

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

Doutoranda: Maiara Brusco de Freitas

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM SIMBIÓTICO SOBRE A
RESPOSTA INFLAMATÓRIA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES
COM FIBROSE CÍSTICA**

Florianópolis

2014

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

Doutoranda: Maiara Brusco de Freitas

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM SIMBIÓTICO SOBRE A
RESPOSTA INFLAMATÓRIA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES
COM FIBROSE CÍSTICA**

Projeto de tese submetido ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, da Universidade Federal de Santa Catarina para obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Emilia Addison Machado Moreira.

Florianópolis

2014

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Distribuição dos gêneros mais abundantes da microbiota intestinal de crianças com fibrose cística.	22
Figura 2 - Desenho do estudo: ensaio clínico, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo com pacientes com fibrose cística suplementados com maltodextrina (GCFC: grupo controle fibrose cística) ou simbiótico (GEFC: grupo experimental fibrose cística).	51

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação das mutações do gene do Canal Regulador de Condutância Transmembrana de Fibrose Cística (CFTR).	17
Quadro 2 - Revisões sistemáticas com meta-análise que abordam a suplementação com prebiótico, probiótico e simbiótico em divedas doenças (Continua).	42
Quadro 3 - Estudos que avaliam a suplementação com probiótico, prebiótico ou simbiótico em pacientes com fibrose cística (FC) (Continua).....	44
Quadro 4 - Equações para o cálculo da Densidade Corporal e Percentual de Gordura Corporal	55
Quadro 5 - Variáveis de desfecho e de ajuste.	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização do suplemento simbiótico.....	52
Tabela 2- Orçamento detalhado referente ao projeto	63
Tabela 3- Orçamento detalhado referente ao projeto	64
Tabela 4 – Taxa minimamente aceitável de ganho de peso diário (g/dia) e altura anual (cm/ano), de acordo com sexo e idade	95

RESUMO

Introdução: A fibrose cística (FC) é uma doença genética, de caráter autossômico recessivo, caracterizada pelas infecções persistentes das vias respiratórias e a ativação excessiva de processos imunes. Alterações na liberação de citocinas, ativação de fagócitos e mecanismos antioxidantes parecem contribuir intensivamente para a persistência da inflamação e infecção. A modulação da inflamação por simbióticos é uma estratégia para otimizar a imunidade e melhorar a saúde. Desta maneira, a utilização de um simbiótico pode ser benéfico para pacientes com FC por este estar relacionado com a estimulação seletiva do crescimento e/ou atividade das bactérias intestinais, diminuição da gravidade da gastroenterite aguda, atenuação da inflamação e redução da exacerbação pulmonar. **Objetivo:** Avaliar o efeito da suplementação com um simbiótico sobre marcadores da resposta inflamatória de crianças e adolescentes com FC. **Sujeitos de métodos:** Ensaio clínico, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. A amostra será constituída de crianças e adolescentes, de ambos os sexos, com idade ≥ 5 anos e ≤ 15 anos, com diagnóstico de FC, distribuídos em dois grupos: grupo controle fibrose cística (GCFC); grupo experimental fibrose cística (GEFC). A resposta inflamatória será avaliada pelos marcadores interleucina-1 beta (IL-1 β), IL-8, fator de transformação do crescimento-beta (TGF- β), IL-10, IL-17A, fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) e interferon-gama (INF- γ). Os dados serão analisados pela diferença (basal-inicial) entre as variáveis utilizando-se “t” student ou Wilcoxon e a associação entre as variáveis da função pulmonar e as do estado nutricional será testada a partir de uma análise de regressão de Poisson. **Resultados esperados:** Espera-se encontrar modulação dos marcadores inflamatórios após a suplementação com simbiótico. Assim, espera-se que a suplementação com simbiótico resulte em desfechos positivos, demonstrando uma possível efetividade como coadjuvante no processo terapêutico da doença FC.

Palavras chaves: Fibrose cística, simbiótico, citocina, estado nutricional.

LISTA DE ABREVIATURAS

AGB	Área gordurosa do braço
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AP-1	Proteína de ativação-1 (do inglês: <i>activator protein-1</i>)
AMB	Área muscular do braço
AMPc	Monofosfato cíclico de adenosina (do inglês: <i>Adenosine Cyclic Monophosphate</i>)
CB	Circunferência do braço
CFTR	Canal regulador de condutância transmembrana de fibrose cística (do inglês: <i>Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator</i>)
CMB	Circunferência muscular do braço
CVF	Capacidade vital forçada
DAMPs	Padrões moleculares associados ao dano (do inglês: <i>damage associated molecular patterns</i>)
DCB	Dobra cutânea bicipital
DCT	Dobra cutânea tricipital
DCSE	Dobra cutânea subescapular
DCSI	Dobra cutânea suprailíaca
DNA	Ácido desoxirribonucleico (do inglês: <i>deoxyribonucleic acid</i>)
DRGE	Doença do refluxo gastroesofágico
E/I	Estatutura-para-idade
Escore S-K	Escore de Shwachman-Kulczycki
FAM	Força do aperto de mão
FC	Fibrose Cística
FOS	Frutooligossacarídeo
GC	Gordura corporal
%GC	Percentual de Gordura Corporal
GOS	Galacto-oligossacarídeos
h β D2	Beta defensina humana 2
ICAM-1	Molécula de adesão celular-1 (do inglês: <i>Intercellular Adhesion Molecule-1</i>)
IFN- γ	Interferon-gama

IgG	Imunoglobulina G
IKkB	quinase inibidora do fator nuclear kB (do inglês: <i>Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase</i>)
IL-1 β	Interleucina-1 beta
IMC/I	Índice de massa corporal-para-idade
iNOS	Óxido nítrico sintase induzida (do inglês: <i>Inducible nitric oxide synthase</i>)
IRAK	Interleucina-1 associada ao receptor quinase (do inglês: <i>Interleukin-1 receptor-associated kinase</i>)
MAP	Proteína quinase ativada por mitógeno (do inglês: <i>Mitogen activated protein kinases</i>)
MyD88	Fator 88 de Diferenciação Mieloide (do inglês: <i>Myeloid differentiation primary response gene (88)</i>)
NF-kB	Fator nuclear kB
NOS	Óxido nítrico sintase (do inglês: <i>Nitric oxide synthase</i>)
P/I	Peso-para-idade
PMAPs	Padrões moleculares associados aos patógenos (do inglês: <i>Pathogen-associated molecular patterns</i>)
PRRs	Receptores de reconhecimento padrão (do inglês: <i>Pattern recognition receptors</i>)
PSA	Polissacarídeo A
RNA _m	Ácido ribonucléico mensageiro (do inglês: <i>Ribonucleic acid messenger</i>)
RTEEI	Relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior
SBID	Supercrescimento bacteriano no intestino delgado
SOID	Síndrome da obstrução intestinal distal
TGF- β	Fator de transformação do crescimento-beta (do inglês: <i>Transforming growth factor-beta</i>)
TNF- α	Fator de necrose tumoral-alfa
TLR	Receptores semelhantes a <i>Toll</i> (do inglês: <i>Toll-like receptor</i>)
TRAF-6	Fator-6 associado ao receptor do fator de necrose tumoral (do inglês: <i>TNF receptor-associated factor-6</i>)
VEF ₁	Volume expiratório forçado no primeiro segundo

SUMÁRIO

RESUMO.....	6
1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1. APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA E JUSTIFICATIVA.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 FIBROSE CÍSTICA E A FUNÇÃO PULMONAR E GASTROINTESTINAL	14
2.2 RESPOSTA INFLAMATÓRIA NA FIBROSE CÍSTICA E SUA RELAÇÃO COM O ESTADO NUTRICIONAL	27
2.3 SIMBIÓTICO (PREBIÓTICO – PROBIÓTICO)	36
3. JUSTICATIVA E HIPÓTESE DO ESTUDO	46
4. OBJETIVOS.....	47
4.1. OBJETIVO GERAL	47
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
5. RELEVÂNCIA, ORIGINALIDADE E CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO.....	48
6. MÉTODO	49
6.1. DESENHO DO ESTUDO.....	49
6.2. ASPECTOS ÉTICOS DO ESTUDO	49
6.3. SUJEITOS.....	49
6.4. SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR.....	51
6.5. AVALIAÇÃO CLÍNICA	52
6.6. DETERMINAÇÃO BACTERIOLÓGICA	52
6.7. AVALIAÇÃO DO HÁBITO INTESTINAL	53
6.8. AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL.....	53
6.8.1. Antropometria	53
6.8.2. Composição corporal	54

6.8.3. Força do aperto da mão (FAM)	55
6.8.4. Triagem Nutricional	56
6.9. AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR.....	56
6.10. ESCORE DE SHWACHMAN-KULCZYCKI	57
6.11. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PULMONAR.....	57
6.12. AMOSTRAS BIOLÓGICAS	57
6.12.1. Hemograma	58
6.12.2. Análise dos marcadores inflamatórios	58
6.13. PONDERAÇÃO RISCOS/ BENEFÍCIOS DAS AVALIAÇÕES	58
6.14. ANÁLISE ESTATÍSTICA	59
6.15. RESULTADOS ESPERADOS	60
6.15.1. Achados científicos	60
6.15.2. Planejamento de publicações	60
7. PROPOSTA PARA DOUTORADO SANDUÍCHE	60
8. LIMITAÇÕES DO ESTUDO	61
9. CRONOGRAMA	62
REFERÊNCIAS	66
APÊNDICE A	88
APÊNDICE B	89
APÊNDICE C	90
APÊNDICE D	91
APÊNDICE E	92
APÊNDICE F	93
ANEXO A	94
ANEXO B	95
ANEXO C	99

1. INTRODUÇÃO

1.1. APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA E JUSTIFICATIVA

A progressiva e irreversível lesão pulmonar causada pela recorrente e crônica infecção e inflamação é a maior causa de morbidade e mortalidade entre os pacientes com fibrose cística (FC), desempenhando um papel central na progressão da doença (SAGEL; ACCURSO, 2002; SAGEL, CHMIEL; KONSTAN, 2007; CORVOL *et al.*, 2008). Os protocolos clínicos consideram, dentre as principais bactérias patogênicas para a FC, a *Pseudomonas aeruginosa* como sendo a mais agressiva (GRASSME *et al.*, 2010).

Uma das características da inflamação das vias aéreas na FC é a predominância de neutrófilos em fluxo contínuo resultando em acúmulo (CONESE *et al.*, 2003; DOWNEY, BELL; ELBORN, 2009; KIENINGER; REGAMEY, 2010). Os neutrófilos liberam proteases, incluindo a elastase neutrofílica, a qual prejudica as funções antibacterianas dos macrófagos e neutrófilos estimulando-se assim a liberação de quimiocinas e interleucinas (IL) como, por exemplo, a interleucina-8 (IL-8) (SAGEL; ACCURSO, 2002; COURTNEY, ENNIS; ELBORN, 2004; ELIZUR, CANNON; FERKOL, 2008). As bactérias também estimulam a liberação de quimiocinas que recrutam mais neutrófilos para as vias aéreas, aumentando a resposta inflamatória (CHMIEL; KONSTAN, 2007).

O infiltrado persistente de neutrófilos nas vias aéreas favorece uma resposta inflamatória anormal, ou seja, com elevadas concentrações de fator nuclear kappa beta (NF- κ B) que, por sua vez, promove a síntese de citocinas, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) e IL-8 (BARNES; KARIN, 1997; DIMANGO *et al.*, 1998; BERGER, 2002; ARMSTRONG *et al.*, 2005; HANSEN *et al.*, 2010). Os pacientes com FC também têm diminuição das concentrações de interleucina-10 (IL-10), uma citocina que tem propriedade antiinflamatória. Acredita-se que a diminuição da concentração de IL-10 contribui para a produção excessiva das citocinas pró-inflamatórias, impedindo a resolução da inflamação das vias aéreas (STAROSTA *et al.*, 2006). Esse desequilíbrio entre citocinas pró e antiinflamatórias promove a amplificação da resposta inflamatória na FC (COURTNEY *et al.*, 2004; CORVOL *et al.*, 2008).

Alterações presentes nos pacientes com FC como inflamação intestinal e alterações da motilidade intestinal conjuntamente com a ingestão de medicamentos como, por exemplo, os antibióticos estão relacionados com o aumento da permeabilidade intestinal e com menor resposta dos mecanismos de reparação da mucosa (VAN ELBURG *et al.*, 1996; LLOYD-STILL *et al.*, 1998; RAIA *et al.*, 2000; SMYTH *et al.*, 2000; BRUZZESE *et al.*, 2004; WHITE *et al.*, 2007).

A alteração da homeostase intestinal, resultado da interação entre hospedeiro e microbiota, está associada com a liberação de citocinas pró-inflamatórias e a estimulação da secreção de íon/água promovendo a inflamação, lesão intestinal e diarreia. O epitélio intestinal é responsável por regular o transporte de eletrólitos como, por exemplo, a secreção de cloreto, contudo as células epiteliais são alvos primários de bactérias, citocinas e neuromediadores (ABREU, FUKATA; ARDITI, 2005; LEE *et al.*, 2006). O uso de antibióticos como a trobamicina e colistina, por pacientes com FC em exacerbação pulmonar, pode promover alteração da microbiota intestinal, por não agirem somente nas cepas patogênicas e diarreia (JERNBERG *et al.*, 2007; DETHLEFSEN *et al.*, 2008). A microbiota intestinal está envolvida com a resistência à colonização, processos metabólicos, regulação da proliferação do epitélio intestinal e com a modulação da resposta imunológica (CEBRA, 1999; MACPHERSON; UHR, 2004; NOVERR; HUFFNAGLE, 2004).

Como forma de modular a microbiota intestinal tem-se estudado a ingestão de componentes que favorecem o crescimento e o metabolismo de espécies benéficas (prebióticos), a ingestão de microrganismos vivos (probióticos) e a combinação destas duas estratégias (simbióticos) (SAAD, 2006).

A ingestão de prebióticos como os frutooligossacarídeos (FOS), inulina e galactooligossacarídeos tem sido associada com a melhora da sintomatologia e composição da microbiota intestinal em casos de síndrome do intestino irritável, regulação do sistema imunitário, diminuição da duração da diarreia e diminuição do uso de antibióticos em casos de doenças respiratórias (SAAVEDRA *et al.*, 1999; TSCHERNIA *et al.*, 1999; LOMAX; CALDER, 2009; SILK *et al.*, 2009).

Algumas cepas de bactérias probióticas têm sido investigadas em diversas condições clínicas. Os lactobacilos tais como: *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. paracasei paracasei*, *L. rhamnosus GG*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. delbrueckii*

bulgaricus estão sendo associados com a indução da produção de beta defensina humana 2 (h β D2) em células epiteliais, atividade antimicrobiana, indução da secreção de mucina, diminuição das lesões provocadas por TNF- α , atenuação da resistência transepitelial induzida por peróxido de hidrogênio, diminuição da produção de IL-8, indução da produção de IL-10 e imunomodulação de células dendríticas (CABALLERO-FRANCO *et al.*, 2007; YAN *et al.*, 2007; KONSTANTINOV *et al.*, 2008; SCHLEE *et al.*, 2008; SETH *et al.*, 2008; LU *et al.*, 2009). As cepas de bifidobacterias (B.) têm sido associadas com: a inibição da elastase pancreática e neutrófilos (*B. longum longum*); regulação dos genes que expressam IL-6 (*B. animalis lactis*); aumento da função da barreira da mucosa e atenuação da inflamação e aumento da permeabilidade capilar no cólon em ratos deficientes em IL-10 (*B. longum infantis*); e sobrevivência prolongada e maturação de células dendríticas, produção aumentada de IL-10 e produção de interleucina-12 (IL-12) por células dendríticas (*B. breve*) (IVANOV *et al.*, 2006; EWASCHUK *et al.*, 2008; HOARAU *et al.*, 2008; MITSUMA *et al.*, 2008).

A utilização de prebióticos e probióticos pode ser benéfica para pacientes com FC por estarem constantemente expostos à medicação e antibióticos de amplo espectro, por apresentarem permeabilidade intestinal aumentada, microbiota anormal, mediadores imunitários inatos desregulados e inflamação pulmonar crônica (VAN ELBURG *et al.*, 1996; CLAEYS *et al.*, 2005; BRUZZESE *et al.*, 2007; WEISS *et al.*, 2010).

Considerando as situações apresentadas, pretende-se neste estudo avaliar se a suplementação com simbiótico, composto por um prebiótico (frutooligossacarídeos) e por quatro cepas probióticas (*L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* e *B. lactis*) pode modular a resposta inflamatória de crianças e adolescentes com fibrose cística pela avaliação de citocinas (IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-17A, TNF- α , INF- γ e TGF- β).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FIBROSE CÍSTICA E A FUNÇÃO PULMONAR E GASTROINTESTINAL

A Fibrose Cística (FC) ou mucoviscidose é uma doença causada por mutações deletérias no gene FC, formado por 250 quilobases de ácido desoxirribonucleico (*Deoxyribonucleic acid* - DNA) com 27 éxons localizado no braço longo do cromossomo sete no locus q31, o qual codifica um ácido ribonucléico mensageiro (*Ribonucleic acid messenger* – RNAm) de 6,5 quilobases. O RNAm é responsável por codificar a proteína do canal de cloro denominada proteína reguladora da condutância transmembrana da FC (*Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator* - CFTR) composta por 1.480 aminoácidos (DAVIS, 2006; ROSA *et al.*, 2008). A proteína CFTR é sintetizada no núcleo, sendo transportada para as organelas citoplasmáticas onde ocorre a maturação, para posteriormente ser expressa nas membranas apicais das células epiteliais (ROSA *et al.*, 2008; ROLIM *et al.*, 2010).

Em 1938 a FC foi identificada como uma doença que promove à formação de muco espesso e viscoso e como consequência ocorre o bloqueio dos ductos glandulares tendo sido denominada FC do pâncreas ou mucoviscidose (ANDERSEN, 1938; FARBER, SHWACHMAN; MADDOCK, 1943). O gene da FC que codifica a proteína CFTR, a qual funciona como um canal que realiza o transporte de cloro é regulada pelo monofosfato cíclico de adenosina (AMPc), e foi descoberto apenas em 1989 em células provenientes dos ductos de suor (KEREM *et al.*, 1989; RIORDAN *et al.*, 1989; ROMMENS *et al.*, 1989; DAVIS, 2006). Além do transporte de íons de cloro através das superfícies epiteliais, a proteína CFTR tem sido relacionada com o transporte de tiocianato, bicarbonato e proteínas (QUINTON, 2001; RIORDAN, 2008).

O gene CFTR é expresso em células epiteliais presentes nas vias aéreas, nos ductos pancreáticos e nos ductos excretórios de suor, no intestino, nas vias biliares e nos vasos deferentes. A disfunção na CFTR pode resultar em alteração do conteúdo de eletrólitos no meio externo da membrana celular epitelial e desencadear o aumento da concentração de cloreto no suor, insuficiência pancreática, cirrose biliar, doença pulmonar caracterizada por infecção bacteriana

e bronquiectasias, além da obstrução intestinal (DAVIS, 2006; GELFOND; BOROWITZ, 2013).

A estimativa da incidência e da prevalência de FC no mundo e por região é um desafio devido à heterogeneidade da doença e a erros e/ou limitações dos testes diagnósticos e as análises genéticas incompletas, o que dificulta o diagnóstico. Além disso, a não realização da triagem neonatal (ex. teste do pezinho) em toda a população e os casos não notificados e/ou classificados de forma inadequada também dificultam a estimativa da incidência e da prevalência de FC (FARRELL, 2008; SALVATORE *et al.*, 2011). A frequência da FC varia de acordo com a etnia, sendo mais comum em caucasianos. No mundo a frequência de FC é de cerca de 1 em 2.500 nascidos vivos (RATJEN; DÖRING, 2003), sendo que aproximadamente 70.000 pessoas possuem a doença (GIBSON, BURNS; RAMSEY, 2003; FARRELL, 2008; RAMSEY *et al.*, 2011; BARRETT, ALAGELY; TOPOL, 2012).

Na Europa a incidência varia de 1:1.800 a 1:25.000 nascidos vivos, de acordo com a região, nos Estados Unidos a incidência é de cerca de 1 a cada 3.500 nascidos vivos (WHO, 2004). Na América Latina há uma heterogeneidade étnica da população, sendo que a incidência varia de 1:3.900 a 1:8.500 nascidos vivos. No Brasil a incidência é de 1:6.902 nascidos vivos (WHO, 2004). Com relação à região sul, estudos tem mostrado que a incidência no Paraná, Santa Catarina e no Rio Grande do Sul é de 1:9.520, 1:8.700 e 1:1.587 nascidos vivos respectivamente (WHO, 2004).

No Brasil, segundo o Registro Brasileiro de Fibrose Cística, foram registrados 2.182 pacientes com FC no ano de 2011 (GBEFC, 2011). Na região Sul foi registrado 551 (25,3%) casos, sendo distribuídos: 97 (17,6%) pacientes são do estado do Paraná, 138 (25%) pacientes no estado de Santa Catarina e 316 (57,3%) no estado do Rio Grande do Sul (GBEFC, 2011).

O diagnóstico da FC é realizado pelo teste de suor, com a avaliação das concentrações de sódio e cloreto no suor dos pacientes (DI SANT'AGNESE *et al.*, 1953). O método utilizado para a dosagem de cloretos no suor é a iontoforese por pilocarpina (GIBSON; COOKE, 1959), que é considerado o padrão ouro para o diagnóstico de FC (COLLIE *et al.*, 2014). Além do teste do suor, o diagnóstico é complementado por meio das características clínicas dos pacientes, tais como: insuficiência pancreática exócrina, as infecções respiratórias recorrentes, a

bronquiectasia em ambos os pulmões e a hipertripsinogenemia neonatal. Podendo ainda ser realizada a identificação genética dos alelos mutantes da FC (DE BOECK *et al.*, 2006; FARRELL, 2008). No Brasil o diagnóstico da FC durante a infância é significativo, sendo realizado por meio de programas de triagem neonatal ou teste de suor (GBEFC, 2011).

Após o diagnóstico, a gravidade da doença pode ser avaliada por meio do escore de Shwachman e Kulczycki (escore S-K), o qual considera a atividade geral do paciente, os exames físicos, os aspectos nutricionais e os achados radiológico (SHWACHMAN; KULCZYCKI, 1958). A avaliação da função pulmonar e a progressão da FC pode ser realizada por meio da espirometria, que permite a detecção precoce e a prevenção de alterações pulmonares mais graves (KONSTAN *et al.*, 2007; LOEVE *et al.*, 2011). A espirometria pode ser realizada em crianças a partir de cinco anos de idade. Entre os parâmetros avaliados pela espirometria estão o volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF_1) e a capacidade vital forçada (CVF) (KONSTAN *et al.*, 2007; ROSENTHAL, 2008). O VEF_1 é comumente usado como um indicador de deterioração pulmonar, sendo que quanto menor for o VEF_1 maior será o esforço respiratório devido a problemas nas trocas gasosas. Além disso, o VEF_1 pode indicar o não controle da infecção e da inflamação (GROSSMAN; GROSSMAN, 2005; ZIEGLER *et al.*, 2009). A CVF corresponde à quantidade total de ar expirado com o esforço máximo após uma inspiração máxima (JAT, 2013).

As manifestações da FC podem aparecer no período neonatal ou mais tardiamente, sendo que alguns pacientes permanecem assintomáticos por vários anos (HAACK, ARAGÃO; NOVAES, 2013). O diagnóstico da FC, atualmente, pode ser realizado utilizando-se testes para a identificação de dois alelos mutantes da FC. Os testes comerciais identificam os 86 alelos em 93% dos casos (DAVIS, 2006). Contudo, já foram relatados mais de 1.900 alelos, ou seja, podem não ser identificadas mutações raras (DATABASE, 2013; LYNCH; BRUCE, 2013). Além disso, as consequências funcionais das mutações e a gravidade da doença foram definidas para um número relativamente pequeno de genótipos da CFTR (LYNCH; BRUCE, 2013).

A ausência ou a disfunção da CFTR afeta a produção de muco, as organelas intracelulares, os grânulos de secreção e conseqüentemente os órgãos, como por exemplo os do trato respiratório e do trato gastrointestinal

(HAACK *et al.*, 2013). As mutações podem ser divididas em seis classes (GELFOND; BOROWITZ, 2013) conforme listadas no quadro a baixo (Quadro 1).

Quadro 1 - Classificação das mutações do gene do Canal Regulador de Condutância Transmembrana de Fibrose Cística (CFTR).

Classe	Mutação	Consequencias
Fenótipo grave da fibrose cística		
I	Trp1282X (W1282X) G542X R553X 3950delT	A CFTR não é sintetizada devido a presença de códons de parada ou defeitos de “splicing”.
II	Phe508del (Δ F508) N1303K	A CFTR é sintetizada, mas em uma forma imatura (parcialmente glicosilada e deformada, não sendo liberada do retículo endoplasmático), e é principalmente degradada pela via ubiquitina-proteossoma.
III	Gly551Asp (G551D)	A CFTR atinge a membrana da célula, mas não responde a sinais intracelulares.
VI	Gln1412X (Q1412X) 1811+1.6 kb A>G	A CFTR instável e sua meia vida está diminuída na superfície celular.
Fenótipo leve da fibrose cística		
IV	Arg117His (R117H) R334W G314E R347P D1152H	A CFTR atinge a superfície da célula, mas com conformação anormal do poro resultando em má condutividade de íons cloreto.
V	3849+10 kb C>T 3272-26 A>G	Quantidade diminuída de proteína CFTR funcional.

Fonte: Adaptado de (LUBAMBA *et al.*, 2012) e (THURSFIELD; DAVIES, 2012)

Dentre as mutações do gene CFTR a com maior incidência é a Phe508del (Δ F508) (GELFOND; BOROWITZ, 2013). Cerca de 90% da população com FC apresenta a mutação Phe508del, e destes 50% são homozigotos e 40%

heterozigotos (THURSFIELD; DAVIES, 2012; ROWE; VERKMAN, 2013). No Brasil, 26% dos fibrocísticos são homozigotos para a mutação Phe508del e 42% são heterozigotos para a mesma mutação, sendo a incidência de 68% (GBEFC, 2011).

A mutação Phe508del é o resultado de uma deleção de três pares de bases de um resíduo do aminoácido fenilalanina na posição 508 da proteína CFTR (GELFOND; BOROWITZ, 2013), como consequência a proteína é degradada pelo sistema lisossomal. Entretanto as proteínas não degradadas chegam até a superfície celular, exercendo sua atividade funcional (THURSFIELD; DAVIES, 2012). Os pacientes com FC homozigotos para esta mutação apresentam a forma mais grave da doença (LYNCH; BRUCE, 2013).

Estudos tem mostrado a relação entre o genótipo e o fenótipo desses pacientes. Pacientes com as mutações da classe I, II, III e VI (mutações “graves”) apresentam insuficiência pancreática e maior risco para desenvolvimento de doença pulmonar, contudo aqueles com mutações da classe IV e V (mutações “leves”) geralmente apresentam suficiência pancreática e doença pulmonar menos severa (DAVIS, 2006; GELFOND; BOROWITZ, 2013).

A presença de doença pulmonar está relacionada com o tipo de mutação, devido a presença de alterações genéticas adicionais como polimorfismo em genes que codificam mediadores inflamatórios, os quais podem influenciar na expressão de determinados genes e consequentemente o fenótipo da FC (BUSCHER; GRASEMANN, 2006; VANSCOY *et al.*, 2007; CORVOL *et al.*, 2008).

O comprometimento no transporte de íons de cloro, devido à mutação no gene CFTR, promove alterações das condições fisiológicas na superfície epitelial, gerando um ambiente ideal para a colonização de bactérias nas vias aéreas e consequente declínio da função pulmonar (LYNCH; BRUCE, 2013). O defeito ou até mesmo a ausência da proteína CFTR, acarreta uma diminuição na secreção de cloreto de sódio e um aumento na absorção de água na superfície epitelial. A diminuição do líquido superficial nas vias aéreas, pode ocasionar uma alteração ciliar e comprometimento do transporte mucociliar (LYNCH; BRUCE, 2013). Como consequência, há desidratação do muco da superfície da mucosa das vias aéreas que associada à colonização por microrganismos, pode contribuir para o declínio progressivo da função pulmonar desses pacientes (LYNCH; BRUCE, 2013).

