

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE 25-HIDROXIVITAMINA D E  
FATORES ASSOCIADOS EM POPULAÇÃO NÃO PEDIÁTRICA  
PORTADORA DE FIBROSE CÍSTICA**

**NATÁLIA AYDOS MARCONDES**

Porto Alegre

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE 25-HIDROXIVITAMINA D E  
FATORES ASSOCIADOS EM POPULAÇÃO NÃO PEDIÁTRICA  
PORTADORA DE FIBROSE CÍSTICA**

**NATÁLIA AYDOS MARCONDES**

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Adolpho Moreira Faulhaber

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Medicina: Ciências Médicas, UFRGS, como requisito  
para obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre

2013

Marcondes, Natália Aydos

Avaliação dos níveis de 25-hidroxivitamina D e fatores associados em população não pediátrica portadora de fibrose cística / Natália Aydos Marcondes. -- 2013.

111 f.

Orientador: Gustavo Adolpho Moreira Faulhaber.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2013.

1. fibrose cística. 2. 25-hidroxivitamina D. 3. deficiência de vitamina D. 4. função pulmonar. 5. nutrição. I. Faulhaber, Gustavo Adolpho Moreira, orient.  
II. Título.

## **Dedicatória**

Dedico este trabalho aos pacientes com fibrose cística, com a esperança de que os resultados aqui apresentados possam lhes proporcionar uma melhor qualidade de vida.

## **Agradecimentos**

À minha família: Pai (*in memorian*), Mãe, Gabriela, Vô Boda e Vó Eunice, Vô Zé e Vó Isabel, Tia Téi e Barrocas, Tia Chica e Gustavo, Tio Fer e Tine, Léo, Leti, Amandha, Sofia e Camila, pelo amor, carinho e suporte.

Ao meu orientador, Dr. Gustavo Faulhaber, e à Dra. Tania Furlanetto, pelo apoio, aprendizado, disponibilidade e exemplo.

À Dr. Liane Rotta pela oportunidade de integrar a equipe deste trabalho.

Ao pessoal da pesquisa do Ambulatório de Fibrose Cística: Fabi, Roberta, Bruno, Luciano, Patrícia e Aline's por tornar a realização deste trabalho possível.

Ao Dr. Paulo Dalcin pelo suporte dado ao desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos do Colégio Americano: Dessa, Sá, Valéria, Ariel, Augusto, Bruno, Azevedo, Laschuk, Marcos, Ricardo, Rodrigo e Savian, e aos amigos que fiz na Fundação: Marcela, Aline, Ariele, Liara, Renata, Filipe, demais colegas, ex-colegas, veteranos, bixos e professores.

Aos chefes – Dr. Flavo e Dr. Gustavo - e equipe do Laboratório Zanol pelo apoio dado.

Ao FIPE/HCPA pelo suporte financeiro.

*“O futuro dependerá daquilo que fazemos no presente.”*

**Mahatma Gandhi**

## Resumo

**Introdução:** Portadores de fibrose cística têm uma susceptibilidade à deficiência de vitamina D devido à má absorção de nutrientes. Os estudos da prevalência de hipovitaminose D em pacientes com fibrose cística apresentam resultados extremamente variáveis e não há dados a respeito da população não pediátrica no Brasil.

**Objetivos:** Avaliar a prevalência de hipovitaminose D em pacientes não pediátricos portadores de fibrose cística e os fatores associados com as concentrações séricas de 25-hidroxitamina D.

**Metodologia:** Realizado estudo transversal. A população em estudo foi composta por pacientes maiores que 16 anos acompanhados no Ambulatório de Fibrose Cística do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Foi avaliada a prevalência de deficiência de vitamina D, definida como 25-hidroxitamina D < 30ng/mL, de acordo com a *Cystic Fibrosis Foundation*, bem como os fatores clínicos e laboratoriais associados com o valor sérico desta. Foram avaliados o estado nutricional e internações hospitalares. Foi realizada coleta de dados em prontuário, entrevista com os pacientes e colheita de sangue. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital. Foram dosados os valores séricos de proteína C-reativa, cálcio, fosfato, magnésio, albumina, 25-hidroxitamina D (método: quimiluminescência) e paratormônio (método: imunoensaio para PTH intacto). A função pulmonar foi avaliada por espirometria e escores clínicos e radiológicos. O nível de significância estatística foi estabelecido como  $P < 0,05$ .

**Resultados:** A prevalência de hipovitaminose D foi de 61,0%, com valores séricos de 25-hidroxitamina D de  $28,42 \pm 10,94$  ng/mL. Os pacientes com insuficiência pancreática apresentaram uma tendência a ter concentrações mais altas de vitamina D. Dezesesseis

pacientes apresentavam doença pulmonar grave, com FEV1% do predito inferior a 40%. Após análise multivariada, índice de massa corporal e hospitalizações no último mês permaneceram significativamente associados negativamente aos valores séricos de 25-hidroxivitamina D.

**Conclusões:** A prevalência de hipovitaminose D no presente estudo foi inferior a previamente relatada. A insuficiência de vitamina D continua sendo um problema nos pacientes com fibrose cística, mesmo naqueles recebendo suplementação.

**Palavras-chave:**

fibrose cística; 25-hidroxivitamina D; deficiência de vitamina D; função pulmonar; nutrição;

## Abstract

**Introduction:** Cystic fibrosis patients have a susceptibility to vitamin D deficiency due to nutrient malabsorption. Prevalence studies of hypovitaminosis D in patients with cystic fibrosis have highly variable results and there is no data about the non pediatric population in Brazil.

**Objectives:** To evaluate the prevalence of hypovitaminosis D in non pediatric cystic fibrosis patients and the factors associated with serum 25-hydroxyvitamin D levels.

**Methods:** Cross-sectional study. The study population was composed of patients older than 16 years accompanied in the Cystic Fibrosis Ambulatory of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre. We evaluated the prevalence of vitamin D deficiency defined as 25-hydroxyvitamin D < 30 ng/mL, as suggested recently by the Cystic Fibrosis Foundation, and clinical and laboratory factors associated with its serum levels. Nutritional status and hospital admissions were evaluated. Data was collected from medical records and interviews with patient, blood was collected. Laboratory analysis were performed at Clinical Pathology Laboratory of the Hospital. Serum C-reactive protein, calcium, phosphate, magnesium, albumin, 25-hydroxyvitamin D (method: chemiluminescence), and parathyroid hormone levels (method: sandwich immunoassay to intact PTH) were measured. Lung function was evaluated by spirometry and clinical and chest radiographic scores were assessed. Statistical significance level was set at  $P < 0.05$ .

**Results:** Prevalence of hypovitaminosis D was 61.0 %, with serum 25-hydroxyvitamin D levels of  $28,42 \pm 10,94$  ng/mL. Patients with pancreatic insufficiency had a trend to have higher vitamin D levels. Sixteen patients had severe lung disease with FEV1% predicted below 40%. After multivariable analysis, body mass index and hospitalization in the last

month remained significantly associated negatively with serum 25-hydroxyvitamin D levels.

**Conclusions:** The prevalence of hypovitaminosis D in the present study was inferior to previously related. Vitamin D insufficiency is still a problem in cystic fibrosis patients, even in those receiving supplementation.

**Keywords:**

cystic fibrosis; 25-hydroxyvitamin D; vitamin D deficiency; pulmonary function; nutrition;

## Lista de tabelas

Table 1. Baseline characteristics of cystic fibrosis patients (n=59). .....	95
Table 2. Serum 25-hydroxyvitamin D levels (ng/dL) in cystic fibrosis patients and possible modifiers (n=59). .....	97
Table 3. Correlation between serum 25-hydroxyvitamin D levels and clinical aspects, chest radiographs scores (Brasfield), lung function tests, and serum C-reactive protein levels. ....	98
Table 4. Factors associated independently with serum vitamin D levels by multivariate analysis. ....	99

## Lista de figuras

Figura 1. Regulador transmembrana da fibrose cística e as mutações presentes neste. ....	23
Figura 2. Classes de mutações do regulador transmembrana da fibrose cística.....	25
Figura 3. Estratégias de manejo e comorbidades associadas de acordo com a idade do paciente com fibrose cística (FC). ....	39
Figura 4. Metabolismo da vitamina D <sub>3</sub> na pele, fígado e rins. ....	42
Figura 5. Alças de retroalimentação da 1,25-dihidroxitamina D, paratormônio e cálcio. ....	43
Figura 6. Principais causas de insuficiência de 25-hidroxitamina D em portadores de fibrose cística. ....	52

## Lista de abreviaturas e siglas

1,25-(OH) <sub>2</sub> D	1,25-dihidroxitamina D
25(OH)D	25-hidroxitamina D
ABC	<i>ATP-binding cassette</i> (cassete de ligação a ATP)
ALT	alanina transaminase
AST	aspartato transaminase
ATP	trifosfato de adenosina ( <i>adenosine triphosphate</i> )
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CFF	<i>Cystic Fibrosis Foundation</i>
CFRD	diabetes relacionado à fibrose cística
CFTR	regulador transmembrana da fibrose cística ( <i>cystic fibrosis transmembrane conductance regulator</i> )
CVF	capacidade vital forçada
DCE	depuração de creatinina endógena
DNA	ácido desoxirribonucleico ( <i>deoxyribonucleic acid</i> )
FDA	<i>U S Food and Drug Administration</i> (Agência Norte-Americana de Administração de Drogas e Alimentos)
FC	fibrose cística
FGF23	fator de crescimento de fibroblastos 23 ( <i>fibroblast growth factor 23</i> )
GGT	gama glutamil transferase
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HPLC	cromatografia líquida de alta eficiência
IMC	índice de massa corporal

IRT	tripsina imunorreativa ( <i>immunoreactive trypsin</i> )
MRSA	<i>Methicillin resistant Staphylococcus aureus</i> ( <i>S. aureus</i> resistente a meticilina)
PASW 18.0	<i>Predictive Analytics Software 18.0</i>
PTH	paratormônio
QML	quimioluminescência
RIE	radioimunoensaio
mRNA	ácido ribonucleico mensageiro ( <i>messenger ribonucleic acid</i> )
S-K	Shwachman-Kulczycki
SPSS 18.0	<i>Statistical Package for the Social Sciences 18.0</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TP	tempo de protrombina
TTOG	teste de tolerância oral à glicose
UDCA	ácido ursodesoxicólico ( <i>ursodeoxycholic acid</i> )
UV	ultravioleta
UVB	luz ultravioleta de onda média
VDBP	proteína ligante da vitamina D ( <i>vitamin D-binding protein</i> )
VDR	receptor de vitamina D ( <i>vitamin D receptor</i> )
VEF1	volume expiratório forçado no primeiro segundo

## Lista de símbolos

%	porcento
7q31.2	posição 31.2 no braço longo do cromossomo 7
$\Delta$ F508	deleção do resíduo de fenilalanina no códon 508
mL	mililitros
mEq/L	miliequivalentes por litro
ng/mL	nanogramas por mililitro
®	marca registrada
U lipase/kg/refeição	unidades de lipase por quilograma por refeição
U lipase/kg/dia	unidades de lipase por quilograma por dia
pH	potencial de hidrogênio
U	unidades
US\$	dólar dos Estados Unidos
nm	nanômetros
UI	unidades internacionais
mg	miligramas
nmol/L	nanomoles por litro
UI/dia	unidades internacionais por dia
™	<i>trademark</i> (marca registrada)
mg/dia	miligramas por dia
mg/dL	miligramas por decilitro
mmol/L	milimoles por litro

g/dL	gramas por decilitro
°C	graus Celsius
pg/mL	picogramas por mililitro
mL/min	mililitros por minuto
rpm	rotações por minuto
min	minutos
minutos/dia	minutos por dia

## Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	19
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	20
2.1 Fibrose cística.....	20
2.1.1 Epidemiologia e diagnóstico .....	20
2.1.2 Regulador transmembrana da fibrose cística.....	22
2.1.3 Manifestações clínicas.....	26
2.1.4 Tratamento.....	34
2.2 Vitamina D .....	40
2.2.1 Fontes e metabolismo .....	40
2.2.2 Efeitos biológicos .....	45
2.2.3 Valores recomendados.....	48
2.2.4 Dosagem .....	49
2.3 Fibrose cística e vitamina D .....	50
2.4 Sistematização da revisão bibliográfica .....	57
3 MARCO TEÓRICO .....	59
4 JUSTIFICATIVA .....	60
5 OBJETIVOS.....	61
5.1 Objetivo primário .....	61
5.2 Objetivos secundários.....	61
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO .....	62
7 ARTIGO ORIGINAL.....	80
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	100

9 APÊNDICES .....	101
10 ANEXOS .....	106

## 1 INTRODUÇÃO

A fibrose cística (FC) ou mucoviscidose é uma doença crônica sistêmica que afeta as glândulas exócrinas; apresenta maior incidência em caucasianos, embora esteja presente em outros grupos étnicos (1).

A doença clássica caracteriza-se pela tríade: doença pulmonar obstrutiva crônica, quadro de má absorção e alterações eletrolíticas no suor (2, 3). O quadro de má absorção característico da doença é decorrente de insuficiência pancreática e de uma possível inflamação das células da mucosa intestinal; leva a uma perda de vitaminas lipossolúveis, como a vitamina D (4, 5).

A vitamina D tem papel regulatório da absorção de cálcio e fósforo no trato gastrointestinal, atuando no aumento da absorção destes eletrólitos, com o objetivo de manter a concentração plasmática de cálcio e fósforo. Além disso, a vitamina D é importante para o desenvolvimento e manutenção do tecido ósseo (6, 7). Esta vitamina também co-estimula a absorção de outros minerais essenciais, como magnésio, ferro e zinco (8).

A hipovitaminose D é uma condição que traz diversas alterações fisiológicas, como hipocalcemia, alterações ósseas, como osteoporose (9, 10), além de alterações não relacionadas aos ossos, como diminuição da função pulmonar, alteração da sensibilidade de secreção de insulina e influência nos mecanismos de imunidade (11, 12).

A deficiência de vitamina D observada nos portadores de FC pode estar relacionada tanto à má absorção de vitaminas lipossolúveis devido à insuficiência pancreática, quanto a uma insuficiente exposição solar ou à lesão hepática (5, 13, 14).

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Fibrose cística

#### 2.1.1 Epidemiologia e diagnóstico

A FC apresenta caráter autossômico recessivo e representa a doença hereditária grave mais comum. Apresenta baixa incidência na população e reduzida expectativa de vida dos pacientes, muitos dos quais falecem ainda crianças (15). Na FC ocorre uma mutação no gene do regulador transmembrana da fibrose cística (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* – CFTR), já foram descritas mais de 1.900 mutações para este gene, sendo que a mais comum,  $\Delta F508$ , corresponde a 48 % das mutações encontradas em caucasóides na população brasileira (16, 17). De todas as mutações já identificadas, somente 23 delas apresentam uma frequência maior do que 0,1 % (dependendo da etnia) (17).

No Brasil, a incidência estimada da mucoviscidose é de um para cada 7.576 nascimentos. A incidência de FC na população do Rio Grande do Sul foi estimada em um a cada 1.587 nascimentos, com cerca de 5 % da população do Estado sendo heterozigota para alguma das mutações responsável pelo fenótipo fibrocístico (16).

A iontoforese quantitativa por pilocarpina (teste do suor) é o teste considerado padrão-ouro para diagnóstico de FC. A pesquisa de mutações no gene CFTR também é possível, porém, devido à grande quantidade de mutações que podem causar a doença, em alguns casos não é definitiva para o diagnóstico (17-19).

O teste do suor pode ser realizado em crianças com mais de 48 horas de vida. Baseia-se no aumento na quantidade de cloreto nas secreções corporais dos portadores de FC. Este

teste consiste de três etapas: inicialmente é realizada a estimulação da pele por administração transdérmica de cerca de 0,2 mL de solução de nitrato de pilocarpina 0,2 % por iontoforese (20). A pilocarpina é aplicada no braço ou na perna do paciente e uma corrente elétrica fraca é aplicada por cinco minutos para que a sudorese ocorra. Na segunda parte, realiza-se a limpeza da área e colocação de uma gaze ou papel filtro para coleta de suor, que deve ser realizada por 30 minutos. Finalmente, é realizada a dosagem de cloreto presente na amostra, a qual pode ser efetuada por titulação colorimétrica com o uso de um cloridrômetro, titulação manual pelo procedimento de nitrato de mercúrio de Schales e Schales, ou em analisadores automáticos que utilizem eletrodos íon seletivos e sejam validados em comparação com as metodologias citadas anteriormente (20, 21). Valores superiores a 60 mEq/L de cloreto são considerados como resultado positivo; para o diagnóstico ser comprovado é preciso que o paciente tenha resultado positivo em pelo menos dois testes. Apenas 1-2 % dos pacientes irão apresentar valores normais ou limítrofes no teste do suor (18, 19, 21-23). Pacientes com resultados limítrofes devem ter sua função respiratória e estado nutricional monitorados (21).

O diagnóstico baseado na sintomatologia, além de mais demorado, associa-se a um maior risco de complicações médicas em decorrência da doença. O diagnóstico neonatal permite início precoce do tratamento e reposição vitamínica. Pacientes diagnosticados por *screening* neonatal apresentam melhores condições nutricionais e menor prevalência de infecção por *Pseudomonas aeruginosa* (24-26).

Em 1979 foi desenvolvido um teste para dosagem de tripsinogênio imunorreativo em sangue seco, que normalmente apresenta-se elevado em portadores de FC. Esta técnica tornou possível o desenvolvimento de um teste de diagnóstico neonatal. A tripsina é uma enzima produzida no pâncreas que está presente em alta concentração no plasma de recém-nascidos portadores de FC (23, 26). No Brasil, a medida de tripsina imunorreativa (*immunoreactive trypsin* - IRT) em sangue seco é a metodologia utilizada para a triagem neonatal de

mucoviscidose. Quando ocorre um resultado positivo no primeiro teste (IRT > 110 ng/ml), uma segunda dosagem é realizada em duas semanas, permanecendo o valor aumentado, o diagnóstico é confirmado com a realização do teste do suor e/ou a análise de material genético (geralmente realizando a pesquisa da mutação  $\Delta F508$ ) (18, 19).

O CFTR localiza-se no braço longo do cromossomo 7 (7q31.2), há a codificação de uma proteína anormal quando ocorre uma mutação neste (27). O diagnóstico genético se dá pela pesquisa das mutações mais comuns com técnicas de biologia molecular, podendo ser realizado o sequenciamento do gene no caso destas não serem encontradas (28).

Na ausência da realização de um teste de triagem, a idade de diagnóstico varia consideravelmente (23). Cerca de 3 % dos pacientes com FC permanecem sem diagnóstico até a idade adulta (29). O diagnóstico tardio geralmente ocorre por uma sintomatologia clínica mais leve ou de início tardio, como doença pulmonar leve, menor insuficiência pancreática e mutações menos graves na proteína CFTR. Pacientes com diagnóstico tardio apresentam melhores prognósticos (30). A proporção de pacientes diagnosticados na idade adulta e com teste do suor positivo é de cerca de 90 % dos casos (31). Um pequeno grupo de pacientes apresenta a doença clássica, porém com sintomatologia mais leve e teste do suor limítrofe, sendo considerados portadores de FC atípica (30).

### *2.1.2 Regulador transmembrana da fibrose cística*

O gene do CFTR foi identificado em 1988 e possui 27 éxons (28, 32, 33). A proteína CFTR é um canal de cloro, o qual é responsável pelo transporte de íons cloreto nas células que produzem muco, suor, saliva, lágrimas e enzimas digestivas. O transporte de cloreto auxilia a controlar o movimento da água nos tecidos, necessário para a produção de um muco

fluido, o qual protege e lubrifica a mucosa das vias respiratórias, sistema digestivo e outros órgãos e tecidos. Portanto, é necessário para o correto funcionamento de órgãos como pulmões e pâncreas (27).

A CFTR é uma proteína transmembrana de 1.480 aminoácidos pertencente à superfamília de transportadores *ATP-binding cassette* (cassete de ligação a ATP – ABC), consiste de dois domínios transmembrana, dois domínios para ligação e um domínio regulatório, que controla a atividade do canal (34, 35). Na figura 1 são mostrados alguns sítios de mutações já descritos para o gene CFTR.

