

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO  
ADOLESCENTE

**AVALIAÇÃO DA INSUFICIÊNCIA PANCREÁTICA  
PELO TESTE ELASTASE-1 FECAL EM PACIENTES  
PEDIÁTRICOS COM FIBROSE CÍSTICA  
PORTADORES DA MUTAÇÃO  $\Delta F508$**

ANDRÉA CRISTINA SILVA GONZALES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre, Brasil

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO  
ADOLESCENTE

**AVALIAÇÃO DA INSUFICIÊNCIA PANCREÁTICA  
PELO TESTE ELASTASE-1 FECAL EM PACIENTES  
PEDIÁTRICOS COM FIBROSE CÍSTICA  
PORTADORES DA MUTAÇÃO  $\Delta F508$**

ANDRÉA CRISTINA SILVA GONZALES

**Orientador: Prof. Dra. Themis Reverbel da Silveira**

**Coorientador: Prof. Dr. Fernando Antônio de Abreu e Silva**

A apresentação da dissertação é exigência do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, Brasil

2010

**G643a** Gonzales, Andréa Cristina Silva

Avaliação da insuficiência pancreática pelo teste elastase-1 fecal em pacientes pediátricos com fibrose cística portadores da mutação DF508 / Andréa Cristina Silva Gonzales ; orient. Themis Reverbel da Silveira ; co-orient. Fernando Antônio de Abreu e Silva. – 2010.  
100 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente. Porto Alegre, BR-RS, 2010.

1. Fibrose cística 2. Criança 3. Insuficiência pancreática exócrina 4. Elastase pancreática 5. Fezes I. Silveira, Themis Reverbel da II. Silva, Fernando Antônio de Abreu e III. Título

NLM: WS 320

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO  
ADOLESCENTE

**ESSA DISSERTAÇÃO FOI DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM:**

**09/12/2010**

**E, FOI AVALIADA PELA BANCA EXAMINADORA COMPOSTA POR:**

**Prof. Dr. Paulo de Tarso Roth Dalcin**

**PUCRS (Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul)**

**Prof. Dr. Jorge Luiz Santos**

**HCPA ( Hospital de Clínicas de Porto Alegre )**

**Prof. Dr. Paulo Roberto Antoniacci Carvalho**

**UFRGS ( Universidade Federal do Rio grande do Sul)**

*Essa dissertação é dedicada às  
crianças com Fibrose Cística e  
seus pais, pela luta e coragem que  
enfrentam o seu dia-a-dia.*

## **AGRADECIMENTOS**

A minha orientadora, Dra. Themis Reverbel da Silveira, pelo empenho na realização desta grande conquista.

Ao meu coorientador, Dr. Fernando Abreu e Silva, e sua equipe, em especial à Dra. Elenara Procianoy, à Enfermeira Maria do Carmo e à Nutricionista Miriam Simon pela disponibilidade e apoio.

À Dra. Sandra Maria Gonçalves Vieira pelo apoio, incentivo e grande contribuição.

À Letícia Rocha, quem iniciou este projeto.

Aos colaboradores, Rafael Lucyk Maurer, Lovaine Rodrigues, Álvaro Laureano, Dra. Maria Luiza Saraiva Pereira e Dra. Joíza Lins Camargo, por dividirem comigo este sonho.

As minhas colegas nutricionistas, Cristina T. Leal Dornelles e Inês Wilasco, pela amizade e apoio.

Ao FIPE pelo apoio financeiro na realização deste projeto.

A todos aqueles que contribuíram de uma forma ou outra para que este trabalho fosse realizado.

E sou eternamente grata a minha família (meus pais, meu marido e meu filho) por me apoiarem e não me deixarem desistir nos momentos mais difíceis desta jornada.

## RESUMO

**Introdução e objetivo:** Elastase-1 fecal (EL-1) é um teste não invasivo que serve para avaliar a função pancreática exócrina. Neste estudo, buscou-se avaliar e quantificar a concentração da EL-1 fecal em pacientes com Fibrose Cística (FC), portadores da mutação  $\Delta F508$ , e padronizar o teste Elastase monoclonal para a população estudada.

**Métodos:** Estudo transversal prospectivo, com pacientes portadores de FC. Foram coletadas amostras de fezes para a quantificação da concentração da EL-1 fecal pelo teste ELISA. A avaliação antropométrica baseou-se no percentil de IMC para crianças de 2 a 18 anos e percentil de P/E para crianças menores de 2 anos. Foi feita uma revisão nos prontuários dos pacientes para identificar a mutação da FC e coletar informações a respeito da dose da enzima administrada. Os desfechos analisados foram a insuficiência pancreática exócrina (IP) e sua intensidade, definida pela atividade da EL-1 fecal  $< 200\mu\text{g/g}$ .

**Resultados:** Cinquenta e um pacientes com idade entre 4 meses e 17 anos participaram do estudo, divididos em 3 grupos: 17 homozigotos, 17 heterozigotos e 17 não  $\Delta F508$ . A média de idade foi de 9,11 anos ( $\pm 4,74$ ) e 62,8% eram do sexo masculino. As enzimas pancreáticas foram utilizadas em 46 pacientes (90,2%). Pacientes com o teste da EL-1 fecal com valores abaixo de  $100\mu\text{g/g}$  representaram um total de 80,4% ( $n=41$ ), sendo 17 homozigotos (41,5%), 14 heterozigotos (34,1%) e 10 com ausência de  $\Delta F508$  (24,4%). Houve associação estatisticamente significativa entre os homozigotos e a concentração da EL-1 fecal  $< 100\mu\text{g/g}$ . Todos os pacientes considerados IP pelo teste da EL-1 fecal faziam terapia de reposição enzimática (41 - 100%). Dez pacientes (19,6%) estavam com concentração da EL-1 fecal  $>200\mu\text{g/g}$  e, desses, 5 utilizavam enzimas pancreáticas. Onze pacientes (21,6%) apresentaram-se desnutridos, 10 (19,6%) em risco nutricional e 30 (58,8%) eutróficos. Não houve relação estatisticamente significativa entre estado nutricional, mutações e IP.

**Conclusões:** A atividade de EL-1 fecal  $< 100\mu\text{g/g}$ , indicativa de IP grave pelo teste, foi observada em 17/17 (100%) pacientes homozigotos para a mutação  $\Delta F508$  e em 14/17 (82,3%) heterozigotos para a mesma mutação. Não houve relação entre os valores de EL-1 fecal e o estado nutricional, avaliados pelo percentil do P/E para  $< 2$  anos e percentil do IMC para  $> 2$  anos. O teste EL-1 fecal é de fácil execução e pode ser feito com uma pequena amostra de fezes; neste estudo, revelou-se útil na avaliação pancreática dos pacientes com FC.