Estudos com o intuito de caracterizar a microbiota das vias respiratórias de pacientes com FC tem indicado a presença de diversos filotipos bacterianos neste meio (LYNCH; BRUCE, 2013). Os principais patógenos relacionados com infecções pulmonares em pacientes com FC são: *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Stenotrophomonas maltophilia* (*S. Maltophilia*), *Burkholderia cepacia* (*B. cepacia*) e *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) estando essa fortemente associada com uma maior resposta inflamatória (GOVAN; DERETIC, 1996; HUTCHISON; GOVAN, 1999). Além desses patógenos, cinco outros (*Mycoplasma salivarium*, *Ralstonia taiwanensis*, *Rothia mucilaginosa*, *Vincentii treponema*, e *Veillonella atypical*) foram identificados e estes contribuem para a evolução da doença pulmonar, nesta população (ROGERS *et al.*, 2004; LYNCH; BRUCE, 2013).

A alteração na colonização da microbiota nas vias aéreas com o passar do tempo tem sido associada com o declínio da função pulmonar. Um estudo mostrou correlação negativa significativa entre a idade do paciente e a função pulmonar, ou seja, pacientes com FC mais velhos, em comparação aos mais jovens, apresentam maior comprometimento das vias respiratórias (COX *et al.*, 2010). Neste mesmo estudo foi mostrado que pacientes mais velhos apresentavam patógenos da família Pseudomonadaceae, a qual apresentou correlação positiva com a idade do paciente, enquanto que o *H. influenzae* apresentou correlação negativa com a idade dos pacientes com FC (COX *et al.*, 2010). De uma forma geral, no início da vida, as vias aéreas são colonizadas principalmente por *S. aureus* e *H. influenzae*. Eventualmente passam a ser colonizados por *P. aeruginosa*, que depois de um certo tempo pode desenvolver um fenótipo mucóide nas vias aéreas, que resulta na formação de uma camada de aprisionamento de microorganismos no pulmão e que pode acelerar o declínio da função pulmonar (BALS *et al.*, 2001; TARRAN *et al.*, 2001). A *B. cepacia* é uma bactéria resistente aos antibióticos e, se não tratado em pouco tempo pode levar à morte (LEWIN, BYARD; DAVIS, 1990).

Com a descoberta de que a colonização dava-se entre pacientes infectados e não infectados deu-se início à separação dos mesmos por tipo de colonização (LIPUMA *et al.*, 1990; DAVIS, 2006). Além disso, em relação à relação a diversidade bacteriana, observou-se que pacientes pediátricos com um bom estado pulmonar apresentam uma maior diversidade em relação aos

pacientes mais velhos com doença pulmonar em fase terminal. Sendo esta menor diversidade bacteriana atribuída a maior exposição aos tratamentos com antibióticos (ZHAO *et al.*, 2012; LYNCH; BRUCE, 2013).

A doença pulmonar é considerada a principal causa de morbidade e mortalidade entre os pacientes com FC. Devido a isso há décadas estudos tem sido realizados com o intuito de entender os mecanismos da doença para então poder desenvolver terapias (DI; ANDERSEN, 1946). Os avanços nos estudos patológicos permitiram concluir que ao nascer o pulmão dos pacientes com FC é relativamente normal, exceto pelo fato de que as glândulas exócrinas já apresentam muco (STURGESS; IMRIE, 1982). As infecções bacterianas na FC geralmente se desenvolvem no início da vida e com o avanço da idade a colonização das vias aéreas permanece, mesmo havendo tratamento precoce da doença com antibióticos (DAVIS, 2006). Ocasionalmente, a infecção bacteriana promove à inflamação crônica e consequente aumento da obstrução das vias aéreas e insuficiência respiratória, caracterizando a doença pulmonar progressiva (ELIZUR *et al.*, 2008). Com a progressão da doença, a inflamação das vias aéreas é associada à resposta inflamatória sistêmica (ELIZUR *et al.*, 2008).

Além das alterações fisiológicas da mucosa do sistema respiratório, as mutações no gene CFTR também podem causar alterações no trato gastrointestinal, em todo o processo de digestão e absorção, resultando em má absorção de nutrientes e desnutrição. Entre as manifestações da FC no trato gastrointestinal estão: refluxo gastroesofágico; acúmulo de muco; obstrução intestinal distal; inflamação; supercrescimento bacteriano no intestino delgado (SBID); tempo lento de trânsito no trato gastrointestinal e doença inflamatória intestinal (LYNCH *et al.*, 2013).

A proteína CFTR é encontrada ao longo de todo o epitélio do trato gastrointestinal e do sistema pancreático (GELFOND; BOROWITZ, 2013). O defeito desta proteína tem como consequência primária a secreção de muco intestinal viscoso e espesso, devido à desidratação, acidificação do meio e alteração da glicosilação das mucinas (NORKINA, BURNETT; DE LISLE, 2004; DE LISLE, 2007). E como consequência secundária dessas alterações pode haver uma disbiose que pode ser definida como uma alteração no equilíbrio e/ou composição da flora intestinal e consequente resposta inflamatória (LEE *et al.*, 2012).

A microbióta intestinal quando normal está relacionada com o fornecimento de nutrientes para o hospedeiro, armazenamento de gordura, fermentação de componentes dietéticos não digeríveis, desenvolvimento do sistema imunitário, angiogênese e com a resistência à colonização por patógenos (STAPPENBECK, HOOPER; GORDON, 2002; GUARNER; MALAGELADA, 2003; HOOPER *et al.*, 2003; KEILBAUGH *et al.*, 2005; SEKIROV *et al.*, 2010). A disbiose na FC pode ocorrer devido à presença de novos patógenos, alterações alimentares e alterações no ambiente e/ou estresse físico e psicológico, podem desencadear o crescimento excessivo de patógenos oportunistas e contribuir para o desenvolvimento de doenças (EDLUND *et al.*, 2000; HAWRELAK; MYERS, 2004; DETHLEFSEN *et al.*, 2008; ROGERS *et al.*, 2010).

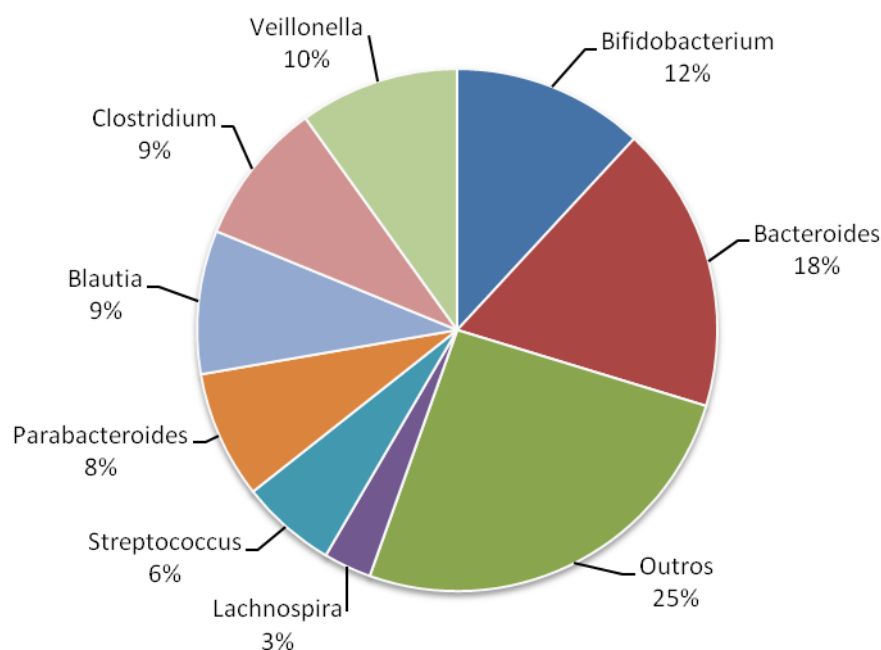
O mecanismo subjacente ao processo inflamatório intestinal ainda não está bem esclarecido, contudo há evidências, descobertas a partir de modelo animal, que comprovam a ocorrência de disbiose e a sua relação com a inflamação (DE LISLE, 2007). Estudos em modelos de FC em animais mostraram que os mesmos apresentavam uma carga bacteriana 40 vezes maior no intestino e dismotilidade caracterizando disbiose (DE LISLE, 2007). Além disso, a expressão de genes relacionados à inflamação diminuiu quando os ratos foram tratados com antibióticos (NORKINA *et al.*, 2004). As alterações na microbiota intestinal também podem ser devido à ressecção intestinal realizada em tratamento do íleo meconial e/ou exposição frequente a antibióticos para tratamento das infecções pulmonares recorrentes (LEE *et al.*, 2012).

Como colocado anteriormente, as mutações no gene CFTR podem alterar a microbiota intestinal, sendo que a mesma também difere com relação à faixa etária (COX *et al.*, 2010). A programação microbiológica tem início ainda no útero e progride gradualmente durante o parto e a infância, sendo ainda influenciada pelo tipo de parto, alimentação, exposição a antibióticos no período perinatal e contato físico materno (RAUTAVA *et al.*, 2012; BERRINGTON *et al.*, 2013). A partir do nascimento há um aumento da diversidade da microbiota intestinal, pelo qual crianças com a idade entre um e três anos já apresentam um padrão semelhante ao do adulto. Contudo, a presença de infecção resulta em uma menor diversidade da microbiota (PALMER *et al.*, 2007; YATSUNENKO *et al.*, 2012).

O leite materno além de estar associado com a promoção de saúde fornece quantidades significativas de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (THOMAS *et*

al., 2011; YOUN *et al.*, 2012). A ingestão de alimentos sólidos também vai influenciar o microbioma de forma positiva, ou não, dependendo do tipo de alimento (BRUZZESE *et al.*, 2007). A figura 1 estão representados os 8 gêneros mais abundantes da microbiota intestinal de crianças com FC .

Figura 1- Distribuição dos gêneros mais abundantes da microbiota intestinal de crianças com fibrose cística.



Fonte: Adaptado de MADAN *et al.* (2012).

Dentre as manifestações mais comuns na FC destaca-se a ocorrência de íleo meconial que é uma obstrução intestinal, comum em pacientes com mutações graves como a Phe508del e tem início já na infância (WALKOWIAK *et al.*, 2005; CARLYLE, BOROWITZ; GLICK, 2012). Pacientes homozigotos para a mutação Phe508del apresentam 24,9% de chance de ter íleo meconial, sendo que os heterozigotos para esta mutação possuem apenas 16,9% de chance. O íleo meconial é o primeiro sinal de insuficiência pancreática (BLACKMAN *et al.*, 2006).

A provável causa para a ocorrência de íleo meconial pode ser a secreção deficiente de bicarbonatos (HCO_3^-), resultando em um ambiente luminal mais ácido e desidratado do que o normal (QUINTON, 2010). A formação de muco

compreende a secreção de mucinas por excitose no lúmen intestinal com a formação de uma matriz firme em torno dos íons de cálcio (Ca^{2+}). E por meio da quelação dos íons de Ca^{2+} , o HCO_3^- ajuda a expandir essas mucinas a partir de uma matriz solta e bem hidratada (CARLYLE *et al.*, 2012). Contudo, em casos de íleo meconial o muco apresenta-se desidratado e compacto (CHEN *et al.*, 2010).

A síndrome da obstrução intestinal distal (SOID), comum em pacientes com insuficiência pancreática, é similar ao íleo meconial, contudo a principal diferença entre elas está na idade do paciente. Na SOID ocorre uma compactação de resíduos fecais no íleo terminal, sendo a principal causa a desidratação. Outros mecanismos como a dismotilidade intestinal, a hipertrofia do tecido, a inflamação da mucosa, a má absorção de gordura, a utilização de medicamentos que interferem na motilidade intestinal, o defeito no transporte de íons de cloro e a secreção de água no lúmen também estão relacionadas com a ocorrência de SOID (HAACK *et al.*, 2013). A SOID pode ocorrer tanto de forma aguda como crônica, sendo os principais sinais e sintomas a dor, constipação, distensão abdominal, vômitos e anorexia (LITTLEWOOD, WOLFE; CONWAY, 2006; COLOMBO *et al.*, 2011; HAACK *et al.*, 2013). A ocorrência de dor intermitente e a distensão abdominal podem ser atribuídas a um colapso parcial e acúmulo de material fecal sobre uma massa mucóide fortemente aderente (COLOMBO *et al.*, 2011).

A doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) é observada em cerca de 30% dos adultos com FC, sendo os principais sintomas a azia, a disfagia e a dispepsia (SABATI *et al.*, 2010). O mecanismo que causa a DRGE na FC é igual para os indivíduos sem diagnóstico de FC. Contudo a maior incidência que é observada nos fibrocísticos pode ser consequência das doenças respiratórias subjacentes. A DRGE consiste no relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior (RTEEI), resultando em refluxo do conteúdo gástrico para o esôfago e tendo como sintomas clínicos dor e desconforto (GELFOND; BOROWITZ, 2013).

O SBID ocorre em cerca de 30 a 55% dos pacientes com FC. A presença de secreções espessas, os usos crônicos de azitromicina e de agentes de supressão de ácido podem causar estase intestinal o que facilitaria o seu desenvolvimento (FRIDGE *et al.*, 2007). Os principais sintomas observados no SBID são diarreia, dor e distensão abdominal (LISOWSKA, WÓJTOWICZ; WALKOWIAK, 2009). Tem sido observado nesses pacientes que o trânsito do

intestino delgado é praticamente o dobro do que em pessoas sem FC. Como consequência da SBID há um excessivo crescimento bacteriano no intestino delgado, o qual é responsável pela produção de metabólitos tóxicos, que por sua vez podem causar dano aos enterócitos, má absorção de nutrientes e desnutrição (FRIDGE *et al.*, 2007). Estudo em modelos animais com FC, realizado com o intuito de classificar as bactérias intraluminais, mostrou que há uma diminuição da diversidade de espécies de microorganismos no intestino destes animais. Dos microorganismos identificados 95% pertenciam a família Enterobacteriaceae e 6% era *Clostridium perfringens* (NORKINA *et al.*, 2004; DE LISLE, 2007).

O uso de antibióticos como a tobramicina e a eritromicina é outro fator que pode influenciar na microbiota do trato gastrointestinal (RATJEN, 2001). A ingestão de antibióticos pode resultar em grandes perdas de “membros” do microbioma que mesmo após o término do tratamento demora ou não se restabelece mais (DETHLEFSEN *et al.*, 2008; RAFII, SUTHERLAND; CERNIGLIA, 2008). Normalmente o balanço ecológico é restaurado em poucas semanas após a ingestão de antibiótico, contudo há evidências de que as perturbações associadas aos antibióticos podem persistir por um longo período após o tratamento. Assim, a exposição prolongada a antibióticos, pode resultar no crescimento excessivo de bactérias resistentes a antibióticos (IAPICHINO *et al.*, 2008; RAFII *et al.*, 2008; PREIDIS; VERSALOVIC, 2009). Em pacientes com FC, as infecções com patógenos como o *Clostridium difficile* podem causar diarreia severa e/ou colite pseudomembranosa (SCHMITT-GROHE *et al.*, 2002; HUSSAIN *et al.*, 2004).

A relevância clínica da perda de microorganismos ainda não está bem estabelecida. Contudo sabe-se que a microbiota do trato gastrointestinal está relacionada com funções metabólicas importantes como a regulação da resposta imune do hospedeiro. O uso frequente de antibióticos pode acarretar em um efeito cumulativo negativo sobre o metabolismo e sistema imune nesta população (PENDERS *et al.*, 2006; LYNCH *et al.*, 2013).

O pâncreas é outro órgão afetado devido ao defeito ou ausência da proteína CFTR, sendo que 85% a 90% dos pacientes com FC apresentam insuficiência pancreática. Sendo mais comum naqueles com mutações graves, e destes a maior parte apresenta os sinais e sintomas desde o nascimento (PARK; GRAND, 1981; CIPOLLI *et al.*, 2007; HAACK *et al.*, 2013). A porção exócrina do

pâncreas esta relacionada com a produção de enzimas para a digestão dos alimentos que ocorrerá no intestino (HAACK *et al.*, 2013). Ou seja, a insuficiência pancreática é caracterizada por diarreia crônica e má digestão dos alimentos (REIS; DAMACENO, 1998). A má digestão se deve a obstrução do canalículo do pâncreas pela presença de muco, o que impede a passagem das enzimas responsáveis pela digestão de proteínas, carboidratos e gordura para o duodeno (REIS; DAMACENO, 1998). Além disso, pode haver uma diminuição da eficácia das enzimas pancreáticas e uma precipitação dos sais biliares devido à diminuição na secreção de bicarbonato de sódio, provocando uma acidificação do meio e consequente má absorção (REIS; DAMACENO, 1998). Este efeito tem sido relacionado com a má absorção e a presença de inflamação intestinal (LEE *et al.*, 2012).

A digestão e absorção inadequadas juntamente com o aumento das necessidades energéticas, devido principalmente à anorexia e às doenças respiratórias recorrentes, são as principais causas de desnutrição nestes pacientes (HAACK; NOVAES, 2013; PANAGOPOULOU *et al.*, 2014). Em crianças recém diagnosticadas já se pode observar problema de má absorção e consequentemente a deficiência de algumas vitaminas lipossolúveis. Devido a isso, todas as crianças diagnosticadas com FC passam a receber a suplementação das vitaminas A, D, E e K (FERANCHAK *et al.*, 1999; BOROWITZ, BAKER; STALLINGS, 2002; DALCIN; ABREU E SILVA, 2008).

A porção endócrina do pâncreas também apresenta alterações, como a intolerância à glicose devido à diminuição da secreção de insulina. A presença de diabetes em pacientes com FC pode resultar em complicações microvasculares e macrovasculares associadas à deterioração pulmonar acelerada, com consequente aumento da taxa de mortalidade (BRENNAN *et al.*, 2004).

Há décadas foram estabelecidos três pilares para o tratamento da FC, sendo eles: a repleção nutricional, o alívio da obstrução das vias aéreas e a antibiótico terapia.

O primeiro pilar (repleção nutricional) consiste na suplementação com enzimas pancreáticas e na suplementação de vitaminas lipossolúveis A, D, E e K, devido à insuficiência pancreática exócrina e má absorção de gordura. As enzimas suplementadas são a protease, a lipase e a amilase, sendo a dosagem recomendada inferior a 2.500 unidades de lipase/kg/refeição ou inferior a 4.000

unidades de lipase/gramas de gordura por dosagem enzimática baseada no peso diário (BOROWITZ *et al.*, 2002; SINAASAPPEL *et al.*, 2002). No caso dos pacientes com mais de quatro anos a suplementação deve começar com 500 unidades de lipase/kg/refeição (BOROWITZ, GRAND; DURIE, 1995; BOROWITZ *et al.*, 2002). A suplementação de vitaminas lipossolúveis segue o Consenso Americano de Fibrose Cística, o qual se baseia na normalização das concentrações séricas, devendo ser reavaliado após alguns meses de suplementação e/ou antes, da mudança no tratamento de reposição enzimática (BOROWITZ *et al.*, 2002; SINAASAPPEL *et al.*, 2002; KEREM *et al.*, 2005). Os pacientes com FC também apresentam aumento da demanda calórica e anorexia devido à doença pulmonar, sendo que cerca de 20% das crianças e 40% dos adultos apresentam baixo peso. Como forma de restabelecer o estado nutricional alguns pacientes passam a completar a alimentação com suplemento enteral, pois baixo peso é um indicador de mau prognóstico (DAVIS, 2006).

O objetivo do segundo pilar (alívio da obstrução das vias aéreas) é desobstruir as vias aéreas as quais se encontram obstruídas por muco e pus. A drenagem postural e a percussão são métodos eficazes que são utilizados em pacientes mais jovens com o objetivo de expelir o muco (MURRAY, 1979). As vias aéreas dos pacientes com FC geralmente também apresentam edema, hipertrofia do músculo liso e broncoconstrição. Os broncodilatadores (agonistas β -adrenérgicos e teofilina) são administrados com o objetivo de relaxar o músculo liso das vias aéreas (KONSTAN, STERN; DOERSHUK, 1994). Nem todos os pacientes respondem bem ao tratamento e alguns apresentam uma diminuição da função pulmonar como consequência do dano na parede das vias aéreas (DAVIS, 2006).

O terceiro pilar é baseado no tratamento de infecções das vias aéreas principalmente com antibióticos. Os benefícios da terapia supressiva vêm sendo observada com relação ao uso da tobramicina por aerossol, que após ser usada durante seis meses pode levar a melhora da função pulmonar e menor número de exacerbações pulmonares (DAVIS, 2006). Além disso, a terapia com azitromicina oral contínua também tem mostrado bons resultados em pacientes mais velhos infectados com *Pseudomonas*. Entretanto não se sabe ao certo se isso se deve a atividade antimicrobiana da azitromicina ou as suas propriedades antiinflamatórias (ROSENFELD, RAMSEY; GIBSON, 2003). A duração deste tipo de tratamento

ainda não está bem estabelecida, contudo tem se preconizado a terapia supressiva na infância, antes do estabelecimento da infecção crônica, com o intuito de beneficiar os pacientes por meio do atraso da colonização (ROSENFELD *et al.*, 2003).

Um quarto pilar foi posteriormente estabelecido visando a supressão da inflamação. A princípio acreditava-se que a inflamação era uma resposta a infecção, contudo foi observado que pacientes com FC não contaminados apresentavam concentrações muito baixas de imunoglobulina G (IgG). Além disso foi observado que crianças com FC apresentavam maior número de neutrófilos e maiores concentrações de IL-8 no lavado broncoalveolar em relação as crianças sem FC (MATTHEWS *et al.*, 1980; NOAH *et al.*, 1997; MUHLEBACH *et al.*, 1999). O uso de esteróides em dias alternados ou de doses elevadas de ibuprofeno estão relacionados com a diminuição na taxa de declínio pulmonar em pacientes com FC (EIGEN *et al.*, 1995). Entretanto o uso de esteróides tem sido associado ao retardo do crescimento, a ocorrência de cataratas e *diabetes mellitus*. Enquanto que o ibuprofeno tem sido relacionado ao aumento da incidência de hemorragia gastrointestinal (ROSENSTEIN; EIGEN, 1991; OERMANN, SOCKRIDER; KONSTAN, 1999).

De uma forma geral a terapia para a FC inclui a manutenção do estado nutricional por meio da suplementação com enzimas, vitaminas e minerais e a recomendação de uma dieta hipercalórica e hiperproteica. Além de cuidados com a presença de infecções do trato pulmonar, a utilização de medicamentos, principalmente antibióticos e o monitoramento das alterações gastrointestinais, pancreáticas e hepatobiliares (ROSA *et al.*, 2008; FLUME; VAN DEVANTER, 2012).

O diagnóstico precoce da FC, o monitoramento e o tratamento das complicações do trato respiratório e gastrointestinal juntamente com a manutenção do estado nutricional o qual está diretamente ligado com a função pulmonar, podem melhorar a taxa de sobrevida e a qualidade de vida dos pacientes (O'DONNELL *et al.*, 2009).

2.2 RESPOSTA INFLAMATÓRIA NA FIBROSE CÍSTICA E SUA RELAÇÃO COM O ESTADO NUTRICIONAL

A inflamação é um mecanismo de defesa que tem como função proteger o organismo contra infecções e insultos. De uma forma geral esse mecanismo é responsável pela identificação do corpo estranho (fase aferente), morte do patógeno (fase eferente), pela reparação dos tecidos e auxílio na restauração da homeostase em locais infectados ou danificados. Quando a inflamação ocorre de forma excessiva pode lesionar os tecidos e em situações mais graves pode causar alterações fisiológicas como descompensação e disfunção orgânica, assim como pode levar à morte. Os sinais e os sintomas característicos são vermelhidão, edema, rubor, dor e perda da função, além de envolver a interação entre os vários tipos de células e a produção e a resposta a mediadores químicos (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004; CALDER *et al.*, 2009).

O organismo, normalmente, é tolerante a microrganismos e outros componentes ambientais que não representam uma ameaça, sendo esta resposta limitada e controlada. Para que não haja danos ao organismo, a resposta inflamatória é bem regulada e auto-limitada. Esta resposta envolve a ativação de mecanismos de *feedback* negativos caracterizados pela secreção de citocinas anti-inflamatórias, pela inibição da cascata de sinalização pró-inflamatória, pela perda de receptores para mediadores inflamatórios e pela ativação das células regulatórias. A inflamação está relacionada com a perda da tolerância e/ou da regulação dos processos que quando ocorre pode causar danos irreparáveis aos tecidos (CALDER *et al.*, 2009). A inflamação pode ser dividida em aguda e crônica (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004).

A inflamação aguda normalmente é de curta duração, podendo durar de horas a dias, sendo caracterizada por vasodilatação, exsudação do plasma e migração celular principalmente de neutrófilos para o local da lesão e em alguns casos pode levar à ativação da cascata de coagulação (CARRAWAY *et al.*, 2003; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004).

A inflamação crônica ocorre quando o sistema imunológico não é capaz de resolver o processo inflamatório consequente de uma infecção ou de outro insulto. É caracterizado por apresentar longa duração, podendo essa ser de meses a anos, ocorrendo destruição e reparação tecidual simultaneamente (DAVIES *et al.*, 2003; LIEW, 2003). Durante o processo inflamatório as células do sistema imunitário migram, por meio do sistema circulatório, para os tecidos. Para isso necessitam ultrapassar as barreiras endoteliais e epiteliais. Ao ultrapassarem a

barreira, outras proteínas e componentes sanguíneos também podem passar. Além disso, o recrutamento contínuo de células inflamatórias pode resultar em necrose e liberação de enzimas proteolíticas no tecido, resultando em dano e formação de cicatriz (MACHEN, 2006; HERALD, 2010).

A inflamação é também mediada pelo sistema imunitário que pode ser dividido em dois subsistemas que interagem, sendo eles a imunidade inata, a qual é caracterizada por uma resposta rápida, primitiva e inespecífica, e a imunidade adaptativa a qual envolve resposta específica de antígenos de defesa e de longa duração (GARCIA, TEYTON; WILSON, 1999; JANEWAY; MEDZHITOV, 2002; CALDER *et al.*, 2009).

O sistema imunitário inato é responsável pela resposta inicial quando ocorre uma invasão do tecido, sendo que os componentes celulares primários são os macrófagos, as células dendríticas, os neutrófilos e as células assassinas (*natural killer* - NK). A magnitude da resposta inata é determinada pela atividade das citocinas e dos mediadores. As citocinas são definidas como polipeptídeos produzidos por células do sistema imunológico em resposta à infecção ou lesão tecidual (LIEW, 2003). A síntese de citocinas é auto-limitante, apesar de algumas citocinas permanecerem na circulação por um longo período de tempo e, além disso, são pleiotrópicas por apresentarem inúmeras funções e redundantes pois mais de uma citocina apresenta a mesma função (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004). Devido a isso, o bloqueio da atividade de uma citocina tem efeito limitado sobre a resposta inflamatória (PARRILLO *et al.*, 1990).

As principais células responsáveis pela secreção de citocinas são os macrófagos, contudo as células dendríticas também são reconhecidas como células efetoras no reconhecimento microbiano e produção de citocinas, devido à sua capacidade de responder a produtos microbianos por meio de receptores de reconhecimento padrão, presentes em sua superfície (GRANUCCI, FEAU, ANGELI, *et al.*, 2003; GRANUCCI, FEAU, ZANONI, *et al.*, 2003; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004).