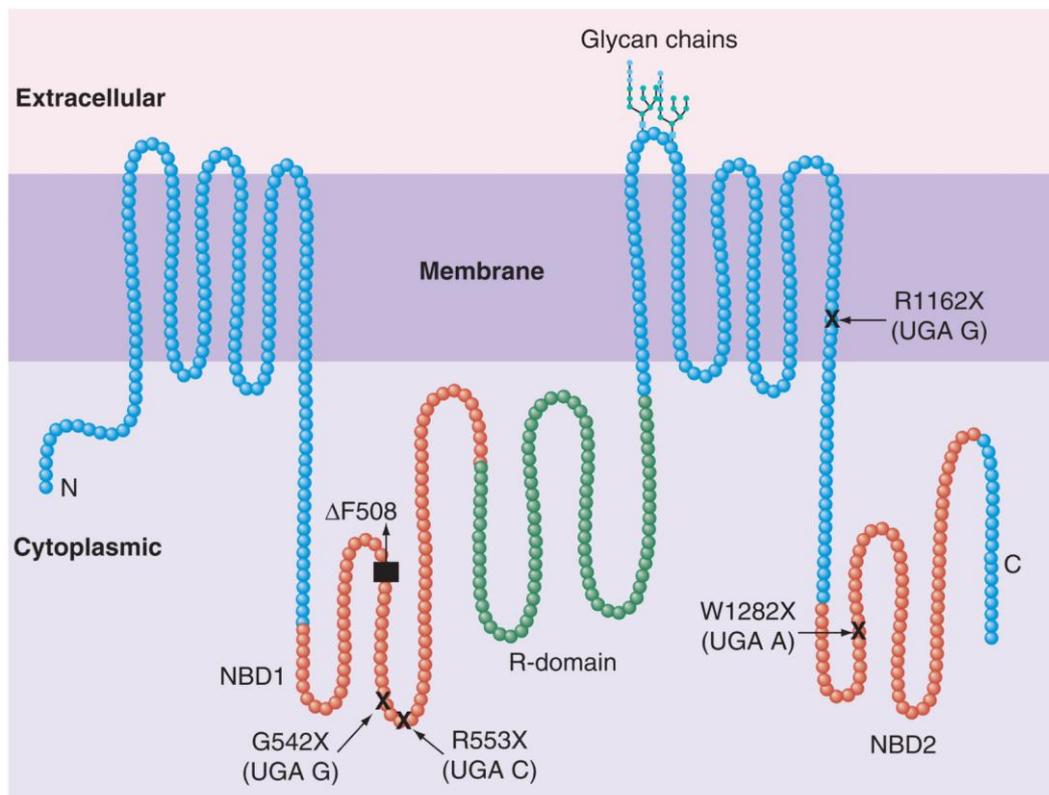


Figura 1. Regulador transmembrana da fibrose cística e as mutações presentes neste.

As regiões vermelhas representam os domínios de ligação de nucleotídeos; e, as verdes, as regiões regulatórias. O quadrado preto representa a mutação  $\Delta F508$  e 'X' representa códons de terminação. Fonte: Collawn, 2010 (34).

As mutações presentes na CFTR foram classificadas em cinco ou seis classes (28). As classes I, II, III e VI apresentam perda total da função do canal e são classificadas como mutações graves, indivíduos com essas mutações apresentam insuficiência pancreática (23). As outras classes são associadas com uma doença mais leve (doença pulmonar mais branda e de aparecimento tardio, menor insuficiência pancreática, teste do suor com resultado limítrofe e/ou predomínio de uma única característica clínica) (33, 36). Nem todas as mutações presentes no gene já foram identificadas e/ou classificadas (23).

As mutações de classe I são caracterizadas por defeitos na síntese proteica e incluem códons de terminação prematuros. Este tipo de mutação está presente em cerca de 10 % dos doentes; porém, apresenta uma frequência maior em Judeus Ashkenazi (75 % dos alelos de CFTR mutantes neste população) (19, 37). As mutações de classe II incluem defeitos na maturação proteica e degradação prematura; a deleção de uma fenilalanina na posição 508 ( $\Delta F508$ ) é uma mutação de classe II (19, 28). As mutações de classe III caracterizam-se por uma desordem na regulação da atividade do canal, como diminuição da ligação e hidrólise de trifosfato de adenosina (*adenosine triphosphate* – ATP) (28). As mutações de classe IV resultam em uma condução de cloreto anormal, havendo uma diminuição de atividade do canal (19, 37). Mutações de classe V caracterizam-se por *splicing* anormal do ácido ribonucleico mensageiro (*messenger ribonucleic acid* – mRNA), com consequente diminuição na quantidade de canais funcionais na superfície apical da célula (19, 37). As mutações de classe VI resultam na produção de uma proteína funcional, porém instável, havendo um *turnover* proteico acelerado (19, 28). Na figura 2 estão representadas esquematicamente as classes de mutações do gene CFTR.

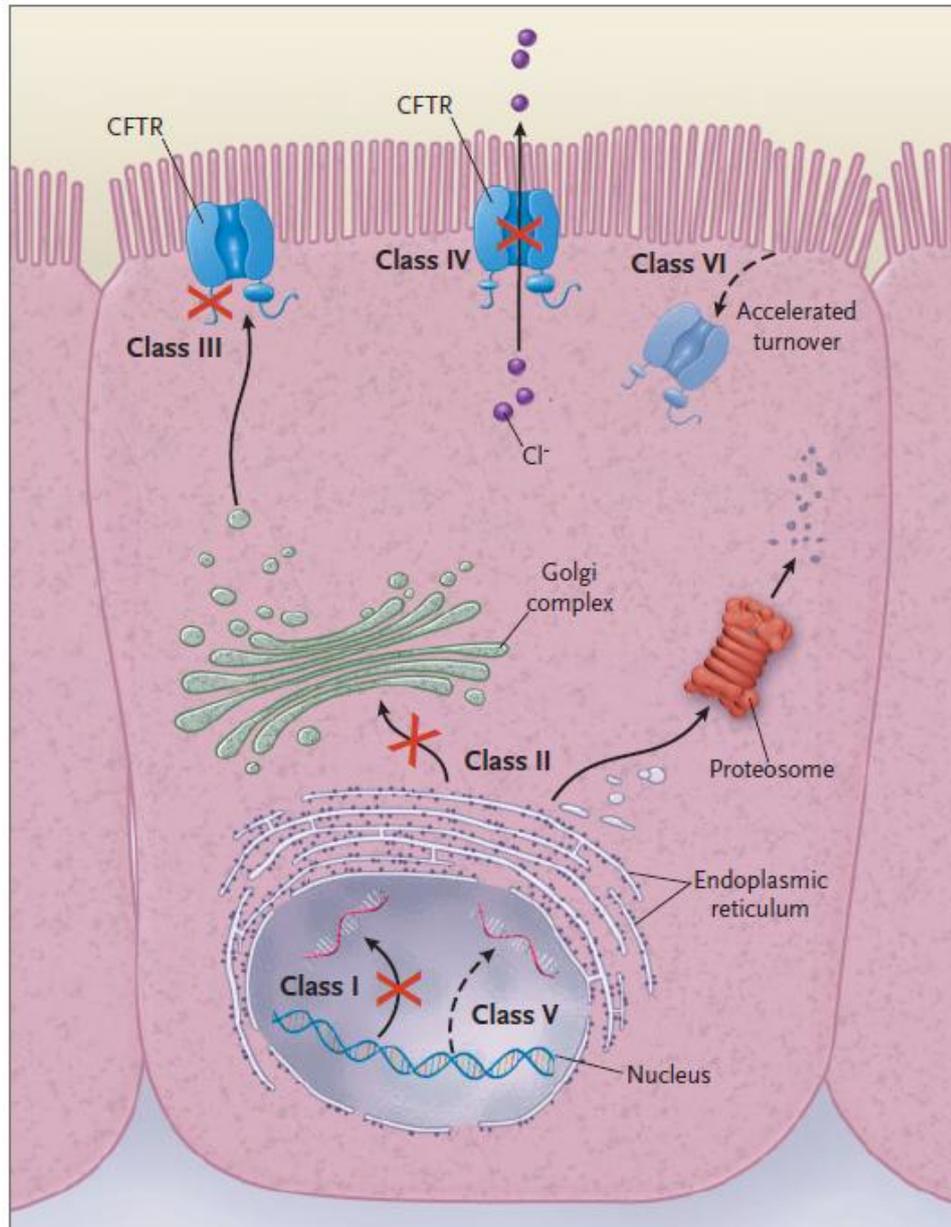


Figura 2. Classes de mutações do regulador transmembrana da fibrose cística.

Fonte: Rowe, 2005 (28).

Mutações relacionadas à doença mais grave geralmente são observadas em casos diagnosticados precocemente (detecção pré-natal e alterações observadas em ultrassonografia) (24). Indivíduos com insuficiência pancreática exócrina geralmente apresentam duas mutações categorizadas como graves, enquanto indivíduos com suficiência pancreática

apresentam pelo menos uma mutação branda, associada com algum tipo de função da CFTR (17).

A ausência da proteína CFTR influencia a expressão de diversos outros produtos gênicos, os quais são potenciais modificadores do fenótipo e podem explicar as diferenças clínicas observadas em pacientes com as mesmas mutações (28).

Cerca de 50% dos pacientes são homozigotos para a mutação  $\Delta F508$ , 40% são heterozigotos e apresentam uma segunda mutação menos comum, e os 10% restantes apresentam mutações menos frequentes (24). Há relatos de pacientes com doença clínica clássica e teste do suor positivo, porém que não apresentam mutações no gene CFTR, indicando que, em raras ocasiões, a mucoviscidose pode ser causada por mutações na região promotora do gene, em algum dos íntrons ou em regiões controladoras (33).

O fenótipo dos pacientes com FC também é afetado por genes modificadores (genes que não causam a doença, mas que podem alterar a gravidade desta), o que explica porque portadores da mesma mutação nem sempre tem o mesmo grau de gravidade clínica. Já foram identificados polimorfismos em genes que levam a doença pulmonar mais grave (24).

### *2.1.3 Manifestações clínicas*

A mucoviscidose caracteriza-se por alterações na composição física e/ou química das secreções de glândulas exócrinas, as quais se tornam espessas e viscosas. A sintomatologia clínica é variada, porém, o comprometimento das glândulas sudoríparas, do pâncreas e dos pulmões são as manifestações que mais se sobressaem (31). O defeito nos canais de cloreto resulta na redução ou ausência de secreção deste íon, além disso, há um aumento na absorção ativa de sódio, somadas, estas alterações levam a um aumento da reabsorção de água do

lúmen, levando à desidratação do muco e secreções espessas. Como consequência, há obstrução do lúmen dos órgãos afetos que predispõe, com o passar do tempo, a infecções, inflamação, fibrose e falência do órgão (24).

Dentre as complicações clínicas associadas, estão doenças que envolvem estas glândulas, tais como desenvolvimento de bronquite crônica supurativa com destruição do parênquima pulmonar, insuficiência pancreática levando a má absorção e desnutrição, doença hepática e acometimento do sistema reprodutor (16, 31). O aumento da sobrevivência dos pacientes trouxe outras complicações, tais como *diabetes mellitus*, doença óssea e depressão (38).

Há uma grande variação na sintomatologia dos pacientes, assim como na gravidade e acometimento de órgãos específicos (39). Deficiências estruturais e funcionais do pâncreas e intestino podem ser observadas em alguns pacientes ainda durante o período pré-natal e infância (17). A presença de íleo meconial ao nascimento ocorre em aproximadamente 15 % dos doentes e leva a suspeita clínica de FC (19, 22, 23, 28, 39), sendo que 90% dos pacientes com íleo meconial serão diagnosticados como portadores de FC (24). Os sintomas mais comuns em crianças sem íleo meconial incluem tosse recorrente, pneumonias de repetição, dor abdominal crônica, fezes não formadas e pouco ganho de peso (23).

A doença pulmonar é a principal causa de morbimortalidade na FC (19, 25, 40). A estrutura e função do trato respiratório são relativamente preservadas na infância (17); entretanto, quase todos os pacientes desenvolvem doença broncopulmonar e os sintomas respiratórios aumentam com a idade, resultando em doença pulmonar obstrutiva e, eventualmente, falência do órgão (17, 23, 39). Há uma grande variabilidade na idade de início, ritmo de progressão e gravidade da doença pulmonar mesmo entre indivíduos homocigotos para a mesma mutação; deste modo, o declínio da função pulmonar sofre

influência de genes modificadores (30, 39). A patofisiologia da doença envolve ciclos de obstrução das vias aéreas, infecção e inflamação (41).

A doença pulmonar é caracterizada por retenção de secreções viscosas, dificuldade de desobstrução das vias aéreas, infecções endobrônquicas e inflamação. A função pulmonar e a infecção por patógenos como *Burkholderia cepacea*, *P. aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* e *Staphylococcus aureus* já foram relacionadas com a mortalidade na mucoviscidose (17, 42), junto a estas, *Hemophilus influenzae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans* e outras espécies do complexo *Burkholderia* são os patógenos mais comumente encontrados nos pulmões dos pacientes (43).

A primeira anormalidade funcional observada é o aumento na relação entre volume residual e capacidade pulmonar total; alterações radiológicas iniciam por hiperexpansão, evoluindo para sinais de impactação de muco, culminando com bronquiectasias (18). As exacerbações são caracterizadas por um aumento na produção de secreções, as quais se tornam mais viscosas e purulentas, também ocorre aumento da tosse, havendo redução da tolerância ao esforço e aumento da dispneia, além de astenia e perda de peso (31).

A função pulmonar é medida pelo volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1); valores inferiores a 10 % do previsto relacionam-se a diversos fatores, como baixo peso, pneumotórax e infecções por *Pseudomonas aeruginosa* e *Burkholderia cepacea* (31); um VEF1 inferior a 30 % do previsto é preditor forte de morte em dois anos (44). As infecções pulmonares são o principal problema na doença e a disfunção pulmonar progressiva é o principal fator prognóstico (45). Infecção por *P. aeruginosa*, sexo feminino, produção diária de expectoração, uso de antibiótico endovenoso para tratar exacerbações pulmonares, sinusite, doença hepática, baixo peso para a idade e insuficiência pancreática são fatores de risco para declínio no VEF1 em algumas faixas etárias nos portadores de FC (25).

O Escore S-K avalia a gravidade da doença, é dividido em quatro categorias, cada uma com cinco pontuações possíveis, conforme o grau de acometimento: atividade geral do paciente, exame físico, parâmetros nutricionais e achados radiológicos. As quatro pontuações são somadas e o escore total é obtido: excelente (86-100); bom (71-85); médio (56-70); ruim (41-55); e grave (menor ou igual a 40) (46).

O Escore Radiológico de Brasfield consiste em cinco categorias, representando os aspectos radiológicos característicos da FC: aprisionamento aéreo (dificuldade respiratória), marcas lineares (espessamento brônquico), lesões cístico-nodulares (bronquiectasias), grandes lesões (atelectasias e pneumonia) e a impressão geral da gravidade. As três primeiras alterações radiológicas são classificadas segundo a gravidade de 0 a 4 e as duas últimas, de 0 a 5. Os cinco sub-escores são somados e, então, subtraídos de 25 para resultar no escore final (um escore de 3 é o mais grave possível) (46).

O mecanismo de aquisição e manutenção de infecções bacterianas na mucoviscidose apesar da grande quantidade de neutrófilos presentes não está completamente esclarecido (19). As bactérias formam biofilmes no trato respiratório dos pacientes com FC, tornando-se menos susceptíveis à ação de antibiótico. Mais de 80 % dos doentes são colonizados por *P. aeruginosa*, fato associado a um aumento na inflamação e aceleração no declínio da função pulmonar, além de aumento na mortalidade. A inflamação é ainda maior quando há a presença de *S. aureus* (31, 43, 47). A colonização por *B. cepacia* acomete cerca de 6 % dos doentes e é associada à deterioração clínica e funcional, a infecção por este patógeno aumenta o risco de mortalidade dos pacientes, tanto antes quanto após o transplante de pulmão (25, 31). Acredita-se que a infecção por *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA - *Methicillin resistant Staphylococcus aureus*) também se associe a um maior risco de morte (25).

De todos os processos fisiológicos afetados na mucoviscidose, a alteração na função pancreática exócrina é a que melhor se correlaciona com o genótipo. A insuficiência

pancreática está presente em 85-90 % dos pacientes com FC, os quais apresentam as mutações consideradas graves (classes I, II, III e VI) (19, 24, 48, 49). Outras manifestações, como cirrose com hipertensão portal e doença gastrointestinal grave são associadas a mutações de classe I, II, III e VI nos dois alelos do gene, mas apresentam penetrância reduzida, devendo ter sua ocorrência relacionada a outros fatores, como genes modificadores e influências ambientais (39).

A falha do funcionamento da CFTR leva à diminuição do transporte de cloreto na superfície apical das células e de outros sistemas de transporte, como o transporte acoplado de cloreto e bicarbonato e a atividade do canal de sódio (50, 51). A perda da função pancreática geralmente tem início no período pré-natal e a maioria dos pacientes já apresenta sinais de insuficiência do órgão na infância, que ocorre quando menos de 10 % do pâncreas apresenta função normal (19, 52). O diagnóstico de insuficiência pancreática é clínico; testes como a dosagem de gordura em coleta de fezes de 72 horas e a elastase fecal auxiliam na sua identificação desta condição (53).

Aproximadamente 15 % dos pacientes apresentam função pancreática exócrina suficiente para permitir a digestão (30). Estes indivíduos apresentam mutações mais leves (classes IV e V), doença mais branda e menor quantidade de cloreto no suor (19). Raramente apresentam os sintomas relacionados à má nutrição, porém, conforme envelhecem, aumenta o risco de desenvolverem pancreatite. Cerca de 20% destes pacientes irá desenvolver esta condição (19, 23, 54). Além disso, apresentam menos complicações respiratórias e maior expectativa de vida do que os pacientes com doença mais grave (19, 23).

Há uma diminuição progressiva da função do pâncreas exócrino devido a um processo inflamatório crônico ocasionado pela obstrução dos ductos intrapancreáticos pela secreção espessa, que leva à retenção das enzimas digestivas e autodigestão do órgão (19, 52). Concomitante, há uma redução da concentração de bile intraluminal, ocasionando uma má

absorção de nutrientes (31, 55). O trato digestivo é a maior via de absorção de nutrientes e pacientes com distúrbios digestivos que afetam a absorção de nutrientes podem apresentar anormalidades no metabolismo ósseo e mineral (56).

A digestão incompleta de lipídios e proteínas, e carboidratos em menor escala, ocasionada pela insuficiência pancreática, se reflete em uma menor absorção destes, ocasionando esteatorreia, creatorreia, azotorreia, fome, apesar de ingestão suficiente de alimentos, dificuldade para ganhar peso, distensão e desconforto abdominais, flatulência e perda de vitaminas lipossolúveis, como a vitamina D (19, 52, 57). Além disso, devido à diminuição da concentração de bicarbonato no duodeno, há uma precipitação dos sais biliares e inativação das enzimas lipase, tripsina e amilase pelo ácido clorídrico gástrico (19, 31, 52, 55).

A deficiência nutricional é um resultado da combinação de insuficiência pancreática, doença crônica do fígado e vias biliares, maior gasto de energia e menor ingestão de calorias (devido a recorrentes infecções respiratórias e à inflamação crônica) (17, 19).

O manejo da desnutrição é um grande desafio no manuseio dos fibrocísticos. O quadro policarencial que vai se instalando é quase uma constante (58, 59). A não correção da má absorção pode resultar em retardo no crescimento, atraso na puberdade e deterioração da função pulmonar, falência respiratória e morte precoce (19, 52). O estado nutricional de portadores de FC, indicado pelo índice de massa corporal (IMC), relaciona-se com a função pulmonar, sendo a má nutrição indicativa de um pior prognóstico (11, 60-63).

Poucos fibrocísticos apresentam um metabolismo da glicose normal – hiperglicemia intermitente e assintomática é comum, mesmo naqueles pacientes com teste de tolerância oral à glicose (TTOG) normal. O diabetes relacionado à fibrose cística (*cystic fibrosis-related diabetes* – CFRD) ocorre na ausência de obesidade e afeta cerca de 20 % dos adolescentes e 40-50 % dos adultos. A CFRD apresenta características tanto de diabetes tipo 1, quanto do

tipo 2 e associa-se à presença de mutações mais graves no gene CFTR (classes I e II), maior idade (início geralmente entre 18 e 24 anos), sexo feminino, pior função pulmonar, desnutrição, disfunção hepática, insuficiência pancreática e uso de corticóides (25, 64-66).

Os sintomas da CFRD são poliúria, polidipsia, cansaço, perda de peso, incapacidade de ganhar peso e perda de função pulmonar (65). A insuficiência insulínica relaciona-se à diminuição das ilhotas pancreáticas e cria um estado catabólico com acometimento nutricional, que tem um impacto negativo na função pulmonar e sobrevivência. A hiperglicemia contribui para a doença pulmonar promovendo estresse oxidativo, inflamação e infecção. A CFRD é associada com complicações microvasculares e maior mortalidade por doença pulmonar, especialmente nas pacientes do sexo feminino (12, 38, 45, 64). A doença permanece assintomática por até quatro anos, o que justifica a realização de TTOG como teste de *screening*, este deve ser realizado anualmente, a partir dos 10 anos de idade (38).

A doença hepática apresenta impacto negativo sobre a sobrevida dos portadores de FC, cerca de 10% dos pacientes diagnosticados com doença hepática morrem de complicações desta condição e 30% necessitam de transplante hepático (67). Na maioria dos pacientes, a doença hepática se manifesta ao final da primeira década de vida, podendo ocorrer antes naqueles que apresentaram íleo meconial (68). É recomendado que seja realizado o monitoramento laboratorial da função hepatobiliar com dosagem de alanina transaminase (ALT), aspartato transaminase (AST), gama glutamil transferase (GGT) e fosfatase alcalina, bem como avaliação do tempo de protrombina (TP) (69) de modo a garantir o diagnóstico precoce da doença hepática (19).

Os hepatócitos não expressam o gene CFTR. A cirrose focal biliar é encontrada em cerca de um terço dos pacientes e ocorre como resultado de obstrução biliar com retenção de ácidos biliares tóxicos, que leva a colestase crônica, inflamação e fibrose periportal. Há progressão para cirrose biliar multilobular em 10 % dos pacientes e hipertensão portal em 2-5

% (67, 68). A doença hepática parece afetar apenas os pacientes com mutações graves, porém não foi estabelecida uma correlação genótipo-fenótipo, indicando que outros fatores, genéticos e ambientais, devem contribuir para a sua ocorrência (19, 67).