**Palavras-chave:** Fibrose Cística, mutação  $\Delta F508$ , Elastase-1 fecal, insuficiência pancreática exócrina.

## ABSTRACT

**Introduction and Objective:** The fecal Elastase-1 (EL-1) is a noninvasive test used to assess exocrine pancreatic function. This study aims to assess and quantify the concentration of fecal Elastase -1 in patients with cystic fibrosis  $\Delta$ F508 mutation carriers and to standardize the testing Elastase monoclonal test in our study group.

**Methods:** Cross-sectional study with patients diagnosed with Cystic Fibrosis, being treated by the Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Feces were collected for the quantification of Elastase concentration by ELISA. Nutritional assessment was calculated by percentile of BMI for children aged 2 to 18 years and percentile P / E for children under 2 years. Patient charts were reviewed to identify the cystic fibrosis mutation and to collect information about the dose of enzyme administered. The results analyzed were the exocrine pancreatic insufficiency and its intensity, defined by the activity of fecal EL-1  $<200\mu\text{g/g}$ .

**Results:** Fifty-one patients with ages ranging from 4 months to 17 years participated in the study and were divided into 3 groups: 17 homozygotes, 17 heterozygotes and 17 non  $\Delta$ F508. The average age was 9.11 years ( $\pm 4.74$ ) and 62.8% were male. The pancreatic enzymes were used in 46 (90.2%) patients. Patients with Elastase test with values below  $100\mu\text{g/g}$  represented a total of 80.4% ( $n = 41$ ) and 17 (41.5%) homozygous, 14 heterozygous (34.1%) and 10 with no  $\Delta$ F508 (24.4%). There was a statistically significant association between the homozygous and the concentration of fecal EL-1  $<100\mu\text{g/g}$ . All patients identified as PI by the EL-1 fecal test were in enzyme replacement therapy 41 (100%). Ten patients (19.6%) had a concentration of EL-1 fecal  $>200 \mu\text{g} / \text{g}$ , and 5 of pancreatic enzymes used. Eleven (21.6%) patients were malnourished, 10 (19.6%) were at nutritional risk and for 30 (58.8%) the nutritional status was normal. There was no significant relationship between nutritional status, mutations and pancreatic insufficiency.

**Conclusion:** The activity of EL Fecal -1  $<100 \mu\text{g/g}$  indicative of severe PI by the test, was observed in 17/17 (100%) patients homozygous for the mutation  $\Delta$ F508 and 14/17 (82.3%) heterozygous for the same mutation. There was no association between the levels of fecal EL-1 and nutritional status assessed by the percentile of the P/E  $< 2$  years and BMI percentile for  $>2$  years. The fecal Elastase-1 test can be easily performed with a small stool sample and proved useful in the pancreatic evaluation of patients with cystic fibrosis.

**Keywords:** cystic fibrosis mutation  $\Delta$ F508, fecal Elastase-1, exocrine pancreatic insufficiency.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - O modelo da estrutura da proteína <i>cystic fibrosis transmembrane conductance regulator</i> ( CFTR ) .....	13
Figura 2 - Fluxograma para seleção dos pacientes .....	41
Figura 3 - Gráfico DOT PLOT: quantidade (u) de lipase kg/dia em pacientes com concentração de EL-1 fecal <100µg/g e > 200µg/g .....	46
Figura 4 - Valores da Elastase fecal categorizados em três faixas na população em estudo....	47

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Tipo de mutações no gene que codifica a proteína CFTR de acordo com a categorização por classe .....	14
Quadro 2 - Principais manifestações clínicas da Fibrose Cística .....	17
Quadro 3 - Principais testes utilizados na avaliação pancreática exócrina.....	24
Quadro 4 – Estudos sobre atividade da Elastase-1 Fecal pelo método Elisa monoclonal e relação com a mutação $\Delta F508$ da Fibrose Cística .....	55
Quadro 5 – Sensibilidade e especificidade do teste Elastase-1 fecal monoclonal.....	58
Quadro 6 – Estado nutricional de pacientes brasileiros com Fibrose Cística de séries publicadas a partir do ano 2000 .....	59
Quadro 7 – Pontos negativos e positivos do teste Elastase-1 fecal monoclonal .....	64

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Critérios para definição do estado nutricional em pacientes com Fibrose Cística..	39
Tabela 2 - Características demográficas e clínicas dos pacientes avaliados .....	45
Tabela 3 - Relação entre idade, sexo, mutação $\Delta F508$ e uso de enzimas com a concentração da Elastase .....	48
Tabela 4 - Relação entre sexo, idade, mutação $\Delta F508$ , concentração da Elastase com o estado nutricional .....	49

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AMP	Adenosina monofosfato
CAG	Coefficiente de absorção de gordura
CDC	<i>Centers for Disease Control</i>
CFTR	<i>Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator</i>
DP	Desvio padrão
DRFC	Diabetes melito relacionada à Fibrose Cística
CV	Coefficiente de variação
ΔF508	Deleção de fenilalanina na posição 508
DM	Diabetes melito
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EL-1	Elastase-1
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FC	Fibrose Cística
g	grama
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
IMC	Índice de massa corporal
IP	Insuficiência pancreática
kDa	Kilo Dalton
kg	kilograma
l	litro
mg	miligrama
ml	mililitro
mmol	milimol
NaCl	cloreto de sódio
NCHS	<i>National Center for Health Statistics</i>
nm	nanômetro
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
P/E	Peso/estatura
PIMC	Percentil IMC
PP/E	Percentil P/E
SP	Suficiente pancreático
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
TIR	Tripsina imunorreativa
µg	Micrograma
µl	Microlitro

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

1	INTRODUÇÃO .....	12
1.1	FIBROSE CÍSTICA: CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	12
1.2	ASPECTOS CLÍNICOS E NUTRICIONAIS .....	15
1.3	ALTERAÇÕES PANCREÁTICAS .....	20
1.4	AValiação DA INSUFICIÊNCIA PANCREÁTICA EXÓCRINA .....	23
1.5	ELASTASE-1 FECAL .....	27
2	JUSTIFICATIVA .....	31
3	OBJETIVOS .....	33
3.1	OBJETIVO GERAL .....	33
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	33
4	CASUÍSTICA E MÉTODOS .....	35
4.1	DELINEAMENTO .....	35
4.2	POPULAÇÃO .....	35
4.3	AMOSTRA.....	35
4.3.1	Cálculo do tamanho da amostra .....	35
4.3.2	Critérios de inclusão.....	36
4.3.3	Critérios de exclusão .....	36
4.4	MÉTODOS .....	36
4.4.1	Identificação das mutações.....	37
4.4.2	Antropometria .....	37
4.4.3	Concentração da Elastase-1 fecal.....	39
4.4.4	Protocolo do teste ELISA.....	39
4.5	LOGÍSTICA .....	41
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41