Os receptores semelhantes a *Toll* (*Toll-like receptor* – TLR) são proteínas presentes na superfície celular que se ligam a outras moléculas formando receptores complexos e relativamente específicos para certos ligantes, como por exemplo para os lipopolissacarídeos das bactérias gram-negativas, lipoproteínas das bactérias gram-positivas e DNA bacteriano, ou seja estão relacionadas com o

reconhecimento de patógenos (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004). A ligação ao complexo TLR dá início ao recrutamento de proteínas de sinalização citoplasmáticas como a proteína Fator 88 de Diferenciação Mieloide (MyD88) e a interleucina-1 associada ao receptor quinase (IRAK). A autofosforilação e a dissociação da IRAK do MyD88 ocorre devido ao recrutamento da IRAK. Quando fosforilada a IRAK induz a ativação do fator-6 associado ao receptor do fator de necrose tumoral (TRAF-6), que em seguida ativa a quinase inibidora do fator nuclear kB (IKkB), resultando na degradação da proteína inibitória IKkB e na liberação citoplasmática do fator nuclear kB (NF-kB). Em seguida o NF-kB é transportado para o núcleo para se ligar as regiões promotoras de genes, as quais codificam mediadores pró-inflamatórios como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-1 beta (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) e óxido nítrico-sintase induzida (iNOS). A ativação do TRAF-6 também resulta na indução da proteína quinase ativada por mitógeno (MAP) com a ativação final da proteína de ativação-1 (AP-1) dos fatores de transcrição. A NF-kB, assim como a AP-1, ligam-se à região promotora dos genes que codificam os mediadores pró-inflamatórios e promovem a produção dos mesmos (GUHA; MACKMAN, 2001; WARD; LENTSCH, 2002; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004; DOLL, BARR; SIMPKINS, 2014).

O mediador pró-inflamatório TNF- α é liberado pelos macrófagos logo após ocorrer à lesão, iniciando uma resposta imunológica que ativa os mecanismos de defesa anti-microbioma, que após a erradicação da infecção inicia a reparação do tecido. O TNF- α tem a capacidade de ativar neutrófilos e fagócitos mononucleares (DINARELLO, 2000; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004). Contudo, a liberação sistêmica de TNF- α pode dar início a uma cascata destrutiva a qual pode resultar em lesão tecidual, disfunção nos órgão e conseqüentemente a morte. Alguns dos efeitos sistêmicos do TNF- α são: indução de febre; hipoglicemia; catabolismo; estimulação da secreção de proteína de fase aguda no fígado; ativação da cascata de coagulação; supressão do miocárdio; indução da vasodilatação sistêmica resultando em hipotensão (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004; DOLL *et al.*, 2014).

A família das proteínas IL-1 inclui a interleucina-18 (IL-18), mas tem funções diferentes. A IL-1 apresenta funções semelhantes ao TNF- α , contudo não induz injúria ou morte celular, mas potencializa os efeitos do TNF- α . Enquanto

que a IL-18 atua em conjunto com a interleucina-12 (IL-12) na estimulação de células NK e células T auxiliares (*T helper-1* -Th1) para produzir interferon-gama (IFN- γ) (PRUITT, COPELAND; MOLDAWER, 1995; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004).

A IL-8 é produzida por macrófagos e atua como um potente quimioatrativo no recrutamento de neutrófilos para o local da inflamação. Atua na mediação da lesão tecidual causada por traumas e queimaduras especialmente no pulmão (LUSTER, 1998; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004).

A citocina IFN- γ está envolvida na amplificação da resposta inflamatória, estando principalmente relacionada com a estimulação da secreção de citocinas, fagocitose e a produção de oxidantes por macrófagos. O IFN- γ em conjunto com a IL-12 atua na amplificação tanto da resposta imunológica inata quanto da adaptativa, onde a IL-12 estimula as células NK a produzirem IFN- γ que por sua vez, potencializa a atividade dos macrófagos inclusive a produção de mais IL-12, ou seja, a produção de IL-12 e IFN- γ resulta em um *feedback* positivo que potencializa a resposta inflamatória (VARMA *et al.*, 2002; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004).

A interleucina-10 (IL-10) é uma citocina antiinflamatória com a capacidade de bloquear a produção de citocinas pró-inflamatórias e a secreção de quimiocinas além de inibir a apresentação de antígenos pelos macrófagos e a atividade das células dendríticas atuando como um importante regulador da resposta inflamatória (OOBOSHI *et al.*, 2005). A citocina inibe a produção da IL-12 por macrófagos ativados e células dendríticas, e conseqüentemente atuam na supressão da produção de IFN- γ pelas células NK e células T ativadas (OBERHOLZER *et al.*, 2002; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004; DOLL *et al.*, 2014).

A resposta imunitária inata também atua na ativação e na amplificação da imunidade adquirida, sendo este efeito mediado pela IL-12 que ativa as células T e estimula a diferenciação das células T virgens (*naïve*) no fenótipo Th1 (O'SULLIVAN *et al.*, 1995; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004). A resposta imunitária é principalmente induzida por meio da apresentação de antígenos estranhos as células TCD4⁺ e TCD8⁺. A ativação das células CD4⁺ estimula a produção de citocinas e amplifica a resposta imunitária inata e adquirida. A principal citocina produzida pelas células Th1 é o IFN- γ , o qual por meio da

ativação dos macrófagos e estimulação da função citolítica de células TCD8⁺ amplifica a resposta pró-inflamatória. Macrófagos e células dendríticas induzem a resposta Th1 por meio da produção de IL-12. A função primária das células Th1 é a promoção da imunidade antimicrobial por meio da mediação da fagocitose (WOLK *et al.*, 2000; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004).

A diferenciação das células Th2 é induzida pela interleucina-4 (IL-4), cuja produção é estimulada por helmintos e alérgenos. As células Th2 diferenciadas produzem IL-4, interleucina-5 (IL-5), IL-10 e interleucina-13 (IL-13). Em conjunto a IL-4, IL-10 e a IL-13 estimulam a supressão dos macrófagos assim como, a produção dos anticorpos IgG₁ e IgE, os quais intermediam tanto as reações alérgicas, como a resposta imunitária anti-parasitária, enquanto que a IL-5 induz a ativação de eosinófilos. Portanto, a principal função das células Th2 é a defesa do hospedeiro contra infecções por helmintos, além do papel patológico na facilitação da asma e reações alérgicas (ROBINSON, 2000; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004).

As células Th3 e as células T reguladoras (Tr1) são um subgrupo de células. A célula Th3 além de produzir o fator de transformação do crescimento beta (*transforming growth factor* beta - TGF- β) também desempenha um importante papel no desenvolvimento da tolerância imunitária, principalmente após a exposição a antígenos por meio do trato gastrointestinal. A célula Tr1 produz TGF- β e IL-10. O TGF- β tem a capacidade de suprimir a função das células Th1 e Th2, macrófagos, células NK e células B, além de estimular o aumento da infiltração de leucócitos. Em conjunto com outras citocinas o TGF- β estimula a diferenciação de células Th17 (WEINER, 2001; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004; LAFYATIS, 2014). O TGF- β atua na regulação da fibrose e da inflamação (LAFYATIS, 2014).

As células Th17, subpopulação das células T CD4⁺, são capazes de desencadear uma resposta inflamatória aguda contra bactérias extracelulares e fungos, por meio do recrutamento de neutrófilos. Além disso, podem ser relacionadas ao desenvolvimento de doenças auto-imunes (MIOSSEC; KOLLS, 2012; SHABGAH, FATTAHI; SHAHNEH, 2014). Entre as citocinas secretadas pela célula Th17 esta a interleucina-17A (IL-17A), que é uma citocina pró-inflamatória relacionada com o recrutamento, a ativação e migração de neutrófilos (FUJIMURA *et al.*, 2013; SHABGAH *et al.*, 2014). A IL-17A induz a molécula de

adesão intercelular 1 (ICAM-1) para o recrutamento de granulócitos, IL-1 e TNF em macrófagos iNOS, e ciclo-oxigenase-2 em condrócitos (DE JONG, SUDDASON; LORD, 2010). A IL-17A também pode ser secretada por células tanto da resposta inata quanto da adaptativa como as células T CD8+, células NK, monócitos, macrófagos, células dendríticas e neutrófilos (YAMADA, 2010).

Na FC a inflamação ocorre precocemente e de forma intensa. Na doença pulmonar, que é caracterizada por um ciclo de auto-perpetuação da obstrução das vias respiratórias, ocorre infecção bacteriana crônica e inflamação intensa. O que pode resultar no desenvolvimento da doença obstrutiva pulmonar progressiva e consequente diminuição na expectativa de vida (DAVIS, DRUMM; KONSTAN, 1996; CHMIEL, BERGER; KONSTAN, 2002).

Quando, pessoas sem doença são infectadas por vírus ou bactérias inicia-se um recrutamento contínuo de neutrófilos para as vias aéreas. Contudo na FC a resposta inflamatória aumenta consideravelmente, e torna-se independente da infecção bacteriana (CHMIEL, BERGER, *et al.*, 2002). Tem sido observado que as vias aéreas dos pacientes com FC apresentam grandes concentrações de mediadores inflamatórios e neutrófilos e seus produtos. Estes estão relacionados com a diminuição das defesas locais e consequente contribuição com a lesão pulmonar. Na secreção pulmonar de pacientes com FC tem-se observado concentrações elevadas de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8. A síntese dessas citocinas são sintetizadas pelo NF-kB, e este pode ser ativado por bactérias e citocinas pró-inflamatórias (VENKATAKRISHNAN *et al.*, 2000; LI *et al.*, 2003; BARNES, 2006; STAROSTA *et al.*, 2006).

As células epiteliais, assim como os macrófagos, linfócitos T e B, células dendríticas e mastócitos expressam a proteína CFTR, e estão presentes em grandes quantidades nas vias respiratórias de pacientes com FC (HUBEAU *et al.*, 2001; MCALLISTER *et al.*, 2005). Entretanto, a ligação entre a disfunção na proteína CFTR e a resposta inflamatória ainda não está bem estabelecida. O que se sabe é que a disfunção na proteína CFTR resulta em um aumento na ativação de NF-kB e na secreção de IL-8 após estímulos pró-inflamatórios (KUBE *et al.*, 2001; SABA *et al.*, 2002; KUBE, FLETCHER; DAVIS, 2005).

A ocorrência de resposta inflamatória na FC tem sido observada na ausência de agentes patogênicos. O que pode sugerir que a resposta inflamatória em pacientes com FC ocorre independente de um estímulo infeccioso. Porém, a

presença da inflamação pode ter sido devido a um não encerramento da resposta inflamatória após o estímulo infeccioso ter sido erradicado. Caracterizando então, uma persistência anormal da resposta inflamatória após uma infecção transitória. Alguns estudos observaram que as vias aéreas dos pacientes com FC são deficientes no mediador antiinflamatório IL-10, o qual está relacionado com o aumento da concentração da IKk β , a qual atua como inibidora da NF-k β . A deficiência de IL-10 e/ou de NO resulta em um desequilíbrio no epitélio das vias aéreas, ou seja, a presença aumentada de NF-k β resultaria na produção excessiva de mediadores pró-inflamatórios e consequente dano pulmonar (STEAGALL *et al.*, 2000; CHMIEL, KONSTAN, *et al.*, 2002; KRAYNACK *et al.*, 2002; SAGEL *et al.*, 2007).

A imunodeficiência está diretamente ligada à deficiência nutricional, por a mesma estar associada com a função de fagócitos, produção de citocinas, resposta de anticorpos e do sistema complemento (CHANDRA, 1996). Entre os fatores que contribuem para a desnutrição na FC estão a insuficiência pancreática exócrina, a qual está relacionada com a má digestão e absorção principalmente das vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e dos minerais cálcio, magnésio e zinco (O'SULLIVAN; FREEDMAN, 2009; ROLIM *et al.*, 2010; WERLIN *et al.*, 2010). O metabolismo dos nutrientes e a imunidade inata atuam em conjunto com o intuito de manter a homeostase do organismo. As células efetoras do sistema imunitário utilizam-se dos nutrientes essenciais tanto como fonte de energia, quanto como precursores metabólicos para a biossíntese de macromoléculas. Em síntese, o comprometimento do estado nutricional está relacionado com o aumento da susceptibilidade a infecções e ou inflamações crônicas (AFACAN, FJELL; HANCOCK, 2012).

As infecções de repetição, o processo inflamatório e o esforço respiratório aumentado são os principais responsáveis pelo comprometimento do estado nutricional dos pacientes com FC (GROENEWEG *et al.*, 2002; SALVATORE *et al.*, 2010). O estado nutricional de pacientes com FC está relacionado com a morbidade e mortalidade em longo prazo, sendo que o comprometimento do estado nutricional nesses pacientes pode ser devido a três fatores principais: ingestão de energia insuficiente; aumento da perda energética; aumento do gasto energético (SINAASAPPEL *et al.*, 2002; PANAGOPOULOU *et al.*, 2014). Entre as causas relacionadas com a ingestão insuficiente de energia estão às doenças

pulmonares, o refluxo gastroesofágico, a tosse e a presença das citocinas pró-inflamatórias com efeito anorexígeno como o TNF- α e a IL-1 β (DODGE; TURCK, 2006; PINTO, SILVA; BRITTO, 2009; PANAGOPOULOU *et al.*, 2014). A insuficiência pancreática a qual resulta em má digestão e absorção de nutrientes é um dos principais fatores responsáveis pela perda energética (SINAASAPPEL *et al.*, 2002; MATEL; MILLA, 2009). Com relação ao gasto energético aumentado as principais causas são as infecções de repetição, a inflamação persistente e o aumento do esforço respiratório (ADDE, RODRIGUES; CARDOSO, 2004; SALVATORE *et al.*, 2010).

A avaliação do estado nutricional de crianças e adolescentes com idade entre cinco e 19 anos com FC normalmente é feita por meio das curvas de crescimento publicadas em 2007 pelo *World Health Organization* (WHO) (WHO, 2007). Sendo esta avaliação feita por meio dos indicadores estatura-para-idade (E/I), peso-para-idade (P/I) e índice de massa corporal-para-idade (IMC/I) (WHO, 2006). Para a classificação do estado nutricional há os parâmetros estabelecidos pelo Consenso Americano de Fibrose Cística específicos para esta população (BOROWITZ *et al.*, 2002). A avaliação nutricional também pode ser feita por meio das medidas de circunferência do braço (CB), a dobra cutânea tricípital (DCT), a dobra cutânea bicípital (DCB), a dobra cutânea subescapular (DCSE), a dobra cutânea supra-íliaca (DCSI). E por medidas calculadas a partir da CB e DCT como a circunferência muscular do braço (CMB), área muscular do braço (AMB) e área gordurosa do braço (AGB) e a composição corporal por meio da DCT, DCB, DCSE e DCSI.

O estado nutricional em pacientes com FC também pode ser agravado pelo catabolismo protéico, o que resulta em uma importante diminuição na massa magra e consequente diminuição da força muscular (ADDE *et al.*, 2004; HAACK; NOVAES, 2013). Fatores como a presença de doença aguda ou crônica, severidade da doença, desequilíbrio hidroeltrólítico, inflamação, infecções recorrentes e estresse oxidativo podem resultar em uma maior debilidade muscular (WAGENMAKERS, 2001). Uma forma de avaliar a força muscular tanto em pessoas saudáveis e quanto na presença de doenças é por meio da força do aperto de mão (FAM) (SCHLÜSSEL, ANJOS; KAC, 2008; LEAL *et al.*, 2011). A avaliação do estado nutricional por meio da força muscular, o qual é considerado

um parâmetro funcional, pode ser uma alternativa de avaliação da gravidade da doença para os pacientes com FC.

2.3 SIMBIÓTICO (PREBIÓTICO – PROBIÓTICO)

Os estudos assim como o interesse com relação aos benefícios dos prebióticos e probióticos têm aumentado devido às evidências do seu benefício tanto para os indivíduos sem doença, quanto para aqueles que são doentes. A Organização Mundial de Gastroenterologia no ano de 2011 publicou as diretrizes para o consumo dos prebióticos e probióticos. Esclarecendo que não há ainda provas sobre a eficácia da ingestão dos mesmos. As diretrizes recomendam a ingestão de prebióticos e probióticos para o tratamento de diarreias associadas ao uso de antibióticos, no tratamento de enterocolite necrotizante e na dermatite atópica (WHO, 2011; SANDERS *et al.*, 2014).

A definição dos prebióticos a princípio era “ingrediente alimentar não digerido que afeta benéficamente o hospedeiro ao estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade de uma ou de um número limitado de bactérias no cólon, melhorando a saúde do hospedeiro” (GIBSON; ROBERFROID, 1995). Essa definição foi posteriormente revista, sendo os prebióticos definidos como “ingredientes alimentares seletivamente fermentados, não digeríveis que permitem mudanças específicas na composição e/ou atividade na microflora gastrointestinal conferindo benefícios a saúde do hospedeiro (GIBSON *et al.*, 2004).

Um ingrediente alimentar só pode ser classificado como prebiótico quando o mesmo apresenta as seguintes características: resistência a acidez gástrica, a hidrólise por enzimas e que a sua absorção ocorra no trato gastrointestinal superior; capacidade de ser fermentado pela microflora intestinal; capacidade de estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade das bactérias benéficas (ROBERFROID *et al.*, 2010; SLAVIN, 2013). O crescimento seletivo está relacionado com a capacidade do prebiótico em estimular a proliferação principalmente das bifidobactérias e dos lactobacilos, os quais são considerados benéficos para a saúde (SLAVIN, 2013).

Os principais prebióticos e mais comumente utilizados são os frutanos do tipo inulina, oligofrutose, FOS e galacto-oligossacidos (GOS), do tipo estaquiiose e

rafinose (SLAVIN, 2013; WHELAN, 2013). Os prebióticos são encontrados em alimentos como: alho-poró; aspargo; chicória, alcachofra, alho, cebola, trigo, aveia e soja (Van LOO *et al.*, 1995).

Um dos mecanismos de ação dos prebióticos é sua capacidade de fermentação no cólon e de alterar a flora intestinal a qual obtém energia por meio da fermentação de carboidratos não digeridos na porção superior do intestino. A via de fermentação principal produz piruvato a partir de hexoses provenientes de carboidratos não digeríveis. E as bactérias presentes no cólon, por meio de enzimas hidrolíticas produzem hidrogênio, metano, dióxido de carbono, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e lactato (SLAVIN, 2013).

A fermentação em conjunto com a produção de AGCC são capazes de inibir o crescimento de microorganismos patogênicos, devido a diminuição do pH luminal e fecal. Além disso, auxilia na regulação da absorção de água e sódio, melhora a absorção de minerais como o cálcio e promove o crescimento de bactérias benéficas como as bifidobactérias e os lactobacilos. Em meios onde o pH está mais baixo há uma diminuição na degradação de peptídeos e conseqüentemente a formação de compostos tóxicos como a amônia, aminas e compostos fenólicos, além de diminuir a atividade das enzimas bacterianas indesejáveis. A quantidade de AGCC produzido pelos prebióticos varia de acordo com o peso molecular, comprimento da cadeia e estrutura do probiótico, ou seja, moléculas de cadeia curta como as do FOS são rapidamente fermentados (LUPTON, 2004; BROWNAWELL *et al.*, 2012; SLAVIN, 2013).

Em um estudo onde pacientes com doença inflamatória intestinal foram suplementado com uma mistura de FOS e inulina, foi observado diminuição significativa nos índices de severidade da doença, nos marcadores pró-inflamatórios e na calprotectina (KONIKOFF; DENSON, 2006).

O efeito dos prebióticos tem sido mostrado na função do trato gastrointestinal, na função imunitária, na absorção de minerais, na gestão de transtornos pediátricos e na obesidade. De uma forma geral, os benefícios da ingestão dos prebióticos estão relacionados com a melhora na função da barreira intestinal, diminuição da ocorrência e duração de diarreia infecciosa associada a antibióticos, diminuição da ocorrência de inflamação e dos sintomas associados com doenças inflamatórias do intestino. Além da diminuição de subpopulações de bactérias patogênicas e aumento na produção de AGCC, assim como a melhora

da biodisponibilidade e absorção de minerais como o cálcio, o magnésio e o ferro (SLAVIN, 2013; WHISNER *et al.*, 2013).

Os probióticos, dos quais fazem parte as bactérias e leveduras produtoras de ácido láctico, são definidos como microorganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios a saúde do hospedeiro (SANDERS *et al.*, 2014).

Há um número significativo de estudos que avalia a ingestão de probióticos em diferentes condições, o que dificulta a interpretação devido à heterogeneidade dos métodos utilizados e conseqüentemente os resultados encontrados. O que se deve considerar ainda é que os resultados encontrados, nos diferentes estudos, são decorrentes da ingestão de uma determinada cepa probiótica ou mix de cepas, o que impede que os mesmos sejam extrapolados para outras espécies (CEAPA *et al.*, 2013). Os possíveis mecanismos de ação dos probióticos são: reforço da função da barreira da mucosa intestinal normal; modulação do sistema imunitário; ação antagônica aos agentes patogênicos; estimulação da atividade enzimática e/ou produção de metabólitos benéficos ao hospedeiro (MCFARLAND, 2009).

Os principais benefícios da ingestão de probióticos relatados com base em revisões sistemáticas com ou sem metanálise são: prevenção e tratamento de enterocolite necrotizante (ALFALEH *et al.*, 2011); diminuição da incidência de diarreia associada ao uso de antibióticos (GOLDENBERG *et al.*, 2013); diminuição da duração de doenças infecciosas (APONTE *et al.*, 2013); regulação do trânsito intestinal (MILLER; OUWEHAND, 2013); alívio dos sintomas da síndrome do intestino irritável (MOAYYEDI *et al.*, 2010); diminuição na incidência de doenças do trato respiratório superior (HAO *et al.*, 2011).

Os principais gêneros de probióticos são *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Enterococcus*, sendo as principais espécies *L. acidophilus*, *L. johnsonii*, *L. casei*, *L. gasseri*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *B. longum*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *E. faecalis* e *E. faecium* (FULLER, 1991; FAOWHO, 2002). Os microorganismos probióticos são fermentativos, e tem como um dos produtos o ácido láctico, além de ser anaeróbico facultativo ou obrigatório. Essas características permitem que os mesmos prevaleçam sobre os microorganismos patogênicos como as gram-negativas, e não produtoras de ácido láctico como a

Klebsiella, *Pseudomonas*, *Serratia*, e *Proteus* presentes no trato gastrointestinal (COMMANE *et al.*, 2005; FALONY *et al.*, 2006; THOMAS; GREER, 2010).

A utilização de probióticos com o intuito de melhorar a barreira intestinal tem se mostrado uma estratégia, uma vez que a barreira intestinal desempenha um importante papel na patogênese de doenças do trato gastrointestinal. Além disso, as células epiteliais, por estarem no lúmen do intestino trocam sinais com as moléculas imunitárias subjacentes e com as demais partes do organismo por meio da circulação de moléculas sinalizadoras (IANNITTI; PALMIERI, 2010; SONG *et al.*, 2012; CEAPA *et al.*, 2013).

A bactéria *L. rhamnosus* GG ou um mix de bactérias produtoras de ácido láctico e as Bifidobacterias tem sido relacionadas com a melhora da integridade da barreira epitelial, além de interagirem diretamente com as células epiteliais do intestino. As *L. rhamnosus* GG também estão relacionadas com a prevenção de apoptose de células epiteliais *in vitro*, sendo esse efeito devido a ativação do anti-apoptótico Akt e supressão de NF- κ B, e com o aumento da secreção de mucina pelas células epiteliais. Como resultado pode-se observar uma diminuição de microorganismos patogênicos e consequente manutenção da homeostase (YAN; POLK, 2002; LEBEER *et al.*, 2012; REUNANEN *et al.*, 2012). Um estudo mostrou a relação entre *L. rhamnosus* GG e a estimulação diferencial na expressão de genes envolvidos na reparação tecidual, com a angiogenese, com a resposta da IFN e com a homeostase iônica. Fatores esses importantes para a vascularização e nutrição das células epiteliais (Van BAARLEN *et al.*, 2011).

A ingestão de *L. plantarum* tem sido relacionada com alterações nas junções das células epiteliais do intestino delgado, ou seja, há um aumento na junção da proteína ocludina e das junções de oclusão. Entretanto, a diminuição da integridade dessas junções das células epiteliais pode resultar no aumento da permeabilidade intestinal para macromoléculas e consequente desenvolvimento de doenças como a doença inflamatória intestinal e a síndrome do intestino irritável. Diferentes cepas de probióticos são capazes de induzirem diferentes genes regulatórios e locais da mucosa intestinal (SAWADA *et al.*, 2003; KARCZEWSKI *et al.*, 2010; CEAPA *et al.*, 2013).

A bactéria *L. acidophilus* tem sido relacionada com o aumento da regulação da IL-1 β e ativação da cascata de sinalização do NF- κ B, a qual pode induzir a transcrição de genes envolvidos na lipogênese e na maturação de células B, com

consequente contribuição para a melhora da função da barreira intestinal (Van BAARLEN *et al.*, 2011).

A microbiota intestinal esta relacionada com a integridade da barreira intestinal e com o sistema imunológico. Tendo assim, papel central na indução da síntese de imunoglobulina A (IgA) e na manutenção da homeostase das células Treg, TH1 e TH17 (IVANOV *et al.*, 2009; ROUND; MAZMANIAN, 2010; HOLSCHER *et al.*, 2012; KELLY, DELDAY; MULDER, 2012).

A cepa *L. rhamnosus* HN001, tem se mostrado capaz de modular a imunidade intestinal *in vivo*, por meio do aumento das concentrações de imunoglobulina A secretora (SIgA), contudo, não se sabe ao certo quais são os mecanismos responsáveis por esse aumento. As estirpes *L. casei Shirota* e *L. rhamnosus Lr23* aparentemente estão relacionadas com a estimulação da produção de TNF- α por macrófagos (MATSUGUCHI *et al.*, 2003; WICKENS *et al.*, 2012).

A bactéria comensal *Bacteroides fragilis* é responsável pela produção do polissacarídeo A (PSA), a qual é apresentada as células T CD4+ pelas células dendríticas, induzindo a diferenciação das células T virgens em células TH1 e Treg as quais são responsáveis pela produção apropriada de citocinas nos tecidos de animais livres de germes. Além disso, acredita-se que as alterações nas proteínas das paredes celulares bacteriana podem influenciar na ação dos probióticos. A presença de ácido teicóide nas paredes das bactérias pode auxiliar na proteção de moléculas relevantes e modular a resposta imunitária do meio pela alteração da secreção de citocinas inflamatórias pelas células dendríticas. A família dos receptores de reconhecimento padrão (PRRs) é responsável pela detecção dos padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs) e/ou pela detecção dos padrões moleculares associados ao dano (DAMPs) do hospedeiro o qual induz a sinalização da imunidade inata. O organismo detecta a presença de danos, devido à sobrecarga bacteriana, por meio do DAMPs. A resposta desencadeada pode ser manipulada por bactérias como, por exemplo, as do gênero *Bifidobacterium* e do gênero *Lactobacillus*. Isto foi observado em estudos *in vitro* onde se verificou que estes são capazes de influenciar a resposta das células imunitárias circulantes (células mononucleares do sangue periférico - PBMCs) (MAZMANIAN *et al.*, 2005; BRON *et al.*, 2012; ISMAIL *et al.*, 2012).

A heterogeneidade da microbióta entre os sujeitos tem sido mostrada como uma possível causa das diferentes respostas encontradas no tratamento com microorganismos probióticos. Contudo, a influência dos probióticos sobre o sistema imunitário tem sido documentada e confirmada com base em ensaios clínicos (Van BOYLE *et al.*, 2008; GIANOTTI *et al.*, 2010; SCHUNTER *et al.*, 2012; BAARLEN, WELLS; KLEEREBEZEM, 2013).

Além dos prebióticos e probióticos existem os simbióticos, os quais são definidos como um produto que contém tanto os prebióticos quanto os probióticos (THOMAS; GREER, 2010). A combinação de prebiótico com probiótico se justifica pelo fato de que o prebiótico auxiliará na sobrevivência das bactérias probióticas durante a passagem pelo trato gastrointestinal. Assim como na estimulação da colonização e no crescimento endógeno de microorganismos no intestino grosso e na regulação da resposta imunitária diminuindo o risco de ocorrência de doença (BENGMARK; MARTINDALE, 2005; SCHOLZ-AHRENS *et al.*, 2007; VITETTA *et al.*, 2012).