A maioria dos homens com FC é infértil devido à ausência congênita bilateral dos canais deferentes (28, 30). Entretanto, há relatos de homens férteis portadores de mucoviscidose (30). Mutações no gene da CFTR também foram observadas em homens com ausência congênita bilateral dos canais deferentes, mas sem mucoviscidose, sugerindo que esta alteração pode representar uma forma mais amena da doença (70). Mulheres com FC podem engravidar e levar a gestação a termo desde que tenham condições pulmonares e nutricionais adequadas (24).

A FC apresenta manifestações no sistema muscular esquelético (17). Múltiplos fatores de risco contribuem para a alta prevalência de osteoporose e osteopenia entre os pacientes. Dentre estes, pode-se citar baixo peso corporal, baixas concentrações séricas de vitaminas D e K, baixa ingestão de cálcio, má absorção, quantidade insuficiente de enzimas pancreáticas, uso de álcool, tabaco e cafeína, doença pulmonar moderada a grave, infecções crônicas, CFRD, transplante, uso prolongado de esteroides, baixa quantidade de hormônios sexuais, pouca prática de atividade física – especialmente exercícios com carga – e grande quantidade de fatores ativadores de osteoclastos circulantes devido à doença pulmonar supurativa (4, 71-74).

A baixa densidade óssea está presente em cerca de 30 % dos pacientes, especialmente naqueles mais velhos e menos saudáveis, entretanto baixa idade não é um fator de proteção (75). O risco de fraturas ósseas aumenta a partir da adolescência, sendo que o aumento é maior nas pacientes do sexo feminino (74). A inflamação também contribui para a gravidade da doença óssea (76).

As glândulas sudoríparas não sofrem alterações anatômicas, como os outros órgãos (17). A alteração de função da CFTR impede que o cloreto seja reabsorvido antes do suor chegar à superfície da pele, o sódio também é pouco reabsorvido e o suor dos portadores de FC apresenta alta concentração de cloreto de sódio (28). Esta disfunção está presente desde o nascimento, mas não é progressiva (17).

#### *2.1.4 Tratamento*

A expectativa de vida dos portadores de mucoviscidose sofreu um grande aumento nas últimas décadas, como resultado de diagnóstico precoce, melhorias no tratamento e ao acesso a centros especializados (24, 40).

O tratamento dos pacientes é paliativo, consiste em acompanhamento médico regular e inclui suporte dietético, reposição de enzimas pancreáticas, suplementação vitamínica (vitaminas A, D, E, K) e fisioterapia respiratória para desobstrução das vias aéreas (18, 49). No Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), o acompanhamento dos pacientes adultos é realizado no Ambulatório de Fibrose Cística, com profissionais das áreas de pneumologia, fisioterapia, nutrição e psicologia.

O tratamento das manifestações pulmonares do pacientes deve incluir um programa de fisioterapia respiratória, hidratação, tratamento precoce das infecções respiratórias e fluidificação de secreções (53), além de um controle microbiológico regular (23). Quando há complicações infecciosas é necessário o uso de antibioticoterapia (18).

O aumento da expectativa de vida dos portadores de mucoviscidose deve-se a melhorias no manejo clínico, incluindo o uso de terapias sintomáticas para tratar os efeitos da disfunção da proteína CFTR (17). Novas abordagens terapêuticas incluem o uso de solução

salina hipertônica, mucolíticos ( $\alpha$ -dornase) e antibióticos inalatórios (aztreonam e tobramicina), assim como o uso de antibióticos orais e intravenosos, broncodilatadores e anti-inflamatórios orais (como ibuprofeno) (41, 43, 77-79).

Alfa-dornase (Pulmozyme<sup>®</sup>) é uma solução purificada de desoxirribonuclease recombinante humana para uso inalatório, que reduz a viscosidade do muco por hidrólise do ácido desoxirribonucleico (*deoxyribonucleic acid* – DNA) extracelular, derivado do núcleo de neutrófilos degenerados, presente no muco dos pacientes com FC e um dos responsáveis pelo aumento da sua viscosidade. O uso crônico desta solução melhora o VEF1, leva a uma menor perda de função pulmonar e aumenta a sobrevida dos pacientes com FC, além de ter potenciais efeitos anti-inflamatório e bactericida (53, 80).

Pode ser utilizado suporte respiratório com oxigênio quando houver hipóxia (78). O transplante de pulmão pode ser realizado quando há doença pulmonar avançada, mas não representa a cura da FC (45, 47). A fisioterapia respiratória tem como objetivo melhorar o mecanismo respiratório do paciente, levando a um menor gasto calórico, além de remover muco e exsudato resultante de infecções pulmonares. A remoção de secreções diminui a obstrução brônquica e suas consequências (78).

É indispensável que haja um bom aporte nutricional de modo a proporcionar um melhor prognóstico aos pacientes, já que outros fatores relacionados à FC levam a um aumento das necessidades energéticas, bem como ingestão diminuída de alimentos e aumento de perdas nutricionais (59).

Os pacientes apresentam necessidades calóricas elevadas devido a um aumentado gasto calórico em repouso, infecções bacterianas e má absorção (78). A má nutrição em portadores de FC associa-se à piora da função pulmonar, que afeta a qualidade de vida e longevidade. A dieta deve ser hipercalórica, sem restrição de gorduras e com acréscimo de sal

(78, 81). Os pacientes devem ingerir até 100 % mais calorias do que pessoas sem FC, sendo 15-20 % destas provenientes de proteínas (61).

A dieta hipercalórica deve ser mantida mesmo naqueles pacientes com CFRD. O uso de insulina é o único tratamento recomendado para CFRD, devendo ser realizado de acordo com as necessidades do paciente (38).

A terapia de reposição de enzimas pancreáticas é utilizada no tratamento de indivíduos com insuficiência pancreática. Por convenção, os produtos são denominados de acordo com o seu conteúdo de lipase; mas também contêm protease e amilase. As preparações atuais são baseadas em pancrelipase, a qual é extraída do pâncreas de suínos (57).

Os pacientes com insuficiência pancreática exócrina devem realizar reposição enzimática nas refeições. A dose de enzimas varia conforme o grau de deficiência, idade, peso corporal, genótipo, quantidade de gordura ingerida, preparação comercial utilizada e fatores intestinais que possam afetar a absorção. Para crianças e adultos, a dose recomendada varia de 500-3500 U lipase/kg/refeição (19, 52); não devendo exceder 10000 U lipase/kg/dia (57). O tratamento deve ser mantido indefinidamente (53). É importante que seja avaliada a efetividade da terapia de reposição em pacientes com desnutrição grave (19).

As enzimas devem ser ingeridas durante ou após as refeições que contenham gordura, com a dose completa sendo ingerida nas refeições grandes e doses menores em lanches (11, 19). A ingestão de gordura na dieta é considerada adequada quando equivalente a 40-50 % do total de energia ingerida (11). As cápsulas comercializadas atualmente devem ser ingeridas inteiras, pois apresentam proteção entérica para evitar a inativação pela acidez do pH estomacal (57).

Uma reposição enzimática adequada deve permitir ao paciente comer normalmente ou ingerir uma dieta com alto conteúdo lipídico sem apresentar sintomas gastrointestinais, devem ser obtidos um bom estado nutricional e crescimento adequado (57). No Brasil, as enzimas

pancreáticas encontram-se disponíveis nas seguintes apresentações conforme a concentração em unidades de lipase: pancreatina (10000 ou 25000 U) e pancrelipase (4500, 12000, 18000 ou 20000 U) (53).

Quando os sintomas de má digestão persistirem, devem ser utilizados inibidores da bomba de prótons ou inibidores dos receptores H<sub>2</sub> da histamina que podem reduzir a inativação das enzimas pancreáticas e melhorar a eficácia destas (53, 57).

Pacientes com insuficiência pancreática exócrina também apresentam risco de má absorção de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e devem receber suplementação. De modo a garantir a biodisponibilidade das vitaminas, deve ser realizada a ingestão concomitante de enzimas pancreáticas (11). Na idade adulta há um aumento da prevalência de desnutrição nos pacientes com mucoviscidose devido às complicações inerentes da doença. Se a causa da má nutrição for relacionada à ingestão insuficiente de calorias, podem ser utilizados suplementos hipercalóricos orais (11, 60).

O prognóstico na doença hepática está ligado a uma boa nutrição e intervenções nutricionais adequadas podem melhorar o prognóstico do paciente (67). O principal componente do tratamento de doença hepática na FC é o ácido ursodesoxicólico (*ursodeoxycholic acid* – UDCA – Ursacol<sup>®</sup>). Este medicamento melhora o fluxo de bile, exerce efeito citoprotetor, melhora a excreção de ácidos biliares tóxicos e estimula a secreção de bicarbonato biliar, entretanto não há evidências que comprovem a eficácia do UDCA no manejo da doença hepática dos fibrocísticos. O transplante hepático é indicado quando há doença hepática terminal, antes que ocorra piora da função pulmonar (67, 68).

A terapia para evitar fraturas e prevenir a perda óssea deve ser realizada com a adequação da concentração plasmática de vitamina D e suplementação de cálcio (73). A suplementação de cálcio é indicada quando há deficiência de ingestão na dieta (82) ou osteoporose (83). Também é preconizado que os pacientes pratiquem exercícios físicos

regularmente, tanto por seus possíveis efeitos benéficos sobre a densidade mineral óssea quanto por seus potenciais efeitos de diminuir o declínio na função pulmonar e de melhora da qualidade de vida (84).

Os efeitos da terapia crônica da doença sobre a qualidade de vida devem ser avaliados. Portadores de FC apresentam quadros de ansiedade e o risco de desenvolverem depressão aumenta conforme piora a função pulmonar. Distúrbios psicossociais e respectivo tratamento, quando necessário, com farmacoterapia e terapia cognitiva do comportamento devem ser avaliados regularmente (24, 25).

Atualmente há pesquisas em relação ao uso de agentes anti-inflamatórios e drogas que corrijam o defeito no transporte celular de íons (40). Também estão sendo desenvolvidos moduladores da proteína CFTR, que tem por objetivo aumentar a função desta (17), e agentes que interferem na leitura da fita de DNA pelos ribossomos, permitindo a transcrição, tradução e formação da proteína naqueles pacientes que tem mutações de classe I (37, 41). Já existem agentes, como ivacaftor, VX-809, VX-661 e ataluren que atuam em defeitos do CFTR (85, 86).

O medicamento ivacaftor (VX-770) foi aprovado pela *U S Food and Drug Administration* (FDA – Agência Norte Americana de Administração de Drogas e Alimentos). Esta droga age como potenciadora dos canais CFTR, prolongando o seu tempo de abertura e aumentando a atividade de transporte de cloreto (41, 85, 87). É útil na terapia daqueles pacientes portadores de mutações classe III, como a G551D-CFTR (afeta cerca de 4-5 % dos pacientes com FC). Estima-se que o custo da terapia com ivacaftor fique em torno de US\$ 294.000/paciente/ano (41, 87).

Na figura 3 estão esquematizados os principais sintomas da doença e seus respectivos tratamentos.

Idade	Sintomas	Tratamento e medicações
 <p>Pré-natal</p>	<p>História familiar de FC Hiperecogênica intestinal Dilatação em laço Vesícula biliar não visualizada Calcificações abdominais</p>	<p>Ultrassonografia com Doppler Amniocentese para cariótipo Testes genéticos para FC Rastreo de doenças infecciosas</p>
 <p>Neonatal</p>	<p>Íleo meconial Icterícia prolongada e colestase Insuficiência pancreática Insuficiência de potássio Teste do suor positivo</p>	<p>Ileostomia Ácido ursodesoxicólico Suplementação de enzimas pancreáticas Soluções salinas orais Suplementação de potássio</p>
 <p>Infância</p>	<p>Pneumonia por <i>S. aureus</i> Hiponatremia, hipocloremia Convulsões por alcalose metabólica Falha de crescimento, desidratação Hipertensão intracraniana (por deficiência de vitamina A) Anemia hemolítica (por deficiência de vitamina E)</p>	<p>Cefalosporinas, aminoglicosídeos Inalação de salina hipertônica Fisioterapia respiratória Suplementação de sódio Suplementação de vitaminas A, D, E e K</p>
 <p>Adolescência</p>	<p><i>P. aeruginosa</i> endobrônquica Pansinusite e polipose nasal Obstrução intestinal distal Intussuscepção e prolapso retal Colonopatia fibrosante</p>	<p>Antibióticos inalatórios, mucolíticos Broncodilatadores. Oral / parenteral: macrolídeos, beta-lactâmicos, fluoroquinolonas e ibuprofeno Enema, N-acetilcisteína, redução das enzimas pancreáticas</p>
 <p>Adolescência</p>	<p>Aspergilose broncopulmonar Acrodermatitis, artrite, neuropatia Cálculos renais, osteoporose Puberdade atrasada Diabetes relacionada à FC Doença hepática, hipertensão portal</p>	<p>Corticosteróides orais + itraconazol Terapia inalatória Uso de cálcio e vitamina D Insulina Transplante de fígado</p>
 <p>Adulto</p>	<p>Bronquiectasias e hemoptise Obstrução pulmonar Insuficiência respiratória Pancreatite crônica e recorrente Amenorréia, azoospermia</p>	<p>Desobstrução das vias aéreas Ventilação não invasiva Transplante de pulmão / pâncreas Terapia de alívio da dor Fertilização <i>in vitro</i>, doador de esperma</p>

Drogas mutação-específicas

Terapia gênica

Figura 3. Estratégias de manejo e comorbidades associadas de acordo com a idade do paciente com fibrose cística (FC).

Fonte: adaptado de Antunovic, 2013 (24).

## 2.2 Vitamina D

### 2.2.1 Fontes e metabolismo

A vitamina D tem ação similar aos hormônios esteroides. Pode ser obtida, por humanos, através de duas fontes: produção na pele por irradiação ultravioleta (UV), em que é formada vitamina D<sub>3</sub>, e ingestão na dieta (D<sub>3</sub> ou D<sub>2</sub>) (6, 7, 88). A principal fonte de vitamina D é a produção endógena, a partir da luz UV e apenas uma pequena quantidade é obtida a partir dieta (89). A vitamina D apresenta pequena atividade biológica intrínseca, necessitando de sucessivas hidroxilações para tornar-se ativa (6, 7, 88).

O colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>) tem sua síntese na pele. Seu precursor, o 7-deidrocolesterol, é convertido em pré-vitamina D<sub>3</sub> pela luz UV do sol (UVB 290-315 nm) em uma reação não enzimática. Quando há exposição prolongada à luz solar, ocorre degradação de 75-80 % das moléculas em produtos inertes (90). A pré-vitamina D<sub>3</sub> sofre isomerização em vitamina D<sub>3</sub> (7, 91), este processo não é influenciado por alterações de temperatura externas ao corpo humano, já que ocorre próximo ao leito capilar (92). Após a síntese na pele, a vitamina D<sub>3</sub>, entra na circulação, sendo transportada para o fígado unida à proteína ligante da vitamina D (*vitamin D-binding protein* – VDBP) (88). Entre as fontes alimentares de colecalciferol, destacam-se: peixes gordurosos, ovo e derivados de leite (7).

O ergocalciferol (vitamina D<sub>2</sub>) é produzido por plantas, pela irradiação do ergosterol. Esta forma de vitamina D, assim como a vitamina D<sub>3</sub> pode ser adicionada a leite e derivados e preparações contendo vitaminas (7). Após sua absorção no trato digestório, é incorporado à quilomícrons e transportado ao fígado. O ergocalciferol também circula ligado à VDBP e tem metabolismo similar ao da vitamina D<sub>3</sub> (7, 92). Há uma pequena quantidade desta vitamina nos alimentos não enriquecidos, sendo difícil obter as doses diárias recomendadas com a

alimentação normal (93, 94). A VDBP liga a vitamina D e seus metabólitos, sendo responsável pelo transporte destes no sangue (7). A vitamina D também é capaz de circular ligada à albumina (92).

Na primeira passagem de 75 % da vitamina D pelo fígado, ocorre a hidroxilação inicial para 25-hidroxivitamina D [25(OH)D], catalisada pela enzima D3-25- $\alpha$ -hidroxilase. A 25(OH)D é secretada no plasma e representa o principal metabólito circulante da vitamina D (7, 91, 92). Mais de 50 metabólitos já foram identificados, com meia-vida de circulação variando de horas a semanas (95).

Nos rins, a 25(OH)D é hidroxilada a 1,25-dihidroxivitamina D (1,25-(OH)<sub>2</sub>D), também conhecida como calcitriol, pela enzima 25(OH)1 $\alpha$ -hidroxilase; alguns outros tipos celulares também realizam esta hidroxilação. A hidroxilação nos rins é estimulada pelo paratormônio (PTH), e suprimida pelo fosfato, pelo cálcio e pelo fator de crescimento de fibroblastos 23 (*fibroblast growth factor 23* – FGF23). Em outras células, apresenta mecanismos de controle diferentes (7, 88, 92, 96). Na figura 4 está esquematizado o metabolismo da vitamina D<sub>3</sub>.

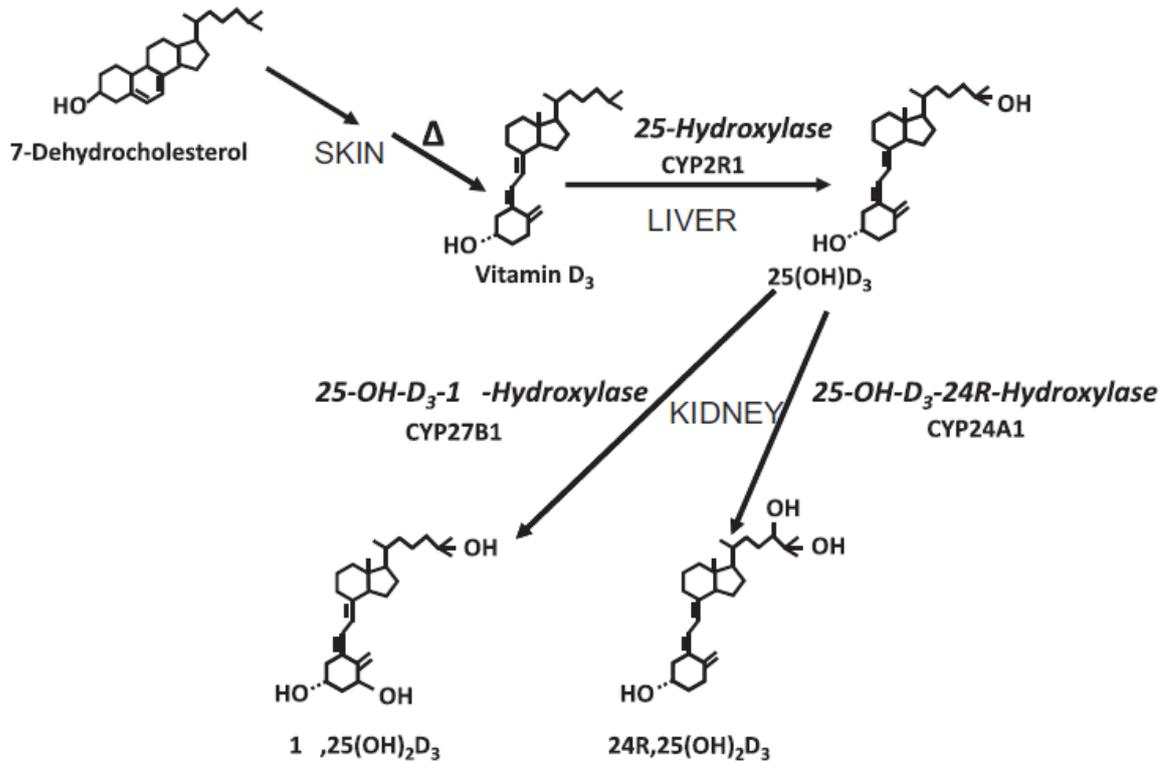


Figura 4. Metabolismo da vitamina D<sub>3</sub> na pele, fígado e rins.

Na pele, o precursor 7-deidrocolesterol é convertido à pré-vitamina D, a qual é convertida em 25-hidroxivitamina D [25(OH)D] no fígado. A 25(OH)D é convertida em 1,25-dihidroxivitamina D (forma ativa) e 24,25-dihidroxivitamina D (forma inativa) nos rins. Fonte: Henry, 2011 (97).

O PTH é secretado em resposta à hipocalcemia e aumenta a reabsorção óssea e a formação de calcitriol (98). A 25(OH)D apresenta atividade biológica limitada, enquanto a 1,25-(OH)<sub>2</sub>D é o principal metabólito ativo, estimulando a absorção intestinal de cálcio e fosfato (7, 91), a reabsorção de cálcio nos rins (98) e participando da reabsorção renal de fosfato (92).

A produção de calcitriol é controlada por mecanismos de retroalimentação. Há retroalimentação direta pela concentração plasmática de cálcio e fósforo e indireta pelo aumento do PTH plasmático resultante de uma diminuição na concentração de cálcio e/ou de 25(OH)D. Quando a concentração de cálcio e fosfato no soro está suficientemente elevada, há

diminuição da produção de 1,25-(OH)<sub>2</sub>D (7, 92). O calcitriol exerce retroalimentação negativa sobre o PTH (92). Na figura 5 estão ilustrados os mecanismos de retroalimentação envolvendo 1,25(OH)<sub>2</sub>D, PTH e cálcio.