4.7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS .....	42
5 RESULTADOS .....	44
5.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS DA AMOSTRA .....	45
5.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA ELASTASE-1 FECAL .....	46
6 DISCUSSÃO .....	51
6.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	51
6.2 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA .....	52
6.2.1 Características demográficas e clínicas .....	52
6.2.2 Atividade da Elastase-1 Fecal .....	54
6.2.3 Estado nutricional .....	59
6.3 LIMITAÇÕES RELACIONADAS AO ESTUDO .....	62
6.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	63
7 CONCLUSÕES .....	66
8 REFERÊNCIAS .....	68
9 ARTIGO: UTILIDADE DA CONCENTRAÇÃO DA ELASTASE-1 FECAL MONOCLONAL NA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PANCREÁTICA NOS PACIENTES COM FIBROSE CÍSTICA .....	76
RESUMO .....	77
INTRODUÇÃO .....	78
CASUÍSTICA E MÉTODOS .....	80
ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	82
RESULTADOS .....	82
DISCUSSÃO .....	84
AGRADECIMENTOS .....	88
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	88
10 ANEXOS .....	95

---

## **1 INTRODUÇÃO**

---

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 FIBROSE CÍSTICA: CONSIDERAÇÕES GERAIS

*"Woe to that child which when kissed on the forehead  
tastes salty. He is bewitched and soon must die"<sup>1</sup>*

Descrita popularmente desde os séculos XVIII e XIX, a Fibrose Cística (FC) ou mucoviscidose só teve as suas características clínicas, anatomopatológicas e epidemiológicas descritas a partir do final da década de 30, do século XX, quando dos estudos da Dra Dorothy Andersen (ANDERSEN, 1938).

Atualmente, a FC é reconhecida como uma das mais importantes doenças genéticas, de herança autossômica recessiva, que acomete a população caucasóide, em uma incidência estimada de 1:2500 nascidos vivos. Trata-se de uma disfunção epitelial exócrina, na qual existe um defeito, já bem documentado, na proteína reguladora da condutância transmembrana, designada pela sigla CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*) (WELSH *et al.*, 1995), composta por 1.480 aminoácidos e codificada por um gene formado por 250 quilobases de DNA, localizado no braço longo do cromossomo 7, no locus q31 (Figura 1) (WELSH *et al.*, 1995; RIORDAN *et al.*, 1989).

---

<sup>1</sup> In *The Almanac of Children's Songs and Games from Switzerland*, 1857



CLASSE	DEFEITO
1	A proteína CFTR não é sintetizada
2	A proteína CFTR é degradada no retículo endoplasmático após produção
3	A proteína CFTR é produzida e chega à membrana celular, mas não responde à ativação
4	A proteína é produzida, alcança a membrana celular e responde à ativação, mas o canal de cloro não permite condução adequada do íon
5	Há diminuição da síntese da proteína CFTR.
6	Há defeito na regulação de outros canais

Quadro 1 - Tipo de mutações no gene que codifica a proteína CFTR de acordo com a categorização por classe

Fonte: Vankeerberghen *et al.*, 2002.

A mutação mais comum, em todo o mundo é conhecida por  $\Delta F508$  (classe 2), onde há deleção do aminoácido fenilalanina na posição 508 da proteína CFTR. A frequência de seu achado varia de acordo com as regiões geográficas, sendo em média 70% e 30% no oeste e leste europeus respectivamente e cerca de 45% na América Latina (RIOS *et al.*, 1994; STREIT *et al.*, 2003). No Brasil, a frequência reportada da mutação  $\Delta F508$  foi estabelecida em torno de 49% (RASKIN *et al.*, 1993), variando entre as regiões brasileiras - 53% em Minas Gerais, 48-50% no Rio Grande do Sul, 33-52% em São Paulo, 27% em Santa Catarina, 44% no Paraná e 35% no Rio de Janeiro (BERNARDINO *et al.*, 2000; RASKIN *et al.*, 1997; MIRANDA *et al.*, 1993; CABELLO *et al.*, 2001; MARTINS *et al.*, 1993). Em Porto Alegre, Maróstica *et al.* (1995) identificaram um portador da mutação  $\Delta F508$  para cada 25,3 recém-nascidos. Naquele ano (1995), houve 26.745 nascimentos, com 10 casos novos de Fibrose Cística anuais em pacientes caucasóides. Os dados referentes aos pacientes portadores de FC acompanhados pelos serviços de pediatria - setor de Pneumologia Pediátrica e Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), mostram que a mutação  $\Delta F508$  correspondeu a 48,7% (75/154) dos alelos em que foi identificada, sendo que 31,2% homocigotos, 35,1% heterocigotos e 33,8% não apresentavam  $\Delta F508$  (STREIT *et al.*, 2003).

Os resultados foram semelhantes a estudos prévios (RASKIN *et al.*, 1993; BERNARDINO *et al.*, 2000). A frequência desta mutação no Rio Grande do Sul é estatisticamente diferente da frequência no estado de Santa Catarina, embora ambos se encontrem geograficamente muito perto, o que pode ser atribuído a heterogeneidade da população brasileira (STREIT *et al.*, 2003).

A presença de dois alelos com mutações no gene da FC provoca ausência de atividade ou funcionamento parcial da CFTR, causando redução na excreção do cloro e aumento da eletronegatividade intracelular, resultando em maior fluxo de sódio na tentativa de preservação não osmótica do equilíbrio celular.

O exame diagnóstico de FC considerado padrão áureo ainda é a dosagem de eletrólitos no suor. Como salientam Dalcin & Abreu e Silva (2008), o teste do suor deve ser sempre interpretado no contexto clínico e realizado pelo menos duas vezes em cada paciente, preferentemente com intervalo de semanas entre eles. Considerado positivo com valores de cloro superiores a 60 mmol/l e limítrofe - passível de confirmação - com valores entre 40 e 60 mmol/l. Devem ser obtidas pelo menos 75mg de volume de suor pelo método tradicional Gibson-Cooke em recém-nascidos. (FARRELL *et al.*, 2008). Para Ribeiro *et al.*(2002) a quantidade deve ser de no mínimo 100mg. Outro teste diagnóstico é a análise de mutação genética, conhecida como causa de FC em cada um dos genes da CFTR, junto a um contexto clínico ou história familiar compatível e a medida de diferença de potencial nasal (DALCIN & ABREU E SILVA ,2008).