O quadro dois contém revisões sistemáticas com meta-análise que abordam a suplementação com prebiótico, probiótico e simbiótico em diversas doenças.

Quadro 2 - Revisões sistemáticas com meta-análise que abordam a suplementação com prebiótico, probiótico e simbiótico em diversas doenças (Continua).

Intervenção	Resultados	Referência
Prebiótico	Diminuição significativa do número de episódios de infecções que necessitam de antibioticoterapia no grupo prebiótico, em comparação com o grupo placebo (razão de taxa: 0,68; IC95% 0,61-0,77).	Lohner <i>et al.</i> (2014) N= 1.404
Prebiótico	Diferença média ponderada de 0,53 (IC95%: 0,33, 0,73)*10 ⁶ colônias/g, p<0,001 com relação ao crescimento das bifidobactérias no grupo oligossacarídeos. Não foi encontrada diferença com relação à suplementação de prebiótico e a incidência de enterocolite necrotizante.	Srinivasjois <i>et al.</i> (2013) N= 417
Prebiótico e probiótico	Diminuição de 31% no risco de desenvolver eczema após uso de probiótico. A diminuição do risco foi de 42% quando suplementado com um mix de cepas probióticas. Não foi encontrada diferença significativa após uso de prebiótico.	Dang <i>et al.</i> (2013) N= 2.550
Probióticos	Diminuição de 42% na incidência de diarreia associada ao uso de antibióticos.	Hempel <i>et al.</i> (2012) N= 11.811
Probióticos	Diminuição em 66% no risco de ocorrência de diarreia associada à <i>Clostridium difficile</i> .	Johnston <i>et al.</i> (2012) N= 3.818
Probióticos	Diminuição da incidência de dermatite atópica em 21%.	Pelucchi <i>et al.</i> (2012) N= 179
Prebiótico, probiótico e simbiótico	Uso de simbióticos e probióticos foram associados com uma diminuição de 50% e 60% no risco de nenhuma melhoria da encefalopatia hepática mínima respectivamente. A utilização de prebiótico foi associada com um risco de 67% em comparação com o placebo.	Shukla <i>et al.</i> (2011) N= 349
Probióticos	Diminuição de 42% de pacientes com pelo menos um episódio de infecções agudas do trato respiratório superior e 33% na prescrição de antibióticos.	Hao <i>et al.</i> (2011) N= 3.451
Probióticos	Diminuição da incidência de enterocolite necrosante grave em 65% e em 60% na mortalidade infantil.	Alfaleh <i>et al.</i> (2011) N= 2.842

Algumas evidências sobre a ocorrência de inflamação intestinal em pacientes com FC são a presença de albumina, IgG, IgM, proteína catiônica eosinofílica, elastase neutrofílica, IL-1 β e IL-8 no lavado intestinal de crianças, além de ter sido encontrado um aumento na infiltração de células mononucleares em amostra da mucosa do duodeno e um aumento na expressão de IL-2, IFN- γ e nos receptores de transferrina (RAIA *et al.*, 2000; SMYTH *et al.*, 2000).

A suplementação com prebióticos, probióticos e simbióticos tem se mostrado efetiva em casos de doenças inflamatórias intestinais e alguns estudos com pacientes com FC (Quadro 3). Os estudos estão sendo realizados não só em casos de doenças a nível intestinal, mas também a nível respiratório.

Quadro 3 - Estudos que avaliam a suplementação com probiótico, prebiótico ou simbiótico em pacientes com fibrose cística (FC) (Continua).

Autor(es)/ Ano	Delineamento	Suplemento	População	Resultados
Bruzzese <i>et al.</i> (2004)	Estudo prospectivo controlado.	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (LGG).	Crianças e adolescentes (1 a 16 anos idade). 1ª fase: 30 crianças com FC, 30 controles sem doença e 15 crianças com doença inflamatória intestinal (DII). 2ª fase: 20 crianças com FC, 20 controles sem doença e 15 crianças com DII.	Calprotectina fecal foi maior no grupo FC ($p<0,01$) e no grupo com DII ($p<0,05$) em relação aos controles. A produção média de óxido nítrico está aumentada nos grupos FC ($p<0,01$) e DII ($p<0,05$) em relação aos controles. As concentrações de calprotectina e de óxido nítrico diminuíram após a administração do LGG.
Bruzzese <i>et al.</i> (2007)	Estudo prospectivo, controlado por placebo, cruzado e randomizado.	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (LGG). Controle: solução de reidratação oral (SRO)	38 crianças e adolescentes com FC e idade entre 5 e 18 anos.	Grupo LGG teve menos exacerbações pulmonares ($p=0,003$) e internações hospitalares ($p=0,001$) em comparação com o grupo SRO. LGG resultou em um aumento no volume expiratório forçado no primeiro segundo ($p=0,020$) e peso ($p=0,020$).
Infante Pina <i>et al.</i> (2008)	-	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (LGG)	20 pacientes com FC e idade entre 5 a 17 anos.	5 pacientes apresentaram crescimento excessivo de bactérias. Foi observada uma correlação positiva entre o teste do hidrogênio e a esteatorréia ($r=0,57$) e o açúcar nas fezes ($r=0,52$).
Weiss <i>et al.</i> (2010)	Estudo piloto prospectivo.	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>S. thermophiles</i> .	10 pacientes com FC (média de idade $26,2 \pm 12,9$ anos) e doença pulmonar leve a moderada e colonização por <i>P. aeruginosa</i> .	A taxa de exacerbação foi menor em comparação com os últimos 2 anos e 6 meses pós-tratamento ($p=0,002$). Os testes de função pulmonar não mudaram no final do tratamento e 6 meses pós- tratamento.

Quadro 3 - Estudos que avaliam a suplementação com probiótico, prebiótico ou simbiótico em pacientes com fibrose cística (FC) (Conclusão).

Autor(es)/ Ano	Delineamento	Suplemento	População	Resultados
Fallahi <i>et al.</i> (2013)	Estudo controlado, duplo-cego randomizado.	Frutooligossacarídeo, <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>B. breve</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. infantis</i> e <i>L. bulgaricus</i> .	47 pacientes com FC e média de idade de $8,56 \pm 4,19$ anos e um grupo placebo com 23 pacientes com idade média de $8,65 \pm 3,29$ anos.	31 dos 47 pacientes com FC (65,9%) apresentaram níveis de calprotectina fecal anormal ($> 50 \mu\text{g} / \text{g}$). Após a intervenção, as concentrações de calprotectina fecais diminuíram em 21 pacientes do grupo probiótico e em 8 pacientes do grupo placebo ($p < 0,001$).
Jafari <i>et al.</i> (2013)	Ensaio clínico, controlado, randomizado.	<i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. infantis</i> .	37 pacientes com FC (2 a 12 anos de idade). 20 pacientes receberam probióticos e 17 pacientes do grupo controle receberam cápsulas de placebo.	Melhora significativa no escore total médio na qualidade de vida entre os pacientes do grupo probióticos em comparação com o grupo placebo no 3º mês ($p = 0,01$), não sendo significativo no 6º mês de tratamento com probiótico. A taxa de exacerbação pulmonar foi menor no grupo probiótico ($p < 0,01$).
Del Campo <i>et al.</i> (2014)	Estudo prospectivo, duplo cego, cruzado, com placebo.	<i>L. reuteri</i>	30 pacientes (21 homens e 9 mulheres, média de idade 17,7 anos) com FC.	Melhora na saúde gastrointestinal e diminuição das concentrações de anticalprotectina e da densidade bacteriana total, e um aumento da diversidade microbiana após a ingestão do probiótico, em comparação com o placebo.
Di Nardo <i>et al.</i> (2014)	Estudo prospectivo, duplo-cego, com placebo.	<i>L. reuteri</i> (LR)	61 pacientes com FC (idade de 6 a 29 anos) com doença pulmonar leve a moderada.	Diminuição das exacerbações pulmonares ($p < 0,01$), e do número de infecções do trato respiratório superior ($p < 0,05$) no grupo LR em comparação com o grupo placebo

3. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE DO ESTUDO

Considerando que a principal causa da lesão pulmonar na FC é a inflamação persistente, é essencial o entendimento da resposta inflamatória nesta doença. Pesquisas adicionais são necessárias para determinar quais os marcadores inflamatórios são mais sensíveis e específicos para o diagnóstico precoce da inflamação sistêmica e que servem como indicadores de prognóstico. A presença de inflamação promove o catabolismo protéico e consequente perda de peso, portanto, estes dados poderão auxiliar na análise da relação com o estado nutricional. O estado nutricional de desnutrição pode tanto ser decorrente de um processo inflamatório intenso, como de uma diminuição do consumo alimentar, devido à supressão do apetite, ocasionada por alterações de alguns marcadores inflamatórios.

Alguns estudos têm mostrado efeitos da utilização de probióticos em pacientes com FC, como a diminuição de marcadores pró-inflamatórios, diminuição dos episódios de exacerbação pulmonar e melhora da função intestinal (BRUZZESE *et al.*, 2004; BRUZZESE *et al.*, 2007; PINA *et al.*, 2008; WEISS *et al.*, 2010). Assim, este estudo visa investigar o efeito da suplementação com simbiótico sobre os marcadores da resposta inflamatória (IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-17A, TGF- β , TNF- α e INF- γ) no sangue periférico de crianças e adolescentes com FC pré e pós-suplementação. Acredita-se que a suplementação possa desempenhar possível ação adjuvante no processo terapêutico global.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da suplementação com simbiótico (frutooligossacarídeo, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*) sobre os marcadores da resposta inflamatória sistêmica (IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-17A, TGF- β , TNF- α e INF- γ) em crianças e adolescentes com fibrose cística antes e após a suplementação.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os marcadores inflamatórios (IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-17A, TGF- β , TNF- α , INF- γ , leucócitos totais, neutrófilos, linfócitos e monócitos) antes e após a suplementação.
- Verificar a associação do estado nutricional com a função pulmonar de pacientes com FC antes e após a suplementação.

5. RELEVÂNCIA, ORIGINALIDADE E CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO

A suplementação com o simbiótico é relevante na medida em que a mesma pode fazer a estimulação seletiva do crescimento e/ou actividade das bactérias intestinais, diminuição da gravidade da gastroenterite aguda, melhora da função intestinal, atenuação da inflamação, redução da exacerbação pulmonar e consequente melhora nos indicadores clínicos e nutricionais em pacientes com FC.

Este estudo irá avaliar por meio da inflamação sistêmica o efeito da suplementação com simbiótico (prebiótico – probiótico), composto pelo prebiótico FOS e quatro cepas probióticas: *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*. Na maioria dos demais estudos, os marcadores pró-inflamatórios são analisados no local da resposta inflamatória, tal como na lavagem broncoalveolar, na expectoração, no condensado do ar exalado, e na biópsia endobrônquica. A combinação dos marcadores imunológicos (IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-17A, TGF- β , TNF- α e INF- γ) propostos neste estudo, poderá demonstrar a amplitude da resposta inflamatória sistêmica, além de que, permitir que esta avaliação, por ser no soro, possa ser realizada em pacientes com FC, em diferentes idades e gravidade da doença pulmonar.

A partir deste estudo poderá concluir se a suplementação com esse simbiótico (frutooligossacarídeo, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*) pode melhorar o balanço entre os marcadores pró e antiinflamatórios em nível sistêmico nos pacientes com FC.

6. MÉTODO

6.1. DESENHO DO ESTUDO

Ensaio clínico, randomizado, duplo cego, controlado por placebo com crianças e adolescentes com fibrose cística (FC) em seguimento clínico no Ambulatório de FC do Hospital Infantil Joana de Gusmão (HIJG), Florianópolis/SC, Brasil.

6.2. ASPECTOS ÉTICOS DO ESTUDO

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do HIJG (#029/2012). O primeiro contato com os responsáveis pelos pacientes será realizado no HIJG, onde serão informados verbalmente sobre os objetivos, métodos e delineamento do estudo. Uma vez cientes da natureza dos procedimentos aos quais serão submetidos serão convidados a participar do estudo, o qual só ocorrerá após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A). O pesquisador manterá contato com os sujeitos durante o estudo por meio de ligações telefônicas.

6.3. SUJEITOS

O HIJG é referência no estado de Santa Catarina no tratamento de crianças e adolescentes com até 15 anos de idade com FC, sendo que atualmente 92 pacientes de todo o estado de Santa Catarina são atendidos periodicamente. Desta forma, a amostra será composta por todos os pacientes atendidos no hospital que atendam aos critérios de inclusão, ou seja, 60 sujeitos (30 em cada grupo), acompanhados por um período de 90 dias.

Após a coleta de dados, será assumido um nível de significância de 5% e o poder do teste será calculado. A amostra será constituída por crianças e adolescentes (≥ 6 anos e ≤ 15 anos), de ambos os sexos, formando dois grupos: grupo controle fibrose cística (GCFC) e o grupo experimental fibrose cística (GEFC).

Os critérios de inclusão e exclusão para ambos os grupos (GCFC e GEFC) serão:

Critérios de inclusão: crianças e adolescentes com idade superior ou igual à seis anos e menor ou igual a 15 anos; apresentar diagnóstico de FC, inclusive baseado no teste do suor (cloreto no suor ≥ 60 mmol/L); estáveis clinicamente pelo menos 30 dias antes da coleta dos dados.

Critérios de exclusão: sujeitos com febre, trauma, doenças inflamatórias (asma,

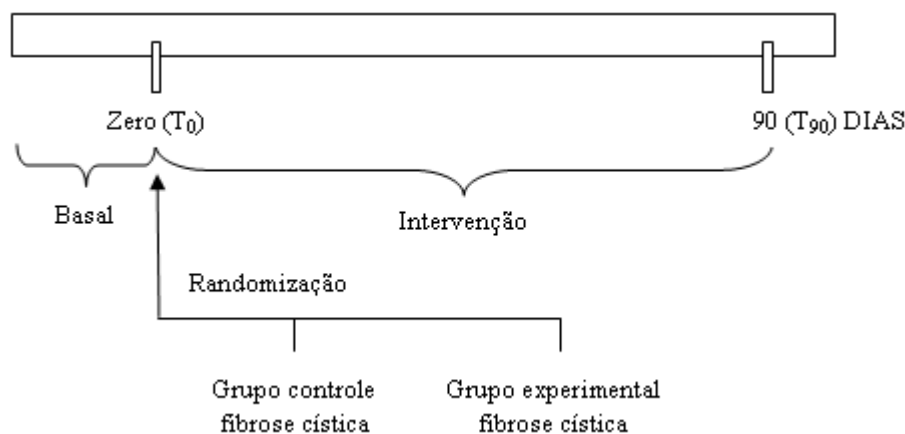
doença inflamatória intestinal, doença reumática), psiquiátricas, degenerativas, cardiovasculares, diabetes, intolerância à glicose, insuficiência renal, imunodeficiência primária ou secundária. Sujeitos em uso de antibióticos no início do estudo, hormônios, fármacos antiinflamatórios não hormonais, imunossupressores e anti-histamínicos, até 30 dias antes da coleta de dados. Serão excluídos ainda, os sujeitos em exacerbação pulmonar, definida como a presença de pelo menos três dos seguintes sintomas: 1) tosse aumentada; 2) produção de esputo aumentada e/ou alteração na aparência do esputo; 3) febre $\geq 38^{\circ}\text{C}$ na semana anterior/mais de uma vez, por pelo menos 4 horas durante 24 horas; 4) frequência respiratória aumentada e/ou dificuldade de respirar (identificada por chiados, crepitação ou respiração ofegante); 5) tolerância reduzida aos exercícios; 6) redução no $\text{VEF}_1 \geq 10\%$ do valor anterior dentro dos últimos 3 meses; 7) absenteísmo da escola devido à doença; 8) perda de peso ≥ 1 kg ou 5% do peso corporal, associada à anorexia e ingestão reduzida da dieta.

Os grupos GCFC e GEFC serão avaliados em dois momentos: basal e final, conforme detalhamento a seguir (Figura 2).

Basal: Pré-suplementação: Caracterizado pela identificação dos indivíduos, coleta das amostras sanguíneas para avaliação das concentrações dos marcadores séricos, avaliação antropométrica, de composição corporal, funcional e de consumo alimentar. Neste momento, os indivíduos serão orientados a comparecer ao Laboratório do HIJG, Ciência Laboratório Médico Ltda[®] para coleta de sangue e realização das análises clínicas.

Final: Pós-suplementação: Após 90 dias de suplementação serão repetidos todos os exames realizados no período de pré-suplementação. Os indivíduos serão orientados a comparecer ao Laboratório do HIJG para a coleta de sangue e realização das análises clínicas. Neste momento, ambos os grupos (grupo fibrose cística controle e grupo fibrose cística experimental) cessarão a ingestão dos suplementos.

Figura 2 - Desenho do estudo: ensaio clínico, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo com pacientes com fibrose cística suplementados com maltodextrina (GCFC: grupo controle fibrose cística) ou simbiótico (GEFC: grupo experimental fibrose cística).



6.4. SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR

Os dois grupos (GCFC e GEFC) receberão suplementação, sendo que o GCFC receberá a maltodextrina e o GEFC o simbiótico. Como forma de assegurar uma distribuição igual do número de participantes nos grupos de estudos e garantir que os grupos sejam similares será realizada uma randomização por blocos e estratificada por sexo e idade. O programa que será utilizado para gerar números aleatórios é o Research Randomizer Form v4.0 (URBANIÁK.; PLOUS, 2013). As embalagens de ambos os suplementos serão idênticas exceto pela cor, a qual distinguirá a maltodextrina do simbiótico. Os suplementos serão entregues por um colaborador da pesquisa como forma de garantir o cegamento.

Será ofertado 6 g de maltodextrina obtida comercialmente (Maison de La Santé, Farmácia de Manipulação, Florianópolis, SC, Brasil). O simbiótico a ser fornecido será obtido comercialmente (Lactofos[®], SKL Functional Nutrition, São Paulo, Brasil). O simbiótico é uma associação de frutooligossacarídeos (FOS) e quatro cepas probióticas: *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*.

O simbiótico e a maltodextrina fornecidos aos participantes será denominado suplemento alimentar e será entregue em embalagem lacrada no início da pesquisa. Os suplementos, oferecidos na forma de pó, deverão ser diluídos em água e ingeridos uma vez ao dia, no período da manhã de preferência em jejum ou duas horas depois da refeição, tomando o cuidado de diluir em líquidos frios. As

instruções detalhadas sobre a ingestão dos produtos estará junto com os suplementos.

A quantidade de FOS e as concentrações das cepas probióticas que serão oferecidas diariamente encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Caracterização do suplemento simbiótico

	Quantidade em 6g (1 sachê)
<i>Lactobacillus paracasei</i>	10 ⁸ a 10 ⁹ UFC
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	10 ⁸ a 10 ⁹ UFC
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	10 ⁸ a 10 ⁹ UFC
<i>Bifidobacterium lactis</i>	10 ⁸ a 10 ⁹ UFC
Frutooligossacarídeos (FOS)	5,5g

Fonte: Rótulo do suplemento simbiótico (Lactofos[®], SKL Functional Nutrition, São Paulo, Brasil)

Os participantes serão questionados pelos pesquisadores quanto ao consumo dos mesmos por meio de ligações telefônicas que serão feitas a cada 15 dias. Será solicitado que os participantes mantenham a sua dieta habitual durante o período de intervenção e, que evitem o consumo de alimentos que contenham prebiótico e probióticos, durante a realização do estudo, sendo fornecida uma lista com exemplo destes alimentos (APENDICE B).

6.5. AVALIAÇÃO CLÍNICA

A avaliação dos indivíduos será realizada por meio da coleta dos seguintes dados: número de exacerbações pulmonares, avaliação do apetite do indivíduo, efeitos adversos (borborismo, diarreia, constipação, vômito, regurgitação, náuseas e flatulência), incidência de infecções (avaliação por meio de informações clínicas e de exames laboratoriais de rotina), necessidade e duração da antibioticoterapia (tipo de antibiótico) utilizado durante a participação no estudo. Também será avaliada a aceitação e tolerância ao suplemento (adequação do uso segundo as recomendações, sensação agradável, desagradável ou indiferente durante o uso) (APENDICE C).

6.6. DETERMINAÇÃO BACTERIOLÓGICA

As amostras de escarro expectorado serão obtidas pela manhã com os pacientes em jejum de 10 horas, tendo o paciente sido orientado para higiene oral apenas com água. O material será processado logo após a coleta, segundo

metodologia de Gilligan, Kiska e Appleman (2006). O material será avaliado microscopicamente (NIKON E200, Chiyoda, Tóquio, Japão) pelo método de Gram (GILLIGAN, KISKA; APPLEMAN, 2006). Os homogeneizados formados a partir de 0,5 ml da porção purulenta do escarro adicionado a 1 ml de solução salina estéril serão inoculados em uma placa contendo ágar sangue de carneiro (Oxoid, São Paulo, Brasil), uma placa contendo ágar chocolate suplementado com 0,1% de extrato de levedo (Oxoid, São Paulo, Brasil) e com 20 µg/ml de nicotinamida adenina dinucleotídeo (Sigma-Aldrich[®], Saint Louis, Missouri, EUA), outra placa contendo o meio ágar Mack Conkey (Oxoid, São Paulo, Brasil), outra placa contendo o meio seletivo para "*B. cepacia*" (Oxoid, São Paulo, Brasil) e uma última placa contendo ágar Manitol (Oxoid, São Paulo, Brasil). A placa de ágar chocolate será incubada em sistema de microaerofilia. As placas restantes serão incubadas em aerobiose, em estufa, a 37°C. As placas serão examinadas, por meio da contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC), após 48h, mantidas à temperatura ambiente e reexaminadas (nova contagem das UFC) após 96h do tempo inicial. A indicação de presença de infecção para FC será realizada a partir da contagem das UFC ($\geq 10^5$ UFC/mL de um patógeno). Este exame será realizado pelo Laboratório prestador de serviços ao HIJG Ciência Laboratório Médico Ltda[®], Florianópolis, SC.

6.7. AVALIAÇÃO DO HÁBITO INTESTINAL

Com a finalidade de verificar a tolerância aos suplementos serão perguntadas questões referentes à frequência e consistência das fezes, avaliadas por meio da escala de Bristol adaptada e validada para crianças (LANE *et al.*, 2011) (ANEXO A) (Formulário – APENDICE D) (1: pedaços separados, 2: forma de salsicha segmentada, 3: forma de salsicha com fendas, 4: forma de salsicha lisa e mole, 5: pedaços moles, 6: pedaços aerados, 7: aquosa) (LANE *et al.*, 2011). E dos sintomas gastrointestinais (excesso de flatulência no reto, distensão abdominal, borborismos e dores abdominais), avaliados através de uma escala de quatro pontos (1: nenhum, 2: leve, 3: moderado, 4: grave) (BOUHNİK *et al.*, 1997) (APENDICE E).

6.8. AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL

6.8.1. Antropometria

As medidas antropométricas serão realizadas de acordo com a metodologia proposta pela *World Health Organization* (WHO, 1995) por um nutricionista treinado. Para aferição do peso será utilizada balança digital BK 50 F (Balmak[®], Santa

Bárbara d'Oeste, São Paulo, Brasil), com capacidade máxima de 150 kg e resolução de 0,1 kg. O paciente será pesado em jejum, com a bexiga vazia, sem sapatos e com roupas leves (WHO, 1995). A estatura será verificada por meio de um antropômetro (Alturaexata[®], Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), com escala de precisão de 0,1cm. O paciente será posicionado sobre a base do antropômetro, estando descalço, ereto, com o peso do corpo distribuído igualmente sobre ambos os pés, colocando as superfícies posteriores dos calcanhares, as nádegas e a região occipital em contato com a escala de medida e com a cabeça orientada de modo que a linha de visão fique perpendicular ao corpo, ou seja, paralela ao solo. O avaliado será orientado a inspirar profundamente e, em apneia respiratória, será mensurada a estatura em metro e com uma aproximação de 0,1 cm. A referência para a mensuração será o ponto mais alto da cabeça com pressão suficiente para comprimir o cabelo (WHO, 1995) (Formulário – APENDICE F).

A classificação do estado nutricional será realizada de acordo com as curvas de crescimento publicadas pela WHO (2007), utilizando-se os índices estatura-para-idade (E/I) e índice de massa corporal-para-idade (IMC/I).

6.8.2. Composição corporal

As medidas das dobras cutâneas serão realizadas segundo a metodologia da WHO (1995), no lado direito do corpo, com o sujeito disposto em posição ereta. As dobras cutâneas serão aferidas utilizando o Compasso de Dobras Cutâneas *Lange skinfold caliper*[®] (Beta Technology Corporated - Santa Cruz, Califórnia, EUA), com aproximação de 0,5 mm. A dobra cutânea tricipital (DCT) e a dobra cutânea bicipital (DCB) serão pinçadas no ponto médio do braço, sendo a DCB na face anterior e a DCT na posterior. A dobra cutânea sub-escapular (DCSE) será pinçada abaixo do ângulo inferior da escápula direita, aproximadamente a 45° do plano horizontal, e a dobra cutânea supra-ilíaca (DCSI) será obtida obliquamente em relação ao eixo longitudinal, na metade da distância entre o último arco costal e a crista ilíaca, sobre a linha axilar medial. A circunferência do braço (CB) será obtida no ponto médio lateral entre o ponto acromial da escápula e o olecrano da ulna com uma fita métrica inelástica, com aproximação de 0,1 centímetros. O sujeito será orientado a permanecer de pé, com os braços estendidos livremente próximos ao corpo e com as palmas voltadas para as coxas. Para todas as medidas serão realizadas três aferições, sendo utilizada a média para as análises.

Para a estimativa do percentual de gordura corporal (%GC) serão utilizadas as fórmulas propostas por WESTSTRATE e DEURENBERG (1989) de acordo com o

sexo e faixa etária (zero à 16 anos), a partir da somatória das quatro dobras cutâneas (DCB, DCT, DCSE e DCSI), que reflete uma relação entre o percentual de gordura e a densidade corporal. As fórmulas utilizadas para o cálculo da densidade corporal e do %GC estão descritas no quadro 4.

A área muscular do braço (AMB) e a área gordurosa do braço (AGB) serão calculadas de acordo com as fórmulas propostas por Frisancho (1981) em Z-escore, utilizando o programa Siscrec Crescimento e Desenvolvimento (Campinas, São Paulo, Brasil) (APENDICE F).

Quadro 4 - Equações para o cálculo da Densidade Corporal e Percentual de Gordura Corporal

DENSIDADE CORPORAL (D)	
Meninos e meninas de zero até menores de dois anos	
$D = \{1.1235 + [0.0016 (\text{idade em meses})^{0,5}]\} - [0.0719 \times \log (\Sigma 4 \text{ dobras})]$	
Meninos de 2 até 16 anos	
$D = [1.1315 + 0.0018 (\text{idade em anos} - 2)] - [0.0719 - 0.0006 (\text{idade em anos} - 2)] \times \log (\Sigma 4 \text{ dobras})$	
Meninas de 2 até menores de 11 anos	
$D = [1.1315 + 0.0004 (\text{idade em anos} - 2)] - \{[0.0719 - 0.0003 (\text{idade em anos} - 2)] \times \log (\Sigma 4 \text{ dobras})\}$	
Meninas de 11 até 16 anos	
$D = [1.1350 + \{0.0031 (\text{idade em anos} - 10)\}] - \{[0.0719 - (0.0003 (\text{idade em anos} - 2))] \times \log (\Sigma 4 \text{ dobras})\}$	
PERCENTUAL DE GORDURA CORPORAL (%GC)	
Meninos e meninas de zero até menores de 2 anos	
$\%GC = \{[585 - 4.7 (\text{idade em meses})^{0,5}]/ D\} - [550 - 5.1 (\text{idade em meses})^{0,5}]$	
Meninos de 2 até 16 anos	
$\%GC = \{[562 - 4.2 (\text{idade em anos} - 2)]/ D\} - [525 - 4.7 (\text{idade em anos} - 2)]$	
Meninas de 2 até menores de 10 anos	
$\%GC = \{[562 - 1.1 (\text{idade em anos} - 2)]/ D\} - [525 - 1.4 (\text{idade em anos} - 2)]$	
Meninas de 10 até 16 anos	
$\%GC = \{[553 - 7.3 (\text{idade em anos} - 10)]/ D\} - [514 - 8.0 (\text{idade em anos} - 10)]$	

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

Fonte: WESTSTRATE e DEURENBERG (1989).

