIVA

A partir do conhecimento gerado pela pesquisa será possível avaliar mecanismos inflamatórios e mecânicos envolvidos na patogênese da Fibrose Cística. Seu entendimento conduzirá a formas a melhorias nas orientações e tratamento destes pacientes.

#### METODOLOGIA

1. DELINEAMENTO – Estudo observacional, analítico, tipo caso-controle.
2. CÁLCULO E TAMANHO DA AMOSTRA – Amostra de conveniência, com aproximadamente 60 indivíduos.
3. PARTICIPANTES DE GRUPOS ESPECIAIS – crianças e adolescentes portadores de enfermidade crônica.
4. RECRUTAMENTO – voluntário, por meio do ambulatório de atendimento interdisciplinar à FC e encaminhamentos ao HIJG para realização de pHmetria.
5. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO / EXCLUSÃO – Descritos no projeto de pesquisa
6. PONDERAÇÃO ENTRE RISCOS – BENEFÍCIOS – Adequada

CEP- HIJG - Rua Rui Barbosa, 152  
Bairro Agronômica, Florianópolis, Santa Catarina  
Fone: (48) 32519092

Registro aprovado no CONEP, conforme Carta Circular nº 168 CONEP/CNS/MS de 07 de março de 2005 e renovado em 14 de fevereiro de 2008.  
e-mail: [cephijg@saude.sc.gov.br](mailto:cephijg@saude.sc.gov.br)

- 7.USO DE PLACEBO OU WASH-OUT - Não se aplica
- 8.MONITORAMENTO E SEGURANÇA DOS DADOS – OK
- 11.AVALIAÇÃO DOS DADOS - adequados
- 12.PRIVACIDADE E CONFIDENCIALIDADE – OK
- 13.PREOCUPAÇÃO COM OS ASPECTOS ÉTICOS – Sim
- 14.CRONOGRAMA - adequado
- 15. PROTOCOLO DE PESQUISA - OK
- 16.ORÇAMENTO – OK

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO (TCLE) - Adequado

PARECER FINAL

APROVADO

- Informamos que o presente parecer foi analisado e aprovado em reunião deste comitê, na data de 17/02/2009.
- Conforme Resolução 196/92, capítulo III.2.h, o pesquisador deve apresentar ao CEP relatórios periódicos sobre o andamento da pesquisa e relatório final. No site: [www.saude.sc.gov.br/hijj/CEP.htm](http://www.saude.sc.gov.br/hijj/CEP.htm), está disponibilizado modelo. Seu primeiro relatório está previsto para AGOSTO DE 2009.

*Jucélia Maria Guedert*  
 Coordenadora do CEP-HIJG  
  
 JUCELIA MARIA GUEDERT

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisas - HIJG.

CEP- HIJG - Rua Rui Barbosa, 152  
 Bairro Agronômica, Florianópolis, Santa Catarina  
 Fone: (48) 32519092

Registro aprovado no CONEP, conforme Carta Circular nº 168 CONEP/CNS/MS de 07 de março de 2005 e renovado em 14 de fevereiro de 2008.  
 e-mail: [ceprijg@saude.sc.gov.br](mailto:ceprijg@saude.sc.gov.br)