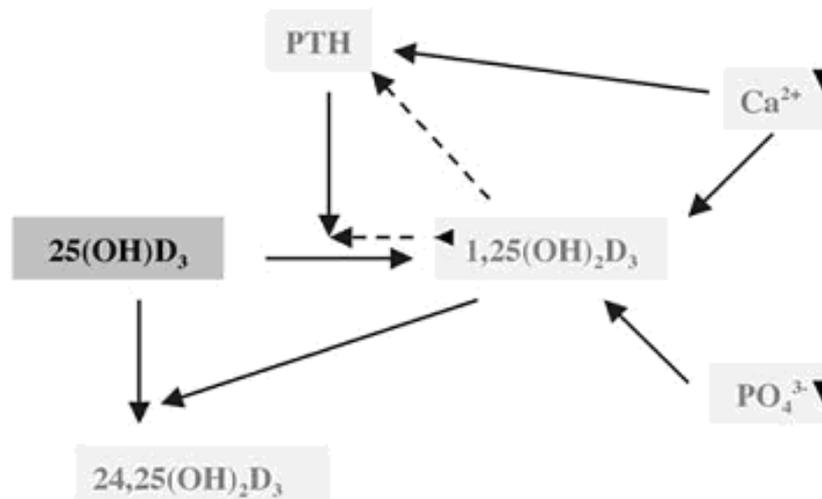


Figura 5. Alças de retroalimentação da 1,25-dihidroxitamina D, paratormônio e cálcio.

Setas contínuas representam retroalimentação positiva. Setas segmentadas representam retroalimentação negativa. Fonte: Premaor, 2006 (92).

Diversos fatores influenciam a produção e biodisponibilidade de vitamina D, dentre eles: estação do ano, exposição solar, uso de roupas, cor da pele, idade, quantidade de 7-deidrocolesterol e enzimas disponíveis, tecido adiposo, doenças renais e hepáticas, doenças granulomatosas, absorção intestinal, osteomalácia induzida por tumores (90).

Há uma variação sazonal na concentração de 25(OH)D, com valores mais elevados no final do verão e valores menores ao fim do inverno (99, 100). A radiação UVB incidente atinge seu valor máximo ao meio-dia do verão, além disso, nesta estação há maior exposição do corpo à luz solar, pela menor quantidade de roupas utilizadas e maior realização de atividades ao ar livre (90). Esta influência da estação do ano pode ser diminuída pelo uso

crônico de suplementação vitamínica (101). A cor e o tecido das roupas utilizadas também interferem na exposição à luz UV, já que apresentam absorção variável desta (90).

Maeda *et. al.* (2007) (102) demonstraram que uma exposição solar de 15 minutos diários é capaz de aumentar significativamente a concentração sérica de vitamina D. A exposição solar é a principal fonte de vitamina D em indivíduos sem FC que não recebem suplementação (89).

Indivíduos com pele mais pigmentada apresentam menores concentrações plasmáticas de 25(OH)D (103, 104). A melanina é capaz de absorver a radiação UV. Deste modo, a observação do fototipo dos pacientes é de fundamental importância, visto que a pigmentação cutânea interfere na produção de vitamina D<sub>3</sub> na pele – quanto mais pigmentada a pele, menos radiação UV será absorvida e menor será a produção de vitamina D<sub>3</sub> (6, 7).

A massa corporal também influencia nos valores de vitamina D. Indivíduos com maior IMC apresentam menores valores séricos de vitamina D. A lipossolubilidade da vitamina D permite a sua biodistribuição e armazenamento no tecido adiposo, sendo assim, indivíduos com maior massa corporal apresentam maior estoque de vitamina D e menor quantidade circulante (92, 105-108).

Em um estudo com portadores da doença de Crohn observou-se que os pacientes apresentavam valores de vitamina D inferiores aos do grupo controle, apesar da ingestão vitamínica ser similar, provavelmente devido a uma reduzida eficiência na absorção de vitamina D. Os pacientes que recebiam suplementação de 25(OH)D não apresentavam a variação sazonal observada nos que não recebiam suplementação (101).

### 2.2.2 Efeitos biológicos

O calcitriol age ligando-se ao receptor de vitamina D (VDR – *vitamin D receptor*) no intestino, um receptor nuclear, e proporciona um aumento na expressão de proteínas que participam no transporte de cálcio do lúmen para o sangue (109). O complexo 1,25(OH)D-VDR regula a expressão de pelo menos 11 genes responsáveis pela homeostase óssea e mineral e também regula a expressão de outros genes em tecidos não-ósseos (110). O VDR está presente em 38 outros tecidos e órgãos, como ossos, músculos, pâncreas, cérebro, rins, pele e hipófise (7).

Efeitos rápidos da vitamina D (não relacionados à síntese proteica) foram observados no intestino, como aumento rápido na absorção de cálcio, e outros órgãos, os quais se acredita serem mediados por um receptor de membrana (7, 92).

O efeito de mineralização óssea pela 1,25-(OH)<sub>2</sub>D parece ser indireto, já que esta age como um hormônio esteroide – estimula a absorção de cálcio e fosfato, especialmente no duodeno (7, 111, 112), permite a mineralização óssea, participa da maturação de colágeno e da matriz celular, além de estimular a formação de osteocalcina e fosfatase óssea. A ação do calcitriol visa manter as concentrações séricas e extracelulares de cálcio e fosfato (92). O aumento de risco de fraturas e a densidade mineral óssea apresentam associação com os valores de 25(OH)D e não com os valores de 1,25(OH)D e dependem da ingestão de cálcio (113).

Estudos recentes têm indicado o envolvimento da vitamina D em outros processos celulares, como secreção hormonal e diferenciação e proliferação celular, (88); além de envolvimento com função imunológica (114, 115), secreção de insulina (7), função muscular (116) e função pulmonar (117).

A toxicidade por vitamina D, embora incomum, apresenta sintomas inespecíficos, como náuseas, vômitos, falta de apetite, constipação, fraqueza e perda de peso. O sintoma mais específico é hipercalcemia levando a um quadro de arritmia, confusão, sede, poliúria e calcificação distrófica. A toxicidade crônica pode levar a calcificação renal e vascular (9, 91, 118). Valores séricos superiores a 100 ng/mL associam-se a hipervitaminose D, para haver intoxicação por vitamina D, os valores séricos deste devem ser superiores a 150 ng/mL (119).

A hipovitaminose D causa osteomalácia e raquitismo (104), além de apresentar associação com doença cardiovascular – havendo uma relação inversa entre vitamina D e hipertensão (120). Estudos epidemiológicos sugerem a associação de deficiência de vitamina D com câncer de cólon e mama e com baixa responsividade da insulina à glicose (7), entretanto não foram observados, em estudos clínicos randomizados, achados que confirmem a associação observada nestes trabalhos (118).

A deficiência de vitamina D apresenta sintomas como hipocalcemia acompanhada de alterações ósseas (9, 10, 109). A deficiência de vitamina D é indicada por baixa concentração de 25(OH)D no soro, que leva a uma ligeira diminuição na concentração plasmática e absorção de cálcio. A diminuição no cálcio leva a um aumento no PTH que promove a produção de 1,25-(OH)<sub>2</sub>D, mantendo a concentração desta última próxima à normalidade em uma condição conhecida como hiperparatireoidismo secundário. O aumento na concentração de PTH leva a um maior *turnover* ósseo, associado à perda óssea (7, 10), assim como diminuição da perda renal de cálcio, aumento da depuração renal de fosfato e diminuição da absorção intestinal deste, havendo hipofosfatemia. Em um quadro mais avançado da doença ocorre hipocalcemia (92).

A relação inversa entre a concentração sérica de 25(OH)D e a de PTH é um achado consistente, por um efeito de homeostase do cálcio, com a concentração de PTH elevando-se para compensar os baixos valores séricos de cálcio decorrentes de hipovitaminose D. Esse

efeito é denominado hiperparatireoidismo secundário quando há valores altos ou normais de PTH associados a valores baixos ou limítrofes de cálcio (103, 121-125). Valores elevados de PTH em portadores de FC já foram relatados em outros trabalhos (4, 126). Uma concentração sérica de PTH superior a 65 pg/mL, associada à hipocalcemia, são características de hiperparatireoidismo secundário (7, 127-130). O tratamento desta condição consiste basicamente em uma dieta pobre em fosfato e suplementação com vitamina D e sais de cálcio (125, 127, 131).

A insuficiência de vitamina D relaciona-se a diversos fatores, como a absorção reduzida da forma presente em suplementos (132). A hipovitaminose D associa-se à maior idade, sexo feminino, altas latitudes, pele mais pigmentada, pouca exposição solar, hábitos alimentares e não uso de suplementação (133). As funções não hormonais da vitamina D sofreriam alterações apenas em deficiências graves desta (92). Um estado de suficiência de vitamina D ocorre quando os níveis de 25(OH)D são altos o bastante para garantir uma homeostase mineral normal, ou seja, absorção de cálcio adequada e concentrações séricas normais de cálcio e fosfato (108).

Na população, observam-se variações na concentração de 25(OH)D, de acordo com a época do ano e a latitude. Para melhor evidenciar a presença de hipovitaminose D, a 25(OH)D deve ser dosada no final do outono ou durante o inverno (14). Durante os meses de inverno, nas latitudes mais altas, a luz solar deve percorrer uma maior distância pela atmosfera, havendo maior absorção da luz UVB, além disso, a maior quantidade de roupas utilizadas nas estações frias diminui a área de pele exposta à luz solar (7, 101, 104, 114). A concentração de PTH no soro sofre variação sazonal concomitante à de vitamina D, porém observa-se uma relação inversa entre elas, com o PTH apresentando maiores valores no fim do outono e no inverno (7).

Evidências atuais sugerem que os níveis de vitamina D em pacientes com doenças crônicas associam-se à gravidade da doença, quanto mais doente o paciente, maior a deficiência. Reid *et al.* (2011) demonstraram que a concentração de 25(OH)D sofre um declínio após eventos inflamatórios sistêmicos (95).

### 2.2.3 Valores recomendados

De acordo com o *The 2011 Report on Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D from the Institute of Medicine* (Relatório de 2011 sobre os Valores de Referência para Ingestão de Cálcio e Vitamina D do Instituto de Medicina), a ingestão diária de vitamina D deve ser entre 600 e 800 UI, acompanhada de uma ingestão de cálcio de 700 a 1.300 mg, de acordo com a faixa etária. Esta ingestão corresponde a uma concentração de 25(OH)D de pelo menos 20 ng/mL (50 nmol/L) considerando-se uma exposição solar mínima. Acredita-se que valores mais elevados não confirmam grandes benefícios aos indivíduos (134). Não há um consenso, entre os autores, a respeito dos valores a ser utilizados para o diagnóstico de hipovitaminose D. A presença de hiperparatireoidismo secundário é necessária e a maioria considera deficiência moderada para valores entre 10-20 ng/mL (25-50 nmol/L) e grave para valores abaixo de 10 ng/mL (25 nmol/L) (92). Acredita-se que valores de vitamina D sérica em torno de 30 ng/mL sejam seguros e efetivos para manter a saúde óssea (96). Os valores séricos de vitamina D em adultos de diversos países são subótimos e a deficiência é mais comum em grupos de risco (135).

#### 2.2.4 Dosagem

A concentração sérica de calcitriol livre é muito baixa e variável, já que mais de 99 % deste metabólito circula ligado à VDBP ou à albumina e sua meia-vida é de cinco a oito horas; ao passo que a concentração de 25(OH)D mantém-se constante já que sua meia-vida é de aproximadamente duas a três semanas (7, 92, 104). A dosagem de 1,25-(OH)2D também é possível, mas indica pouco a respeito do *status* de vitamina D do indivíduo, já que sofre regulação pelo cálcio e PTH e é afetada pela função renal (91, 134, 136).

A dosagem sérica da 25(OH)D circulante é utilizada para monitorar o estado nutricional de vitamina D, já que é bastante fidedigna do *pool* de vitamina D, pois reflete a síntese endógena a partir da luz solar e a ingestão na dieta e em suplementos (91, 92, 101, 134, 136-139). É recomendado que indivíduos em risco de deficiência de vitamina D, como os portadores de FC, tenham sua 25(OH)D dosada, já que o tratamento adequado é capaz de reverter o estado e manifestações clínicas relacionadas (108).

A dosagem de 25(OH)D no soro pode ser realizada por diversas metodologias, como quimioluminescência (QML), radioimunoensaio (RIE) e cromatografia líquida de alta eficiência (*high performance liquid chromatography* – HPLC), esta última é considerada o padrão ouro. Entretanto, falta padronização entre as metodologias, que pode ser minimizada quando o laboratório que realiza a análise possui experiência (7, 92), também deve ser considerado o estabelecimento de valores de referência específicos para cada metodologia (140).

Os métodos não-HPLC geralmente dosam a 25(OH)D total, ou seja, dosam ergocalciferol e colecalciferol juntos. Na HPLC e espectroscopia de massa é possível a dosagem das concentrações individuais de cada analito, devido às diferenças entre as massas destes elementos (139).

Há variação intra e inter ensaios em um mesmo equipamento (coeficiente de variação intra ensaio de 9,1-21,2 % e inter ensaio de 14,0-34,1 % no ensaio LIAISON<sup>®</sup> do equipamento DiaSorin, utilizado para as dosagens do presente estudo) (137). A inacurácia e imprecisão na dosagem de 25(OH)D vêm sendo superadas pelos avanços metodológicos, realização de controle de qualidade e uso de ferramentas de calibração precisas (134). Os valores podem ser expressos em ng/mL ou nmol/mL; para conversão de ng/mL para nmol/mL, multiplicar o valor por 2,5.

### **2.3 Fibrose cística e vitamina D**

Estudos anteriores relataram altas prevalências de hipovitaminose D em portadores de FC (4, 10, 74, 89, 123, 141-145). A 25(OH)D sérica em fibrocísticos apresenta uma diminuição a partir da adolescência, devido à menor exposição solar e a má absorção de lipídios (100), sendo observada uma correlação inversa entre idade e 25(OH)D sérica (146). Adultos portadores de FC apresentam valores de 25(OH) sérica inferiores a controles sadios (147).

A desnutrição é um sério problema entre os pacientes com FC, sendo importante que estes tenham um aporte nutricional adequado de modo a melhorar seu bem-estar e sua sobrevivência (59). Apesar dos cuidados com a alimentação, estudos anteriores relataram baixas concentrações séricas de vitamina D em pacientes fibrocísticos (14). Reiter *et al.* (1985) (99), encontraram baixas concentrações de metabólitos de vitamina D em fibrocísticos, apesar de suplementação vitamínica de 1000 UI/dia; este achado foi considerado como resultante de uma reduzida exposição solar. No mesmo ano, Hanly *et al.* (1985) (143) relataram a persistência de baixa concentração sérica de 25(OH)D em pacientes adultos que utilizavam

suplementação de 800 UI/dia de vitamina D. Em outro estudo observou-se que pacientes fibrocísticos apresentavam concentrações séricas de vitamina D no verão superiores às do inverno, devido à maior exposição à luz solar durante esse período (148).

Apesar da má absorção de vitamina D por portadores de mucoviscidose (149), a suplementação crônica de vitamina D e a reposição de enzimas pancreáticas são fatores que aumentam concentração de 25(OH)D sérica (14, 150). O ergocalciferol apresenta menor capacidade de aumentar a concentração sérica de vitamina D do que o colecalciferol (132, 151), pois possui menor avidéz de ligação pela VDBP e meia-vida na circulação mais curta (11, 13).

Há estudos em que foram relatados valores séricos de cálcio e vitamina D diminuídos ou no limite da normalidade, apesar de suplementação do aporte nutricional com cálcio e ergocalciferol (4). Porém, também existem relatos de valores séricos de vitamina D adequados, quando os pacientes recebiam suplementação de vitamina D e/ou cálcio (152).

Em estudos mais recentes, a prevalência de deficiência de vitamina D em fibrocísticos já foi relatada como sendo de cerca de 90 % (89, 141, 144). A deficiência ocorre independente da estação do ano ou latitude (153). Em pacientes com FC a deficiência de vitamina D pode estar relacionada tanto à má absorção de vitaminas lipossolúveis devido à insuficiência pancreática, quanto a uma insuficiente exposição solar, ao uso de protetor solar, menor produção de vitamina D na pele, à localização geográfica e estação do ano ou à lesão hepática resultando em redução na hidroxilação para 25(OH)D, menor absorção intestinal e insuficiência pancreática exócrina, pouco tecido adiposo com conseqüente menor estoque de vitamina D e diminuição na VDBP (5, 13, 14, 74, 82, 154). Metabolismo anormal de vitamina D, com maior degradação metabólica ou menor quantidade de VDBP, também podem estar presentes (153, 155).

É importante ressaltar que os valores séricos considerados como hipovitaminose D nem sempre são os mesmos de acordo com valores estipulados pelos autores, apresentando uma variação entre os trabalhos encontrados na literatura; para hipovitaminose D com valores inferiores a 20 ng/mL, a prevalência em fibrocísticos é de 50 a 60 % (89). Na figura 4 são mostradas as principais causas de insuficiência de vitamina D na FC.

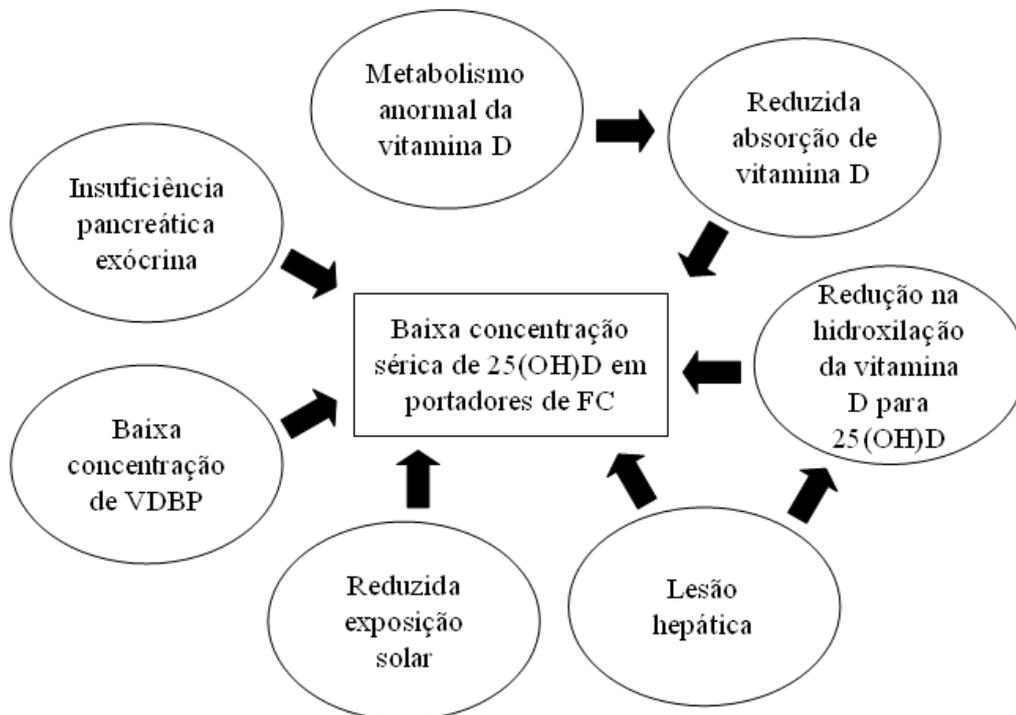


Figura 6. Principais causas de insuficiência de 25-hidroxivitamina D em portadores de fibrose cística.

Fonte: adaptado de Hall, 2010 (14); Gaskin, 1988 (5); Aris, 2004 (155); Gore, 2010 (153).

Uma pequena quantidade de vitamina D é obtida a partir dieta, entretanto, indivíduos com FC e insuficiência pancreática recebem suplementação vitamínica devido à má absorção de vitaminas lipossolúveis (89). Os doentes apresentam uma absorção de vitamina D cerca de 50 % menor comparados a indivíduos normais, dependendo da gravidade da insuficiência

pancreática (147, 149). Uma das possíveis causas de variação na absorção é a quantidade variável de bile e sais biliares observada em indivíduos com mucoviscidose (89).

Atualmente, com a melhora na terapia de reposição de enzimas pancreáticas e a atenção dada aos macronutrientes e aos suplementos calóricos, é possível que os doentes apresentem concentrações suficientes de vitamina D (9).

A suplementação de vitamina D usualmente utiliza ergocalciferol, no Brasil e nos Estados Unidos se utiliza o colecalciferol. Estudos demonstraram maior efetividade do colecalciferol em elevar a 25(OH)D sérica, já que este apresenta maior avidéz de ligação com a VDBP, sendo assim, sua meia-vida na circulação é maior; esta forma é utilizada em suplementos específicos para fibrocísticos (11, 13).

Os doentes com insuficiência pancreática com idade superior a um ano devem ingerir pelo menos 800 UI de vitamina D na forma hidrossolúvel diariamente (11, 71). Atualmente, existem fórmulas comerciais específicas para portadores de FC – Vitamax<sup>TM</sup>, AquADEKs<sup>®</sup> e Source CF<sup>®</sup> (126). No HCPA é utilizada suplementação com Source CF<sup>®</sup>, o qual contém 1000 UI de colecalciferol por cápsula; alguns pacientes utilizam AquADEKs<sup>®</sup>, que contém 400 UI de ergocalciferol por cápsula.