6.8.3. Força do aperto da mão (FAM)

A FAM será obtida por meio de um dinamômetro hidráulico de mão Saehan® modelo SH 5001 (Saehan Corporation - Yangdeok-Dong, Masan, Korea) com uma escala de força de até 90 kg.

Para mensuração da FAM o participante deverá estar sentado, com os quadris e joelhos a 90° de flexão, o ombro aduzido junto ao tronco, o cotovelo

flexionado a 90° com o antebraço em posição neutra (entre pronação e supinação) e o punho entre 0° e 30° de extensão e 0° a 15° de desvio ulnar (SCHLÜSSEL *et al.*, 2008).

Será mostrado e explicado ao paciente o equipamento para este familiarizar-se com o mesmo. O indivíduo será orientado pelo pesquisador, por um estímulo verbal, para exercer a sua maior força palmar no equipamento, e realizar o movimento apertando as duas barras. Serão realizadas três medidas da força do aperto na mão do lado do corpo direito, em que o período de contração máxima contínua deverá ser de três segundos (SCHLÜSSEL *et al.*, 2008). Cada aferição será registrada em um formulário de coleta de dados, e será considerada a maior medida das três aferições (APENDICE F).

6.8.4. Triagem Nutricional

Neste estudo será aplicada a ferramenta de triagem de risco nutricional a qual contém informações referentes a três categorias: ganho de peso, velocidade de crescimento e IMC (MCDONALD, 2008). Em seguida são dadas pontuações conforme as recomendações propostas pela Fundação Americana de Fibrose Cística. Pontuações de zero a um equivalem a baixo ou nenhum risco; escores de dois a três refletem risco moderado; e escore igual ou superior a 4, alto risco (ANEXO B). Em casos de crianças com idade igual ou superior a dez anos, o instrumento requer a avaliação de maturação sexual. Para tal, será utilizado, de acordo com o recomendado pela própria triagem, a avaliação auto administrada seguindo a escala de (TANNER, 1975), validada previamente, por meio da utilização de figuras ilustrativas em que o próprio paciente aponta seu grau de maturação (MORRIS; UDRY, 1980) (ANEXO B).

6.9. AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR

O consumo alimentar será avaliado com o intuito de conhecer o hábito alimentar das crianças e adolescentes com relação ao consumo de alimentos que contenham prebiótico, probiótico ou simbiótico. Este será avaliado por meio do questionário de frequência de consumo alimentar (QFA) de acordo com a faixa etária dos pacientes. Para as crianças com idade entre 6 a 10 anos será utilizado o QFA adaptado e validado para essa faixa etária (PINTO, 2009), assim como QFA

para avaliar o consumo alimentar em adolescentes com a faixa etária de 11 a 15 anos de idade (VOCI, 2006).

O QFA será conduzido por um nutricionista treinado, o qual irá questionar os responsáveis pelas crianças e/ou adolescentes com relação ao consumo alimentar nos últimos 3 meses. O QFA será realizado no momento basal e no momento final (90 dias).

6.10. ESCORE DE SHWACHMAN-KULCZYCKI

O escore de Schwachman-Kulczycki será utilizado para classificar a gravidade da doença. O escore pontua as atividades gerais, exame clínico, estados nutricionais e achados radiológicos. Cada item apresenta o mesmo peso (vinte e cinco pontos) e o total de cem pontos representa o escore perfeito. O estado do paciente será considerado excelente quando o escore for igual ou acima de 86, bom quando o escore estiver entre 71 e 85, médio entre 56 e 70, moderado entre 41 e 55, e grave quando for igual ou inferior a 40 (SHWACHMAN; KULCZYCKI, 1958) (ANEXO C).

6.11. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PULMONAR

O exame de capacidade da função pulmonar, espirometria, será realizado pela equipe de enfermagem do HIJG. O equipamento utilizado será o espirômetro (Puritan-Bennett Corporation[®]), modelo *Renaissance Spirometry System* (Wilmington, Carolina do Norte, Estados Unidos da América). A metodologia para a realização do exame e classificação da função pulmonar será realizado conforme PELLEGRINO *et al.* (2005). O estudo utilizará os valores do VEF₁ para classificar a obstrução pulmonar. O resultado será considerado na média quando maior ou igual a 70%, moderado entre 60-69%, moderadamente grave entre 50-59%, grave entre 35-49% e muito grave quando menor que 35%.

6.12. AMOSTRAS BIOLÓGICAS

A coleta de sangue será realizada pelo laboratório prestador de serviços ao HIJG, Ciência Laboratório Médico Ltda[®]. Com os indivíduos em jejum de 10 horas, o sangue será coletado na veia cubital com seringas e agulhas descartáveis em tubos adequados por um profissional capacitado.

6.12.1. Hemograma

O hemograma será analisado no sangue total pelo método semi-automatizado. Os valores de referência utilizados para as hemácias, hemoglobina, hematócrito, leucócitos, neutrófilos segmentados e linfócitos serão com base na literatura (WALLACH, WILLIAMSON; SNYDER, 2013). Todas as análises serão realizadas com o equipamento Cobas Mira (Roche®, Rio de Janeiro, Brasil). Este exame será realizado no Laboratório Ciência Laboratório Médico Ltda®, Florianópolis, SC.

6.12.2. Análise dos marcadores inflamatórios

As amostras de sangue serão centrifugadas à 2500 rpm por 10 minutos para obtenção do soro. Após a centrifugação, as amostras de soro serão transferidas para frascos do tipo *ependorfs*, devidamente identificados e congeladas a -80°C para posterior análise de cada marcador inflamatório.

As concentrações de IL-1 β , IL-8, IL-10 e IL-17A, TGF- β , TNF- α e INF- γ , serão avaliadas por citometria de fluxo com sistema comercial para mensuração de citocinas (ensaio citométrico de esferas ordenadas - CBA kit citocinas inflamatórias, reagente imunol CBA flex set TGF beta, kit CBA flex set human IL-17A 100tst, hu anti-IFN-gama CBA flex set 100tst E7– BD-Biosciences) de acordo com as instruções do fabricante. A aquisição dos dados será realizada em citômetro de fluxo FACS Canto II (BD Biosciences, Califórnia, EUA) através do software CellQuest-Pro. Curvas padrões para cada citocina serão plotadas e as concentrações de cada amostra teste serão calculadas usando o software FCAP array v.1.0.2 (BD-Biosciences®, Osasco, São Paulo). Os resultados das citocinas serão expressos em pg/mL. A curva da concentração será calculada a partir da curva padrão.

6.13. PONDERAÇÃO RISCOS/ BENEFÍCIOS DAS AVALIAÇÕES

A coleta de sangue para as análises bioquímicas causam rápido desconforto ou dor, dependendo da sensibilidade do paciente, no momento da coleta, quando se introduz a agulha. Estes exames são necessários para o diagnóstico do estado nutricional (muitos são rotina da equipe da fibrose cística) e verificar as condições de inflamação antes e após a suplementação com o simbiótico e a maltodextrina.

6.14. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados serão organizados e registrados em banco de dados no programa Microsoft Office Excel 2007[®] com dupla entrada. A análise estatística será realizada no programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 16.0 para o Windows. As variáveis quantitativas serão descritas e apresentadas em média e desvio padrão da média se a distribuição for simétrica ou em mediana e intervalo interquartil se for assimétrica. As variáveis nominais serão descritas em categorias de frequência a partir do aparecimento nos grupos descritos. Para avaliação da distribuição dos dados será aplicado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Se os dados forem assimétrico passarão por normalização logarítmica ou será utilizado o teste não-paramétrico.

As alterações intragrupo nos marcadores inflamatórios e na função pulmonar após a suplementação (simbiótico ou placebo) serão analisadas pela diferença (Final – Basal) entre as variáveis, utilizando-se o teste “*t*” *Student* pareado ou Wilcoxon. No momento basal e no final, também serão comparados os marcadores inflamatórios intergrupos (simbiótico vs placebo) por meio de uma regressão linear múltipla, e a comparação da função pulmonar intergrupo (simbiótico vs placebo) pela Regressão de Poisson. As variáveis de ajuste são apresentadas no quadro a seguir.

Quadro 5 - Variáveis de desfecho e de ajuste.

Desfecho	Variáveis de ajuste	Análise
Marcadores inflamatórios (contínuo)	Sexo/idade/marcadores do estado nutricional/tempo/grupo	Regressão linear múltipla
VEF ₁ (dicotômico)	Sexo/idade/escore S-K/triagem nutricional/tempo/grupo	Regressão de Poisson
CVF (dicotômico)	Sexo/idade/escore S-K/triagem nutricional/tempo/grupo	Regressão de Poisson
VEF ₁ (dicotômico)	Sexo/idade/escore S-K/FAM/tempo/grupo	Regressão de Poisson

Marcadores inflamatórios: IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-17A, TGF- β , TNF- α e INF- γ ; marcadores do estado nutricional: IMC/Idade, peso/idade, estatura/Idade, área gordurosa do braço, área muscular do braço, %gordura corporal. Escore S-K: Escore de Schwachman-Kulczycki; FAM: força do aperto de mão.

O ajuste será realizado após a análise gráfica e de resíduo padronizado. No modelo final, serão consideradas variáveis associadas ao desfecho aquelas cujos valores de p bi-caudais forem menores do que 0,05.

6.15. RESULTADOS ESPERADOS

6.15.1. Achados científicos

Espera-se uma diminuição nos valores dos marcadores pró-inflamatórios no grupo suplementado com simbiótico comparado com o placebo e que a suplementação melhore ou, ao menos, estabilize o estado nutricional, refletido por valores antropométricos.

De maneira geral espera-se que a suplementação com simbiótico resulte em desfechos positivos, mostrando uma possível efetividade como coadjuvante no processo terapêutico da doença FC. Este estudo permitirá, também, caracterizar o perfil nutricional e inflamatório dos indivíduos com FC atendidos no HIJG. Sendo assim, pretende-se que este estudo colabore com a decisão baseada em evidências relacionadas com a modulação da microbiota, pelo uso de simbiótico na prática terapêutica global da doença estudada.

6.15.2. Planejamento de publicações

Serão publicados dois artigos científicos em periódicos com qualis no mínimo B2, nas áreas de Nutrição, Clínica Médica, Imunologia e Fibrose Cística:

- Primeiro artigo: associação entre a força de aperto de mão (FAM) e marcadores antropométricos e de composição nutricional em paciente com FC suplementados com um simbiótico.

- Segundo artigo: associação entre os marcadores inflamatórios, função pulmonar e estado nutricional de paciente com FC suplementados com um simbiótico.

7. PROPOSTA PARA DOUTORADO SANDUÍCHE

Considerando a experiência da professora Eugenia Bruzzese, médica pediatra e professora na University of Naples Federico II de Nápoles na Itália, membro do Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali da University of Naples Federico II de Nápoles na Itália. Suas principais publicações são com crianças,

probióticos e desordens gastrointestinais, tendo publicado 2 estudos que avaliaram a suplementação de probióticos em pacientes com fibrose cística e 5 outros artigos abordando a suplementação com prebióticos e probióticos.

A proposta do doutorado sanduíche consiste em auxílio na discussão dos dados devido a experiência da professora Eugenia Bruzzese na temática.

8. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Devido ao pequeno número de pacientes com FC atendidos no HIJG (92) é possível que a análise estatística não tenha poder de encontrar diferenças que possam existir entre as variáveis.

9. CRONOGRAMA

Atividades	2013											
	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
Participação nas disciplinas								X	X	X	X	X
Atividades	2014											
	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
Participação nas disciplinas			X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Revisão bibliográfica							X	X	X	X		
Exame de proficiência da 2ª língua					X							
Envio do projeto para a banca examinadora											X	
Exame de Qualificação												X
Atividades	2015											
	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
Coleta dos dados	X	X	X	X	X	X	X	X				
Análise dos dados						X	X	X				
Tabulação dos dados	X	X	X	X	X	X	X	X				
Doutorado Sanduíche										X	X	X
Elaboração do Artigo I e envio para a publicação										X	X	X
Atividades	2016											
	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
Doutorado Sanduíche	X	X	X	X	X	X	X	X	X			
Elaboração do Artigo II e envio para a publicação			X	X	X	X	X					
Atividades	2017											
	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
Elaboração do relatório final	X	X	X									
Elaboração Final da Tese	X	X	X	X	X	X						
Envio da tese para a banca examinadora						X						
Defesa							X					

8. ORÇAMENTO

Tabela 2- Orçamento detalhado referente ao projeto

CUSTEIO				
a) Material de consumo, componentes e/ou peças de reposição de equipamentos, software, instalação, recuperação e manutenção de equipamentos.				
Descrição produto	Justificativa	Quant. (Uni.)	Valor Uni. R\$	Valor Total R\$
HU TH1-TH2-TH17 CBA Cytokine KIT - 560484	Dosagem das citocinas	2	5.900,00	11.800,00
Kits ELISA para determinação de IL-1 β ,	Dosagem de citocina	1	3.000,00	3.000,00
Kits ELISA para determinação de IL-8	Dosagem de citocina	1	3.000,00	3.000,00
Kits ELISA para determinação de TGF- β	Dosagem de citocina	1	3.000,00	3.000,00
OPTEIA Reagent Set	Reagentes para ELISA	3	2.000,00	6.000,00
STAIN BSA BUF 500ML - Package Size: 1 units 554657 1 PMG	Tampão de marcação para citometria de fluxo	2	394,00	788,00
Solucao Salina Isotonica G 20L- 990992 1 IS	Tampão para citometria de fluxo	4	140,00	700,00
Lactofos [®] (SKL Functional Foods), caixa com 10 sachês	Suplementação com simbiótico	230	42,17	9.700,00
Maltodextrina	Placebo	13,5 kg	80,00	1.080,00
Sachê	Embalagem da Maltodextrina	2300	730,00	730,00
TB RB PE 5ml (12x75mm) 1000/pack - Package Size: 1000 units 352008 1000 DL	Tubos para citometria de fluxo	2	190,00	380,00

Tabela 3- Orçamento detalhado referente ao projeto**(Conclusão)**

a) Material de consumo, componentes e/ou peças de reposição de equipamentos, software, instalação, recuperação e manutenção de equipamentos.

Quant. (Uni.)	Quant. (Uni.)	Quant. (Uni.)	Quant. (Uni.)	Quant. (Uni.)
Ponteira 20-200 µL c/1000	Utilizada na micropipeta	2	30,00	60,00
Placa de poliestireno com 96 poços de fundo chato	Determinação de ELISA	50 placas	8,00	400,00
Ponteira 100-1000 µL pc c/1000	Utilizada na micropipeta	2	30,00	60,00
Microtubos com tampa (0,5 mL) (caixa com 1000 uni.)	Armazenamento de amostra e reagentes	1	220,00	220,00
Microtubos com tampa 1,5 mL (caixa com 1000 uni.)	Armazenamento de amostra e reagentes	1	218,00	218,00
Tubo à vácuo com EDTA (4 mL), Vacuette, Greiner	Tubos para coleta de sangue à vácuo com EDTA de 4 mL	100	0,49	49,00
Tubo à vácuo com Ativador de Coágulo (4 mL), Vacuette, Greiner	Tubos para coleta de sangue à vácuo com ativador de coágulo de 4 mL	100	0,89	89,00
Adaptador Holdex com escalpe 21G Vacuette, Greiner	Adaptador Holdex com escalpe estéril para coleta de sangue	100	1,40	140,00
Sub Total de Custeio= R\$ 41.414,00				

CAPITAL**a) Equipamentos e Material permanente****(Continua)**

Descrição produto	Justificativa	Quant. (Uni.)	Valor Uni. R\$	Valor Total R\$
Micropipeta Nichiryo (100-1000 µL)	Utensílio utilizado para medir e transferir líquidos	1	R\$ 500,00	R\$ 500,00
Micropipeta Nichiryo (20-200 µL)	Utensílio utilizado para medir e transferir líquidos	1	R\$ 500,00	R\$ 500,00
Micropipeta Nichiryo (2-10 µL)	Utensílio utilizado para medir e transferir líquidos		R\$ 500,00	R\$ 500,00
Micropipeta multicanal série COMFORT dig. 8 canais (20 a 200UL)	Utensílio utilizado para medir e transferir líquidos	1	R\$ 920,00	R\$ 920,00
Destilador de água CAP. 3,8L (220V)	Utilizado para fazer a destilação de água em laboratório	1	R\$ 500,00	R\$ 500,00
Sub Total de Capital= R\$ 2.920,00				
Total (Custeio: R\$ 41.414,00) e (Capital: R\$ 2.920,00) = R\$ 44.334,00				

REFERÊNCIAS

- ABREU, M. T.; FUKATA, M.; ARDITI, M. TLR signaling in the gut in health and disease. **J Immunol**, v. 174, p. 7, 2005.
- ADDE, F. V.; RODRIGUES, J. C.; CARDOSO, A. L. Seguimento nutricional de pacientes com fibrose cística: papel do aconselhamento nutricional. **J Pediatr (Rio J)**, v. 80, p. 475-482, 2004.
- AFACAN, N. J.; FJELL, C. D.; HANCOCK, R. E. A systems biology approach to nutritional immunology - focus on innate immunity. **Mol Aspects Med**, v. 33, n. 1, p. 14-25, 2012.
- ALFALEH, K.; ANABREES, J.; BASSLER, D.; AL-KHARFI, T. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 3, p. Cd005496, 2011.
- ANDERSEN, D. H. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: A clinical and pathologic study. **American Journal of Diseases of Children**, v. 56, n. 2, p. 344-399, 1938.
- APONTE, G. B.; BADA MANCILLA, C. A.; CARREAZO PARIASCA, N. Y.; ROJAS GALARZA, R. A. Probiotics for treating persistent diarrhoea in children. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 11, p. Cd007401, 2013.
- ARMSTRONG, D. S.; HOOK, S. M.; JAMSEN, K. M.; NIXON, G. M.; CARZINO, R.; CARLIN, J. B.; ROBERTSON, C. F.; GRIMWOOD, K. Lower airway inflammation in infants with cystic fibrosis detected by newborn screening. **Pediatr Pulmonol.**, v. 40, n. 6, p. 10, 2005.
- BAARLEN, P.; TROOST, F.; VAN DER MEER, C.; HOOIVELD, G.; BOEKSCHOTEN, M.; BRUMMER, R. J. M.; KLEEREBEZEM, M. Human mucosal in vivo transcriptome responses to three lactobacilli indicate how probiotics may modulate human cellular pathways. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. Supplement 1, p. 4562-4569, 2011.
- BAARLEN, P.; WELLS, J. M.; KLEEREBEZEM, M. Regulation of intestinal homeostasis and immunity with probiotic lactobacilli. **Trends Immunol**, v. 34, n. 5, p. 208-15, 2013.
- BALS, R.; WEINER, D. J.; MEEGALLA, R. L.; ACCURSO, F.; WILSON, J. M. Salt-independent abnormality of antimicrobial activity in cystic fibrosis airway surface fluid. **Am J Respir Cell Mol Biol**, v. 25, n. 1, p. 21-5, 2001.
- BARNES, P. J. Transcription factors in airway diseases. **Lab Invest**, v. 86, n. 9, p. 867-72, 2006.
- BARNES, P. J.; KARIN, M. Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. **N Engl J Med**, v. 336, p. 5, 1997.
- BARRETT, P. M.; ALAGELY, A.; TOPOL, E. J. Cystic fibrosis in an era of genomically guided therapy. **Hum Mol Genet**, v. 21, n. R1, p. R66-71, 2012.

BENGMARK, S.; MARTINDALE, R. Prebiotics and synbiotics in clinical medicine. **Nutr Clin Pract**, v. 20, n. 2, p. 244-61, 2005.

BERG, D. T.; GUPTA, A.; RICHARDSON, M. A.; O'BRIEN, L. A.; CALNEK, D.; GRINNELL, B. W. Negative regulation of inducible nitric-oxide synthase expression mediated through transforming growth factor-beta-dependent modulation of transcription factor TCF11. **J Biol Chem**, v. 282, n. 51, p. 36837-44, 2007.

BERGER, M. Y. Inflammatory mediators in cystic fibrosis lung disease. **Allergy and Asthma Proceedings**, v. 23, p. 6, 2002.

BERRINGTON, J. E.; STEWART, C. J.; EMBLETON, N. D.; CUMMINGS, S. P. Gut microbiota in preterm infants: assessment and relevance to health and disease. **Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed**, v. 98, n. 4, p. F286-90, 2013.

BLACKMAN, S. M.; DEERING-BROSE, R.; MCWILLIAMS, R.; NAUGHTON, K.; COLEMAN, B.; LAI, T.; ALGIRE, M.; BECK, S.; HOOVER-FONG, J.; HAMOSH, A.; FALLIN, M. D.; WEST, K.; ARKING, D. E.; CHAKRAVARTI, A.; CUTLER, D. J.; CUTTING, G. R. Relative contribution of genetic and nongenetic modifiers to intestinal obstruction in cystic fibrosis. **Gastroenterology**, v. 131, n. 4, p. 1030-9, 2006.

BOROWITZ, D.; BAKER, R. D.; STALLINGS, V. Consensus report on nutrition for pediatric patients with cystic fibrosis. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 35, n. 3, p. 246-59, 2002.

BOROWITZ, D. S.; GRAND, R. J.; DURIE, P. R. Use of pancreatic enzyme supplements for patients with cystic fibrosis in the context of fibrosing colonopathy. Consensus Committee. **J Pediatr**, v. 127, n. 5, p. 681-4, 1995.

BOUHNİK, Y.; FLOURIE, B.; D'AGAY-ABENSOUR, L.; POCHART, P.; GRAMET, G.; DURAND, M.; RAMBAUD, J. C. Administration of transgalacto-oligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. **J Nutr**, v. 127, n. 3, p. 444-8, 1997.

BOYLE, R. J.; MAH, L. J.; CHEN, A.; KIVIVUORI, S.; ROBINS-BROWNE, R. M.; TANG, M. L. Effects of Lactobacillus GG treatment during pregnancy on the development of fetal antigen-specific immune responses. **Clin Exp Allergy**, v. 38, n. 12, p. 1882-90, 2008.

BRENNAN, A. L.; GEDDES, D. M.; GYI, K. M.; BAKER, E. H. Clinical importance of cystic fibrosis-related diabetes. **J Cyst Fibros**, v. 3, n. 4, p. 209-22, 2004.

BRON, P. A.; TOMITA, S.; VAN, S., II; REMUS, D. M.; MEIJERINK, M.; WELS, M.; OKADA, S.; WELLS, J. M.; KLEEREBEZEM, M. Lactobacillus plantarum possesses the capability for wall teichoic acid backbone alditol switching. **Microb Cell Fact**, v. 11, p. 123, 2012.

BROWNAWELL, A. M.; CAERS, W.; GIBSON, G. R.; KENDALL, C. W.; LEWIS, K. D.; RINGEL, Y.; SLAVIN, J. L. Prebiotics and the health benefits of fiber: current regulatory status, future research, and goals. **J Nutr**, v. 142, n. 5, p. 962-74, 2012.

BRUZZESE, E.; RAIÀ, V.; GAUDIELLO, G.; POLITO, G.; BUCCIGROSSI, V.; FORMICOLA, V.; GUARINO, A. Intestinal inflammation is a frequent feature of cystic

fibrosis and is reduced by probiotic administration. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 20, n. 7, p. 813-819, 2004.

BRUZZESE, E.; RAI, V.; SPAGNUOLO, M. I.; VOLPICELLI, M.; DE MARCO, G.; MAIURI, L.; GUARINO, A. Effect of Lactobacillus GG supplementation on pulmonary exacerbations in patients with cystic fibrosis: A pilot study. **Clinical Nutrition**, v. 26, n. 3, p. 322-328, 2007.

BUSCHER, R.; GRASEMANN, H. Disease modifying genes in cystic fibrosis: therapeutic option or one-way road? **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**, v. 374, n. 2, p. 65-77, 2006.

CABALLERO-FRANCO, C.; KELLER, K.; DE SIMONE, C.; CHADEE, K. The VSL#3 probiotic formula induces mucin gene expression and secretion in colonic epithelial cells. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 292, p. 7, 2007.

CALDER, P. C.; ALBERS, R.; ANTOINE, J. M.; BLUM, S.; BOURDET-SICARD, R.; FERNS, G. A.; FOLKERTS, G.; FRIEDMANN, P. S.; FROST, G. S.; GUARNER, F.; LOVIK, M.; MACFARLANE, S.; MEYER, P. D.; MRABET, L.; SERAFINI, M.; VAN EDEN, W.; VAN LOO, J.; VAS DIAS, W.; VIDRY, S.; WINKLHOFFER-ROOB, B. M.; ZHAO, J. Inflammatory disease processes and interactions with nutrition. **Br J Nutr**, v. 101 Suppl 1, p. S1-45, 2009.

CARLYLE, B. E.; BOROWITZ, D. S.; GLICK, P. L. A review of pathophysiology and management of fetuses and neonates with meconium ileus for the pediatric surgeon. **J Pediatr Surg**, v. 47, n. 4, p. 772-81, 2012.

CARRAWAY, M. S.; WELTY-WOLF, K. E.; MILLER, D. L.; ORTEL, T. L.; IDELL, S.; GHIO, A. J.; PETERSEN, L. C.; PIANTADOSI, C. A. Blockade of tissue factor: treatment for organ injury in established sepsis. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 167, n. 9, p. 1200-9, 2003.

CEAPA, C.; WOPEREIS, H.; REZAIKI, L.; KLEEREBEZEM, M.; KNOL, J.; OOZEER, R. Influence of fermented milk products, prebiotics and probiotics on microbiota composition and health. **Best Pract Res Clin Gastroenterol**, v. 27, n. 1, p. 139-55, 2013.

CEBRA, J. J. Influences of microbiota on intestinal immune system development. **Am J Clin Nutr**, v. 69, p. 5, 1999.

CHANDRA, R. K. Nutrition, immunity and infection: from basic knowledge of dietary manipulation of immune responses to practical application of ameliorating suffering and improving survival. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 93, n. 25, p. 14304-7, 1996.

CHEN, E. Y.; YANG, N.; QUINTON, P. M.; CHIN, W. C. A new role for bicarbonate in mucus formation. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, v. 299, n. 4, p. L542-9, 2010.

CHMIEL, J. F.; BERGER, M.; KONSTAN, M. W. The role of inflammation in the pathophysiology of CF lung disease. **Clin Rev Allergy Immunol**, v. 23, n. 1, p. 5-27, 2002.

CHMIEL, J. F.; KONSTAN, M. W. Inflammation and anti-inflammatory therapies for cystic fibrosis. **Clinics in Chest Medicine**, v. 28, p. 15, 2007.

CHMIEL, J. F.; KONSTAN, M. W.; SAADANE, A.; KRENICKY, J. E.; LESTER KIRCHNER, H.; BERGER, M. Prolonged inflammatory response to acute *Pseudomonas* challenge in interleukin-10 knockout mice. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 165, n. 8, p. 1176-81, 2002.

CIPOLLI, M.; CASTELLANI, C.; WILCKEN, B.; MASSIE, J.; MCKAY, K.; GRUCA, M.; TAMANINI, A.; ASSAEL, M. B.; GASKIN, K. Pancreatic phenotype in infants with cystic fibrosis identified by mutation screening. **Arch Dis Child**, v. 92, n. 10, p. 842-6, 2007.

CLAEYS, S.; VAN HOECKE, H.; HOLTAPPELS, G.; GEVAERT, P.; DE BELDER, T.; VERHASSELT, B.; VAN CAUWENBERGE, P.; BACHERT, C. . Nasal polyps in patients with and without cystic fibrosis: a differentiation by innate markers and inflammatory mediators. **Clin Exp Allergy**, v. 35, n. 4, p. 5, 2005.