## 1.2 ASPECTOS CLÍNICOS E NUTRICIONAIS

Ressalta-se que a FC é uma doença sistêmica, de evolução crônica e progressiva. Nos indivíduos acometidos observam-se, além das características de alterações eletrolíticas no

suor, desidratação das secreções nas mucosas e aumento da sua viscosidade, favorecendo obstrução ductal, a qual se segue de uma cascata de reações inflamatórias, que culminam com o desenvolvimento de fibrose (KNOWLES *et al.*, 1986). Classicamente, nas vias respiratórias, o processo inflamatório crônico assim desencadeado, propicia o subsequente aparecimento de alterações estruturais como bronquiectasias, bronquiloectasias e espessamento brônquico, dentre outros (CORDEIRO, 1995). Neste contexto, há o favorecimento tanto de colonização quanto de infecção respiratória crônica por bactérias patogênicas, tais como: *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas aeruginosa mucoides*, *Pseudomonas cepacia* e *Burkholderia cepacea*, que são organismos frequentemente encontrados nesses pacientes. O comprometimento do aparelho respiratório é progressivo e de intensidade variável e as alterações secundárias são atribuídas a dois fenômenos importantes: a obstrução generalizada da via respiratória periférica por excesso de muco e uma suscetibilidade muito aumentada do aparelho respiratório às infecções (RIBEIRO *et al.*, 2002). As crianças apresentam infecções repetitivas do trato respiratório, história de bronquiolite de repetição, síndrome do lactente chiador, asma associada ao hipocratismo digital, hiperinsuflação pulmonar não devida à asma brônquica, bronquiectasias e ou atelectasias (ABREU e SILVA & PALOMBINI, 1991; RIBEIRO *et al.*, 2002). A tosse crônica é a manifestação respiratória mais comum, afetando a criança desde as primeiras semanas de vida (RIBEIRO *et al.*, 2002).

As principais manifestações clínicas da FC estão apresentadas no quadro 2.

SISTEMAS ENVOLVIDOS	MANIFESTAÇÕES CLÍNICA
Respiratório	Hiperreatividade brônquica, pneumonias de repetição, hemoptise, pansinusite, pólipos nasais, baqueteamento digital, bronquiectasias, atelectasias, infiltrados e hiperinsuflação
Digestivo	Íleo meconial, icterícia neonatal prolongada, esteatorreia, desnutrição crônica, hipoproteinemia e edema, pancreatite recorrente, hepatopatia crônica, colelitíase, prolapso retal, insuficiência pancreática, meteorismo crônico, síndrome da obstrução intestinal distal.
Endócrino-Metabólico	Diabetes Melito, alcalose metabólica crônica, intolerância a glicose, osteopatia hipertrófica
Hematológico	Anemia
Reprodutivo	Infertilidade, azoospermia obstrutiva, atraso puberal, anormalidades menstruais

Quadro 2 - Principais manifestações clínicas da Fibrose Cística

Fonte: Abreu e Silva & Palombini, 1991; Ribeiro *et al.*, 2002; Vieira *et al.*, 2003; Dalcin & Abreu, 2008.

Na sua forma típica, manifesta-se pela presença de insuficiência pancreática exócrina. Essa se traduz frequentemente por síndrome malabsortiva de intensidade variável. A IP está relacionada ao tipo de mutação (NOONE *et al.*, 2001). Segundo Iwánczak *et al.* (2005), existe uma nítida correlação entre a presença da mutação  $\Delta F508$  e as gravidade e frequência das manifestações digestivas. Na casuística de Ratjen & Doring (2003) foi observado que a insuficiência pancreática exócrina, presente nos indivíduos com mutações das classes 1-3, foi evento raro naqueles com mutações 4-6.

O comprometimento do fígado e das vias biliares na FC é conhecido desde o relato original desta entidade. Segundo Colombo *et al.* (2002), a doença hepática é considerada a terceira causa de morte nos pacientes com FC. Na casuística de Fagundes e cols. (2005), que tinham como objetivo identificar os fatores de risco para doença hepática da FC, a IP foi um fator preditivo da hepatopatia.

Há uma prevalência estimada que varia de 2-37% nas diferentes séries (FARANCHAK & SOKOL, 2001; GASKIN, 2001), devido à falta de marcadores diagnósticos sensíveis e

específicos e de critérios consistentes de definição de doença hepática (COLOMBO *et al.*, 2002; SILVEIRA *et al.*, 2001). Parece haver um aumento da frequência a partir da primeira década de vida (COLOMBO *et al.*, 2002; FITZ, 1993; SCOTT *et al.*, 1991). Manifestações clínicas do acometimento hepático na FC incluem: colestase neonatal, esteatose hepática, colelitíase, microvesícula, colangite esclerosante e outras (VIEIRA *et al.*, 2003).

A forma sintomática da doença hepatobiliar é rara, ocorrendo em menos de 5% dos casos. A presença de fibrose porta, em relatos de necropsia, varia de 27% nos lactentes a 70%, nos pacientes maiores de 24 anos (SHARP, 1995). A complicação mais importante e mais frequente da hepatopatia nesses pacientes é a hemorragia digestiva por varizes de esôfago (LÓPEZ *et al.*, 1998).

No Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 83 pacientes com idade entre 2 e 17 anos foram analisados quanto às características em relação ao escore ultrassonográfico de avaliação hepatobiliar; notou-se que houve progressão na proporção de casos de vesícula e de pâncreas alterados, com a piora do estado do fígado, sendo essas diferenças altamente significativas ( $P=0,001$  e  $P=0,0009$ , respectivamente). Quanto mais alterado o escore hepático menor a proporção de vesícula e de pâncreas normais. Cinquenta e três pacientes apresentaram escore A (3 pontos), 18/83 pacientes constituíram o escore B (4-7 pontos) e 12/83 apresentaram escore C (8-9 pontos). Nenhum paciente com escore C apresentou pâncreas normal e apenas dois tinham vesícula biliar sem alterações (VIEIRA *et al.*, 2003).

Segundo Yankaskas *et al.* (2004), a FC sendo uma doença grave, os pacientes não sobreviviam até a adolescência há alguns anos atrás, mas nas últimas décadas a sobrevivência desses pacientes está cada vez maior; agora a doença tornou-se "de adulto" (DALCIN & ABREU E SILVA, 2008).

Dados do registro norte-americano mostram que atualmente a idade mediana de sobrevivida é de 36,5 anos, e que 43% das pessoas com FC têm mais que 18 anos

(YANKASKAS *et al.*, 2004). A utilização de medidas adequadas para o tratamento do paciente com FC resulta em uma maior sobrevida com melhor qualidade para pacientes adultos (DALCIN & ABREU E SILVA, 2008).