Apesar da suplementação oral, a ingesta de vitamina D dos pacientes com FC muitas vezes é inadequada. A vitamina D não é absorvida devido à insuficiência pancreática exócrina presente em grande parte dos doentes. Com o uso em longo prazo da suplementação e de enzimas pancreáticas, normalmente há uma melhora nos valores de vitamina D (14, 82). Entretanto, já foram observadas baixas concentrações de vitamina D em pacientes recebendo suplementação diária de 2000 UI de vitamina D (82). A exposição à luz solar pode ser utilizada para aumentar a produção de vitamina D quando valores insuficientes são observados mesmo com o uso de suplementação, o tratamento regular também parece ser mais efetivo do que o tempo de exposição (98, 156).

É indicado que todos os pacientes com mucoviscidose realizem anualmente a dosagem de vitamina D sérica, preferencialmente no final do outono ou durante o inverno, já que a concentração 25(OH)D apresenta variação conforme a época do ano e latitude (14). A variação sazonal na vitamina D em indivíduos saudáveis e em pacientes com FC já foi observada (100, 123, 136, 144), esta variação relacionada à exposição solar parece ser mais importante do que a relacionada à doença hepática e a má absorção de gordura (91).

O *The North American Cystic Fibrosis Bone Health Consensus Guidelines* (Consenso Norte-Americano em Saúde Óssea na Fibrose Cística) estipula que a concentração de 25(OH)D deve ser mantida superior a 30 ng/mL, já que este valor representa a supressão ótima de PTH. A *Cystic Fibrosis Foundation* – CFF (Fundação de Fibrose Cística, Estados Unidos) recomenda que os valores de vitamina D sejam mantidos entre 30 e 60 ng/mL (89, 126). Porém, não há estudos a respeito dos efeitos desta prática a longo prazo; e a supressão excessiva do PTH pode afetar negativamente o *turnover* ósseo nos pacientes (72).

Em um consenso da CFF de 2012 foram feitas as seguintes recomendações quanto à avaliação e suplementação de vitamina D: dosagem anual de 25(OH)D ao final do inverno; os pacientes devem ter como valor alvo 25(OH) > 30 ng/mL (> 75 mmol/mL); todos os indivíduos com níveis inferiores ao recomendado devem ter a aderência ao tratamento avaliada, a 25(OH)D deve ser dosada novamente após 3 meses de alteração da dose de vitamina D<sub>3</sub> oral; deve ser prescrito colecalciferol em doses diárias de 800 a 2000 UI ou equivalente semanal a todos os pacientes maiores de 10 anos, podendo haver aumento da dose até 10.000 UI/dia caso o valor alvo de 25(OH)D não seja alcançado nos aderentes à terapia; os pacientes em que ainda assim não houver aumento da 25(OH)D para concentrações superiores à 30 ng/mL devem consultar com um especialista em suplementação para que recebam tratamento alternativo com metabólitos mais polares da vitamina D (157).

Os sintomas de hipovitaminose D não relacionados ao tecido ósseo, tais como função pulmonar diminuída, menor sensibilidade e secreção de insulina, e diminuição da imunidade são relevantes para os fibrocísticos (11, 12). Entretanto, os dados referentes à suplementação de vitamina D em portadores de FC são limitados, não mostrando benefícios ou efeitos adversos decorrentes desta; mais estudos são necessários para a definição da dose ótima de suplementação para pacientes com mucoviscidose (9, 158). Também são sugeridas outras metodologias para elevar a concentração de vitamina D, como o uso de calcitriol e calcifediol e terapia com luz UVB (153).

Grossmann *et al.* (2012) realizaram dois ensaios clínicos randomizados com administração de 250.000 UI de colecalciferol ou placebo a portadores de FC com exacerbação pulmonar. No estudo piloto, foram avaliados os efeitos da alta dose de colecalciferol sobre a 25(OH)D, PTH e cálcio, além de variáveis clínicas. Houve um aumento na concentração de 25(OH)D e observou-se uma tendência a melhores resultados clínicos nos pacientes que receberam tratamento com vitamina D (159). No segundo estudo foi avaliado o impacto da terapia com vitamina D sobre a concentração de peptídios antimicrobianos e de marcadores de inflamação. Os autores concluíram que altas doses de vitamina D associam-se a redução em citocinas inflamatórias (interleucina 6 e fator de necrose tumoral  $\alpha$ ) (160).

Em uma meta-análise realizada recentemente, foram avaliados estudos randomizados ou quase-randomizados comparando pacientes recebendo suplementação de vitamina D com pacientes recebendo placebo, independente da função pancreática exócrina. Foram incluídos três estudos, os quais não eram comparáveis entre si devido a diferenças metodológicas. Não foram encontradas evidências de benefício ou dano nos trabalhos avaliados, os autores sugerem que a aderência aos *Guidelines* referentes à ingestão de vitamina D por portadores de FC seja considerada até que mais evidências estejam disponíveis (161).

Em estudos com portadores de FC, não foi observada relação entre o *status* de vitamina D e o sexo do indivíduo (104). Trabalhos anteriores evidenciaram uma correlação entre a função pulmonar (VEF1) e a concentração sérica de 25(OH)D na população não portadora de mucoviscidose (117) e em portadores de FC (14, 100). Também há evidências de que pacientes com FC que apresentam baixas concentrações de 25(OH)D sérica e são receptores de transplante pulmonar tem aumento de incidência de rejeição aguda e infecções, além de maior mortalidade no ano seguinte ao transplante em relação a receptores com FC que mantiveram a vitamina D sérica normal (162).

A concentração de 25(OH)D sérica em pacientes com FC apresenta um declínio a partir da adolescência, possivelmente devido à má absorção de lipídios e menor exposição à luz solar (100). A deficiência de vitamina D e a doença óssea observadas nos fibrocísticos parecem piorar com o aumento da idade e da gravidade da doença pulmonar (14); piores resultados de VEF1 apresentaram correlação com os valores de vitamina D (136, 154); isto possivelmente deve-se à menor atividade física e exposição solar dos pacientes com doença mais grave (100). Em comparação a indivíduos sem FC, os portadores de mucoviscidose com insuficiência pancreática apresentam menores concentrações de 25(OH)D, maiores concentrações de PTH e menor absorção gastrointestinal de cálcio (147).

Diversos estudos já evidenciaram concentrações elevadas de PTH nos portadores de FC (4, 14, 126). Estes valores devem-se à insuficiência de vitamina D e má absorção de cálcio (126), podendo haver hiperparatireoidismo secundário. O PTH elevado promove um aumento no *turnover* ósseo, associado à perda óssea (7, 10), diminuição da perda renal de cálcio, aumento da depuração renal de fosfato e diminuição da absorção intestinal deste, havendo hipofosfatemia (92).

O cálcio é o quinto elemento mais abundante no corpo humano (112). Pode ser encontrado em leite e derivados, alimentos considerados excelentes para os portadores de FC,

já que contém diversos nutrientes, são fáceis de ingerir e apresentam custo acessível (163). A ingestão de cálcio recomendada para portadores de FC adultos é de 1.300 a 1.500 mg/dia (72, 153), com uma proporção de ingestão cálcio:fosfato de 1:2 (82); a suplementação só é indicada quando este valor não for obtido pela alimentação (4).

Estudos demonstraram ingestão de cálcio variável entre os fibrocísticos (10, 163). Não foram realizados estudos clínicos randomizados de longa duração para investigar a dose diária de cálcio apropriada (153). Acredita-se que a suplementação com cálcio e vitamina D seja capaz de reduzir a perda de massa óssea observada nessa população (164).

A diminuição da absorção intestinal de cálcio relaciona-se à deficiência de vitamina D, à insuficiência pancreática e à possível inflamação das células da mucosa intestinal (4, 5), além de uma possível menor reabsorção renal de cálcio. A hipocalcemia justifica o surgimento de hiperparatireoidismo secundário em grande parte desses pacientes (4). A absorção de cálcio por fibrocísticos apresenta-se dentro da normalidade (152) ou reduzida (4) e há um risco de balanço negativo de cálcio por perdas nas fezes e insuficiência de vitamina D (152).

#### **2.4 Sistematização da revisão bibliográfica**

A revisão bibliográfica foi realizada utilizando as palavras chave citadas nos itens abaixo, também estão listados o número de artigos localizados e os critérios utilizados para seleção das referências utilizadas. Além disso, foram consultadas 2 normas e protocolos brasileiros para o diagnóstico e tratamento da FC e alguns outros artigos de revisão com data anterior a 2010 (selecionados pela barra de indicação da base Pubmed).

1) cystic fibrosis [mesh]: 26956 artigos encontrados na base PubMed (3942 revisões). Foram selecionados os trabalhos de revisão posteriores a 2010 cujo título e *abstract* foram considerados informativos a respeito de características da doença. Dez outros trabalhos foram avaliados. Foram avaliados 96 trabalhos e 79 artigos foram utilizados para a redação do presente trabalho. Pesquisa revisada no dia 02 de junho de 2013.

2) vitamin D [mesh]: 40187 artigos encontrados na base PubMed (5834 revisões). Foram selecionados os trabalhos de revisão posteriores a 2010 cujo título e *abstract* foram considerados informativos. Cinco outros trabalhos foram avaliados. No total foram selecionados 58 trabalhos, dos quais 57 foram utilizados para a redação do presente trabalho. Pesquisa revisada no dia 02 de junho de 2013.

3) cystic fibrosis [mesh] AND vitamin d: 145 artigos encontrados na base PubMed. Todos os *abstracts* foram avaliados. Os estudos experimentais com dosagem de vitamina D e/ou fatores associados em adultos foram selecionados. Todos os trabalhos de revisão posteriores a 1990 foram selecionados. No total foram selecionados 40 trabalhos, dos quais 28 foram utilizados para a redação do presente trabalho.

Oito outros trabalhos foram utilizados para embasar a metodologia utilizada. Foram selecionados somente artigos cujo idioma fosse inglês, espanhol ou português. Os artigos selecionados foram obtidos por *download* dos *websites* das revistas ou solicitados por e-mail ao autor correspondente. No total 172 artigos foram utilizados para a redação do presente trabalho.

### 3 MARCO TEÓRICO

a) O que não se sabe:

- Qual a prevalência de deficiência de vitamina D nos pacientes não pediátricos com FC em nosso meio?
- Quais são os fatores potencialmente associados à deficiência de vitamina D na população estudada em nosso meio?

b) O que foi estudado e estratégia para alcançar a resposta à questão de pesquisa:

Foi realizado um estudo transversal incluindo pacientes com idade igual ou superior a 16 anos, acompanhados no Ambulatório de Fibrose Cística do Serviço de Pneumologia do HCPA. Todos os pacientes com confirmação diagnóstica de FC e não submetidos a transplante pulmonar/hepático, não portadores de insuficiência renal ou em momento de exacerbação pulmonar, foram convidados a participar do estudo.

Após leitura e assinatura do termo de consentimento informado foi realizada colheita de sangue para posterior realização das análises bioquímicas. Variáveis antropométricas foram obtidas no momento da consulta. As variáveis clínicas foram obtidas através dos prontuários dos pacientes e em entrevistas realizadas pelos pesquisadores vinculados ao estudo. Os cálculos dos escores SK e de Brasfield foram realizados pelo pneumologista responsável pelo ambulatório.

#### **4 JUSTIFICATIVA**

A revisão de dados da literatura a respeito da prevalência de hipovitaminose D em pacientes com FC apresenta resultados variáveis. A maioria dos estudos concentra-se na população pediátrica e não há dados a respeito da população fibrocística não pediátrica no Brasil. Na avaliação do paciente com síndrome de má absorção, devem-se conhecer as deficiências de nutrientes funcionais do organismo e os fatores que possam interferir na absorção destes, dentre eles a vitamina D, para que se possa orientar adequadamente os pacientes a uma terapêutica mais eficaz. O conhecimento de tal anormalidade e de seus fatores associados é fundamental para o correto manejo da mucoviscidose.

## **5 OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo primário**

Avaliar as concentrações de 25(OH)D em pacientes não pediátricos portadores de FC.

### **5.2 Objetivos secundários**

- Avaliar as concentrações de PTH, magnésio, cálcio, fósforo, albumina e proteína C-reativa e estabelecer correlação com valores séricos de vitamina D.
- Determinar a ocorrência de hiperparatireoidismo secundário nos pacientes estudados.
- Determinar os fatores clínicos (número de exacerbações, função pulmonar, ocorrência de diarreia, reposição vitamínica, colonização bacteriana, hospitalizações, insuficiência pancreática exócrina e diabetes melitus) que se associam com hipovitaminose D.
- Determinar o impacto do fototipo, exposição solar e suplementação na concentração sérica de 25(OH)D.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO

1. Hamosh A, FitzSimmons SC, Macek M, Jr., Knowles MR, Rosenstein BJ, Cutting GR. Comparison of the clinical manifestations of cystic fibrosis in black and white patients. *J Pediatr*. 1998 Feb;132(2):255-9.
2. Dallalana LT. Fibrose Cística. In: Tarantino AB, editor. *Doenças Pulmonares*. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008. p. 546-71.
3. Balch WE, Roth DM, Hutt DM. Emergent properties of proteostasis in managing cystic fibrosis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2011 Feb;3(2).
4. Aris RM, Lester GE, Dingman S, Ontjes DA. Altered calcium homeostasis in adults with cystic fibrosis. *Osteoporos Int*. 1999 Set;10(2):102-8.
5. Gaskin KJ. The impact of nutrition in cystic fibrosis: a review. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1988;7 Suppl 1:S12-7.
6. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr*. 2008 Apr;87(4):1080S-6S.
7. Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev*. 2001 Aug;22(4):477-501.
8. Moon J. The role of vitamin D in toxic metal absorption: a review. *J Am Coll Nutr*. 1994 Dec;13(6):559-64.
9. Ferguson JH, Chang AB. Vitamin D supplementation for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009(4):CD007298.
10. Cemlyn-Jones J, Gamboa F, Loureiro M, Fontes Baganha M. Evaluation of bone mineral density in cystic fibrosis patients. *Rev Port Pneumol*. 2008 Sep-Oct;14(5):625-34.

11. Munck A. Nutritional considerations in patients with cystic fibrosis. *Expert Rev Respir Med.* 2010 Feb;4(1):47-56.
12. Jones AM, Helm J, Richmond R, Mason-Smith E, Brennan A. Highlights of the North American Cystic Fibrosis Conference 2009. *J R Soc Med.* 2010 Jul;103 Suppl 1:S49-54.
13. Khazai NB, Judd SE, Jeng L, Wolfenden LL, Stecenko A, Ziegler TR, et al. Treatment and prevention of vitamin D insufficiency in cystic fibrosis patients: comparative efficacy of ergocalciferol, cholecalciferol, and UV light. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Jun;94(6):2037-43.
14. Hall WB, Sparks AA, Aris RM. Vitamin d deficiency in cystic fibrosis. *Int J Endocrinol.* 2010;2010:218691.
15. Buzzetti R, Salvatore D, Baldo E, Forneris MP, Lucidi V, Manunza D, et al. An overview of international literature from cystic fibrosis registries: 1. Mortality and survival studies in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2009 Jul;8(4):229-37.
16. Raskin S, Pereira-Ferrari L, Reis FC, Abreu F, Marostica P, Rozov T, et al. Incidence of cystic fibrosis in five different states of Brazil as determined by screening of p.F508del, mutation at the CFTR gene in newborns and patients. *J Cyst Fibros.* 2008 Jan;7(1):15-22.
17. Ashlock MA, Olson ER. Therapeutics development for cystic fibrosis: a successful model for a multisystem genetic disease. *Annu Rev Med.* 2011 Feb 18;62:107-25.
18. Brasil. Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais do Programa Nacional de Triagem Neonatal. In: Saúde Md, editor. Brasília: Ministério da Saúde; 2002. p. 90.
19. Messick J. A 21st-century approach to cystic fibrosis: optimizing outcomes across the disease spectrum. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010 Set;51 Suppl 7:S1-7; quiz 3 p following S7.

20. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics*. 1959 Mar;23(3):545-9.
21. LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM, Marshall BC, Mogayzel PJ, Jr. Diagnostic sweat testing: the Cystic Fibrosis Foundation guidelines. *J Pediatr*. 2007 Jul;151(1):85-9.
22. Cutting GR. Modifier genes in Mendelian disorders: the example of cystic fibrosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2010 Dez;1214:57-69.
23. Centers for Disease Control and Prevention. Newborn screening for cystic fibrosis: evaluation of benefits and risks and recommendations for state newborn screening programs. *MMWR Recomm Rep*. 2004;53(nº. RR-13):[inclusive page numbers].
24. Antunovic SS, Lukac M, Vujovic D. Longitudinal cystic fibrosis care. *Clin Pharmacol Ther*. 2013 Jan;93(1):86-97.
25. Salvatore D, Buzzetti R, Baldo E, Furnari ML, Lucidi V, Manunza D, et al. An overview of international literature from cystic fibrosis registries. Part 4: update 2011. *J Cyst Fibros*. 2012 Dec;11(6):480-93.
26. Wagener JS, Zemanick ET, Sontag MK. Newborn screening for cystic fibrosis. *Curr Opin Pediatr*. 2012 Jun;24(3):329-35.
27. National Institute of Health. CFTR. National Library of Medicine [serial on the Internet]. 2008: Available from: <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/CFTR>.
28. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic fibrosis. *N Engl J Med*. 2005 12 Mai;352(19):1992-2001.
29. Gan KH, Geus WP, Bakker W, Lamers CB, Heijerman HG. Genetic and clinical features of patients with cystic fibrosis diagnosed after the age of 16 years. *Thorax*. 1995 Dez;50(12):1301-4.

30. World Health Organization. Chronic Diseases and Health Promotion. Human Genetics Programme. The molecular genetic epidemiology of cystic fibrosis : report of a joint meeting of WHO/ECFTN/ICF(M)A/ECFS, Genoa, Italy, 19 June 2002. Geneva, Switzerland: Human Genetics Programme, Chronic Diseases and Health Promotion, World Health Organization; 2004.
31. Damas C, Amorim A, Gomes I. Cystic fibrosis: review. *Rev Port Pneumol*. 2008 Jan-Feb;14(1):89-112.
32. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science*. 1989 8 Set;245(4922):1059-65.
33. Wallis C. Atypical cystic fibrosis--diagnostic and management dilemmas. *J R Soc Med*. 2003;96 Suppl 43:2-10.
34. Collawn JF, Fu L, Bebok Z. Targets for cystic fibrosis therapy: proteomic analysis and correction of mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Expert Rev Proteomics*. 2010 Ago;7(4):495-506.
35. Herrmann U, Dockter G, Lammert F. Cystic fibrosis-associated liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2010 Out;24(5):585-92.
36. Paranjape SM, Zeitlin PL. Atypical cystic fibrosis and CFTR-related diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2008 Dec;35(3):116-23.
37. Sloane PA, Rowe SM. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein repair as a therapeutic strategy in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med*. 2010 Nov;16(6):591-7.
38. Noronha RM, Calliari LE, Damaceno N, Muramatu LH, Monte O. Update on diagnosis and monitoring of cystic fibrosis-related diabetes mellitus (CFRD). *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2011 Nov;55(8):613-21.

39. Wilschanski M. Small molecules to treat cystic fibrosis. *Proc Am Thorac Soc.* 2010 Nov;7(6):399-403.
40. Davies JC, Geddes DM, Alton EW. Gene therapy for cystic fibrosis. *J Gene Med.* 2001 Sep-Oct;3(5):409-17.
41. Hoffman LR, Ramsey BW. Cystic fibrosis therapeutics: the road ahead. *Chest.* 2013 Jan;143(1):207-13.
42. Mayer-Hamblett N, Rosenfeld M, Emerson J, Goss CH, Aitken ML. Developing cystic fibrosis lung transplant referral criteria using predictors of 2-year mortality. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 15 Dez;166(12 Pt 1):1550-5.
43. Doring G, Flume P, Heijerman H, Elborn JS. Treatment of lung infection in patients with cystic fibrosis: current and future strategies. *J Cyst Fibros.* 2012 Dec;11(6):461-79.
44. von Drygalski A, Biller J. Anemia in cystic fibrosis: incidence, mechanisms, and association with pulmonary function and vitamin deficiency. *Nutr Clin Pract.* 2008 Oct-Nov;23(5):557-63.
45. Salvatore D, Buzzetti R, Baldo E, Forneris MP, Lucidi V, Manunza D, et al. An overview of international literature from cystic fibrosis registries. Part 3. Disease incidence, genotype/phenotype correlation, microbiology, pregnancy, clinical complications, lung transplantation, and miscellanea. *J Cyst Fibros.* 2011 Mar;10(2):71-85.
46. Freire ID, Abreu ESFA, Araujo MA. Comparison among pulmonary function test results, the Shwachman-Kulczycki score and the Brasfield score in patients with cystic fibrosis. *J Bras Pneumol.* 2008 Mai;34(5):280-7.
47. Mogayzel PJ, Jr., Flume PA. Update in cystic fibrosis 2009. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010 15 Mar;181(6):539-44.
48. Nousia-Arvanitakis S. Cystic fibrosis and the pancreas: recent scientific advances. *J Clin Gastroenterol.* 1999 Sep;29(2):138-42.