COLLIE, J. T.; MASSIE, R. J.; JONES, O. A.; LEGRYS, V. A.; GREAVES, R. F. Sixty-five years since the New York heat wave: advances in sweat testing for cystic fibrosis. **Pediatr Pulmonol**, v. 49, n. 2, p. 106-17, 2014.

COLOMBO, C.; ELLEMUNTER, H.; HOUWEN, R.; MUNCK, A.; TAYLOR, C.; WILSCHANSKI, M. Guidelines for the diagnosis and management of distal intestinal obstruction syndrome in cystic fibrosis patients. **J Cyst Fibros**, v. 10 Suppl 2, p. S24-8, 2011.

COMMANE, D. M.; SHORTT, C. T.; SILVI, S.; CRESCI, A.; HUGHES, R. M.; ROWLAND, I. R. Effects of fermentation products of pro- and prebiotics on trans-epithelial electrical resistance in an in vitro model of the colon. **Nutr Cancer**, v. 51, n. 1, p. 102-9, 2005.

CONESE, M.; COPRENI, E.; DI GIOIA, S.; DE RINALDIS, P.; FUMARULO, R. Neutrophil recruitment and airway epithelial cell involvement in chronic cystic fibrosis lung disease. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 2, n. 3, p. 6, 2003.

CORVOL, H.; BOELLE, P. Y.; BROUARD, J.; KNAUER, N.; CHADELAT, K.; HENRION-CAUDE, A.; FLAMANT, C.; MUSELET-CHARLIER, C.; BOULE, M.; FAUROUX, B.; VALLET, C.; FEINGOLD, J.; RATJEN, F.; GRASEMANN, H.; CLEMENT, A. Genetic variations in inflammatory mediators influence lung disease progression in cystic fibrosis. **Pediatric Pulmonology**, v. 43, p. 8, 2008.

COURTNEY, J. M.; ENNIS, M.; ELBORN, J. S. Cytokines and inflammatory mediators in cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 3, n. 4, p. 8, 2004.

COX, M. J.; ALLGAIER, M.; TAYLOR, B.; BAEK, M. S.; HUANG, Y. J.; DALY, R. A.; KARAOZ, U.; ANDERSEN, G. L.; BROWN, R.; FUJIMURA, K. E.; WU, B.; TRAN, D.; KOFF, J.; KLEINHENZ, M. E.; NIELSON, D.; BRODIE, E. L.; LYNCH, S. V. Airway microbiota and pathogen abundance in age-stratified cystic fibrosis patients. **PLoS ONE**, v. 5, n. 6, p. e11044, 2010.

DALCIN, P. D. T. R.; ABREU E SILVA, F. A. D. Fibrose cística no adulto: aspectos diagnósticos e terapêuticos. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 34, p. 107-117, 2008.

DANG, D.; ZHOU, W.; LUN, Z. J.; MU, X.; WANG, D. X.; WU, H. Meta-analysis of probiotics and/or prebiotics for the prevention of eczema. **J Int Med Res**, v. 41, n. 5, p. 1426-36, 2013.

DATABASE, C. F. M. **Cystic fibrosis mutation database statistics, 2013.** 2014 2013.

DAVIES, D. E.; WICKS, J.; POWELL, R. M.; PUDDICOMBE, S. M.; HOLGATE, S. T. Airway remodeling in asthma: new insights. **J Allergy Clin Immunol**, v. 111, n. 2, p. 215-25; quiz 226, 2003.

DAVIS, P. B. Cystic fibrosis since 1938. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 173, p. 7, 2006.

DAVIS, P. B.; DRUMM, M.; KONSTAN, M. W. Cystic fibrosis. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 154, n. 5, p. 1229-56, 1996.

DE BOECK, K.; WILSCHANSKI, M.; CASTELLANI, C.; TAYLOR, C.; CUPPENS, H.; DODGE, J.; SINAASAPPEL, M. Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. **Thorax**, v. 61, n. 7, p. 627-35, 2006.

DE JONG, E.; SUDDASON, T.; LORD, G. M. Translational mini-review series on Th17 cells: development of mouse and human T helper 17 cells. **Clin Exp Immunol**, v. 159, n. 2, p. 148-58, 2010.

DE LISLE, R. C. Altered transit and bacterial overgrowth in the cystic fibrosis mouse small intestine. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 293, n. 1, p. G104-11, 2007.

DEL CAMPO, R.; GARRIGA, M.; PÉREZ-ARAGÓN, A.; GUALLARTE, P.; LAMAS, A.; MÁIZ, L.; BAYÓN, C.; ROY, G.; CANTÓN, R.; ZAMORA, J.; BAQUERO, F.; SUÁREZ, L. Improvement of digestive health and reduction in proteobacterial populations in the gut microbiota of cystic fibrosis patients using a *Lactobacillus reuteri* probiotic preparation: A double blind prospective study. **Journal of Cystic Fibrosis**, 2014.

DETHLEFSEN, L.; HUSE, S.; SOGIN, M. L.; RELMAN, D. A. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. **PLoS Biol**, v. 6, n. 11, p. e280, 2008.

DI NARDO, G.; OLIVA, S.; MENICHELLA, A.; PISTELLI, R.; BIASE, R. V. D.; PATRIARCHI, F.; CUCCHIARA, S.; STRONATI, L. *Lactobacillus reuteri* ATCC55730 in cystic fibrosis. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 58, n. 1, p. 81-86, 2014.

DI SANT'AGNESE, P. A.; DARLING, R. C.; PERERA, G. A.; SHEA, E. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas; clinical significance and relationship to the disease. **Pediatrics**, v. 12, n. 5, p. 549-63, 1953.

DI, S. A. P. E.; ANDERSEN, D. H. Celiac syndrome; chemotherapy in infections of the respiratory tract associated with cystic fibrosis of the pancreas; observations with penicillin and drugs of the sulfonamide group, with special reference to penicillin aerosol. **Am J Dis Child**, v. 72, p. 17-61, 1946.

DIMANGO, E.; RATNER, A. J.; BRYAN, R.; TABIBI, S.; PRINCE, A. Activation of NF-kappaB by adherent *Pseudomonas aeruginosa* in normal and cystic fibrosis respiratory epithelial cells. **J Clin Invest**, v. 101, n. 11, p. 2598-605, 1998.

DINARELLO, C. A. Proinflammatory cytokines. **Chest**, v. 118, n. 2, p. 503-8, 2000.

- DODGE, J. A.; TURCK, D. Cystic fibrosis: nutritional consequences and management. **Best Pract Res Clin Gastroenterol**, v. 20, n. 3, p. 531-46, 2006.
- DOLL, D. N.; BARR, T. L.; SIMPKINS, J. W. Cytokines: their role in stroke and potential use as biomarkers and therapeutic targets. **Aging Dis**, v. 5, n. 5, p. 294-306, 2014.
- DOWNEY, D. G.; BELL, S. C.; ELBORN, J. S. Neutrophils in cystic fibrosis. **Thorax**, v. 64, n. 1, p. 81-88, 2009.
- EDLUND, C.; BEYER, G.; HIEMER-BAU, M.; ZIEGE, S.; LODE, H.; NORD, C. E. Comparative effects of moxifloxacin and clarithromycin on the normal intestinal microflora. **Scand J Infect Dis**, v. 32, n. 1, p. 81-5, 2000.
- EIGEN, H.; ROSENSTEIN, B. J.; FITZSIMMONS, S.; SCHIDLOW, D. V. A multicenter study of alternate-day prednisone therapy in patients with cystic fibrosis. Cystic Fibrosis Foundation Prednisone Trial Group. **J Pediatr**, v. 126, n. 4, p. 515-23, 1995.
- ELIZUR, A.; CANNON, C. L.; FERKOL, T. W. Airway inflammation in cystic fibrosis. **Chest**, v. 133, n. 2, p. 489-95, 2008.
- EWASCHUK, J. B.; DIAZ, H.; MEDDINGS, L.; DIEDERICHS, B.; DMYTRASH, A.; BACKER, J.; LOOIJER-VAN LANGEN, M.; MADSEN, K. L. Secreted bioactive factors from *Bifidobacterium infantis* enhance epithelial cell barrier function. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 295, n. 5, p. G1025-34, 2008.
- FALLAHI, G.; MOTAMED, F.; YOUSEFI, A.; SHAFIEYOUN, A.; NAJAFI, M.; KHODADAD, A.; FARHMAND, F.; AHMADVAND, A.; REZAEI, N. The effect of probiotics on fecal calprotectin in patients with cystic fibrosis. **Turkish Journal of Pediatrics**, v. 55, n. 5, p. 475-478, 2013.
- FALONY, G.; VLACHOU, A.; VERBRUGGHE, K.; DE VUYST, L. Cross-feeding between *Bifidobacterium longum* BB536 and acetate-converting, butyrate-producing colon bacteria during growth on oligofructose. **Appl Environ Microbiol**, v. 72, n. 12, p. 7835-41, 2006.
- FAO/WHO, W. G. R. **Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food**. London Ontario, Canada. 2002
- FARBER, S.; SHWACHMAN, H.; MADDOCK, C. L. Pancreatic function and disease in early life. I. Pancreatic enzyme activity and the celiac syndrome. **J Clin Invest**, v. 22, n. 6, p. 827-38, 1943.
- FARRELL, P. M. The prevalence of cystic fibrosis in the European Union. **J Cyst Fibros**, v. 7, n. 5, p. 450-3, 2008.
- FERANCHAK, A. P.; SONTAG, M. K.; WAGENER, J. S.; HAMMOND, K. B.; ACCURSO, F. J.; SOKOL, R. J. Prospective, long-term study of fat-soluble vitamin status in children with cystic fibrosis identified by newborn screen. **J Pediatr**, v. 135, n. 5, p. 601-10, 1999.
- FLUME, P. A.; VAN DEVANTER, D. R. State of progress in treating cystic fibrosis respiratory disease. **BMC Med**, v. 10, p. 88, 2012.

- FRIDGE, J. L.; CONRAD, C.; GERSON, L.; CASTILLO, R. O.; COX, K. Risk factors for small bowel bacterial overgrowth in cystic fibrosis. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 44, n. 2, p. 212-8, 2007.
- FRISANCHO, A. R. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. **Am J Clin Nutr**, v. 34, n. 11, p. 2540-5, 1981.
- FUJIMURA, K.; OYAMADA, A.; IWAMOTO, Y.; YOSHIKAI, Y.; YAMADA, H. CD4 T cell-intrinsic IL-2 signaling differentially affects Th1 and Th17 development. **J Leukoc Biol**, v. 94, n. 2, p. 271-9, 2013.
- FULLER, R. Probiotics in human medicine. **Gut**, v. 32, n. 4, p. 439-42, 1991.
- GARCIA, K. C.; TEYTON, L.; WILSON, I. A. Structural basis of T cell recognition. **Annu Rev Immunol**, v. 17, p. 369-97, 1999.
- GBEFC, G. B. D. E. D. F. C.-. **Registro Brasileiro de Fibrose Cística**: Grupo Brasileiro de Estudos de Fibrose Cística: 29 p. 2011.
- GELFOND, D.; BOROWITZ, D. Gastrointestinal complications of cystic fibrosis. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 11, n. 4, p. 333-342, 2013.
- GIANOTTI, L.; MORELLI, L.; GALBIATI, F.; ROCCHETTI, S.; COPPOLA, S.; BENEDEUCE, A.; GILARDINI, C.; ZONENSCHAIN, D.; NESPOLI, A.; BRAGA, M. A randomized double-blind trial on perioperative administration of probiotics in colorectal cancer patients. **World J Gastroenterol**, v. 16, n. 2, p. 167-75, 2010.
- GIBSON, G. R.; PROBERT, H. M.; LOO, J. V.; RASTALL, R. A.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutr Res Rev**, v. 17, n. 2, p. 259-75, 2004.
- GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **J Nutr**, v. 125, n. 6, p. 1401-12, 1995.
- GIBSON, L. E.; COOKE, R. E. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. **Pediatrics**, v. 23, n. 3, p. 545-9, 1959.
- GIBSON, R. L.; BURNS, J. L.; RAMSEY, B. W. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 168, n. 8, p. 918-51, 2003.
- GILLIGAN, P. H.; KISKA, D. L.; APPLEMAN, M. D. **Cumitech 43: Cystic Fibrosis Microbiology**. Coordinating ed., M. D. Appleman. Washington, D.C: ASM Press, 2006. 72.
- GOLDENBERG, J. Z.; MA, S. S.; SAXTON, J. D.; MARTZEN, M. R.; VANDVIK, P. O.; THORLUND, K.; GUYATT, G. H.; JOHNSTON, B. C. Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults and children. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 5, p. Cd006095, 2013.
- GOVAN, J. R.; DERETIC, V. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. **Microbiol Rev**, v. 60, n. 3, p. 539-74, 1996.

GRANUCCI, F.; FEAU, S.; ANGELI, V.; TROTTEIN, F.; RICCIARDI-CASTAGNOLI, P. Early IL-2 production by mouse dendritic cells is the result of microbial-induced priming. **J Immunol**, v. 170, n. 10, p. 5075-81, 2003.

GRANUCCI, F.; FEAU, S.; ZANONI, I.; PAVELKA, N.; VIZZARDELLI, C.; RAIMONDI, G.; RICCIARDI-CASTAGNOLI, P. The immune response is initiated by dendritic cells via interaction with microorganisms and interleukin-2 production. **J Infect Dis**, v. 187 Suppl 2, p. S346-50, 2003.

GRASSME, H.; BECKER, K. A.; ZHANG, Y.; GULBINS, E. CFTR-dependent susceptibility of the cystic fibrosis-host to *Pseudomonas aeruginosa*. **Int J Med Microbiol**, v. 300, n. 8, p. 578-83, 2010.

GROENEWEG, M.; TAN, S.; BOOT, A. M.; DE JONGSTE, J. C.; BOUQUET, J.; SINAASAPPEL, M. Assessment of nutritional status in children with cystic fibrosis: conventional anthropometry and bioelectrical impedance analysis. A cross-sectional study in Dutch patients. **J Cyst Fibros**, v. 1, n. 4, p. 276-80, 2002.

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

GUARNER, F.; MALAGELADA, J. R. Gut flora in health and disease. **Lancet**, v. 361, n. 9356, p. 512-9, 2003.

GUHA, M.; MACKMAN, N. LPS induction of gene expression in human monocytes. **Cell Signal**, v. 13, n. 2, p. 85-94, 2001.

HAACK, A.; ARAGÃO, G. G.; NOVAES, M. R. C. G. Pathophysiology of cystic fibrosis and drugs used in associated digestive tract diseases. **World Journal of Gastroenterology**, v. 19, n. 46, p. 8552-8561, 2013.

HAACK, A.; NOVAES, M. R. G. Clinical and nutritional aspects of cystic fibrosis patients assisted by a home enteral nutrition program in Brazil. **Revista chilena de nutrición**, v. 40, p. 112-118, 2013.

HANSEN, C. R.; PRESSLER, T.; NIELSEN, K. G.; JENSEN, P. O.; BJARNSHOLT, T.; HOIBY, N. Inflammation in *Achromobacter xylosoxidans* infected cystic fibrosis patients. **J Cyst Fibros**, v. 9, n. 1, p. 51-8, 2010.

HAO, Q.; LU, Z.; DONG, B. R.; HUANG, C. Q.; WU, T. Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 9, p. Cd006895, 2011.

HAWRELAK, J. A.; MYERS, S. P. The causes of intestinal dysbiosis: a review. **Altern Med Rev**, v. 9, n. 2, p. 180-97, 2004.

HEMPEL, S.; NEWBERRY, S. J.; MAHER, A. R.; WANG, Z.; MILES, J. N.; SHANMAN, R.; JOHNSEN, B.; SHEKELLE, P. G. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. **Jama**, v. 307, n. 18, p. 1959-69, 2012.

HERALD, M. C. General model of inflammation. **Bull Math Biol**, v. 72, n. 4, p. 765-79, 2010.

HOARAU, C.; MARTIN, L.; FAUGARET, D.; BARON, C.; DAUBA, A.; AUBERT-JACQUIN, C.; VELGE-ROUSSEL, F.; LEBRANCHU, Y. Supernatant from *bifidobacterium* differentially modulates transduction signaling pathways for biological functions of human dendritic cells. **PLoS ONE**, v. 3, n. 7, p. e2753, 2008.

HOLSCHER, H. D.; CZERKIES, L. A.; CEKOLA, P.; LITOV, R.; BENBOW, M.; SANTEMA, S.; ALEXANDER, D. D.; PEREZ, V.; SUN, S.; SAAVEDRA, J. M.; TAPPENDEN, K. A. Bifidobacterium lactis Bb12 enhances intestinal antibody response in formula-fed infants: a randomized, double-blind, controlled trial. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v. 36, n. 1 Suppl, p. 106s-17s, 2012.

HOOPER, L. V.; STAPPENBECK, T. S.; HONG, C. V.; GORDON, J. I. Angiogenins: a new class of microbicidal proteins involved in innate immunity. **Nat Immunol**, v. 4, n. 3, p. 269-73, 2003.

HUBEAU, C.; LORENZATO, M.; COUETIL, J. P.; HUBERT, D.; DUSSER, D.; PUCHELLE, E.; GAILLARD, D. Quantitative analysis of inflammatory cells infiltrating the cystic fibrosis airway mucosa. **Clin Exp Immunol**, v. 124, n. 1, p. 69-76, 2001.

HUSSAIN, S. Z.; CHU, C.; GREENBERG, D. P.; ORENSTEIN, D.; KHAN, S. Clostridium difficile colitis in children with cystic fibrosis. **Dig Dis Sci**, v. 49, n. 1, p. 116-21, 2004.

HUTCHISON, M. L.; GOVAN, J. R. W. Pathogenicity of microbes associated with cystic fibrosis. **Microbes and Infection**, v. 1, n. 12, p. 1005-1014, 1999.

IANNITTI, T.; PALMIERI, B. Therapeutical use of probiotic formulations in clinical practice. **Clin Nutr**, v. 29, n. 6, p. 701-25, 2010.

IAPICHINO, G.; CALLEGARI, M. L.; MARZORATI, S.; CIGADA, M.; CORBELLA, D.; FERRARI, S.; MORELLI, L. Impact of antibiotics on the gut microbiota of critically ill patients. **J Med Microbiol**, v. 57, n. Pt 8, p. 1007-14, 2008.

INFANTE PINA, D.; REDECILLAS FERREIRO, S.; TORRENT VERNETTA, A.; SEGARRA CANTÓN, O.; MALDONADO SMITH, M.; GARTNER TIZZIANO, L.; HIDALGO ALBERT, E. Improvement of intestinal function in cystic fibrosis patients using probiotics. **Optimización de la función intestinal en pacientes con fibrosis quística mediante la administración de probióticos**, v. 69, n. 6, p. 501-505, 2008.

ISMAIL, I. H.; OPPEDISANO, F.; JOSEPH, S. J.; BOYLE, R. J.; LICCIARDI, P. V.; ROBINS-BROWNE, R. M.; TANG, M. L. Reduced gut microbial diversity in early life is associated with later development of eczema but not atopy in high-risk infants. **Pediatr Allergy Immunol**, v. 23, n. 7, p. 674-81, 2012.

IVANOV, II; ATARASHI, K.; MANEL, N.; BRODIE, E. L.; SHIMA, T.; KARAOZ, U.; WEI, D.; GOLDFARB, K. C.; SANTEE, C. A.; LYNCH, S. V.; TANOUE, T.; IMAOKA, A.; ITOH, K.; TAKEDA, K.; UMESAKI, Y.; HONDA, K.; LITTMAN, D. R. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. **Cell**, v. 139, n. 3, p. 485-98, 2009.

IVANOV, D.; EMONET, C.; FOATA, F.; AFFOLTER, M.; DELLEY, M.; FISSEHA, M.; BLUM-SPERISEN, S.; KOCHHAR, S.; ARIGONI, F. A serpin from the gut bacterium *Bifidobacterium longum* inhibits eukaryotic elastase-like serine proteases. **J Biol Chem**, v. 281, n. 25, p. 17246-52, 2006.

- JAFARI, S. A.; MEHDIZADEH-HAKKAK, A.; KIANIFAR, H. R.; HEBRANI, P.; AHANCHIAN, H.; ABBASNEJAD, E. Effects of probiotics on quality of life in children with cystic fibrosis; A randomized controlled trial. **Iranian Journal of Pediatrics**, v. 23, n. 6, p. 669-674, 2013.
- JANEWAY, C. A., JR.; MEDZHITOV, R. Innate immune recognition. **Annu Rev Immunol**, v. 20, p. 197-216, 2002.
- JAT, K. R. Spirometry in children. **Prim Care Respir J**, v. 22, n. 2, p. 221-9, 2013.
- JERNBERG, C.; LOFMARK, S.; EDLUND, C.; JANSSON, J. K. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. **Isme j**, v. 1, n. 1, p. 56-66, 2007.
- JOHNSTON, B. C.; MA, S. S. Y.; GOLDENBERG, J. Z.; THORLUND, K.; VANDVIK, P. O.; LOEB, M.; GUYATT, G. H. Probiotics for the Prevention of Clostridium difficile–Associated Diarrhea A Systematic Review and Meta-analysis. **Ann Intern Med**, v. 157, n. 12, p. 878-888, 2012.
- KARCZEWSKI, J.; TROOST, F. J.; KONINGS, I.; DEKKER, J.; KLEEREBEZEM, M.; BRUMMER, R. J.; WELLS, J. M. Regulation of human epithelial tight junction proteins by Lactobacillus plantarum in vivo and protective effects on the epithelial barrier. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 298, n. 6, p. G851-9, 2010.
- KEILBAUGH, S. A.; SHIN, M. E.; BANCHEREAU, R. F.; MCVAY, L. D.; BOYKO, N.; ARTIS, D.; CEBRA, J. J.; WU, G. D. Activation of RegIIIbeta/gamma and interferon gamma expression in the intestinal tract of SCID mice: an innate response to bacterial colonisation of the gut. **Gut**, v. 54, n. 5, p. 623-9, 2005.
- KELLY, D.; DELDAY, M. I.; MULDER, I. Microbes and microbial effector molecules in treatment of inflammatory disorders. **Immunol Rev**, v. 245, n. 1, p. 27-44, 2012.
- KEREM, B.; ROMMENS, J. M.; BUCHANAN, J. A.; MARKIEWICZ, D.; COX, T. K.; CHAKRAVARTI, A.; BUCHWALD, M.; TSUI, L. C. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. **Science**, v. 245, n. 4922, p. 1073-80, 1989.
- KEREM, E.; CONWAY, S.; ELBORN, S.; HEIJERMAN, H. Standards of care for patients with cystic fibrosis: a European consensus. **J Cyst Fibros**, v. 4, n. 1, p. 7-26, 2005.
- KIENINGER, E.; REGAMEY, N. Targeting inflammation in cystic fibrosis. **Respiration**, v. 79, n. 3, p. 189-90, 2010.
- KONIKOFF, M. R.; DENSON, L. A. Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. **Inflamm Bowel Dis**, v. 12, n. 6, p. 524-34, 2006.
- KONSTAN, M. W.; MORGAN, W. J.; BUTLER, S. M.; PASTA, D. J.; CRAIB, M. L.; SILVA, S. J.; STOKES, D. C.; WOHL, M. E.; WAGENER, J. S.; REGELMANN, W. E.; JOHNSON, C. A. Risk factors for rate of decline in forced expiratory volume in one second in children and adolescents with cystic fibrosis. **J Pediatr**, v. 151, n. 2, p. 134-9, 139.e1, 2007.

KONSTAN, M. W.; STERN, R. C.; DOERSHUK, C. F. Efficacy of the Flutter device for airway mucus clearance in patients with cystic fibrosis. **J Pediatr**, v. 124, n. 5 Pt 1, p. 689-93, 1994.

KONSTANTINOV, S. R.; SMIDT, H.; DE VOS, W. M.; BRUIJNS, S. C.; SINGH, S. K.; VALENCE, F.; MOLLE, D.; LORTAL, S.; ALTERMANN, E.; KLAENHAMMER, T. R.; VAN KOOYK, Y. S layer protein A of *Lactobacillus acidophilus* NCFM regulates immature dendritic cell and T cell functions. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 105, n. 49, p. 19474-9, 2008.

KRAYNACK, N. C.; COREY, D. A.; ELMER, H. L.; KELLEY, T. J. Mechanisms of NOS2 regulation by Rho GTPase signaling in airway epithelial cells. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, v. 283, n. 3, p. L604-11, 2002.

KUBE, D.; SONTICH, U.; FLETCHER, D.; DAVIS, P. B. Proinflammatory cytokine responses to *P. aeruginosa* infection in human airway epithelial cell lines. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, v. 280, n. 3, p. L493-502, 2001.

KUBE, D. M.; FLETCHER, D.; DAVIS, P. B. Relation of exaggerated cytokine responses of CF airway epithelial cells to PAO1 adherence. **Respir Res**, v. 6, p. 69, 2005.

LAFYATIS, R. Transforming growth factor beta-at the centre of systemic sclerosis. **Nat Rev Rheumatol**, 2014.

LANE, M. M.; CZYZEWSKI, D. I.; CHUMPITAZI, B. P.; SHULMAN, R. J. Reliability and validity of a modified Bristol Stool Form Scale for children. **J Pediatr**, v. 159, n. 3, p. 437-441.e1, 2011.

LEAL, V. O.; MAFRA, D.; FOUQUE, D.; ANJOS, L. A. Use of handgrip strength in the assessment of the muscle function of chronic kidney disease patients on dialysis: a systematic review. **Nephrol Dial Transplant**, v. 26, n. 4, p. 1354-60, 2011.

LEBEER, S.; CLAES, I.; TYTGAT, H. L.; VERHOEVEN, T. L.; MARIEN, E.; VON OSSOWSKI, I.; REUNANEN, J.; PALVA, A.; VOS, W. M.; KEERSMAECKER, S. C.; VANDERLEYDEN, J. Functional analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG pili in relation to adhesion and immunomodulatory interactions with intestinal epithelial cells. **Appl Environ Microbiol**, v. 78, n. 1, p. 185-93, 2012.

LEE, J.; MO, J. H.; KATAKURA, K.; ALKALAY, I.; RUCKER, A. N.; LIU, Y. T.; LEE, H. K.; SHEN, C.; COJOCARU, G.; SHENOUDA, S.; KAGNOFF, M.; ECKMANN, L.; BEN-NERIAH, Y.; RAZ, E. Maintenance of colonic homeostasis by distinctive apical TLR9 signalling in intestinal epithelial cells. **Nat Cell Biol**, v. 8, n. 12, p. 1327-36, 2006.

LEE, J. M.; LEACH, S. T.; KATZ, T.; DAY, A. S.; JAFFE, A.; OOI, C. Y. Update of faecal markers of inflammation in children with cystic fibrosis. **Mediators of Inflammation**, v. 2012, 2012.

LEWIN, L. O.; BYARD, P. J.; DAVIS, P. B. Effect of *Pseudomonas cepacia* colonization on survival and pulmonary function of cystic fibrosis patients. **J Clin Epidemiol**, v. 43, n. 2, p. 125-31, 1990.

LI, J.; JOHNSON, X. D.; IAZVOVSKAIA, S.; TAN, A.; LIN, A.; HERSHENSON, M. B. Signaling intermediates required for NF-kappa B activation and IL-8 expression in CF

bronchial epithelial cells. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, v. 284, n. 2, p. L307-15, 2003.

LIEW, F. Y. The role of innate cytokines in inflammatory response. **Immunol Lett**, v. 85, n. 2, p. 131-4, 2003.

LIPUMA, J. J.; DASEN, S. E.; NIELSON, D. W.; STERN, R. C.; STULL, T. L. Person-to-person transmission of *Pseudomonas cepacia* between patients with cystic fibrosis. **Lancet**, v. 336, n. 8723, p. 1094-6, 1990.

LISOWSKA, A.; WÓJTOWICZ, J.; WALKOWIAK, J. Small intestine bacterial overgrowth is frequent in cystic fibrosis: Combined hydrogen and methane measurements are required for its detection. **Acta Biochimica Polonica**, v. 56, n. 4, p. 631-634, 2009.