Vários fatores estão associados à pior evolução do paciente: idade no diagnóstico, íleo meconial, sexo feminino, raça, genótipo, colonização por *Pseudomonas aeruginosa* ou *Burkholderia cepacia*, má nutrição, diabetes relacionada à FC e baixo nível sócio-econômico (DURNO *et al.*, 2002; KEREN *et al.*, 1990; ROSENFELD *et al.*, 1997; O'CONNOR *et al.*, 2002).

O tratamento da IP baseia-se na suplementação com enzimas pancreáticas e vitaminas. Essa suplementação é fornecida através de enzimas dadas na forma de cápsulas de gelatina, contendo microesferas com proteção ácido-resistente. A ativação da enzima só é alcançada em pH mais alcalino (BOROWITZ *et al.*; 1995; RIBEIRO *et al.*, 2002; CARDOSO *et al.*, 2007).

O manejo do paciente portador de FC demanda equipe multidisciplinar, deve ser individualizado e adaptado a cada paciente, abrangendo todos os aspectos da doença. É crucial que o paciente tenha adesão ao tratamento. Em estudo transversal de Dalcin *et al.* (2009), com pacientes portadores de FC maiores de 16 anos identificou que a percepção da gravidade da doença pelos pacientes, não se relaciona com o grau de adesão ao tratamento convencional.

O estado funcional pancreático é um forte preditor de desfecho clínico a longo prazo e têm um impacto direto sobre o estado nutricional (BOROWITZ *et al.*, 2002; SINAASAPPEL *et al.*, 2002).

Há múltiplos fatores interrelacionados que afetam a nutrição do paciente com FC, tais como: mutação genética, insuficiência pancreática, ressecção intestinal, perda de sais e ácidos biliares, refluxo gastroesofágico, inflamação e infecções, diabetes e condições emocionais.

Segundo Castro *et al.* (2003), muitas crianças com FC têm um estado nutricional adequado que se agrava lentamente. Isto ocorre, sobretudo, em processos infecciosos, quando o paciente tem períodos de ingestão calórica deficiente e com episódios de gasto energético elevado.

Por definição, os pacientes com IP apresentam absorção alterada de gorduras, proteínas e outros nutrientes (BOROWITZ *et al.*, 2002; SINAASAPPEL *et al.*, 2002). A má absorção de gordura tanto quanto a de nitrogênio pode ser grave quando não for instituído o tratamento com as enzimas pancreáticas. Embora os sintomas pareçam ser controlados pelo tratamento com as enzimas pancreáticas, muitos pacientes ainda apresentam grau significativo de má absorção de gordura (LITTLEWOOD, 1995). Littlewood *et al.* (2006), sugerem que crianças e adolescentes com inadequado ganho de peso e de crescimento, embora com o apetite preservado, apresentam má absorção intestinal.

Concorda-se com Castro *et al.* (2003), quando dizem que a manutenção do estado nutricional adequado é um dos pilares do tratamento do paciente com FC, o que é imprescindível para a evolução satisfatória do paciente, repercutindo em sua qualidade de vida e sobrevida.

### 1.3 ALTERAÇÕES PANCREÁTICAS

A insuficiência pancreática exócrina (IP) é a mais significativa manifestação digestiva da FC (GULLO *et al.*, 1977). Está presente em cerca de 75% dos portadores de FC ao nascimento, em 80%-85%, até o final do primeiro ano e em 90%, na idade adulta (EVANS *et al.*, 2001). É aceito que dentre as diversas manifestações da FC, o fenótipo pancreático é o que melhor se relaciona ao genótipo, como atestam os estudos (KEREM *et al.*, 1990; ZIELENSKI, 2000). O fenótipo clínico que inclui a IP, do ponto de vista digestivo, está

associado a alelos mutantes cuja expressão completa da proteína CFTR está abolida (DORFMAN & ZIELENSKI, 2006).

A exemplo do que acontece no comprometimento pulmonar, a perda da função exócrina do pâncreas resulta da obstrução dos ductos intrapancreáticos por secreção mucosa, impedindo a liberação de enzimas para o duodeno. Há má digestão e má absorção de gorduras, proteínas e em menor extensão de hidratos de carbono. As fezes são esteatorréicas, volumosas, pálidas e de odor característico (PARK & GRAND, 1991). Segundo Castro *et al.* (2003), o acometimento do pâncreas tem início na vida fetal, entre a 28<sup>a</sup> e a 32<sup>a</sup> semana de gestação, havendo alteração do desenvolvimento acinar. A lesão mais precoce é a dilatação dos condutos intralobulares, obstruídos por secreção mucosa. Desde o nascimento pode-se observar um grau leve de atrofia acinar e a atrofia do órgão, provavelmente devido à liberação das enzimas proteolíticas. Há um processo inflamatório crônico que culmina com a substituição do parênquima pancreático normal por fibrose. A secreção pancreática produzida tem um volume inferior ao fisiológico e qualitativamente é pobre tanto em pancreatina quanto em bicarbonato (CAMPOS *et al.*, 1993; SINAASAPPEL *et al.*, 2002). Neste estágio avançado, encontram-se formação de cistos, calcificações, infiltração gordurosa, podendo ocorrer atresia e/ou estenose de grandes ductos pancreáticos (GASKIN *et al.*, 1982). A deficiência de enzimas pancreáticas é o mais importante, mas não o único fator responsável pela má absorção em pacientes com FC (ZENTLER, 1989). A baixa concentração de bicarbonato de sódio no suco pancreático faz com que o pH do duodeno seja ácido, contribuindo para a má absorção de nutrientes (SINAASAPPEL *et al.*, 2002).

A impactação do mecônio anormalmente espesso pode estar presente na 17<sup>o</sup> semana de gestação, sendo o íleo meconial a manifestação mais precoce da enfermidade. Afeta 5-10% dos recém-nascidos com FC (RAMIRÉZ *et al.*, 1998).

O reconhecimento da IP é altamente pertinente para evitar a desnutrição (DORING *et al.*; 2007). De acordo com Borowitz (2005), os sinais e sintomas de má digestão alimentar somente se tornarão evidentes após o pâncreas perder 98%-99% de sua capacidade de excretar enzimas digestivas.

Os pacientes com FC considerados IP, necessitam receber diariamente suplementação regular das enzimas pancreáticas. Recomenda-se que sejam administradas em todas as refeições e lanches, para os pacientes obterem melhor aproveitamento da terapia de reposição enzimática. As enzimas pancreáticas são preparações de microesferas recobertas, ácido-resistentes e concentrações variadas por cápsulas. Por serem recobertas, evitam a inativação das enzimas pela secreção cloridropéptica do estômago, melhorando a absorção e a digestão dos alimentos, dos ácidos biliares e das vitaminas lipossolúveis.