## ANEXO C - Equações para o cálculo da Densidade Corporal e Percentual de Gordura Corporal

**Tabela 1** - Equações para o cálculo da Densidade Corporal e Percentual de Gordura Corporal

<b>DENSIDADE CORPORAL (D)</b>
<b>Meninos e meninas de zero até menores de dois anos</b>
$D = \{1.1235 + [0.0016 (\text{idade em meses})^{0.5}]\} - [0.0719 \times \log (\Sigma 4 \text{ dobras})]$
<b>Meninos de 2 até 16 anos</b>
$D = [1.1315 + 0.0018 (\text{idade em anos} - 2)] - [0.0719 - 0.0006 (\text{idade em anos} - 2)] \times \log (\Sigma 4 \text{ dobras})$
<b>Meninas de 2 até menores de 11 anos</b>
$D = [1.1315 + 0.0004 (\text{idade em anos} - 2)] - \{[0.0719 - 0.0003 (\text{idade em anos} - 2)] \times \log (\Sigma 4 \text{ dobras})\}$
<b>Meninas de 11 até 16 anos</b>
$D = [1.1350 + \{0.0031 (\text{idade em anos} - 10)\}] - \{[0.0719 - (0.0003 (\text{idade em anos} - 2))] \times \log (\Sigma 4 \text{ dobras})\}$
<b>PERCENTUAL DE GORDURA CORPORAL (%GC)</b>
<b>Meninos e meninas de zero até menores de 2 anos</b>
$\%GC = \{[585 - 4.7 (\text{idade em meses})^{0.5}] / D\} - [550 - 5.1 (\text{idade em meses})^{0.5}]$
<b>Meninos de 2 até 16 anos</b>
$\%GC = \{[562 - 4.2 (\text{idade em anos} - 2)] / D\} - [525 - 4.7 (\text{idade em anos} - 2)]$
<b>Meninas de 2 até menores de 10 anos</b>
$\%GC = \{[562 - 1.1 (\text{idade em anos} - 2)] / D\} - [525 - 1.4 (\text{idade em anos} - 2)]$
<b>Meninas de 10 até 16 anos</b>
$\%GC = \{[553 - 7.3 (\text{idade em anos} - 10)] / D\} - [514 - 8.0 (\text{idade em anos} - 10)]$

$\Sigma 4$  dobras= somatório das dobras cutâneas bicipital, tricípital, subescapular e supra-ilíaca.

Fonte: Weststrate; Deurenberg, 1989.



## ANEXO D - Escore de Shwachman-Kulcycki

**Tabela 1** - Componentes clínicos e nutricionais do Escore de Shwachman-Kulcycki.

<b>Gradação</b>	<b>Pontos</b>	<b>Atividade Geral</b>	<b>Exame Físico</b>	<b>Estado Nutricional</b>	<b>Achados Radiológicos</b>
Excelente (86-100)	25	Atividade íntegra. Brinca joga bola, vai à escola regularmente, etc.	Normal, não tosse. FCAR e FR normais. Pulmões livres, boa postura.	Mantém peso e altura acima do percentil 25. Fezes bem formadas, boa musculatura e tônus.	Campos pulmonares limpos.
Bom (71-85)	20	Irritabilidade e cansaço no fim do dia. Boa frequência na escola.	FCAR e FR normais em repouso. Tosse rara, pulmões livres. Pouco enfisema.	Peso e altura entre percentil 15 e 20. Fezes discretamente alteradas.	Pequena acentuação da trama vasobrônquica, enfisema discreto.
Médio (56-70)	15	Necessita repousar durante o dia, cansaço fácil após exercícios, diminui frequência na escola.	Tosse ocasional, às vezes de manhã. FR levemente aumentada. Médio enfisema. Discreto baqueteamento nos dedos.	Peso e altura acima do percentil 3. Fezes anormais, pouco formadas, distensão abdominal, hipotrofia muscular.	Enfisema de média intensidade, aumento da trama vasobrônquica.
Moderado (41-55)	10	Dispneia após pequenas caminhadas, repouso em grande parte.	Tosse frequente e produtiva, retração torácica. Enfisema moderado podendo ter deformidade no tórax. Baqueteamento 2-3+.	Peso e altura abaixo do percentil 3. Fezes anormais, volumosas e diminuição da massa muscular.	Moderado enfisema, áreas de atelectasia. Áreas de infecção discreta, bronquiectasias.
Grave (≤ 40)	05	Ortopnéia. Confinado ao leito.	Tosse intensa. Períodos de taquipnéia e taquicardia e extensas alterações pulmonares. Falência cardíaca direita. Baqueteamento 3-4+.	Desnutrição intensa. Distensão abdominal. Prolapso retal.	Extensas alterações, fenômenos obstrutivos. Infecção, atelectasia e bronquiectasia.

FCAR= frequência cardíaca; FR= frequência respiratória.

Fonte: Shwachman; Kulcycki, 1958.