LITTLEWOOD, J. M.; WOLFE, S. P.; CONWAY, S. P. Diagnosis and treatment of intestinal malabsorption in cystic fibrosis. **Pediatr Pulmonol**, v. 41, n. 1, p. 35-49, 2006.

LLOYD-STILL, J. D.; UHING, M. R.; ARANGO, V.; FUSARO, A.; KIMURA, R. E. The effect of intestinal permeability on pancreatic enzyme-induced enteropathy in the rat. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 26, n. 5, p. 489-95, 1998.

LOEVE, M.; GERBRANDS, K.; HOP, W. C.; ROSENFELD, M.; HARTMANN, I. C.; TIDDENS, H. A. Bronchiectasis and pulmonary exacerbations in children and young adults with cystic fibrosis. **Chest**, v. 140, n. 1, p. 178-85, 2011.

LOHNER, S.; KULLENBERG, D.; ANTES, G.; DECSI, T.; MEERPOHL, J. J. Prebiotics in healthy infants and children for prevention of acute infectious diseases: a systematic review and meta-analysis. **Nutr Rev**, v. 72, n. 8, p. 523-31, 2014.

LOMAX, A. R.; CALDER, P. C. Prebiotics, immune function, infection and inflammation: A review of the evidence. **British Journal of Nutrition**, v. 101, n. 5, p. 633-658, 2009.

LOO, J.; COUSSEMENT, P.; DE LEENHEER, L.; HOEBREGS, H.; SMITS, G. On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 35, n. 6, p. 525-52, 1995.

LU, R.; FASANO, S.; MADAYIPUTHIYA, N.; MORIN, N. P.; NATARO, J.; FASANO, A. Isolation, identification, and characterization of small bioactive peptides from *Lactobacillus* GG conditional media that exert both anti-Gram-negative and Gram-positive bactericidal activity. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 49, n. 1, p. 23-30, 2009.

LUBAMBA, B.; DHOOGHE, B.; NOEL, S.; LEAL, T. Cystic fibrosis: Insight into CFTR pathophysiology and pharmacotherapy. **Clinical Biochemistry**, v. 45, n. 15, p. 1132-1144, 2012.

LUPTON, J. R. Microbial degradation products influence colon cancer risk: the butyrate controversy. **J Nutr**, v. 134, n. 2, p. 479-82, 2004.

LUSTER, A. D. Chemokines--chemotactic cytokines that mediate inflammation. **N Engl J Med**, v. 338, n. 7, p. 436-45, 1998.

LYNCH, S. V.; BRUCE, K. D. The cystic fibrosis airway microbiome. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 3, n. 3, p. a009738, 2013.

LYNCH, S. V.; GOLDFARB, K. C.; WILD, Y. K.; KONG, W.; DE LISLE, R. C.; BRODIE, E. L. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator knockout mice exhibit aberrant gastrointestinal microbiota. **Gut Microbes**, v. 4, n. 1, 2013.

MACHEN, T. E. Innate immune response in CF airway epithelia: Hyperinflammatory? **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 291, n. 2, p. C218-C230, 2006.

MACPHERSON, A. J.; UHR, T. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. **Science**, v. 303, n. 5664, p. 1662-5, 2004.

MADAN, J. C.; KOESTLE, D. C.; STANTON, B. A.; DAVIDSON, L.; MOULTON, L. A.; HOUSMAN, M. L.; MOORE, J. H.; GUILL, M. F.; MORRISON, H. G.; SOGIN, M. L.; HAMPTON, T. H.; KARAGAS, M. R.; PALUMBO, P. E.; FOSTER, J. A.; HIBBERD, P. L.; O'TOOLE, G. A. Serial analysis of the gut and respiratory microbiome in cystic fibrosis in infancy: Interaction between intestinal and respiratory tracts and impact of nutritional exposures. **mBio**, v. 3, n. 4, 2012.

MATEL, J. L.; MILLA, C. E. Nutrition in cystic fibrosis. **Semin Respir Crit Care Med**, v. 30, n. 5, p. 579-86, 2009.

MATSUGUCHI, T.; TAKAGI, A.; MATSUZAKI, T.; NAGAOKA, M.; ISHIKAWA, K.; YOKOKURA, T.; YOSHIKAI, Y. Lipoteichoic acids from *Lactobacillus* strains elicit strong tumor necrosis factor alpha-inducing activities in macrophages through Toll-like receptor 2. **Clin Diagn Lab Immunol**, v. 10, n. 2, p. 259-66, 2003.

MATTHEWS, W. J., JR.; WILLIAMS, M.; OLIPHINT, B.; GEHA, R.; COLTEN, H. R. Hypogammaglobulinemia in patients with cystic fibrosis. **N Engl J Med**, v. 302, n. 5, p. 245-9, 1980.

MAZMANIAN, S. K.; LIU, C. H.; TZIANABOS, A. O.; KASPER, D. L. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. **Cell**, v. 122, n. 1, p. 107-18, 2005.

MCALLISTER, F.; HENRY, A.; KREINDLER, J. L.; DUBIN, P. J.; ULRICH, L.; STEELE, C.; FINDER, J. D.; PILEWSKI, J. M.; CARRENO, B. M.; GOLDMAN, S. J.; PIRHONEN, J.; KOLLS, J. K. Role of IL-17A, IL-17F, and the IL-17 receptor in regulating growth-related oncogene-alpha and granulocyte colony-stimulating factor in bronchial epithelium: implications for airway inflammation in cystic fibrosis. **J Immunol**, v. 175, n. 1, p. 404-12, 2005.

MCDONALD, C. M. Validation of a nutrition risk screening tool for children and adolescents with cystic fibrosis ages 2-20 years. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 46, n. 4, p. 438-46, 2008.

MCFARLAND, L. V. Evidence-based review of probiotics for antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infections. **Anaerobe**, v. 15, n. 6, p. 274-80, 2009.

MILLER, L. E.; OUWEHAND, A. C. Probiotic supplementation decreases intestinal transit time: meta-analysis of randomized controlled trials. **World J Gastroenterol**, v. 19, n. 29, p. 4718-25, 2013.

MIOSSEC, P.; KOLLS, J. K. Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation. **Nat Rev Drug Discov**, v. 11, n. 10, p. 763-76, 2012.

MITSUMA, T.; ODAJIMA, H.; MOMIYAMA, Z.; WATANABE, K.; MASUGUCHI, M.; SEKINE, T.; SHIDARA, S.; HIRANO, S. Enhancement of gene expression by a peptide p(CHWPR) produced by *Bifidobacterium lactis* BB-12. **Microbiol Immunol**, v. 52, n. 3, p. 144-55, 2008.

MOAYYEDI, P.; FORD, A. C.; TALLEY, N. J.; CREMONINI, F.; FOXX-ORENSTEIN, A. E.; BRANDT, L. J.; QUIGLEY, E. M. The efficacy of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review. **Gut**, v. 59, n. 3, p. 325-32, 2010.

MORRIS, N.; UDRY, J. R. Validation of a self-administered instrument to assess stage of adolescent development. **Journal of Youth and Adolescence**, v. 9, n. 3, p. 271-280, 1980.

MUHLEBACH, M. S.; STEWART, P. W.; LEIGH, M. W.; NOAH, T. L. Quantitation of inflammatory responses to bacteria in young cystic fibrosis and control patients. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 160, n. 1, p. 186-91, 1999.

MURRAY, J. F. The ketchup-bottle method. **N Engl J Med**, v. 300, n. 20, p. 1155-7, 1979.

NOAH, T. L.; BLACK, H. R.; CHENG, P. W.; WOOD, R. E.; LEIGH, M. W. Nasal and bronchoalveolar lavage fluid cytokines in early cystic fibrosis. **J Infect Dis**, v. 175, n. 3, p. 638-47, 1997.

NORKINA, O.; BURNETT, T. G.; DE LISLE, R. C. Bacterial overgrowth in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator null mouse small intestine. **Infect Immun**, v. 72, n. 10, p. 6040-9, 2004.

NOVERR, M. C.; HUFFNAGLE, G. B. Does the microbiota regulate immune responses outside the gut? **Trends Microbiol**, v. 12, n. 12, p. 562-8, 2004.

O'DONNELL, D. H.; RYAN, R.; HAYES, B.; FENNELLY, D.; GIBNEY, R. G. Hepatocellular carcinoma complicating cystic fibrosis related liver disease. **J Cyst Fibros**, v. 8, n. 4, p. 288-90, 2009.

O'SULLIVAN, B. P.; FREEDMAN, S. D. Cystic fibrosis. **Lancet**, v. 373, n. 9678, p. 1891-904, 2009.

O'SULLIVAN, S. T.; LEDERER, J. A.; HORGAN, A. F.; CHIN, D. H.; MANNICK, J. A.; RODRICK, M. L. Major injury leads to predominance of the T helper-2 lymphocyte phenotype and diminished interleukin-12 production associated with decreased resistance to infection. **Ann Surg**, v. 222, n. 4, p. 482-90; discussion 490-2, 1995.

OBERHOLZER, A.; OBERHOLZER, C.; BAHJAT, K. S.; UNGARO, R.; TANNAHILL, C. L.; MURDAY, M.; BAHJAT, F. R.; ABOUHAMZE, Z.; TSAI, V.; LAFACE, D.; HUTCHINS, B.; MOLDAWER, L. L.; CLARE-SALZLER, M. J. Increased survival in sepsis by in vivo adenovirus-induced expression of IL-10 in dendritic cells. **J Immunol**, v. 168, n. 7, p. 3412-8, 2002.

OERMANN, C. M.; SOCKRIDER, M. M.; KONSTAN, M. W. The use of anti-inflammatory medications in cystic fibrosis: trends and physician attitudes. **Chest**, v. 115, n. 4, p. 1053-8, 1999.

OOBOSHI, H.; IBAYASHI, S.; SHICHITA, T.; KUMAI, Y.; TAKADA, J.; AGO, T.; ARAKAWA, S.; SUGIMORI, H.; KAMOUCI, M.; KITAZONO, T.; IIDA, M. Postischemic gene transfer of interleukin-10 protects against both focal and global brain ischemia. **Circulation**, v. 111, n. 7, p. 913-9, 2005.

PALMER, C.; BIK, E. M.; DIGIULIO, D. B.; RELMAN, D. A.; BROWN, P. O. Development of the human infant intestinal microbiota. **PLoS Biol**, v. 5, n. 7, p. e177, 2007.

PANAGOPOULOU, P.; FOTOULAKI, M.; NIKOLAOU, A.; NOUSIA-ARVANITAKIS, S. Prevalence of malnutrition and obesity among cystic fibrosis patients. **Pediatr Int**, v. 56, n. 1, p. 89-94, 2014.

PARK, R. W.; GRAND, R. J. Gastrointestinal manifestations of cystic fibrosis: a review. **Gastroenterology**, v. 81, n. 6, p. 1143-61, 1981.

PARRILLO, J. E.; PARKER, M. M.; NATANSON, C.; SUFFREDINI, A. F.; DANNER, R. L.; CUNNION, R. E.; OGNIBENE, F. P. Septic shock in humans. Advances in the understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction, and therapy. **Ann Intern Med**, v. 113, n. 3, p. 227-42, 1990.

PELLEGRINO, R.; VIEGI, G.; BRUSASCO, V.; CRAPO, R. O.; BURGOS, F.; CASABURI, R.; COATES, A.; VAN DER GRINTEN, C. P.; GUSTAFSSON, P.; HANKINSON, J.; JENSEN, R.; JOHNSON, D. C.; MACINTYRE, N.; MCKAY, R.; MILLER, M. R.; NAVAJAS, D.; PEDERSEN, O. F.; WANGER, J. Interpretative strategies for lung function tests. **Eur Respir J**, v. 26, n. 5, p. 948-68, 2005.

PELUCCHI, C.; CHATENAUD, L.; TURATI, F.; GALEONE, C.; MOJA, L.; BACH, J. F.; LA VECCHIA, C. Probiotics supplementation during pregnancy or infancy for the prevention of atopic dermatitis: a meta-analysis. **Epidemiology**, v. 23, n. 3, p. 402-14, 2012.

PENDERS, J.; THUIS, C.; VINK, C.; STELMA, F. F.; SNIJDERS, B.; KUMMELING, I.; VAN DEN BRANDT, P. A.; STOBBERINGH, E. E. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. **Pediatrics**, v. 118, n. 2, p. 511-21, 2006.

PINTO, D. L. D. **Adaptação e validação de um questionário de frequência alimentar para crianças de 6 a 10 anos**. 2009. 71 (Mestre). Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia: Metabolismo e Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

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

PREIDIS, G. A.; VERSALOVIC, J. Targeting the human microbiome with antibiotics, probiotics, and prebiotics: gastroenterology enters the metagenomics era. **Gastroenterology**, v. 136, n. 6, p. 2015-31, 2009.

PRUITT, J. H.; COPELAND, E. M., 3RD; MOLDAWER, L. L. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism in sepsis, systemic inflammatory response syndrome, and septic shock. **Shock**, v. 3, n. 4, p. 235-51, 1995.

QUINTON, P. M. The neglected ion: HCO₃. **Nat Med**, v. 7, n. 3, p. 292-3, 2001.

_____. Role of epithelial HCO₃⁻ transport in mucin secretion: lessons from cystic fibrosis. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 299, n. 6, p. C1222-33, 2010.

RAFII, F.; SUTHERLAND, J. B.; CERNIGLIA, C. E. Effects of treatment with antimicrobial agents on the human colonic microflora. **Ther Clin Risk Manag**, v. 4, n. 6, p. 1343-58, 2008.

RAIA, V.; MAIURI, L.; DE RITIS, G.; DE VIZIA, B.; VACCA, L.; CONTE, R.; AURICCHIO, S.; LONDEI, M. Evidence of chronic inflammation in morphologically normal small intestine of cystic fibrosis patients. **Pediatr Res**, v. 47, n. 3, p. 344-50, 2000.

RAMSEY, B. W.; DAVIES, J.; MCELVANEY, N. G.; TULLIS, E.; BELL, S. C.; DREVINEK, P.; GRIESE, M.; MCKONE, E. F.; WAINWRIGHT, C. E.; KONSTAN, M. W.; MOSS, R.; RATJEN, F.; SERMET-GAUDELUS, I.; ROWE, S. M.; DONG, Q.; RODRIGUEZ, S.; YEN, K.; ORDONEZ, C.; ELBORN, J. S. A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. **N Engl J Med**, v. 365, n. 18, p. 1663-72, 2011.

RATJEN, F. Changes in strategies for optimal antibacterial therapy in cystic fibrosis. **Int J Antimicrob Agents**, v. 17, n. 2, p. 93-6, 2001.

RATJEN, F.; DÖRING, G. Cystic fibrosis. **The Lancet**, v. 361, n. 9358, p. 681-689, 2003.

RAUTAVA, S.; LUOTO, R.; SALMINEN, S.; ISOLAURI, E. Microbial contact during pregnancy, intestinal colonization and human disease. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, v. 9, n. 10, p. 565-76, 2012.

REIS, F. J.; DAMACENO, N. [Cystic fibrosis]. **J Pediatr (Rio J)**, v. 74 Suppl 1, p. S76-94, 1998.

REUNANEN, J.; VON OSSOWSKI, I.; HENDRICKX, A. P.; PALVA, A.; DE VOS, W. M. Characterization of the SpaCBA pilus fibers in the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG. **Appl Environ Microbiol**, v. 78, n. 7, p. 2337-44, 2012.

RIORDAN, J. R. CFTR function and prospects for therapy. **Annu Rev Biochem**, v. 77, p. 701-26, 2008.

RIORDAN, J. R.; ROMMENS, J. M.; KEREM, B.; ALON, N.; ROZMAHEL, R.; GRZELCZAK, Z.; ZIELENSKI, J.; LOK, S.; PLAVSIC, N.; CHOU, J. L.; ET AL. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. **Science**, v. 245, n. 4922, p. 1066-73, 1989.

ROBERFROID, M.; GIBSON, G. R.; HOYLES, L.; MCCARTNEY, A. L.; RASTALL, R.; ROWLAND, I.; WOLVERS, D.; WATZL, B.; SZAJEWSKA, H.; STAHL, B.; GUARNER, F.; RESPONDEK, F.; WHELAN, K.; COXAM, V.; DAVICCO, M. J.; LEOTOING, L.; WITTRANT, Y.; DELZENNE, N. M.; CANI, P. D.; NEYRINCK, A. M.; MEHEUST, A. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. **Br J Nutr**, v. 104 Suppl 2, p. S1-63, 2010.

ROBINSON, D. S. The Th1 and Th2 concept in atopic allergic disease. **Chem Immunol**, v. 78, p. 50-61, 2000.

ROGERS, G. B.; CARROLL, M. P.; HOFFMAN, L. R.; WALKER, A. W.; FINE, D. A.; BRUCE, K. D. Comparing the microbiota of the cystic fibrosis lung and human gut. **Gut Microbes**, v. 1, n. 2, p. 85-93, 2010.

- ROGERS, G. B.; CARROLL, M. P.; SERISIER, D. J.; HOCKEY, P. M.; JONES, G.; BRUCE, K. D. characterization of bacterial community diversity in cystic fibrosis lung infections by use of 16s ribosomal DNA terminal restriction fragment length polymorphism profiling. **J Clin Microbiol**, v. 42, n. 11, p. 5176-83, 2004.
- ROLIM, A. L.; LINDSEY, S. C.; KUNII, I. S.; FUJIKAWA, A. M.; SOARES, F. A.; CHIAMOLERA, M. I.; MACIEL, R. M.; SILVA, M. R. Ion channelopathies in endocrinology: recent genetic findings and pathophysiological insights. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 54, n. 8, p. 673-81, 2010.
- ROMMENS, J. M.; IANNUZZI, M. C.; KEREM, B.; DRUMM, M. L.; MELMER, G.; DEAN, M.; ROZMAHEL, R.; COLE, J. L.; KENNEDY, D.; HIDAKA, N.; ET AL. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. **Science**, v. 245, n. 4922, p. 1059-65, 1989.
- ROSA, F. R.; DIAS, F. G.; NOBRE, L. N.; MORAIS, H. A. Fibrose cística: uma abordagem clínica e nutricional. **Revista de Nutrição**, v. 21, p. 725-737, 2008.
- ROSENFELD, M.; RAMSEY, B. W.; GIBSON, R. L. Pseudomonas acquisition in young patients with cystic fibrosis: pathophysiology, diagnosis, and management. **Curr Opin Pulm Med**, v. 9, n. 6, p. 492-7, 2003.
- ROSENSTEIN, B. J.; EIGEN, H. Risks of alternate-day prednisone in patients with cystic fibrosis. **Pediatrics**, v. 87, n. 2, p. 245-6, 1991.
- ROSENTHAL, M. Annual assessment spirometry, plethysmography, and gas transfer in cystic fibrosis: do they predict death or transplantation. **Pediatr Pulmonol**, v. 43, n. 10, p. 945-52, 2008.
- ROUND, J. L.; MAZMANIAN, S. K. Inducible Foxp3+ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 107, n. 27, p. 12204-9, 2010.
- ROWE, S. M.; VERKMAN, A. S. Cystic fibrosis transmembrane regulator correctors and potentiators. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 3, n. 7, 2013.
- SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 1-16, 2006.
- SAAVEDRA, J.; TSCHERNIA, A.; MOORE, N.; ABI-HANNA, A.; COLETTA, F.; EMENHISER, C.; YOLKEN, R. Gastro-intestinal function in infants consuming a weaning food supplemented with oligofructose, a prebiotic. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 29, n. 4, p. 513, 1999.
- SABA, S.; SOONG, G.; GREENBERG, S.; PRINCE, A. Bacterial stimulation of epithelial G-CSF and GM-CSF expression promotes PMN survival in CF airways. **Am J Respir Cell Mol Biol**, v. 27, n. 5, p. 561-7, 2002.
- SABATI, A. A.; KEMPAINEN, R. R.; MILLA, C. E.; IRELAND, M.; SCHWARZENBERG, S. J.; DUNITZ, J. M.; KHAN, K. M. Characteristics of gastroesophageal reflux in adults with cystic fibrosis. **J Cyst Fibros**, v. 9, n. 5, p. 365-70, 2010.

SAGEL, S. D.; ACCURSO, F. J. Monitoring inflammation in CF. Cytokines. **Clin Rev Allergy Immunol**, v. 23, n. 1, p. 41-57, 2002.

SAGEL, S. D.; CHMIEL, J. F.; KONSTAN, M. W. Sputum biomarkers of inflammation in cystic fibrosis lung disease. **Proc Am Thorac Soc**, v. 4, n. 4, p. 406-17, 2007.

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

SALVATORE, D.; BUZZETTI, R.; BALDO, E.; FORNERIS, M. P.; LUCIDI, V.; MANUNZA, D.; MARINELLI, I.; MESSORE, B.; NERI, A. S.; RAIA, V.; FURNARI, M. L.; MASTELLA, G. An overview of international literature from cystic fibrosis registries. Part 3. Disease incidence, genotype/phenotype correlation, microbiology, pregnancy, clinical complications, lung transplantation, and miscellanea. **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 10, n. 2, p. 71-85, 2011.

SANDERS, M. E.; LENOIR-WIJNKOOP, I.; SALMINEN, S.; MERENSTEIN, D. J.; GIBSON, G. R.; PETSCHOW, B. W.; NIEUWDORP, M.; TANCREDI, D. J.; CIFELLI, C. J.; JACQUES, P.; POT, B. Probiotics and prebiotics: prospects for public health and nutritional recommendations. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1309, p. 19-29, 2014.

SAWADA, N.; MURATA, M.; KIKUCHI, K.; OSANAI, M.; TOBIOKA, H.; KOJIMA, T.; CHIBA, H. Tight junctions and human diseases. **Med Electron Microsc**, v. 36, n. 3, p. 147-56, 2003.

SCHLEE, M.; HARDER, J.; KOTEN, B.; STANGE, E. F.; WEHKAMP, J.; FELLERMANN, K. Probiotic lactobacilli and VSL#3 induce enterocyte beta-defensin 2. **Clin Exp Immunol**, v. 151, n. 3, p. 528-35, 2008.

SCHLÜSSEL, M. M.; ANJOS, L. A. D.; KAC, G. A dinamometria manual e seu uso na avaliação nutricional. **Revista de Nutrição**, v. 21, p. 233-235, 2008.

SCHMITT-GROHE, S.; WIGGERT, E.; STEFFAN, J.; HANDKE, R.; ZIELEN, S. Severe antibiotic-associated colitis in a patient with cystic fibrosis and colonic wall thickening. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 34, n. 2, p. 224-6, 2002.

SCHOLZ-AHRENS, K. E.; ADE, P.; MARTEN, B.; WEBER, P.; TIMM, W.; ACIL, Y.; GLUER, C. C.; SCHREZENMEIR, J. Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. **J Nutr**, v. 137, n. 3 Suppl 2, p. 838s-46s, 2007.

SCHUNTER, M.; CHU, H.; HAYES, T. L.; MCCONNELL, D.; CRAWFORD, S. S.; LUCIW, P. A.; BENGMARK, S.; ASMUTH, D. M.; BROWN, J.; BEVINS, C. L.; SHACKLETT, B. L.; CRITCHFIELD, J. W. Randomized pilot trial of a synbiotic dietary supplement in chronic HIV-1 infection. **BMC Complement Altern Med**, v. 12, p. 84, 2012.

SEKIROV, I.; RUSSELL, S. L.; ANTUNES, L. C.; FINLAY, B. B. Gut microbiota in health and disease. **Physiol Rev**, v. 90, n. 3, p. 859-904, 2010.

SETH, A.; YAN, F.; POLK, D. B.; RAO, R. K. Probiotics ameliorate the hydrogen peroxide-induced epithelial barrier disruption by a PKC- and MAP kinase-dependent mechanism. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 294, n. 4, p. G1060-9, 2008.

SHABGAH, A. G.; FATTAHI, E.; SHAHNEH, F. Z. Interleukin-17 in human inflammatory diseases. **Postepy Dermatol Alergol**, v. 31, n. 4, p. 256-61, 2014.

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

SHUKLA, S.; SHUKLA, A.; MEHBOOB, S.; GUHA, S. Meta-analysis: the effects of gut flora modulation using prebiotics, probiotics and synbiotics on minimal hepatic encephalopathy. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 33, n. 6, p. 662-71, 2011.

SHWACHMAN, H.; KULCZYCKI, L. L. Long-term study of one hundred five patients with cystic fibrosis; studies made over a five- to fourteen-year period. **AMA J Dis Child**, v. 96, n. 1, p. 6-15, 1958.

SILK, D. B.; DAVIS, A.; VULEVIC, J.; TZORTZIS, G.; GIBSON, G. R. Clinical trial: the effects of a trans-galactooligosaccharide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel syndrome. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 29, n. 5, p. 508-18, 2009.

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

SLAVIN, J. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. **Nutrients**, v. 5, n. 4, p. 1417-35, 2013.

SMYTH, R. L.; CROFT, N. M.; O'HEA, U.; MARSHALL, T. G.; FERGUSON, A. Intestinal inflammation in cystic fibrosis. **Arch Dis Child**, v. 82, n. 5, p. 394-9, 2000.

SONG, C. H.; LIU, Z. Q.; HUANG, S.; ZHENG, P. Y.; YANG, P. C. Probiotics promote endocytic allergen degradation in gut epithelial cells. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 426, n. 1, p. 135-40, 2012.

SRINIVASJOIS, R.; RAO, S.; PATOLE, S. Prebiotic supplementation in preterm neonates: updated systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **Clin Nutr**, v. 32, n. 6, p. 958-65, 2013.

STAPPENBECK, T. S.; HOOPER, L. V.; GORDON, J. I. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 99, n. 24, p. 15451-5, 2002.

STAROSTA, V.; RATJEN, F.; RIETSCHEL, E.; PAUL, K.; GRIESE, M. Anti-inflammatory cytokines in cystic fibrosis lung disease. **Eur Respir J**, v. 28, n. 3, p. 581-7, 2006.

STEAGALL, W. K.; ELMER, H. L.; BRADY, K. G.; KELLEY, T. J. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-dependent regulation of epithelial inducible nitric oxide synthase expression. **Am J Respir Cell Mol Biol**, v. 22, n. 1, p. 45-50, 2000.

STURGESS, J.; IMRIE, J. Quantitative evaluation of the development of tracheal submucosal glands in infants with cystic fibrosis and control infants. **Am J Pathol**, v. 106, n. 3, p. 303-11, 1982.

TANNER, J. M. Growth and endocrinology of the adolescent. In: SAUNDERS (Ed.). **Endocrine and Diseases of Childhood**. Philadelphia, 1975. p.4-64.

TARRAN, R.; GRUBB, B. R.; PARSONS, D.; PICHER, M.; HIRSH, A. J.; DAVIS, C. W.; BOUCHER, R. C. The CF salt controversy: in vivo observations and therapeutic approaches. **Mol Cell**, v. 8, n. 1, p. 149-58, 2001.

THOMAS, D. J.; HUSMANN, R. J.; VILLAMAR, M.; WINSHIP, T. R.; BUCK, R. H.; ZUCKERMANN, F. A. Lactobacillus rhamnosus HN001 attenuates allergy development in a pig model. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2, p. e16577, 2011.

THOMAS, D. W.; GREER, F. R. Probiotics and prebiotics in pediatrics. **Pediatrics**, v. 126, n. 6, p. 1217-31, 2010.

THURSFIELD, R. M.; DAVIES, J. C. Cystic Fibrosis: therapies targeting specific gene defects. **Paediatric Respiratory Reviews**, v. 13, n. 4, p. 215-219, 2012.

TSCHERNIA, A.; MOORE, N.; ABI-HANNA, A.; YOLKEN, R.; COLETTA, F.; EMENHISER, C.; SAAVEDRA, J. Effects of long-term consumption of a weaning food supplemented with oligofructose, a prebiotic, on general infant health status. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 29, n. 4, p. 503, 1999.

URBANIAK., G. C.; PLOUS, S. **Research Randomizer (Version 4.0)** 2013.