Considerando que, de acordo com a literatura, aproximadamente 15% dos pacientes com FC são SP, a avaliação da função pancreática exócrina é um procedimento obrigatório, visando determinar a necessidade de suplementos enzimáticos (WEINTRAUB *et al.*, 2009; COHEN *et al.*, 2005; LEUS *et al.*, 2000; DAFTARY *et al.*, 2006).

O Diabetes Melito relacionado à Fibrose Cística (DRFC) é uma importante complicação que é causada principalmente por insulinopenia. Entretanto a resistência insulínica também está presente. Pacientes do sexo feminino, homozigotos para  $\Delta F508$ , e portadores de IP têm maior risco de desenvolver esta complicação. A função pulmonar tem o declínio mais acelerado nos pacientes intolerantes à glicose, do que naqueles com metabolismo glicêmico normal. A diminuição da sobrevida e o aumento das morbidades e mortalidade fazem com que o diagnóstico precoce seja fundamental (ALVES *et al.*, 2007).

A prevalência do DRFC aumenta acentuadamente com a idade e ocorre apenas em pacientes com disfunção pancreática exócrina (KEREM *et al.*, 2005). Segundo Costa *et al.* (2005), a mediana da idade de início dos DRFC está próxima aos 20 anos.

#### 1.4 AVALIAÇÃO DA INSUFICIÊNCIA PANCREÁTICA EXÓCRINA

Os principais testes desenvolvidos para estimativa de função pancreática exócrina relacionam-se à medida de enzimas pancreáticas secretadas e bicarbonato (testes diretos) ou à avaliação dos efeitos secundários à deficiência dessas enzimas (testes indiretos). Mais de vinte diferentes testes foram descritos, mas poucos são clinicamente disponíveis (KELLER *et al.*, 2009).

No Quadro 3 estão listados alguns desses testes, os quais serão brevemente discutidos a seguir.

TESTE	TIPO DE TESTE	VANTAGENS	LIMITAÇÕES
Secretina-pancreozimina	Direto	Exame direto para verificar função pancreática Padrão áureo	Exame invasivo, necessidade de interrupção do uso de enzimas pancreáticas Custo elevado, laborioso
Proteína associada à pancreatite	Indireto/ sangue	Poderá ser utilizado como triagem neonatal para pacientes com FC	Método útil quando combinado com outros testes (Tripsina Imunorreativa e análise genética)
Triglicerídeos	Indireto/ sangue	Quantificação no plasma do aumento dos triglicerídios após refeição	Influenciado por inúmeros fatores
Tripsina imunorreativa	Indireto/ sangue	Amostra de sangue recolhida em papel filtro para teste do pezinho	Apenas avalia a integridade da função pancreática
PABA	Indireto /Urina	Exame não invasivo	Necessita um marcador entre a primeira urina e 6 horas após a ingestão de PABA
Teste com isótopos	Indireto/respiratório	Exame não invasivo	Baixa sensibilidade para IP leve Radioatividade torna o teste pouco realizado em crianças
Lipase imunoreativa fecal	Indireto/fezes	Exame não invasivo Sensibilidade: 87% Especificidade: 97% Não é necessário interromper as enzimas pancreáticas	Discrepância nos resultados pela utilização de diferentes métodos
Esteatócrito	Indireto/fezes	Exame não invasivo	Variabilidade nos resultados
Dosagem de gordura fecal-Van de Kamer	Indireto/fezes	Exame não invasivo	Coleta de totalidade das fezes por 72 h
Coef. de gordura fecal	Indireto/fezes	Exame não invasivo	Coleta de fezes por 72 h Poderá haver erros no recordatório alimentar Necessita marcador entre a primeira e última amostra de fezes
Microscópio de gordura nas fezes	Indireto/fezes	Exame não invasivo	Baixa sensibilidade e especificidade
Quimiotripsina fecal	Indireto/fezes	Exame não invasivo	Sensibilidade: 64% Necessidade de interrupção do uso de enzimas pancreáticas
Elastase-1 Fecal	Indireto/fezes	Exame não invasivo Fácil coleta Não degrada no trânsito intestinal Estável à temperatura ambiente Não é necessário interromper as enzimas pancreáticas Sensibilidade: 96% Especificidade: 100%	É degradada em presença de lesão e flora intestinal alterada Avalia apenas IP endógena

Quadro 3 - Principais testes utilizados na avaliação pancreática exócrina  
Fonte: Adaptado de Leus *et al.* (2000).

**Teste da secretina pancreozimina:** teste padrão áureo para quantificar a função pancreática exócrina. O estudo direto é difícil, pois é necessário utilizar técnica invasiva para analisar o pH das concentrações de bicarbonato e enzimas pancreáticas no suco duodenal. As informações trazidas são completas, mas o teste é incômodo, invasivo e de alto custo.

**Teste da Proteína associada à pancreatite:** é uma proteína sintetizada após o acometimento do pâncreas. Pode já estar presente no sangue das crianças com FC desde o nascimento. De acordo com Leus *et al.* (2000), é um teste útil, quando combinado com outros testes como tripsina imunorreativa ou análise genética.

**Triglicérides:** a dosagem de triglicerídeos deve ser feita 2 horas após uma refeição rica em gordura. É um indicador ruim para função pancreática, pois é influenciado por diversos fatores.

**Tripsina imunorreativa (TIR):** teste usado na triagem neonatal para FC, porque os níveis de TIR são elevados na infância. De acordo com Weintraub *et al.* (2009), os níveis caem após 1 ano; depois de 7 anos de idade os níveis estão reduzidos al em pacientes IP. Em pacientes SP não há declínio relativo à idade nos níveis de TIR, e a rotina de utilização nos pacientes SP não foi recomendada. O teste pode ser realizado com amostra de sangue coletada sobre papel filtro, como na coleta para teste do pezinho.

**Teste ácido N-benzoil-L-tirosil p-aminobenzóico (PABA):** este teste usa um tripeptídeo sintético. É desdobrado pela quimiotripsina na luz intestinal e liberado o PABA. O ácido N-benzoil-L-tirosil p-aminobenzóico é liberado, absorvido, conjugado no fígado e eliminado na urina. Os resultados são dados como percentual da dose ingerida. Os valores inferiores a 50% indicam IP.

**Teste com isótopos:** vários testes de respiração têm sido investigados para medir digestão de gordura, utilizando triglicerídeos marcados com 14 Carbono ou 13 Carbono. A radioatividade torna o teste pouco utilizado em crianças.