49. Leung PS. Common pancreatic disease. *Adv Exp Med Biol.* 2010;690:29-51.
50. Reddy MM, Light MJ, Quinton PM. Activation of the epithelial Na<sup>+</sup> channel (ENaC) requires CFTR Cl<sup>-</sup> channel function. *Nature.* 1999 Nov 18;402(6759):301-4.
51. Choi JY, Muallem D, Kiselyov K, Lee MG, Thomas PJ, Muallem S. Aberrant CFTR-dependent HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> transport in mutations associated with cystic fibrosis. *Nature.* 2001 Mar 1;410(6824):94-7.
52. Imrie CW, Connett G, Hall RI, Charnley RM. Review article: enzyme supplementation in cystic fibrosis, chronic pancreatitis, pancreatic and periampullary cancer. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010 Nov;32 Suppl 1:1-25.
53. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas - fibrose cística – manifestações pulmonares (Anexo I) e Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas - fibrose cística – insuficiência pancreática (Anexo II). (2010).
54. Ooi CY, Durie PR. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in pancreatitis. *J Cyst Fibros.* 2012 Sep;11(5):355-62.
55. Campos JVM. Defeitos entéricos da absorção. Parte 5. In: Dani R, Castro LdP, editors. *Gastroenterologia Clínica.* 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1993. p. 725-32.
56. Gasbarrini G, Corazza GR. Intestinal malabsorption and related clinical syndromes. *Ann Ital Med Int.* 1993 Jul-Sep;8(3):185-8.
57. Kuhn RJ, Gelrud A, Munck A, Caras S. CREON (Pancrelipase Delayed-Release Capsules) for the treatment of exocrine pancreatic insufficiency. *Adv Ther.* 2010 Dez;27(12):895-916.
58. Zemel BS, Kawchak DA, Cnaan A, Zhao H, Scanlin TF, Stallings VA. Prospective evaluation of resting energy expenditure, nutritional status, pulmonary function, and genotype in children with cystic fibrosis. *Pediatr Res.* 1996 Oct;40(4):578-86.

59. FIATES GMR, BARBOSA E, AULER F, FEITEN SF, MIRANDA F. Estado Nutricional e Ingestão Alimentar de Pessoas Com Fibrose Cística. *Rev Nutr.* 2001;14(2):95-101.
60. Bell SC, Robinson PJ. Exacerbations in cystic fibrosis: 2 . prevention. *Thorax.* 2007 Aug;62(8):723-32.
61. Hayek KM. Medical nutrition therapy for cystic fibrosis: beyond pancreatic enzyme replacement therapy. *J Am Diet Assoc.* 2006 Aug;106(8):1186-8.
62. Kappler M, Griese M. Nutritional supplements in cystic fibrosis. *BMJ.* 2006 Mar 18;332(7542):618-9.
63. Salvatore D, Buzzetti R, Baldo E, Forneris MP, Lucidi V, Manunza D, et al. An overview of international literature from cystic fibrosis registries 2. Neonatal screening and nutrition/growth. *J Cyst Fibros.* 2010 Mar;9(2):75-83.
64. Moran A, Becker D, Casella SJ, Gottlieb PA, Kirkman MS, Marshall BC, et al. Epidemiology, pathophysiology, and prognostic implications of cystic fibrosis-related diabetes: a technical review. *Diabetes Care.* 2010 Dec;33(12):2677-83.
65. Brunzell C, Hardin DS, Moran A, Schindler T. Managing Cystic Fibrosis-Related Diabetes (CFRD): An Instruction Guide for Patients and Families. Cystic Fibrosis Foundation [serial on the Internet]. 2011: Available from: <http://www.cff.org/UploadedFiles/LivingWithCF/StayingHealthy/Diet/Diabetes/CFRD-Manual-5th-edition.pdf>.
66. O'Riordan SM, Robinson PD, Donaghue KC, Moran A. Management of cystic fibrosis-related diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes.* 2009 Sep;10 Suppl 12:43-50.
67. Rowland M, Bourke B. Liver disease in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med.* 2011 Nov;17(6):461-6.

68. Kochar R, Fallon MB. Pulmonary diseases and the liver. *Clin Liver Dis.* 2011 Feb;15(1):21-37.
69. Lenaerts C. Cystic Fibrosis-Associated Liver Disease. *Pediatric Hepatology* [serial on the Internet]. 2005 [cited 2005 set]; Available from: <http://www.md.ucl.ac.be/pedihepa/CysticFibrosis.htm#clinical>.
70. Leonardi S, Bombace V, Rotolo N, Sciuto C, La Rosa M. Congenital absence of vas deferens and cystic fibrosis. *Minerva Pediatr.* 2003 Feb;55(1):43-7, 7-50.
71. Aris RM, Merkel PA, Bachrach LK, Borowitz DS, Boyle MP, Elkin SL, et al. Guide to bone health and disease in cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Mar;90(3):1888-96.
72. Haworth CS. Impact of cystic fibrosis on bone health. *Curr Opin Pulm Med.* 2010 Nov;16(6):616-22.
73. Paccou J, Zeboulon N, Combescure C, Gossec L, Cortet B. The prevalence of osteoporosis, osteopenia, and fractures among adults with cystic fibrosis: a systematic literature review with meta-analysis. *Calcif Tissue Int.* 2010 Jan;86(1):1-7.
74. Javier RM, Jacquot J. Bone disease in cystic fibrosis: what's new? *Joint Bone Spine.* 2011 Oct;78(5):445-50.
75. Lacativa PG, Farias ML. Osteoporosis and inflammation. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2010 Mar;54(2):123-32.
76. Shead EF, Haworth CS, Gunn E, Bilton D, Scott MA, Compston JE. Osteoclastogenesis during infective exacerbations in patients with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 Aug 1;174(3):306-11.
77. Ashlock MA, Beall RJ, Hamblett NM, Konstan MW, Penland CM, Ramsey BW, et al. A pipeline of therapies for cystic fibrosis. *Semin Respir Crit Care Med.* 2009 Out;30(5):611-26.

78. Haack A, Carvalho Garbi Novaes MR. Multidisciplinary care in cystic fibrosis: a clinical-nutrition review. *Nutr Hosp.* 2012 Mar-Apr;27(2):362-71.
79. Hewer SL. Inhaled antibiotics in cystic fibrosis: what's new? *J R Soc Med.* 2012 Jun;105 Suppl 2:S19-24.
80. Wagener JS, Kupfer O. Dornase alfa (Pulmozyme). *Curr Opin Pulm Med.* 2012 Nov;18(6):609-14.
81. Reis FJC, Damaceno N. Fibrose cística. *J pediatr (Rio J).* 1998;74(1):S76-S94.
82. Sinaasappel M, Stern M, Littlewood J, Wolfe S, Steinkamp G, Heijerman HG, et al. Nutrition in patients with cystic fibrosis: a European Consensus. *J Cyst Fibros.* 2002 Jun;1(2):51-75.
83. Oliveira G, Oliveira C. Nutrition, cystic fibrosis and the digestive tract. *Nutr Hosp.* 2008 May;23 Suppl 2:71-86.
84. Rand S, Prasad SA. Exercise as part of a cystic fibrosis therapeutic routine. *Expert Rev Respir Med.* 2012 Jun;6(3):341-51; quiz 52.
85. Pettit RS. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-modifying medications: the future of cystic fibrosis treatment. *Ann Pharmacother.* 2012 Jul-Aug;46(7-8):1065-75.
86. Prickett M, Jain M. Gene therapy in cystic fibrosis. *Transl Res.* 2013 Apr;161(4):255-64.
87. Barrett PM, Alagely A, Topol EJ. Cystic fibrosis in an era of genomically guided therapy. *Hum Mol Genet.* 2012 Oct 15;21(R1):R66-71.
88. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, et al. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr Rev.* 2008 Oct;29(6):726-76.

89. Boyle MP, Noschese ML, Watts SL, Davis ME, Stenner SE, Lechtzin N. Failure of high-dose ergocalciferol to correct vitamin D deficiency in adults with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Jul 15;172(2):212-7.
90. Tsiaras WG, Weinstock MA. Factors influencing vitamin D status. *Acta Derm Venereol*. 2011 Mar;91(2):115-24.
91. Carr SB, McBratney J. The role of vitamins in cystic fibrosis. *J R Soc Med*. 2000;93 Suppl 38:14-9.
92. Premaor MO, Furlanetto TW. Vitamin D deficiency in adults: to better understand a new presentation of an old disease. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2006 Feb;50(1):25-37.
93. Nicar MJ, Pak CY. Calcium bioavailability from calcium carbonate and calcium citrate. *J Clin Endocrinol Metab*. 1985 Aug;61(2):391-3.
94. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2004 Dec;80(6 Suppl):1678S-88S.
95. Reid D, Toole BJ, Knox S, Talwar D, Harten J, O'Reilly DS, et al. The relation between acute changes in the systemic inflammatory response and plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations after elective knee arthroplasty. *Am J Clin Nutr*. 2011 May;93(5):1006-11.
96. Bikle DD. Vitamin D and bone. *Curr Osteoporos Rep*. 2012 Jun;10(2):151-9.
97. Henry HL. Regulation of vitamin D metabolism. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011 Aug;25(4):531-41.
98. Gronowitz E, Larko O, Gilljam M, Hollsing A, Lindblad A, Mellstrom D, et al. Ultraviolet B radiation improves serum levels of vitamin D in patients with cystic fibrosis. *Acta Paediatr*. 2005 May;94(5):547-52.

99. Reiter EO, Brugman SM, Pike JW, Pitt M, Dokoh S, Haussler MR, et al. Vitamin D metabolites in adolescents and young adults with cystic fibrosis: effects of sun and season. *J Pediatr*. 1985 Jan;106(1):21-6.
100. Wolfenden LL, Judd SE, Shah R, Sanyal R, Ziegler TR, Tangpricha V. Vitamin D and bone health in adults with cystic fibrosis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008 Sep;69(3):374-81.
101. McCarthy D, Duggan P, O'Brien M, Kiely M, McCarthy J, Shanahan F, et al. Seasonality of vitamin D status and bone turnover in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005 May 1;21(9):1073-83.
102. Maeda SS, Kunii IS, Hayashi L, Lazaretti-Castro M. The effect of sun exposure on 25-hydroxyvitamin D concentrations in young healthy subjects living in the city of Sao Paulo, Brazil. *Braz J Med Biol Res*. 2007 Dec;40(12):1653-9.
103. Gutierrez OM, Farwell WR, Kermah D, Taylor EN. Racial differences in the relationship between vitamin D, bone mineral density, and parathyroid hormone in the National Health and Nutrition Examination Survey. *Osteoporos Int*. 2011 Jun;22(6):1745-53.
104. French D, Gorgi AW, Ihenetu KU, Weeks MA, Lynch KL, Wu AH. Vitamin D status of county hospital patients assessed by the DiaSorin LIAISON(R) 25-hydroxyvitamin D assay. *Clin Chim Acta*. 2011 Jan 30;412(3-4):258-62.
105. Moan J, Dahlback A, Lagunova Z, Cicarma E, Porojnicu AC. Solar radiation, vitamin D and cancer incidence and mortality in Norway. *Anticancer Res*. 2009 Sep;29(9):3501-9.
106. Crutchley RD, Gathe JC, Mayberry C, Trieu A, Abughosh S, Garey K. Risk Factors for Vitamin D Deficiency in HIV-Infected Patients in the South Central United States. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2011 Aug 31.
107. Baker JF, George M, Baker DG, Toedter G, Von Feldt JM, Leonard MB. Associations between body mass, radiographic joint damage, adipokines and risk factors for bone loss in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2011 Sep 2.

108. Cianferotti L, Marcocci C. Subclinical vitamin D deficiency. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2012 Aug;26(4):523-37.
109. Lips P, van Schoor NM. The effect of vitamin D on bone and osteoporosis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011 Aug;25(4):585-91.
110. Haussler MR, Jurutka PW, Mizwicki M, Norman AW. Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of 1alpha,25(OH)(2)vitamin D(3): genomic and non-genomic mechanisms. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011 Aug;25(4):543-59.
111. Chandra P, Wolfenden LL, Ziegler TR, Tian J, Luo M, Stecenko AA, et al. Treatment of vitamin D deficiency with UV light in patients with malabsorption syndromes: a case series. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2007 Oct;23(5):179-85.
112. Christakos S. Mechanism of action of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on intestinal calcium absorption. *Rev Endocr Metab Disord.* 2012 Mar;13(1):39-44.
113. Turner AG, Anderson PH, Morris HA. Vitamin D and bone health. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 2012 Apr;243:65-72.
114. Khoo AL, Chai LY, Koenen HJ, Sweep FC, Joosten I, Netea MG, et al. Regulation of cytokine responses by seasonality of vitamin D status in healthy individuals. *Clin Exp Immunol.* 2011 Apr;164(1):72-9.
115. Hewison M. An update on vitamin D and human immunity. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2012 Mar;76(3):315-25.
116. Holick MF. The vitamin D epidemic and its health consequences. *J Nutr.* 2005 Nov;135(11):2739S-48S.
117. Black PN, Scragg R. Relationship between serum 25-hydroxyvitamin d and pulmonary function in the third national health and nutrition examination survey. *Chest.* 2005 Dec;128(6):3792-8.

118. Aloia JF. Clinical Review: The 2011 report on dietary reference intake for vitamin D: where do we go from here? *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Oct;96(10):2987-96.
119. Ozkan B, Hatun S, Bereket A. Vitamin D intoxication. *Turk J Pediatr.* 2012 Mar-Apr;54(2):93-8.
120. Muller DN, Kleinewietfeld M, Kvakan H. Vitamin D review. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2011 Jun;12(2):125-8.
121. Reis JP, von Muhlen D, Miller ER, 3rd. Relation of 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone levels with metabolic syndrome among US adults. *Eur J Endocrinol.* 2008 Jul;159(1):41-8.
122. Fewtrell MS, Benden C, Williams JE, Chomtho S, Ginty F, Nigdikar SV, et al. Undercarboxylated osteocalcin and bone mass in 8-12 year old children with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2008 Jul;7(4):307-12.
123. Gordon CM, Anderson EJ, Herlyn K, Hubbard JL, Pizzo A, Gelbard R, et al. Nutrient status of adults with cystic fibrosis. *J Am Diet Assoc.* 2007 Dec;107(12):2114-9.
124. Neri AS, Lori I, Festini F, Masi L, Brandi ML, Galici V, et al. Bone mineral density in cystic fibrosis patients under the age of 18 years. *Minerva Pediatr.* 2008 Apr;60(2):147-54.
125. Cordellat IM. Hyperparathyroidism: primary or secondary disease? *Reumatol Clin.* 2012 Sep-Oct;8(5):287-91.
126. Aris RM, Ontjes DA, Buell HE, Blackwood AD, Lark RK, Caminiti M, et al. Abnormal bone turnover in cystic fibrosis adults. *Osteoporos Int.* 2002;13(2):151-7.
127. Saliba W, El-Haddad B. Secondary hyperparathyroidism: pathophysiology and treatment. *J Am Board Fam Med.* 2009 Sep-Oct;22(5):574-81.
128. Aloia JF, Feuerman M, Yeh JK. Reference range for serum parathyroid hormone. *Endocr Pract.* 2006 Mar-Apr;12(2):137-44.

129. Dugdale DC, Zieve D. Calcium - blood test. MedlinePlus [serial on the Internet]. 2011: Available from: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003477.htm>.
130. Tangpricha V, Pearce EN, Chen TC, Holick MF. Vitamin D insufficiency among free-living healthy young adults. *Am J Med.* 2002 Jun 1;112(8):659-62.
131. Slatopolsky E, Brown A, Dusso A. Pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int Suppl.* 1999 Dec;73:S14-9.
132. Trang HM, Cole DE, Rubin LA, Pierratos A, Siu S, Vieth R. Evidence that vitamin D3 increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D2. *Am J Clin Nutr.* 1998 Oct;68(4):854-8.
133. Mithal A, Wahl DA, Bonjour JP, Burckhardt P, Dawson-Hughes B, Eisman JA, et al. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporos Int.* 2009 Nov;20(11):1807-20.
134. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Jan;96(1):53-8.
135. van Schoor NM, Lips P. Worldwide vitamin D status. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011 Aug;25(4):671-80.
136. Maqbool A, Stallings VA. Update on fat-soluble vitamins in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med.* 2008 Nov;14(6):574-81.
137. Souberbielle JC, Fayol V, Sault C, Lawson-Body E, Kahan A, Cormier C. Assay-specific decision limits for two new automated parathyroid hormone and 25-hydroxyvitamin D assays. *Clin Chem.* 2005 Feb;51(2):395-400.
138. Sethuraman U. Vitamins. *Pediatr Rev.* 2006 Feb;27(2):44-55.
139. Heaney RP. Assessing vitamin D status. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2011 Sep;14(5):440-4.

140. Lai JK, Lucas RM, Clements MS, Harrison SL, Banks E. Assessing vitamin D status: pitfalls for the unwary. *Mol Nutr Food Res*. 2010 Aug;54(8):1062-71.
141. Donovan DS, Jr., Papadopoulos A, Staron RB, Adesso V, Schulman L, McGregor C, et al. Bone mass and vitamin D deficiency in adults with advanced cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Jun;157(6 Pt 1):1892-9.
142. Douros K, Loukou I, Nicolaidou P, Tzonou A, Doudounakis S. Bone mass density and associated factors in cystic fibrosis patients of young age. *J Paediatr Child Health*. 2008 Dec;44(12):681-5.
143. Hanly JG, McKenna MJ, Quigley C, Freaney R, Muldowney FP, FitzGerald MX. Hypovitaminosis D and response to supplementation in older patients with cystic fibrosis. *Q J Med*. 1985 Jul;56(219):377-85.
144. Rovner AJ, Stallings VA, Schall JI, Leonard MB, Zemel BS. Vitamin D insufficiency in children, adolescents, and young adults with cystic fibrosis despite routine oral supplementation. *Am J Clin Nutr*. 2007 Dec;86(6):1694-9.
145. West NE, Lechtzin N, Merlo CA, Turowski JB, Davis ME, Ramsay MZ, et al. Appropriate goal level for 25-hydroxyvitamin D in cystic fibrosis. *Chest*. 2011 Aug;140(2):469-74.
146. Boas SR, Hageman JR, Ho LT, Liveris M. Very high-dose ergocalciferol is effective for correcting vitamin D deficiency in children and young adults with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2009 Jul;8(4):270-2.
147. Brown SA, Ontjes DA, Lester GE, Lark RK, Hensler MB, Blackwood AD, et al. Short-term calcitriol administration improves calcium homeostasis in adults with cystic fibrosis. *Osteoporos Int*. 2003 Jun;14(5):442-9.
148. Thompson GN. Determinants of serum vitamin D levels in preadolescent cystic fibrosis children. *Acta Paediatr Scand*. 1987 Nov;76(6):962-5.

149. Lark RK, Lester GE, Ontjes DA, Blackwood AD, Hollis BW, Hensler MM, et al. Diminished and erratic absorption of ergocalciferol in adult cystic fibrosis patients. *Am J Clin Nutr*. 2001 Mar;73(3):602-6.
150. Dorlochter L, Aksnes L, Fluge G. Faecal elastase-1 and fat-soluble vitamin profiles in patients with cystic fibrosis in Western Norway. *Eur J Nutr*. 2002 Aug;41(4):148-52.
151. Armas LA, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Nov;89(11):5387-91.
152. Hillman LS, Cassidy JT, Popescu MF, Hewett JE, Kyger J, Robertson JD. Percent true calcium absorption, mineral metabolism, and bone mineralization in children with cystic fibrosis: effect of supplementation with vitamin D and calcium. *Pediatr Pulmonol*. 2008 Aug;43(8):772-80.
153. Gore AP, Kwon SH, Stenbit AE. A roadmap to the brittle bones of cystic fibrosis. *J Osteoporos*. 2010;2011:926045.
154. Stephenson A, Brotherwood M, Robert R, Atenafu E, Corey M, Tullis E. Cholecalciferol significantly increases 25-hydroxyvitamin D concentrations in adults with cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr*. 2007 May;85(5):1307-11.
155. Aris R, Lester G, Ontjes D. Treatment of bone disease in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med*. 2004 Nov;10(6):524-30.
156. Robberecht E, Vandewalle S, Wehlou C, Kaufman JM, De Schepper J. Sunlight is an important determinant of vitamin D serum concentrations in cystic fibrosis. *Eur J Clin Nutr*. 2011 May;65(5):574-9.
157. Tangpricha V, Kelly A, Stephenson A, Maguiness K, Enders J, Robinson KA, et al. An update on the screening, diagnosis, management, and treatment of vitamin D deficiency in individuals with cystic fibrosis: evidence-based recommendations from the Cystic Fibrosis Foundation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Apr;97(4):1082-93.

158. Dodge JA, Turck D. Cystic fibrosis: nutritional consequences and management. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2006;20(3):531-46.
159. Grossmann RE, Zughailer SM, Kumari M, Seydafkan S, Lyles RH, Liu S, et al. Pilot study of vitamin D supplementation in adults with cystic fibrosis pulmonary exacerbation: A randomized, controlled trial. *Dermatoendocrinol.* 2012 Apr 1;4(2):191-7.
160. Grossmann RE, Zughailer SM, Liu S, Lyles RH, Tangpricha V. Impact of vitamin D supplementation on markers of inflammation in adults with cystic fibrosis hospitalized for a pulmonary exacerbation. *Eur J Clin Nutr.* 2012 Sep;66(9):1072-4.
161. Ferguson JH, Chang AB. Vitamin D supplementation for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;4:CD007298.
162. Lowery EM, Bemiss B, Cascino T, Durazo-Arvizu RA, Forsythe SM, Alex C, et al. Low vitamin D levels are associated with increased rejection and infections after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2012 Jul;31(7):700-7.
163. Robberecht E, Clercq DD, Genetello M. Historical overview and update on nutrition in cystic fibrosis: zooming in on small. *Acta Sci Pol, Technol Aliment.* 2011;10(3):407-14.
164. Haworth CS, Jones AM, Adams JE, Selby PL, Webb AK. Randomised double blind placebo controlled trial investigating the effect of calcium and vitamin D supplementation on bone mineral density and bone metabolism in adult patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2004 Dec;3(4):233-6.
165. Pereira CAC, Barreto SP, Simões JG, Pereira FWL, Gerstler JG, Nakatan J. Valores de referência para espirometria em uma amostra da população brasileira adulta. *J Pneumol.* 1992;18(1):10-22.
166. Hollis BW. Measuring 25-hydroxyvitamin D in a clinical environment: challenges and needs. *Am J Clin Nutr.* 2008 Aug;88(2):507S-10S.