VAN ELBURG, R. M.; UIL, J. J.; VAN AALDEREN, W. M.; MULDER, C. J.; HEYMANS, H. S. Intestinal permeability in exocrine pancreatic insufficiency due to cystic fibrosis or chronic pancreatitis. **Pediatr Res**, v. 39, n. 6, p. 985-91, 1996.

VANSCOY, L. L.; BLACKMAN, S. M.; COLLACO, J. M.; BOWERS, A.; LAI, T.; NAUGHTON, K.; ALGIRE, M.; MCWILLIAMS, R.; BECK, S.; HOOVER-FONG, J.; HAMOSH, A.; CUTLER, D.; CUTTING, G. R. Heritability of lung disease severity in cystic fibrosis. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 175, n. 10, p. 1036-43, 2007.

VARMA, T. K.; LIN, C. Y.; TOLIVER-KINSKY, T. E.; SHERWOOD, E. R. Endotoxin-induced gamma interferon production: contributing cell types and key regulatory factors. **Clin Diagn Lab Immunol**, v. 9, n. 3, p. 530-43, 2002.

VENKATAKRISHNAN, A.; STECENKO, A. A.; KING, G.; BLACKWELL, T. R.; BRIGHAM, K. L.; CHRISTMAN, J. W.; BLACKWELL, T. S. Exaggerated activation of nuclear factor-kappaB and altered IkappaB-beta processing in cystic fibrosis bronchial epithelial cells. **Am J Respir Cell Mol Biol**, v. 23, n. 3, p. 396-403, 2000.

VITETTA, L.; BRISKEY, D.; HAYES, E.; SHING, C.; PEAKE, J. A review of the pharmacobiotic regulation of gastrointestinal inflammation by probiotics, commensal bacteria and prebiotics. **Inflammopharmacology**, v. 20, n. 5, p. 251-66, 2012.

VOCI, S. M. **Estudo de calibração do questionário de frequência alimentar para adolescentes - QFAA a ser utilizado em um estudo de coorte de escolares de Piracicaba,**

SP. 2006. 147 (Mestre). Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo

WAGENMAKERS, A. J. Muscle function in critically ill patients. **Clin Nutr**, v. 20, n. 5, p. 451-4, 2001.

WALKOWIAK, J.; SANDS, D.; NOWAKOWSKA, A.; PIOTROWSKI, R.; ZYBERT, K.; HERZIG, K. H.; MILANOWSKI, A. Early decline of pancreatic function in cystic fibrosis patients with class 1 or 2 CFTR mutations. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 40, n. 2, p. 199-201, 2005.

WALLACH, J.; WILLIAMSON, M. A.; SNYDER, L. M. **Interpretação de Exames Laboratoriais - Wallach** 9 ed. 2013. 1004 ISBN 9788527722308.

WARD, P. A.; LENTSCH, A. B. Endogenous regulation of the acute inflammatory response. **Mol Cell Biochem**, v. 234-235, n. 1-2, p. 225-8, 2002.

WEINER, H. L. Oral tolerance: immune mechanisms and the generation of Th3-type TGF-beta-secreting regulatory cells. **Microbes Infect**, v. 3, n. 11, p. 947-54, 2001.

WEISS, B.; BUJANOVER, Y.; YAHAV, Y.; VILOZNI, D.; FIREMAN, E.; EFRATI, O. Probiotic supplementation affects pulmonary exacerbations in patients with cystic fibrosis: a pilot study. **Pediatr Pulmonol**, v. 45, n. 6, p. 536-40, 2010.

WERLIN, S. L.; BENURI-SILBIGER, I.; KEREM, E.; ADLER, S. N.; GOLDIN, E.; ZIMMERMAN, J.; MALKA, N.; COHEN, L.; ARMONI, S.; YATZKAN-ISRAELIT, Y.; BERGWERK, A.; AVIRAM, M.; BENTUR, L.; MUSSAFFI, H.; BJARNASSON, I.; WILSCHANSKI, M. Evidence of intestinal inflammation in patients with cystic fibrosis. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 51, n. 3, p. 304-8, 2010.

WESTSTRATE, J. A.; DEURENBERG, P. Body composition in children: proposal for a method for calculating body fat percentage from total body density or skinfold-thickness measurements. **Am J Clin Nutr**, v. 50, n. 5, p. 1104-15, 1989.

WHELAN, K. Mechanisms and effectiveness of prebiotics in modifying the gastrointestinal microbiota for the management of digestive disorders. **Proc Nutr Soc**, v. 72, n. 3, p. 288-98, 2013.

WHISNER, C. M.; MARTIN, B. R.; SCHOTERMAN, M. H.; NAKATSU, C. H.; MCCABE, L. D.; MCCABE, G. P.; WASTNEY, M. E.; VAN DEN HEUVEL, E. G.; WEAVER, C. M. Galacto-oligosaccharides increase calcium absorption and gut bifidobacteria in young girls: a double-blind cross-over trial. **Br J Nutr**, v. 110, n. 7, p. 1292-303, 2013.

WHITE, H.; WOLFE, S. P.; FOY, J.; MORTON, A.; CONWAY, S. P.; BROWNLEE, K. B. Nutritional intake and status in children with cystic fibrosis: does age matter? **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 44, n. 1, p. 116-23, 2007.

WHO. **The molecular genetic epidemiology of cystic fibrosis**. ORGANIZATION, W. H.: WORLD HEALTH ORGANIZATION 2004.

WHO, M. G. R. S. G.-. **WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: Methods and development**. ORGANIZATION, W. H. Geneva: 312 p. 2006.

WHO, W. G. O.-. **Probiotics and prebiotics** World Gastroenterology Organisation. Global Guidelines 2011

WHO, W. H. O.-. **Physical Status: The use and interpretation of anthropometry.** ORGANIZATION, W. H. Geneva: 460 p. 1995.

_____. **Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents.** WHO, W. H. O. 85: 660-667 p. 2007.

WICKENS, K.; BLACK, P.; STANLEY, T. V.; MITCHELL, E.; BARTHOW, C.; FITZHARRIS, P.; PURDIE, G.; CRANE, J. A protective effect of *Lactobacillus rhamnosus* HN001 against eczema in the first 2 years of life persists to age 4 years. **Clin Exp Allergy**, v. 42, n. 7, p. 1071-9, 2012.

WOLK, K.; DOCKE, W. D.; VON BAEHR, V.; VOLK, H. D.; SABAT, R. Impaired antigen presentation by human monocytes during endotoxin tolerance. **Blood**, v. 96, n. 1, p. 218-23, 2000.

YAMADA, H. Current perspectives on the role of IL-17 in autoimmune disease. **J Inflamm Res**, v. 3, p. 33-44, 2010.

YAN, F.; CAO, H.; COVER, T. L.; WHITEHEAD, R.; WASHINGTON, M. K.; POLK, D. B. Soluble proteins produced by probiotic bacteria regulate intestinal epithelial cell survival and growth. **Gastroenterology**, v. 132, n. 2, p. 562-75, 2007.

YAN, F.; POLK, D. B. Probiotic bacterium prevents cytokine-induced apoptosis in intestinal epithelial cells. **J Biol Chem**, v. 277, n. 52, p. 50959-65, 2002.

YATSUNENKO, T.; REY, F. E.; MANARY, M. J.; TREHAN, I.; DOMINGUEZ-BELLO, M. G.; CONTRERAS, M.; MAGRIS, M.; HIDALGO, G.; BALDASSANO, R. N.; ANOKHIN, A. P.; HEATH, A. C.; WARNER, B.; REEDER, J.; KUCZYNSKI, J.; CAPORASO, J. G.; LOZUPONE, C. A.; LAUBER, C.; CLEMENTE, J. C.; KNIGHTS, D.; KNIGHT, R.; GORDON, J. I. Human gut microbiome viewed across age and geography. **Nature**, v. 486, n. 7402, p. 222-7, 2012.

YOUN, H. N.; LEE, D. H.; LEE, Y. N.; PARK, J. K.; YUK, S. S.; YANG, S. Y.; LEE, H. J.; WOO, S. H.; KIM, H. M.; LEE, J. B.; PARK, S. Y.; CHOI, I. S.; SONG, C. S. Intranasal administration of live *Lactobacillus* species facilitates protection against influenza virus infection in mice. **Antiviral Res**, v. 93, n. 1, p. 138-43, 2012.

ZHAO, J.; SCHLOSS, P. D.; KALIKIN, L. M.; CARMODY, L. A.; FOSTER, B. K.; PETROSINO, J. F.; CAVALCOLI, J. D.; VANDEVANTER, D. R.; MURRAY, S.; LI, J. Z.; YOUNG, V. B.; LIPUMA, J. J. Decade-long bacterial community dynamics in cystic fibrosis airways. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 15, p. 5809-5814, 2012.

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

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Titulo do estudo: Efeito da suplementação com um simbiótico sobre os marcadores da resposta inflamatória de crianças e adolescentes com fibrose cística.

Senhores Pais:

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

Eu, _____ confirmo que Emília Addison Machado Moreira ou Yara Franco Moreno discutiram comigo este estudo.

1. Avaliar o efeito da suplementação com simbiótico durante 90 dias sobre os marcadores da resposta inflamatória (IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-17A, TGF- β , TNF- α e INF- γ) de indivíduos com fibrose cística.
2. Minha participação e do meu filho colaborando neste trabalho é muito importante porque permitirá avaliar se existe ou não alterações no estado nutricional e na resposta inflamatória com a suplementação de simbióticos durante 90 dias. A participação do meu filho na pesquisa implica em eu responder a algumas perguntas sobre a fibrose cística e o pesquisador irá examinar dados do prontuário, avaliar o estado nutricional, analisar exames de sangue e de função pulmonar. Fui esclarecido de que os riscos e desconfortos relacionados à pesquisa são os seguintes:
 - a) será realizada coleta de sangue
 - b) alguns indivíduos irão consumir simbióticos durante 90 dias, podendo gerar algum desconforto extra relacionado à digestão do alimento.
 - c) durante as avaliações o (a) seu (sua) filho (a) poderá sentir-se cansado ou chateado com as perguntas e avaliações, porém se necessitar de uma pausa ou interrupção o (a) seu (sua) filho (a) tem toda a liberdade para fazê-la.
3. O Hospital Infantil Joana de Gusmão também está interessado no presente estudo e já deu a permissão por escrito para que esta pesquisa seja realizada. Porém minha participação e de meu filho (a), ou não, no estudo não implicará em nenhum benefício ou restrição de qualquer ordem para meu (sua) filho (a) ou para mim.
4. Eu também sou livre para não participar desta pesquisa se não quiser. Isto não implicará em quaisquer prejuízos pessoais ou no atendimento de meu filho (a). Além disto, estou ciente de que em qualquer momento, ou por qualquer motivo, eu ou minha família podemos desistir de participar da pesquisa.
5. Estou ciente de que o meu nome e o do meu filho não serão divulgados e que somente as pessoas diretamente relacionadas à pesquisa terão acesso aos dados e que todas as informações serão mantidas em segredo e somente serão utilizados para este estudo.
6. Se eu tiver alguma dúvida a respeito da pesquisa, eu posso entrar em contato com Emília Addison Machado Moreira pelo telefone: (48) 99279990 ou e-mail: emilia.moreira@ufsc.br

Eu concordo em participar deste estudo.

Nome e assinatura de participante maior de 14 anos: _____

Nome e assinatura do responsável legal pela criança: _____

Entrevistador: _____

Data: _____

APÊNDICE B



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

O conteúdo de cada sachê deverá ser diluído em um copo de água em temperatura ambiente ou fria, uma vez ao dia no período da manhã, de preferência em jejum ou duas horas depois de ter comido.

Alimentos que devem ser EVITADOS ou consumidos com MODERAÇÃO durante a pesquisa

Alimentos que devem ser EVITADOS	Alimentos que devem ser consumidos com MODERAÇÃO*
logurte Activia da Danone	Cebola
logurte Activia Grego da Danone	Alho
logurte Bio fibras da Batavo	Produtos integrais como a cevada, aveia e trigo
Leite fermentado Yakult da Batavo	Sementes oleaginosas (linhaça, gergelim, amêndoas)
Leite fermentado Vigor Club da Vigor	Aspargos
Leite fermentado Paulista	Alcachofra
Leite fermentado Danito da Danone	Maça
Leite fermentado Danoninho da Danone	Banana
Leite fermentado Ninho Soleil da Nestle	Tomate
Leite fermentado Activia da Danone	Mel
Leite fermentado Chamyto da Nestle	
Leite fermentado Batavito da Batavo	
Yakult sofyl da Batavo	
Actimel da Danone	
Bebida Mucilon Nutri Protect	
Kefir	

*Consumir uma unidade por vez e não todos os dias.

Qualquer dúvida pode entrar em contato com Maiara Brusco de Freitas pelo telefone 048 9640-7160 (TIM) ou pelo email maiarabusco@gmail.com.

APÊNDICE F

Data de entrevista: ___/___/___

Código Pesquisa: _____ Coleta: () 1 () 2 Suplemento (cor): _____.

IDENTIFICAÇÃO

Nome da criança: _____ Nº de prontuário: _____

Nome do responsável: _____ ..

Data de nascimento: ___/___/___ Sexo: () feminino () masculino

Cor de pele: () branco () pardo () negro () amarelo

Alteração genética: _____.

ESTADO CLÍNICO

Resultado do teste do suor: _____ mmol/L de cloreto Data: ___/___/___

Escore de Schwachman-Kulczycki: _____ pontos Data: ___/___/___

Espirometria: _____ % VEF1 _____ CVF Data: ___/___/___

Uso de enzimas pancreáticas: () Sim () Não Quais e quantidade: _____

Uso de suplementos alimentares: () Sim () Não Quais e quantidade: _____

Número de internações nos últimos 5 anos: _____

Uso de medicamentos () sim () não Quais: _____

Número e duração (em dias) de episódios de exacerbação pulmonar: _____

Número e duração (em dias) de admissão hospitalar devido exacerbação pulmonar: _____

Antibiótico utilizado, via de administração (oral, intravenosa) e duração: _____

TRIAGEM NUTRICIONAL

Velocidade de ganho de peso (mínimo 3 meses) Velocidade de ganho de altura (em um ano)

Peso prévio: _____ kg Data: ___/___/___ Altura prévia: _____ cm Data: ___/___/___

ANTROPOMETRIA, COMPOSIÇÃO CORPORAL, LABORATORIAL

Data: ___/___/___			Data: ___/___/___		
Peso atual		kg	Hemácias		mL/mm ³
Altura atual		Cm	Hemoglobina		g/dL
CB		Cm	Hematócrito		%
PCT		Mm	Leucócitos		p/mm ³
PCB		Mm	Neutrófilos		p/mm ³
PSE		Mm	Linfócitos		p/mm ³
PSI		Mm	Monocitos		p/mm ³
FAM		kg	Elastase fecal		
			Proteínas totais		g/dL
			Albumina		g/dL
			PCR		mg/dL

Cultura: () secreção orofaríngea () escarro

Haemophilus influenza () positivo () negativo*Staphylococcus aureus* () positivo () negativo

ANEXO A

Tipo 01		Pedaços separados, duros como amendoim
Tipo 02		Forma de salsicha, mas segmentada
Tipo 03		Forma de salsicha, mas com fendas na superfície
Tipo 04		Forma de salsicha ou cobra, lisa e mole
Tipo 05		Pedaços moles, mas contornos nítidos
Tipo 06		Pedaços aerados, contornos esgarçados
Tipo 07		Aquosa, sem peças sólidos

Fonte: Lane *et al.* (2011)

ANEXO B**TRIAGEM NUTRICIONAL**Velocidade de ganho de peso

Peso atual: _____ kg Peso prévio: _____ kg Data: ____/____/____

Ganho de peso: _____ g Intervalo de tempo: _____ dias (maior que 3 meses)

Ganho diário de peso _____ g/dia

Ganho de peso mínimo aceitável _____ g/dia (tabela abaixo)

Pontuação: _____ pontos

Velocidade de ganho de altura

Idade acima de 10 anos () sim () não Escala de Tanner () I () II () III () IV () V

Altura atual: _____ cm Altura prévia: _____ cm Data: ____/____/____

Ganho de altura: _____ cm Intervalo de tempo: _____ anos (entre 1 e 2 anos)

Ganho anual de altura _____ cm/ano

Ganho de altura mínimo aceitável _____ cm/anos (olhar tabela abaixo)

Pontuação: _____ pontos

Percentil de IMC

Percentil de IMC (CDC 2000): _____ Pontuação: _____ pontos

Escore da Triagem Nutricional			
	0 pontos	1 ponto	2 pontos
Percentil de IMC	≥ P50	< P50 e ≥ P10	< P10
Ganho de peso diário	≥ mínimo	> 0 e < mínimo	Perda de peso ou não ganho
Ganho anual de altura	≥ mínimo	> 0 e < mínimo	não ganho
Categorias da Triagem Nutricional			
Pontos da Triagem Nutricional	0 - 1	2 - 3	≥ 4
Categorias	Baixo risco	Moderado Risco	Alto risco

Fonte: Adaptado de McDonald (2007)

Tabela 4 – Taxa minimamente aceitável de ganho de peso diário (g/dia) e altura anual (cm/ano), de acordo com sexo e idade

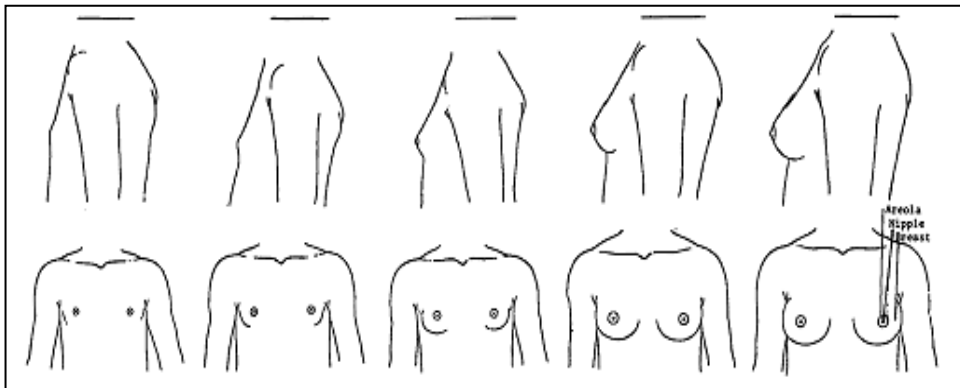
Idade (anos)	IMC > P50				IMC < P50			
	Ganho diário de peso (g/dia)		Ganho anual de altura (cm/ano)		Ganho diário de peso (g/dia)		Ganho anual de altura (cm/ano)	
	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino
5 - 5,99	3	2	5	5	7	6	7	7
6 - 6,99	3	2	5	5	7	7	6	6
7 - 7,99	3	3	4	4	8	7	6	6
8 - 8,99	3	3	4	4	8	8	6	6
9 - 9,99	2	3	4	4	9	8	5	6
10 - 10,99	3	3	4	4	9	11	5	6
11 - 11,99	3	4	4	4	11	14	5	7
12 - 12,99	4	1	4	3	15	14	6	6
13 - 13,99	4	< 1	4	1	18	11	8	3
14 - 14,99	4	< 1	3	<1	19	7	7	2

Fonte: Adaptado de McDonald (2008)

(Continua)

MATURAÇÃO SEXUAL

1. Desenho 2. Desenho 3. Desenho 4. Desenho 5. Desenho



O mamilo está um pouco levantado. O resto do seio continua

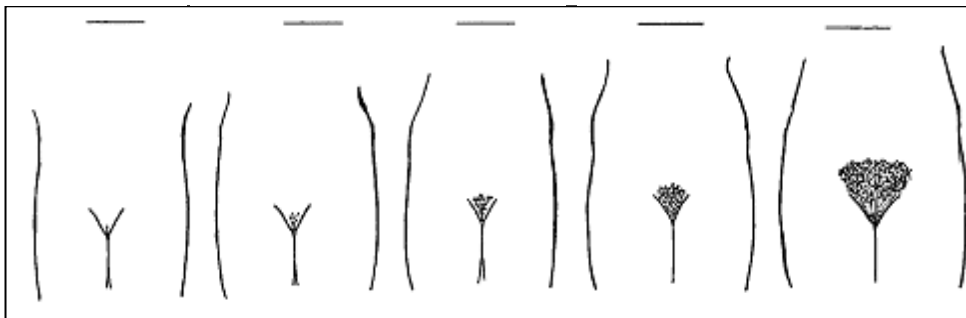
Fase de botão. O mamilo está mais levantado que no estágio anterior. O seio é um pequeno monte e a aréola está mais larga

As aréolas e os seios estão mais largos que a fase 2. A aréola não sai fora do seio.

As aréolas e os mamilos foram um monte que se sobressai por cima do corpo na forma de mama (PS. Algumas meninas não passam pela fase 4, passam direto da fase 3 para 5)

Fase adulta madura. Os seios estão completamente desenvolvidos. Apenas o mamilo se sobressai nesta fase, e a aréola muda para a forma geral da mama.

1. Desenho 2. Desenho 3. Desenho 4. Desenho 5. Desenho



Não há a presença de pelos pubianos.

Há um pouco de longos pelos, levemente coloridos. Podem ser lisos ou um pouco enrolados.

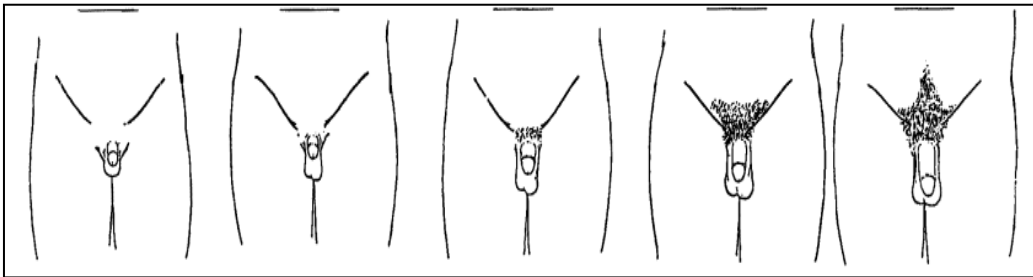
Os pelos são mais escuros nesta fase. São mais grossos e enrolados, espalhados e não cobre uma grande área

Os pelos estão escuros, enrolados como na fase adulta. Entretanto, não se espalham por uma grande área, e não atingiram as coxas.

Os pelos estão como na fase adulta. Cobrem uma grande área e geralmente formam um triângulo, e se espalham por entre as coxas.

(Continua)

1. Desenho 2. Desenho 3. Desenho 4. Desenho 5. Desenho E



Não há a presença de pelos pubianos.

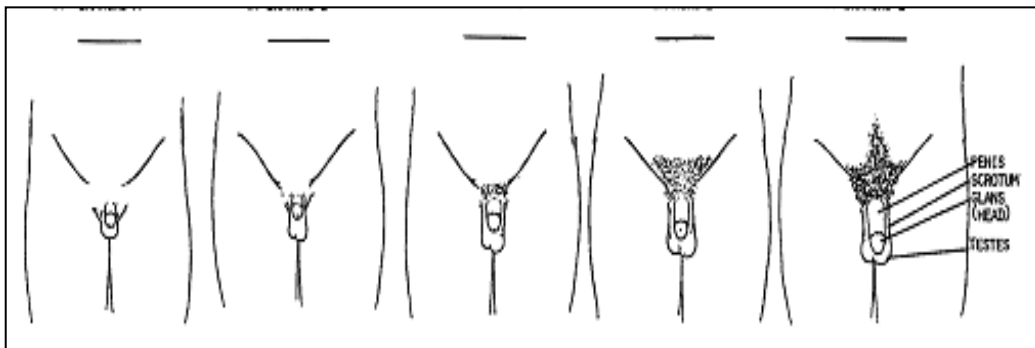
Há um pouco de longos pelos, levemente coloridos. Podem ser lisos ou um pouco enrolados.

Os pelos são mais escuros nesta fase. São mais grossos e enrolados, espalhados e não cobre uma grande área.

Os pelos estão escuros, enrolados como na fase adulta. Entretanto, não se espalharam por uma grande área, e não atingiram as coxas.

Os pelos estão como na fase adulta. Cobrem uma grande área e se espalham por entre as coxas.

1. Desenho 2. Desenho 3. Desenho 4. Desenho 5. Desenho E



Os testículos, saco escrotal e o pênis são do mesmo tamanho e forma que eram quando criança.

Os testículos e o saco escrotal aumentaram um pouco de tamanho, a pele do saco escrotal modificou. O saco segura os testículos e baixou um pouco. O pênis ficou apenas um pouco maior.

O pênis cresceu em comprimento. Os testículos e a bolsa escrotal cresceram e baixou mais que o estágio 2.

O pênis cresceu mais, está maior. A glândula (cabeça do pênis) está maior. O saco escrotal está mais escuro que antes e está maior pois os testículos aumentaram de tamanho.

O pênis, bolsa escrotal e testículos são de tamanho e forma de um adulto.

Table 1 Tabulated body fat % centile values by exact age

Years	Centile								
	2	9	25	50	75	85	91	95	98
<i>Boys</i>									
5.0	12.2	13.1	14.2	15.6	17.4	18.6	19.8	21.4	23.6
6.0	12.4	13.3	14.5	16.0	18.0	19.5	20.9	22.7	25.3
7.0	12.6	13.6	14.9	16.5	18.8	20.4	22.0	24.1	27.2
8.0	12.7	13.8	15.2	17.0	19.5	21.3	23.1	25.5	29.1
9.0	12.8	14.0	15.5	17.5	21.2	22.2	24.2	26.8	31.0
10.0	12.8	14.1	15.7	17.8	20.7	22.8	25.0	27.9	32.4
11.0	12.6	13.9	15.4	17.7	20.8	23.0	25.3	28.3	32.9
12.0	12.1	13.4	15.1	17.4	20.4	22.7	25.0	27.9	32.2
13.0	11.5	12.8	14.5	16.8	19.8	22.0	24.2	27.0	31.0
14.0	10.9	12.3	14.0	16.2	19.2	21.3	23.3	25.9	29.5
15.0	10.4	11.8	13.6	15.8	18.7	20.7	22.6	25.0	28.2
16.0	10.1	11.5	13.3	15.5	18.4	20.3	22.1	24.3	27.2
17.0	9.8	11.3	13.1	15.4	18.3	20.1	21.8	23.9	26.5
18.0	9.6	11.2	13.1	15.4	18.3	20.1	21.7	23.6	25.9
<i>Girls</i>									
5.0	13.8	15.0	16.4	18.0	20.1	21.5	22.8	24.3	26.3
6.0	14.4	15.7	17.2	19.1	21.5	23.0	24.5	26.2	28.4
7.0	14.9	16.3	18.1	20.2	22.8	24.5	26.1	28.0	30.5
8.0	15.3	16.9	18.9	21.2	24.1	26.0	27.7	29.7	32.4
9.0	15.7	17.5	19.6	22.1	25.2	27.2	29.0	31.2	33.9
10.0	16.0	17.9	20.1	22.8	26.0	28.2	30.1	32.2	35.0
11.0	16.1	18.1	20.4	23.3	26.6	28.8	30.7	32.8	35.6
12.0	16.1	18.2	20.7	23.5	27.0	29.1	31.0	33.1	35.8
13.0	16.1	18.3	20.8	23.8	27.2	29.4	31.2	33.3	35.9
14.0	16.0	18.3	20.9	24.0	27.5	29.6	31.5	33.6	36.1
15.0	15.7	18.2	21.0	24.1	27.7	29.9	31.7	33.8	36.3
16.0	15.5	18.1	21.0	24.3	27.9	30.1	32.0	34.1	36.5
17.0	15.1	17.9	21.0	24.4	28.2	30.4	32.3	34.4	36.8
18.0	14.7	17.7	21.0	24.6	28.5	30.8	32.7	34.8	37.2

The 2nd, 85th and 95th centiles define the cutoffs for underfat, overfat and obese.

(Conclusão)

ANEXO C

Quadro 3. Representação do escore de Shwachman-Kulczycki para a classificação de gravidade das manifestações clínicas da fibrose cística.

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

Fonte: Shwachman e Kulczycki (1958).