**Lípase imunorreativa:** método que utiliza pequenas amostras de fezes (de 3-5 g), suspensas em NaCl 0,9% e filtradas. Munch *et al.* (1998) realizou estudos em pacientes pediátricos de diferentes idades e estabeleceu os valores de lípase. De acordo com os autores, este teste tem sensibilidade de 87% e especificidade de 97% para detectar IP e não é afetado pela terapia de reposição enzimática.

**Esteatócrito:** método útil na monitorização da má absorção de gordura. Consiste na homogeneização de uma amostra de fezes, colocadas no tubo de hematócrito - o conteúdo de gordura é expresso como porcentagem. Este teste foi melhorado pela acidificação das fezes com ácido perclórico, que possibilita uma melhor extração da gordura. A variabilidade dos resultados está relacionada às mudanças diárias na eliminação de gordura.

**Dosagem da gordura fecal - Van de Kamer:** a quantificação de gordura nas fezes de 72 horas, pelo método de Van de Kamer, é um dos testes mais utilizados para o diagnóstico de má absorção de gordura. Em crianças a excreção fecal de gordura superior 3,5-4 g é considerada esteatorreia. Quando se utiliza este método o paciente deve receber uma quantidade estável de gordura durante a coleta das fezes, que deve ser recolhida na sua totalidade. Este método não avalia TCM, quando se torna necessário uma modificação na técnica de extração.

**Coefficiente de absorção de gordura(CAG):** excreção de gordura fecal expressa como absorção de gordura fecal. É um método que avalia a relação entre uma quantidade de gordura ingerida (mínimo de 5 g/kg/ dia em lactentes, 40-50 g/dia em escolares e 70-80 g/dia em crianças maiores) e a quantidade de gordura excretada. Tem o inconveniente de coleta durante 72 horas. Para comparar o período da dieta com as fezes coletadas é utilizado um marcador. A coleta de fezes é feita pela primeira amostra com coloração até a última amostra antes do segundo marcador. O marcador não é tóxico, não é absorvido e é facilmente reconhecido nas fezes. Valores de referência do CAG: 60-75% em prematuros, 80-85% em crianças até 6

meses, 85-95% em crianças até 3 anos e > 95% em crianças maiores 3 anos (ANDERSON *et al.*, 1987).

**Exame microscopia de fezes:** estudo microscópico das fezes que pode ser feito com uma amostra isolada. Permite observar gotas de gordura e cristais de ácido graxos. É um método de baixa sensibilidade e especificidade.

**Quimiotripsina fecal:** não pode ser usado nos pacientes em terapia de reposição enzimática. É necessário avaliar diferentes amostras de fezes devido à variação de resultados. A sensibilidade do método é de apenas 64% e especificidade de 89% (LEUS *et al.*, 2000).

O coeficiente de gordura fecal é considerado por alguns como teste padrão para IP. Esse, como já previamente descrito, é um método difícil e pouco exequível com a desvantagem de não refletir diretamente na função pancreática (BOROWITZ *et al.*, 2007). Recentemente um teste mais simples e mais específico encontra-se disponível: Teste da ELASTASE-1 fecal.

## 1.5 ELASTASE-1 FECAL

A Elastase pancreática humana 1 (EL-1) foi inicialmente isolada por Mallory e Travis em 1975 e foi originalmente denominada protease E (MALLORY & TRAVIS, 1975). Um ano mais tarde, Largman e cols. (1996) isolaram Elastases 1 e 2. A Elastase pancreática 1 é uma protease digestiva humana específica, sintetizada nas células acinares e secretada no duodeno, através do ducto pancreático. A Elastase-1 é sintetizada como zimogênio e a enzima madura tem peso molecular de 28 kDa (PHILLIPS *et al.*, 1999).

Em situações fisiológicas, a concentração da EL-1 no suco pancreático se situa entre 170 e 360µg/ml, correspondendo a cerca de 6% das enzimas secretadas pelo pâncreas. Durante o trânsito intestinal a EL-1 liga-se principalmente a sais biliares e, em contraste com

outras enzimas pancreáticas, não é degradada durante a passagem pelo intestino. A concentração nas fezes é cerca de cinco a seis vezes àquela do suco pancreático (LOSER *et al.*, 1996; AMANQUASH *et al.*, 2004).

O pâncreas normalmente secreta a Elastase, juntamente com mais 20 outras enzimas digestivas (BOROWITZ, 2005). A medida desta enzima é feita através de teste ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), que tem ampla aceitação em laboratórios clínicos (DAFTARY *et al.*, 2006). Vários autores consideram a EL-1 fecal mais sensível e específica do que outros testes de uso corrente na detecção de insuficiência pancreática exócrina (CADE *et al.*, 2000; DOMINICI & FRANZINI, 2002). O teste ELISA utiliza dois anticorpos monoclonais obrigatórios, especificamente para diferentes epitopos na Elastase -1 humana (KATSCHINSKI *et al.*, 1997). São inúmeras vantagens da medida desta enzima em relação aos outros exames indiretos para aferição da função pancreática exócrina. É estável em uma ampla gama de pH e temperatura; as fezes podem ser recolhidas e transportadas sem preparação especial (COHEN *et al.*, 2005; BOROWITZ *et al.*, 2007) e podem ser armazenadas por até uma semana em temperatura ambiente, durante um mês em temperatura de 4 graus celsius e a -22 graus celsius por períodos mais prolongados (LOSER *et al.*, 1996). O exame pode ter utilidade também para rastreamento precoce da conversão de um paciente suficiente pancreático para uma situação de insuficiência. Esse monitoramento pode ser feito anualmente, uma vez que o aparecimento de má absorção é precedido por declínio na concentração de EL-1 fecal (BOROWITZ *et al.*, 2000; CADE *et al.*, 2000; MEYTS *et al.*, 2002; WALKOWIAK *et al.*, 2003; WALKOWIAK *et al.*, 2008). O teste também serve para identificar capacidade residual do estado pancreático (COHEN *et al.*, 2005).

Estudos de Loser *et al.* (1996); Soldan *et al.* (1997); Beharry *et al.* (2002); Walkowiak *et al.* (2002) mostraram sensibilidade de 90-100% e especificidade de 93%-100%. Considerando que o anticorpo monoclonal contra a Elastase humana não reage com a Elastase

suína, ou seja, é espécie-específica, assim o teste pode ser feito enquanto os doentes estão fazendo a terapia de reposição enzimática (BEHARRY *et al.*, 2002; COHEN *et al.*, 2005; BOROWITZ *et al.*, 2007; SCHNEIDER *et al.*, 2005).