167. Arabi A, El Rassi R, El-Hajj Fuleihan G. Hypovitaminosis D in developing countries- prevalence, risk factors and outcomes. *Nat Rev Endocrinol*. 2010 Oct;6(10):550-61.
168. Plotnikoff GA, Quigley JM. Prevalence of severe hypovitaminosis D in patients with persistent, nonspecific musculoskeletal pain. *Mayo Clin Proc*. 2003 Dec;78(12):1463-70.
169. Chiu KC, Chu A, Go VL, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr*. 2004 May;79(5):820-5.
170. Looker AC, Dawson-Hughes B, Calvo MS, Gunter EW, Sahyoun NR. Serum 25-hydroxyvitamin D status of adolescents and adults in two seasonal subpopulations from NHANES III. *Bone*. 2002 May;30(5):771-7.
171. Fuleihan GE, Deeb M. Hypovitaminosis D in a sunny country. *N Engl J Med*. 1999 Jun 10;340(23):1840-1.

**7 ARTIGO ORIGINAL**

O presente trabalho foi submetido para apreciação na revista *The Clinical Respiratory Journal* (fator de impacto 1,658) e encontra-se em avaliação pelos revisores desta.

## **Hypovitaminosis D in cystic fibrosis patients**

### **Hypovitaminosis D in patients with cystic fibrosis: a cross-section study in south Brazil**

Natália Aydos Marcondes <sup>I</sup>, Fabiana Viegas Raimundo <sup>I, II</sup>, Roberta Vanacor <sup>I</sup>, Bruno Pellini Corte <sup>III</sup>, Aline Maria Ascoli <sup>IV</sup>, Aline Zimmermann de Azambuja <sup>IV</sup>, Luciano Scopel <sup>IV</sup>, Patrícia Vargas dos Santos <sup>IV</sup>, Paulo de Tarso Roth Dalcin <sup>III, V</sup>, Liane Nanci Rotta <sup>VI</sup>, Tania Weber Furlanetto <sup>III</sup>, Gustavo Adolpho Moreira Faulhaber<sup>I, IV</sup>

<sup>I</sup> Programa de Pós Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

<sup>II</sup> Departamento de Nutrição, Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

<sup>III</sup> Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

<sup>IV</sup> Serviço de Medicina Interna, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

<sup>V</sup> Serviço de Pneumologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

<sup>VI</sup> Departamento de Métodos Diagnósticos, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

Gustavo Adolpho Moreira Faulhaber (corresponding author)

Serviço de Medicina Interna, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350, 90035-903, Porto Alegre, Brazil.

e-mail: gfaulhaber@hcpa.ufrgs.br

Fone: +55 51 33598152, fax: +55 51 33598152

### **FINANCIAL SUPPORT**

Incentive Fund for Research and Events of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE/HCPA)

### **AUTHOR CONTRIBUTIONS**

Marcondes NA was responsible for medical literature search, data acquisition, data interpretation and writing of the manuscript. Raimundo FR, Vanacor R, Corte, Ascoli AM, Azambuja AZ, Scopel L and Santos PV were responsible for data acquisition. Dalcin PTR and Rotta LN were responsible for English correction and writing of the manuscript. Furlanetto TW and Faulhaber GAM were responsible for analyses, data interpretation, writing and final revision of the manuscript. All authors have approved the final version of the manuscript.

## **Hypovitaminosis D in cystic fibrosis patients**

### **HYPOVITAMINOSIS D IN PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS: A CROSS-SECTION STUDY IN SOUTH BRAZIL**

Natália Aydos Marcondes 1, Fabiana Viegas Raimundo 1, 2, Roberta Vanacor 1, Bruno Pellini Corte 3, Aline Maria Ascoli 4, Aline Zimmermann de Azambuja 4, Luciano Scopel 4, Patrícia Vargas dos Santos 4, Paulo de Tarso Roth Dalcin 3, 5, Liane Nanci Rotta 6, Tania Weber Furlanetto 3, Gustavo Adolpho Moreira Faulhaber 1, 4

1 Programa de Pós Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

2 Departamento de Nutrição, Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

3 Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

4 Serviço de Medicina Interna, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

5 Serviço de Pneumologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

6 Departamento de Métodos Diagnósticos, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

Gustavo Adolpho Moreira Faulhaber (corresponding author)

Serviço de Medicina Interna, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350, 90035-903, Porto Alegre, Brazil.

e-mail: gfaulhaber@hcpa.ufrgs.br

Fone: +55 51 33598152, fax: +55 51 33598152

### **CONFLICT OF INTEREST**

The authors declared that they have no conflict of interest.

### **AUTHOR CONTRIBUTIONS**

Marcondes NA, medical literature search, data acquisition, data interpretation and writing of the manuscript. Raimundo FR, Vanacor R, Corte, Ascoli AM, Azambuja AZ, Scopel L and Santos PV, data acquisition. Dalcin PTR and Rotta LN, English correction and writing of the manuscript. Furlanetto TW and Faulhaber GAM, analyses, data interpretation, writing and final revision of the manuscript. All authors have approved the final version of the manuscript.

### **ABSTRACT**

**Introduction:** Cystic fibrosis (CF) patients have a susceptibility to vitamin D deficiency due to nutrient malabsorption.

**Objectives:** Evaluated the prevalence of hypovitaminosis D in cystic fibrosis patients and the factors associated with serum 25-hydroxyvitamin D levels.

**Methods:** We evaluated the prevalence of vitamin D deficiency defined as 25-hydroxyvitamin D < 30 ng/mL, as suggested recently by the Cystic Fibrosis Foundation, and factors

associated with its serum levels. Patients with confirmed cystic fibrosis were included. Nutritional status and hospital admissions were evaluated. Serum C-reactive protein, calcium, phosphate, magnesium, albumin, 25-hydroxyvitamin D, and parathyroid hormone levels were measured. Lung function was evaluated by spirometry, and clinical and chest radiographic scores were assessed. Statistical significance level was set at  $P < 0.05$ .

Results: Fifty nine patients were included. Prevalence of hypovitaminosis D was 61.0 %. Patients with pancreatic insufficiency had a trend to have higher vitamin D levels. Sixteen patients had severe lung disease with FEV1% predicted below 40%. After multivariable analysis body mass index and hospitalization in the last month remained significantly associated with serum vitamin D levels.

Conclusions: Vitamin D insufficiency is still a problem in cystic fibrosis patients, even in those receiving supplementation.

**Keywords:** cystic fibrosis; 25-hydroxyvitamin D; vitamin D deficiency; pulmonary function; nutrition;

## INTRODUCTION

Vitamin D has a well-known role in the development and maintenance of bone, (1) but recent studies suggested a role for vitamin D in other processes, such as cell proliferation and differentiation (2), which could affect immune (3), and pulmonary function (4).

Life expectancy of cystic fibrosis (CF) patients has increased in the past decades (5). Their treatment consists of regular multidisciplinary interventions including dietary support, pancreatic enzyme replacement, vitamin supplementation, physiotherapy for airway clearance, and antibiotics as needed (6).

Most CF patients have a susceptibility to vitamin D deficiency due to nutrient malabsorption associated to exocrine pancreatic failure (6). Supplementation guidelines seem to result in less than ideal increases in serum levels, so revisions have been released recently (7).

The aim of this study was to evaluate the prevalence of hypovitaminosis D in CF patients in a tertiary care facility at Porto Alegre, Brazil, and the factors associated with serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] levels.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Patient population**

CF patients confirmed by sweat test (Cl<sup>-</sup>  $\geq$ 60 mEq/L) or mutation in both alleles of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene (CFTR) were recruited from the Outpatient Program for Adults with CF at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS, Brazil. Patients were excluded if they had had a liver or lung transplant.

### **Study design**

This was a cross-sectional study carried out from February 25th to September 23th, 2011. Data were obtained in the medical records and during interviews with patients.

### **Evaluation of nutritional status and biochemical parameters**

Nutritional status was evaluated by weight, height, and body mass index (BMI). All serum samples were stored at -80°C, until measurements in the same assay. Serum C-reactive protein (CRP), calcium, phosphate, magnesium, and albumin levels were measured by routine methods (Advia 1800®, Siemens Diagnostic, Deerfield, IL, USA). Serum 25(OH)D levels

were measured by chemiluminiscence method (Liaison®, Diasorin, Stillwater, MN, USA; intrassay coefficient of variation of 5.5%), and parathyroid hormone (PTH) levels were measured by sandwich immunoassay to intact PTH (iPTH, Siemens, Tarrytown, NY, USA; intrassay coefficient of variation 5.2%). Vitamin D deficiency was defined as 25(OH)D < 30 ng/mL according the latest guidelines from Cystic Fibrosis Foundation (7).

### **Evaluation of lung function**

Pulmonary function tests were measured by a computerized spirometer (MasterScreen, v 4.31, Jaeger, Wuerzburg, Germany). The forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in one second (FEV1) and FEV1/FVC were measured three times, and the best trial was recorded. All parameters were expressed as percent predicted for age, stature, and gender (8). The number of hospital admissions in the last year were determined. The assessment of the CF clinical severity and chest radiological severity were scored by a trained pulmonologist physician using the Shwachman-Kulczycki score (SK) (9) and the radiologic score of Brasfield (10). Results of microbiology examination of sputum were obtained from medical records.

### **Pharmacologic treatment**

Medications were obtained from medical records and confirmed during medical appointments.

### **Statistical analysis**

Prevalence of hypovitaminosis D was calculated. Kolmogorov-Smirnov test was used to evaluate the normality of quantitative variables. Association of variables with serum

25(OH)D levels were evaluated by the correlation tests of Pearson or Spearman, Student t or Mann-Whitney tests, and Kruskal Wallis test when indicated.

Backwards multiple linear regression, including variables associated with serum 25(OH)D levels with  $P < 0.2$ , was performed to identify factors independently associated to it. Data analysis was carried out with SPSS 18.0® (Chicago, IL, EUA). The statistical significance level was set at  $P < 0.05$ .

## **ETHICS**

This study was approved by the Research Ethics Committee of the institution and was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and current laws in Brazil. Patients were included after written consent.

## **RESULTS**

Sixty-nine patients were eligible and invited to participate. Fifty-nine agreed and were included in the study. The prevalence of hypovitaminosis D [25(OH)D  $< 30$  ng/mL] was 61.0%. Baseline characteristics are shown in Table 1.

All patients had clinical findings compatible with CF, with diagnosis confirmed by the sweat test (fifty four patients, with at least two positive tests) or CFTR gene abnormalities (five patients).

All patients with pancreatic insufficiency were treated with pancreatic enzymes ( $893.4 \pm 507.2$  lipase units/day) and vitamins A, D, E, and K. Seven patients received calcium supplementation. Inhaled corticosteroid therapy was used by 30.5% of the patients, and none

used oral glucocorticosteroids. Sixteen patients (27.1%) had severe lung disease with FEV1 (%predicted) below 40%. According to the Shwachman-Kulczycki score, 64.5% of the patients had good or excellent clinical condition.

Mean serum 25(OH)D levels were similar in patients with different phototypes (I: 27.4±10.4 ng/mL, II: 29.4±12.0 ng/mL, III: 26.5±9.3 ng/mL, IV: 31.3 ng/mL, P=0.836); and did not differ according to season of inclusion in the study (P=0.100) or gender (P=0.986). Other factors possibly associated to serum 25(OH)D levels are shown in Tables 2 and 3.

The variables included in the multivariate model were BMI, FEV1 (%predicted), hospitalization in the last month, serum CRP levels, and oral vitamin D supplementation. Other variables were not included in the model due to colinearity (weight, FVC (L), FVC (%predicted), FEV (L), dose of vitamin D ingested daily, SK score and Score of Brasfield).

After multivariable analysis BMI and hospitalization in the last month remained significantly associated with serum vitamin D levels (Table 4).

## **DISCUSSION**

Prevalence of hypovitaminosis D in this study was 61.0%, lower than observed in other studies with adult CF patients (11-16). Gronowitz et al described similar values to our study (17). This finding reflects a greater efficiency of the current management of this population, including high dose vitamin D supplementation and pancreatic enzyme replacement in patients with pancreatic exocrine insufficiency, since those are factors that can increase serum 25(OH)D levels (18, 19), but are still under the optimal vitamin D status established by the Cystic Fibrosis Foundation (7).

Sun exposure of 15 minutes a day can increase serum 25(OH)D (20) and it is the main source of vitamin D in non-CF individuals (1). Solar incidence is important, and a seasonal vitamin D variation is expected, with higher values at the end of summer (21, 22). In this study sun exposure was not associated with serum vitamin D levels, neither a seasonal variation was observed. Both findings were probably underestimated due to chronic use of vitamin D supplementation (23).

Some studies have shown a decrease in 25(OH)D in CF patients due to less sun exposure and fat malabsorption (22), with an inverse correlation between age and serum vitamin D (24, 25). This association was not present in our study. The correlation between pulmonary function and serum 25(OH)D in CF reported in other studies (19, 22) was also not observed.

We found a negative correlation between BMI with serum 25(OH)D. This could be explained by lipid solubility of vitamin D that allows its biodistribution and storage in fat tissue. As a consequence, patients with higher BMI have more vitamin D stored in adipocytes and less in serum (26, 27).

Patients who had been hospitalized in the previous 30 days had significantly lower serum 25(OH)D levels. This could be explained by decreased solar exposure, nevertheless it could be the result of the inflammatory response as recently described (28).

This study has some limitations. The major one is the size of the population included, although 85% of the patients in the Outpatient Program for Adults with CF in our hospital

accepted to participate. Besides, to identify the highest prevalence of vitamin D deficiency, all blood samples should have been collected at the end of winter.

Despite advances in the care of cystic fibrosis, vitamin D deficiency is still a problem in CF patients, even in those receiving supplementation. Patients with higher BMI and recent hospitalization could benefit of larger doses of vitamin D.

### **ACKNOWLEDGMENTS**

We acknowledge the Incentive Fund for Research and Events of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE/HCPA) for the financial support.

### **REFERENCES**

1. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr.* 2008 Apr;87(4):1080S-6S.
2. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, et al. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr Rev.* 2008 Oct;29(6):726-76.
3. Khoo AL, Chai LY, Koenen HJ, Sweep FC, Joosten I, Netea MG, et al. Regulation of cytokine responses by seasonality of vitamin D status in healthy individuals. *Clin Exp Immunol.* 2011 Apr;164(1):72-9.
4. Black PN, Scragg R. Relationship between serum 25-hydroxyvitamin D and pulmonary function in the third national health and nutrition examination survey. *Chest.* 2005 Dec;128(6):3792-8.

5. Buzzetti R, Salvatore D, Baldo E, Forneris MP, Lucidi V, Manunza D, et al. An overview of international literature from cystic fibrosis registries: 1. Mortality and survival studies in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2009 Jul;8(4):229-37.
6. Damas C, Amorim A, Gomes I. Cystic fibrosis: review. *Rev Port Pneumol*. 2008 Jan-Feb;14(1):89-112.
7. Tangpricha V, Kelly A, Stephenson A, Maguiness K, Enders J, Robinson KA, et al. An update on the screening, diagnosis, management, and treatment of vitamin D deficiency in individuals with cystic fibrosis: evidence-based recommendations from the Cystic Fibrosis Foundation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Apr;97(4):1082-93.
8. Pereira CAC, Barreto SP, Simões JG, Pereira FWL, Gerstler JG, Nakatan J. Valores de referência para espirometria em uma amostra da população brasileira adulta. *J Pneumol*. 1992;18(1):10-22.
9. 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 Jul;96(1):6-15.
10. Brasfield D, Hicks G, Soong S, Tiller RE. The chest roentgenogram in cystic fibrosis: a new scoring system. *Pediatrics*. 1979 Jan;63(1):24-9.
11. Aris RM, Lester GE, Dingman S, Ontjes DA. Altered calcium homeostasis in adults with cystic fibrosis. *Osteoporos Int*. 1999 Sep;10(2):102-8.
12. Boyle MP, Noschese ML, Watts SL, Davis ME, Stenner SE, Lechtzin N. Failure of high-dose ergocalciferol to correct vitamin D deficiency in adults with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Jul 15;172(2):212-7.
13. Cemlyn-Jones J, Gamboa F, Loureiro M, Fontes Baganha M. Evaluation of bone mineral density in cystic fibrosis patients. *Rev Port Pneumol*. 2008 Sep-Oct;14(5):625-34.

14. Donovan DS, Jr., Papadopoulos A, Staron RB, Adesso V, Schulman L, McGregor C, et al. Bone mass and vitamin D deficiency in adults with advanced cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998 Jun;157(6 Pt 1):1892-9.
15. Gordon CM, Anderson EJ, Herlyn K, Hubbard JL, Pizzo A, Gelbard R, et al. Nutrient status of adults with cystic fibrosis. *J Am Diet Assoc.* 2007 Dec;107(12):2114-9.
16. Rovner AJ, Stallings VA, Schall JI, Leonard MB, Zemel BS. Vitamin D insufficiency in children, adolescents, and young adults with cystic fibrosis despite routine oral supplementation. *Am J Clin Nutr.* 2007 Dec;86(6):1694-9.
17. Gronowitz E, Larko O, Gilljam M, Hollsing A, Lindblad A, Mellstrom D, et al. Ultraviolet B radiation improves serum levels of vitamin D in patients with cystic fibrosis. *Acta Paediatr.* 2005 May;94(5):547-52.
18. Dorlochter L, Aksnes L, Fluge G. Faecal elastase-1 and fat-soluble vitamin profiles in patients with cystic fibrosis in Western Norway. *Eur J Nutr.* 2002 Aug;41(4):148-52.
19. Hall WB, Sparks AA, Aris RM. Vitamin d deficiency in cystic fibrosis. *Int J Endocrinol.* 2010;2010:218691.
20. Maeda SS, Kunii IS, Hayashi L, Lazaretti-Castro M. The effect of sun exposure on 25-hydroxyvitamin D concentrations in young healthy subjects living in the city of Sao Paulo, Brazil. *Braz J Med Biol Res.* 2007 Dec;40(12):1653-9.
21. Reiter EO, Brugman SM, Pike JW, Pitt M, Dokoh S, Haussler MR, et al. Vitamin D metabolites in adolescents and young adults with cystic fibrosis: effects of sun and season. *J Pediatr.* 1985 Jan;106(1):21-6.
22. Wolfenden LL, Judd SE, Shah R, Sanyal R, Ziegler TR, Tangpricha V. Vitamin D and bone health in adults with cystic fibrosis. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2008 Sep;69(3):374-81.

23. McCarthy D, Duggan P, O'Brien M, Kiely M, McCarthy J, Shanahan F, et al. Seasonality of vitamin D status and bone turnover in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005 May 1;21(9):1073-83.
24. Boas SR, Hageman JR, Ho LT, Liveris M. Very high-dose ergocalciferol is effective for correcting vitamin D deficiency in children and young adults with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2009 Jul;8(4):270-2.
25. Brown SA, Ontjes DA, Lester GE, Lark RK, Hensler MB, Blackwood AD, et al. Short-term calcitriol administration improves calcium homeostasis in adults with cystic fibrosis. *Osteoporos Int.* 2003 Jun;14(5):442-9.
26. Moan J, Dahlback A, Lagunova Z, Cicarma E, Porojnicu AC. Solar radiation, vitamin D and cancer incidence and mortality in Norway. *Anticancer Res.* 2009 Sep;29(9):3501-9.
27. Crutchley RD, Gathe JC, Mayberry C, Trieu A, Abughosh S, Garey K. Risk Factors for Vitamin D Deficiency in HIV-Infected Patients in the South Central United States. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2011 Aug 31.
28. Reid D, Toole BJ, Knox S, Talwar D, Harten J, O'Reilly DS, et al. The relation between acute changes in the systemic inflammatory response and plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations after elective knee arthroplasty. *Am J Clin Nutr.* 2011 May;93(5):1006-11.

Table 1. Baseline characteristics of cystic fibrosis patients (n=59).

Age (years)	23.78±7.60
Male/Female	26/33
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	21.24±3.51
Phototype (%)	
I	16.9
II	57.6
III	23.7
IV	1.7
Sun exposure (minutes/day)	30.0 (20.0/60.0)
Exocrine pancreatic insufficiency n (%)	43 (72.9)
Vitamin D supplementation dose (IU/day)	2000.0 (1000.0/2000.0)
FVC (%predicted)	72.51±25.83
FEV <sub>1</sub> (%predicted)	61.23±29.02
FVC (L)	3.03±1.11
FEV (L)	2.16±1.03
FEV <sub>1</sub> /FVC (%)	69.96±15.71
Shwachman-Kulczycki Score (points)	77.25±15.15
Score of Brasfield (points)	16.91±5.06
Hospitalizations in the last month, n (%)	3 (5.1)
Hospitalizations in the last year, n (%)	24 (40.7)
<i>Burkholderia cepacia</i> colonization (%)	22.0
<i>Staphylococcus aureus</i> colonization (%)	76.3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> colonization (%)	49.2
Serum albumin (g/dL)	4.51±0.28

Serum calcium (mg/dL)	9.37±0.27
Serum phosphate (mg/dL)	4.18 ±0.52
Serum magnesium (mg/dL)	2.08±0.13
Serum PTH (pg/mL)	33.95±17.95
Serum 25(OH)vitamin D (ng/mL)	28.42±10.94
Serum C-reactive protein (mg/dL)	9.0 (<4/29.0)
Diabetes mellitus n (%)	8 (13.6)

---

Data are shown as mean±SD, or median (percentile25/75), or number (n);

BMI: body mass index; PTH: parathyroid hormone; FVC: Forced vital capacity; FEV<sub>1</sub>:

Forced expiratory volume in 1s.

Table 2. Serum 25-hydroxyvitamin D levels (ng/dL) in cystic fibrosis patients and possible modifiers (n=59).

Variable	Yes <sup>a</sup>	No <sup>a</sup>	P <sup>b</sup>
Pancreatic insufficiency	29.3±12.0 (43)	25.9±7.0 (16)	0.293
Diabetes mellitus	30.5±11.2 (7)	28.1±11.0 (52)	0.593
Vitamin D supplementation	29.9±11.2 (47)	22.5±7.7 (12)	0.035
Colonization			
<i>P. aeruginosa</i>	28.4±11.8 (29)	28.4±10.2 (30)	1.000
<i>B. cepacea</i>	31.7±10.4 (13)	27.4±11.0 (46)	0.242
<i>S. aureus</i>	28.7±11.6 (45)	27.5±8.7 (14)	0.727
Hospitalizations in the last year	31.1±9.5 (11)	28.0±11.2 (42)	0.412
Hospitalization in the last month	17.7±4.9 (3)	29.0±10.9 (56)	0.081

<sup>a</sup>Data are shown as mean±SD (number).

<sup>b</sup>Student t test.

Table 3. Correlation between serum 25-hydroxyvitamin D levels and clinical aspects, chest radiographs scores (Brasfield), lung function tests, and serum C-reactive protein levels.

Variable	<i>R</i>	<i>P</i>
Age <sup>a</sup>	0.070	0.600
Weight <sup>a</sup>	-0.249	0.057
BMI <sup>a</sup>	-0.285	0.029
Dose of vitamin D <sup>b</sup>	0.214	0.104
Score of Brasfield <sup>a</sup>	-0.212	0.106
Sun exposure <sup>b</sup>	0.044	0.741
SK score <sup>a</sup>	-0.301	0.021
FVC (%predicted) <sup>a</sup>	-0.230	0.079
FEV <sub>1</sub> (%predicted) <sup>a</sup>	-0.237	0.070
FVC (L) <sup>a</sup>	-0.193	0.142
FEV (L) <sup>a</sup>	-0.209	0.112
FEV <sub>1</sub> /FVC (%) <sup>a</sup>	-0.123	0.354
Serum C-reactive protein <sup>b</sup>	0.266	0.043

BMI: body mass index; FVC: Forced vital capacity; FEV<sub>1</sub>: Forced expiratory volume in 1s.

<sup>a</sup> Correlation test of Pearson.

<sup>b</sup> Correlation test of Spearman.

Table 4. Factors associated independently with serum vitamin D levels by multivariate analysis.

	B	Standard Error	Beta	<i>P</i>
Serum vitamin D levels				
Hospitalizations in the last month	-12.607	6.118	-0.255	0.016
BMI	-0.957	0.386	-0.307	0.044

## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo trouxe benefícios aos pacientes acompanhados no Ambulatório de Fibrose Cística pela dosagem de marcadores não assistenciais. Os resultados do trabalho agregam maior conhecimento sobre o assunto, uma vez que este é um dos poucos estudos da literatura que avaliam o *status* de vitamina D em uma população não pediátrica portadora de FC, e, até o momento, o único desta natureza realizado no Brasil. Estes resultados mostram ainda que é possível reduzir a prevalência de hipovitaminose D através do manejo adequado dos pacientes, com reposição vitamínica e enzimática, além de evidenciar que a suplementação no formato utilizado não é eficaz para alguns pacientes.

Diversos fatores podem influenciar a concentração sérica de 25(OH)D em portadores de FC. A prevalência de hipovitaminose D no presente estudo foi inferior à relatada anteriormente na literatura, resultado de um bom manejo da população, incluído uso de altas doses de suplementação vitamínica e reposição de enzimas pancreáticas nos pacientes com insuficiência pancreática exócrina. O monitoramento da 25(OH)D sérica em portadores de FC é necessário, bem como a definição de quais as variáveis clínicas e laboratoriais que se correlacionam com hipovitaminose D, de modo a identificar precocemente esta condição, evitando suas consequências a curto e longo prazo. A avaliação dos fatores relacionados à vitamina D (PTH, magnésio, cálcio, fósforo e albumina) permite uma melhor compreensão e identificação das alterações no metabolismo destes decorrentes de valores séricos de 25(OH)D alterados, como o hiperparatireoidismo secundário. Mais estudos são necessários para que se entenda completamente o papel de cada um dos fatores que podem influenciar o metabolismo da vitamina D e sua concentração sérica.

## **9 APÊNDICES**

### **9.1 Metodologia detalhada**

#### *9.1.1 Pacientes*

Os pacientes foram recrutados no Ambulatório de Fibrose Cística do Serviço de Pneumologia do HCPA, utilizando-se os seguintes critérios de inclusão: idade superior a 16 anos, diagnóstico confirmado por teste do suor, pesquisa da mutação compatível com FC, realizados na rotina assistencial do serviço. Foram excluídos os pacientes submetidos ao transplante pulmonar ou hepático, portadores de insuficiência renal crônica, definida como depuração de creatinina endógena (DCE) calculada  $< 20$  mL/min, e/ou com internação hospitalar de longa permanência ( $> 15$  dias) nos últimos 30 dias.

As coletas foram realizadas de 25 de fevereiro de 2011 a 23 de setembro de 2011. Neste período, 69 pacientes em acompanhamento ambulatorial apresentaram critérios de inclusão para o estudo. Cinco pacientes não compareceram no dia da consulta e cinco não aceitaram participar. No total, foram incluídos 59 pacientes portadores de FC.

#### *9.1.2 Coleta*

Os pacientes do Ambulatório de Fibrose Cística do Serviço de Pneumologia do HCPA foram previamente contatados por telefone, sendo informados a respeito da participação no estudo. No dia das consultas os pacientes foram convidados a participar do trabalho. Após leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – anexo B) foram realizadas as coletas de dados e sangue.

#### 9.1.2.1. Variáveis clínicas

As variáveis clínicas foram obtidas através dos prontuários dos pacientes e de entrevistas, antes ou após a coleta de sangue, pelos médicos, biomédicos e nutricionistas vinculados ao estudo (anexo D).

Os pacientes foram entrevistados/questionados sobre a exposição solar (anexo 9.3), expressa em minutos por dia. Foram retirados dos prontuários dos pacientes: idade, sexo, número de exacerbações e internações, bem como número de dias sob internação nos últimos 30 dias, 90 dias e um ano; teste de caminhada de 6 minutos realizado no último ano (avaliação da capacidade funcional); espirometria realizada no último ano (prova de função pulmonar); e oximetria (monitoramento da oxigenação).

A função pulmonar foi avaliada por espirometria computadorizada (Master Screen, v 4.31, Jaeger, Wuerzburg, Alemanha). A capacidade vital forçada (CVF), o VEF1 e a relação VEF1/CVF foram medidos três vezes e o melhor resultado foi utilizado. Todos os parâmetros foram expressos em percento do predito para idade, estatura e gênero (165). Medidas antropométricas e outros índices como número de hospitalizações e exacerbações e uso de antibióticos também são importantes para avaliar a eficácia da terapia da FC (17).

O Escore de Shwachman-Kulczycki (S-K, avaliação da gravidade) (anexo E) e o Escore Radiológico de Brasfield (anexo F) foram calculados mediante avaliação de exames radiológicos de pulmão pelo pneumologista responsável pelo acompanhamento dos pacientes (31, 46).

Também foi avaliada a presença de colonização por *Burkholderia cepacia*, *Staphylococcus aureus* e/ou *Pseudomonas aeruginosa*, obtida nos prontuários dos pacientes. A presença de icterícia foi definida pelo aumento de bilirrubina direta  $> 1,5$  mg/dL; a

presença de diarreia crônica caracterizada por fezes líquidas ou número de evacuações > 2 vezes ao dia.

O IMC foi calculado a partir dos dados de peso e altura ( $IMC = \text{peso} / \text{altura}^2$ ) obtidos na avaliação nutricional do paciente, realizada por uma nutricionista. As dosagens de reposição de cálcio, vitamina D e enzimas pancreáticas foram retiradas dos prontuários dos pacientes.

#### 9.1.2.2. Análises laboratoriais

O sangue periférico (5 mL) foi obtido por venopunção após jejum de pelo menos quatro horas. Logo após a colheita, o tubo foi revestido com papel alumínio para evitar a possível degradação da 25(OH)D por ação da luz (166). O material foi centrifugado a 3000 rpm / 15 min e o soro, aliqotado em microtubos tipo *ependorf* também protegidos da luz e devidamente identificados. O soro foi armazenado em temperatura de - 80°C até o momento de realização das dosagens. As datas das coletas foram registradas com objetivo de ajustar o possível efeito da variação sazonal da concentração de vitamina D.

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do HCPA, nos seguintes equipamentos de automação laboratorial:

- Advia 1800 (Siemens Diagnostica, Deerfield, Estados Unidos): testes de cálcio (método: colorimétrico *O*-cresolftaleína), fósforo (método: fosfomolibdato UV), magnésio (método: colorimétrico azul xilidil) e albumina (método: colorimétrico verde de bromocresol);
- Centaur XP (Siemens Diagnostica, Deerfield, Estados Unidos): teste de PTH (método: quimiluminescência);
- Liaison (DiaSorin, Vercelli, Itália): teste de 25(OH)D (método: quimiluminescência);

Todas as determinações de 25(OH)D, cálcio, fósforo, PTH, magnésio e albumina foram realizadas utilizando reagentes de mesmo lote, após procedimentos de controle de qualidade já realizados na rotina do laboratório.

A hipovitaminose D foi definida como valor sérico de 25(OH)D inferior a 30 ng/mL (6, 13, 14, 89, 126, 130, 164, 167-171) (157). O hiperparatireoidismo secundário foi definido como elevação do PTH > 65 pg/mL, associado à hipovitaminose D (7, 127-130).

### 9.1.3. Análise dos dados

Os dados das variáveis em estudo foram computados em planilha Excel<sup>®</sup>, sendo realizada análise estatística com *software* PASW<sup>®</sup> 18.0. Foi calculada a prevalência de hipovitaminose D e de suficiência de vitamina D. A comparação de hipovitaminose D ou de suficiência de vitamina D com os fatores associados foi realizada com teste U de Mann Whitney para variáveis contínuas não paramétricas e teste T de Student para variáveis contínuas paramétricas. As variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste de Chi-quadrado ou teste exato de Fisher, quando apropriado. Foi realizado o método de regressão logística, sendo incluídas as variáveis com associação com hipovitaminose D, representada por  $p < 0,20$ , representativo de um número adequado de variáveis. A variação sazonal da 25(OH)D foi avaliada pelo teste de Kruskal Wallis. Foi calculado o índice de correlação entre as variáveis contínuas com teste de Pearson e Spearman. Foi considerado resultado significativo quando  $p < 0,05$ .

#### *9.1.4. Considerações éticas*

O projeto e o TCLE foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HCPA (anexos A e B).

**10 ANEXOS****ANEXO A**

Carta de aprovação do projeto 10-0395 pelo CEP/HCPA

**HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE  
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO****COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE**

A Comissão Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB00000921) analisaram o projeto:

**Projeto:** 100395**Versão do Projeto:** 24/10/2010**Versão do TCLE:** 23/11/2010**Pesquisadores:**

TANIA WEBER FURLANETTO

PAULO DE TARSO ROTH DALCIN

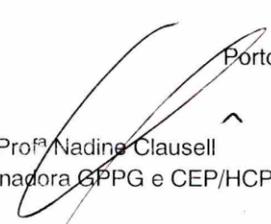
NADINE FABIANE LINO

GUSTAVO ADOLPHO MOREIRA FAULHABER

**Título:** Avaliação dos níveis de 25-hidroxivitamina D e fatores associados em população não pediátrica portadora de fibrose cística

Este projeto foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Os membros do CEP/HCPA não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores. Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada imediatamente ao CEP/HCPA.

Porto Alegre, 25 de novembro de 2010.

  
Prof. Nadine Clausell  
Coordenadora GPPG e CEP/HCPA

## ANEXO B

## Termo de consentimento livre e esclarecido do projeto 10-0395

**Termo de Consetimento Livre e Esclarecido**

O Serviço de Medicina Interna e Pneumologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo presente termo de consentimento, convida o (a) Sr(a) \_\_\_\_\_ a participar de um estudo que tem o objetivo de avaliar os níveis de vitamina D, PTH, Magnésio, Cálcio e Fósforo na população não-pediátrica portadora de fibrose cística atendida no ambulatório do HCPA.

Concordando em participar, o(a) senhor(a) responderá a um questionário e será submetido a uma única coleta de sangue. Estes materiais serão analisados no laboratório Weinmann, na cidade de Porto Alegre e no laboratório do HCPA. O risco de estudo é apenas o da “picada da agulha”, que pode causar uma mancha roxa no local e, muito raramente, inflamação da veia. Nenhum benefício financeiro será obtido na participação do presente estudo tanto para a unidade, quanto para os (as) Sr (as), mas sua ajuda será muito importante na avaliação desses pacientes.

Todos os pacientes poderão saber os resultados de seus exames. Os nomes dos voluntários serão mantidos em segredo e os resultados serão utilizados apenas para publicação científica. Se for identificada a deficiência de vitamina D, Cálcio, PTH Magnésio ou Fósforo, seu médico assistente será informado. Para seu esclarecimento, o Sr(a) poderá entrar em contato com a biomédica Nadine Lino pelo telefone 8148-3389 ou com o Dr. Gustavo Faulhaber (3359-8152) ou com o Comitê de ética em pesquisa do HCPA no telefone 3359-7640.

O Sr(a) é livre para participar do estudo ou não. O atendimento na internação será mantido do mesmo modo, mesmo que não queira participar.

Eu, \_\_\_\_\_ aceito participar do estudo “Avaliação dos níveis de vitamina D e fatores associados em população não pediátrica portadora de fibrose cística” e declaro que também fui informado:

- Da garantia de receber resposta qualquer pergunta sobre o estudo e da liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo à continuidade do meu tratamento no HCPA;
- Do caráter confidencial das informações relacionadas com minha privacidade;
- De que não terei despesas por participar do estudo.
- De que receberei uma via assinada deste documento.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do paciente ou responsável

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador

Porto Alegre, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20 \_\_\_\_

HCPA / GPPG  
VERSÃO APROVADA  
25/11/2010  
P.E. 100395 88

## ANEXO C

## Fototipos cutâneos segundo classificação de Fitzpatrick

Fototipos	Descrição	Sensibilidade ao Sol
I - Branca	Queima com facilidade, nunca bronzeia	Muito sensível
II - Branca	Queima com facilidade, bronzeia muito pouco	Sensível
III - Morena Clara	Queima moderadamente, bronzeia moderadamente	Normal
IV - Morena Moderada	Queima pouco, bronzeia com facilidade	Normal
V - Morena Escura	Queima raramente, bronzeia com facilidade	Pouco sensível
VI - Negra	Nunca queima, totalmente pigmentada	Insensível

Fonte: adaptado de FREEDBERG, I. M.; FITZPATRICK, T. B. *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*. 5.ed. New York: McGraw-Hill, Health Professions Division, 1999.

## ANEXO D

## Instrumento de coleta de dados

Nome: \_\_\_\_\_ Número: \_\_\_\_\_  
 Prontuário: \_\_\_\_\_ Data de Nascimento: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_  
 Naturalidade: \_\_\_\_\_ Procedência: \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_\_  
 Idade: \_\_\_\_\_ Fototipo: \_\_\_\_\_  
 Data do Diagnóstico: \_\_\_\_\_ Teste do Suor: \_\_\_\_\_ Mutação  $\Delta F508$ : \_\_\_\_\_  
 Peso: \_\_\_\_\_ Altura: \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_  
 N de Exacerbações em 12m: \_\_\_\_\_ N Internações em 12m \_\_\_\_\_  
 Exposição Solar (minutos/dia): \_\_\_\_\_  
 Diarreia Crônica: \_\_\_\_\_ Icterícia: \_\_\_\_\_  
 Reposição Vitamina D: \_\_\_\_\_ Reposição de Cálcio: \_\_\_\_\_ (dose: \_\_\_\_\_)  
 Enzimas Pancreáticas: \_\_\_\_\_ (dose: \_\_\_\_\_)  
 Outros Fármacos: \_\_\_\_\_  
 Colonização *Burkholderia cepacia* \_\_\_\_\_ Colonização *S. aureus* \_\_\_\_\_  
 Colonização *Pseudomonas aeruginosa* \_\_\_\_\_  
 Teste da Caminhada: \_\_\_\_\_ metros Oximetria em Repouso \_\_\_\_\_  
 Espirometria: CVF: \_\_\_\_\_ L %VEF1: \_\_\_\_\_ L %VEF1/CVF: \_\_\_\_\_ L %  
 Cálcio: \_\_\_\_\_ Albumina: \_\_\_\_\_ Magnésio: \_\_\_\_\_ PTH: \_\_\_\_\_ Vitamina D: \_\_\_\_\_  
 Fósforo: \_\_\_\_\_ OBS: \_\_\_\_\_

## ANEXO E

### Escore de Shwachman-Kulczycki

Graduaçã	Pontos	Atividade geral	Exame físico	Nutrição	Achados radiológicos
Excelente (86-100)	25	Atividade íntegra. Brinca, joga bola. Vai à escola regularmente, etc.	Normal. Não tosse. FC e FR normais. Pulmões livres. Boa postura.	Mantém peso e altura acima do percentil 25. Fezes bem formadas. Boa musculatura e fônis	Campos pulmonares limpos.
Bom (71-85)	20	Irritabilidade e cansaço no fim do dia. Boa freqüência na escola.	FC e FR normais em repouso. Tosse rara. Pulmões livres. Pouco enfisema.	Peso e altura entre percentis 15-20. Fezes discretamente alteradas.	Pequena acentuação da trama vasobrônquica. Enfisema discreto.
Médio (56-70)	15	Necessita repousar durante o dia. Cansaço fácil após exercícios. Diminui a freqüência à escola.	Tosse ocasional, às vezes de manhã. FR levemente aumentada. Discreto enfisema. Baqueteamento de dedos.	Peso e altura acima do 3º percentil. Fezes anormais, pouco formadas. Distensão abdominal. Hipotrofia	Enfisema de média intensidade. Aumento da trama vasobrônquica.
Moderado (41-55)	10	Dispnéia após caminhadas. Repouso em grande parte.	Tosse freqüente e retração torácica. Enfisema moderado, pode ter deformidades do tórax. Baqueteamento 2 a 3+.	Peso e altura abaixo do 3º percentil. Fezes anormais. Volumosa redução da massa muscular.	Moderado enfisema. Áreas de atelectasia. Áreas de infecção discreta. Bronquiectasia.
Grave (≤40)	5	Ortopneia. Confinado ao leito.	Tosse intensa. Períodos de taquipneia e taquicardia e alterações pulmonares. mostrar sinais de falência cardíaca direita. Baqueteamento 3 a 4+.	Desnutrição intensa. Distensão abdominal. Prolapso retal.	Extensas alterações. Fenômenos obstructivos. Infecção, atelectasia, bronquiectasia.

Fonte: FREIRE, I. D. *et al.* Comparison among pulmonary function test results, the Shwachman-Kulczycki score and the Brasfield score in patients

with cystic fibrosis. *J Bras Pneumol*, v. 34, n. 5, p. 280-7, 2008.

## ANEXO F

## Escore radiológico de Brasfield

Característica	Descrição	Pontuação
Aprisionamento aéreo	Distensão pulmonar generalizada com convexidade esternal, depressão do diafragma e/ou cifose torácica	0 ausente 1 a 4, conforme intensidade
Acentuação das imagens brônquicas	Densidades lineares em decorrência da dilatação brônquica, paralelas ou entrecruzadas Opacidades circulares com espessamento da parede brônquica	0 ausente 1 a 4, conforme intensidade
Lesões cístico-nodulares	Opacidades arredondadas, pequenas e múltiplas = ou > 0,5 cm, com centros radiopacos ou radiolucentes	0 ausente 1 a 4, conforme intensidade
Grandes lesões	Atelectasias lobares ou segmentares; ou consolidação; inclui pneumonia	0 ausente 3 atelectasia lobar ou segmentar 5 atelectasias múltiplas
Gravidade geral	Impressão da completa gravidade das alterações radiológicas	0 ausente 1 a 4, conforme intensidade 5 complicações (cardiomegalia ou pneumotórax)

Fonte: FREIRE, I. D. *et al.* Comparison among pulmonary function test results, the Shwachman-Kulczycki score and the Brasfield score in patients with cystic fibrosis. *J Bras Pneumol*, v. 34, n. 5, p. 280-7, 2008.