De acordo com Cade *et al.* (2000), devido ao fato de que os níveis de EL-1 fecal são muito baixos nas duas primeiras semanas de vida, tanto em crianças prematuras quanto em crianças a termo, normalizando-se somente a partir da segunda semana, o exame não tem utilidade como triagem neonatal. No entanto valores persistentemente baixos após a quarta semana de vida sugerem a presença de FC, embora outras causas mais raras de IP devam sempre ser descartadas.

Em 2000, Walkowiak considerou concentrações de EL < 50 µg/g como sugestivo de IP independente da causa. Dois anos após, Walkowiak e cols. sugeriram outros valores entre 160 µg/g e 200 µg/g, mas a grande maioria dos autores utiliza, como ponto de corte para IP, 200 µg/g (LOSER *et al.*, 1996; SOLDAN *et al.*, 1997; CADE *et al.*, 2000; MEYTS *et al.*, 2002; WALKOWIAK *et al.*, 2005).

Existem dois tipos de testes para detectar a EL-1 fecal: o monoclonal e o policlonal. O teste monoclonal utiliza dois anticorpos monoclonais específicos contra Elastase 1 humana e a terapia de reposição enzimática não precisa ser interrompida (NARUSE *et al.*, 2006). Já o teste policlonal utiliza quatro diferentes anticorpos policlonais e, nessa circunstância, a terapia de reposição enzimática deverá ser interrompida para evitar reação cruzada com as enzimas suínas (BOROWITZ *et al.*, 2007). O mesmo autor demonstrou, em seu estudo de comparação entre os testes, que o anticorpo policlonal apresenta valores médios mais altos que o monoclonal, resultando em menor sensibilidade.

---

---

## **2 JUSTIFICATIVA**

---

---

## **2 JUSTIFICATIVA**

Há consenso sobre a importância da correta classificação do estado funcional pancreático para o prognóstico clínico do paciente portador de FC. Existem três principais fenótipos descritos: a insuficiência pancreática, a suficiência pancreática e o que transita entre o estado de suficiência para o estado de insuficiência.

Ao se admitir um paciente com IP, também se admite a prescrição ininterrupta da terapia de reposição enzimática. Sendo assim, é desejável que este diagnóstico seja o mais objetivo possível.

Na literatura há um grande número de testes de avaliação de função pancreática exócrina, a maioria das quais, de utilização limitada pelo alto custo e pela baixa disponibilidade.

A medida da EL-1 fecal tem se mostrado promissora com uma sensibilidade de 90-100% e uma especificidade de 93%-100%. A padronização do teste Elastase monoclonal no centro de referência de FC do HCPA deverá contribuir para avaliação da função pancreática dos pacientes com FC.

---

---

### **3 OBJETIVOS**

---

---

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a EL -1 fecal em pacientes com Fibrose Cística, portadores da mutação  $\Delta F508$ , em acompanhamento no setor de Pneumologia Pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ✓ Padronizar o teste Elastase-1 fecal através da técnica ELISA MONOCLONAL.
- ✓ Comparar os valores de Elastase-1 fecal em pacientes com FC, portadores de mutação  $\Delta F508$ , com os pacientes sem a mutação.
- ✓ Estudar as relações entre os valores da Elastase-1 fecal com sexo, idade e o estado nutricional.

---

---

## **4 CASUÍSTICA E MÉTODOS**

---

---

## 4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

### 4.1 DELINEAMENTO

Foi realizado um estudo transversal prospectivo, considerando-se como o fator em estudo a mutação  $\Delta F508$ . Os desfechos analisados foram: insuficiência pancreática exócrina e sua intensidade definida pela atividade da EL-1 fecal  $< 200\mu\text{g/g}$ .

### 4.2 POPULAÇÃO

Foram estudados pacientes com Fibrose Cística, de ambos os sexos, com idade entre 1 mês e 18 anos, em acompanhamento no setor de Pneumologia Pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. A amostra foi de forma consecutiva, sendo que os pacientes a serem estudados foram divididos em 3 grupos:

- Grupo 1: pacientes homocigotos para mutação  $\Delta F508$ .
- Grupo 2: pacientes heterocigotos para mutação  $\Delta F508$ .
- Grupo 3: pacientes com ausência da mutação  $\Delta F508$ .

### 4.3 AMOSTRA

#### 4.3.1 Cálculo do tamanho da amostra

Para detectar uma diferença de 1 desvio-padrão entre os níveis de EL-1 fecal nos 3 grupos de pacientes a serem estudados, considerando  $\alpha=0,05$ , poder de 80%, foi estabelecido um número mínimo de 17 pacientes em cada grupo.

### 4.3.2 Critérios de inclusão

Os critérios de elegibilidade para o estudo foram os seguintes:

- a) Pacientes portadores de FC de ambos os sexos, com idade entre um mês e 18 anos, em acompanhamento no setor de pneumologia pediátrica do HCPA.
- b) Presença de Fibrose Cística, com diagnóstico confirmado através de dois testes de dosagem de sódio e cloreto no suor ou pela presença ou ausência da mutação  $\Delta F508$ , associada ao diagnóstico clínico.

### 4.3.3 Critérios de exclusão

- ✓ Medicamentos em uso para regularização do hábito intestinal.
- ✓ Presença de enterostomia/colostomia.
- ✓ Não assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.
- ✓ Fezes líquidas, três ou mais vezes ao dia, nas duas semanas precedentes ao exame.

## 4.4 MÉTODOS

Os dados foram coletados durante a internação e ou acompanhamento ambulatorial de rotina dos pacientes com FC. A rotina de seguimento no ambulatório de Pneumologia Pediátrica do HCPA, que inclui consultas com a equipe médica a cada dois meses, e *check-up* anual, que inclui exames complementares. Para a realização deste estudo, os pacientes que frequentam o ambulatório foram convidados por ocasião do *check-up* anual. Os dados

demográficos foram obtidos do prontuário, incluindo os resultados dos exames laboratoriais. A dose de suplemento pancreático foi informada pelos responsáveis do paciente. Os dados antropométricos foram coletados na internação e durante o *check-up* no ambulatório. Os pacientes foram pesados e medidos pela equipe de saúde e após realizada a avaliação antropométrica. Após a obtenção do consentimento de participação no estudo pelos responsáveis, foi entregue o frasco para a coleta de fezes.

#### **4.4.1 Identificação das mutações**

A análise da mutação para FC foi realizada no Serviço de Genética Médica do HCPA, onde foi realizada a pesquisa das seguintes mutações  $\Delta F508$ , G542X, R553X, G551D, N1303K. Foi utilizado método de sequenciamento de DNA ou PCR em tempo real (método padronizado no serviço de Genética do HCPA).

Os pacientes foram classificados como homozigotos para  $\Delta F508$  (Grupo 1), heterozigotos para  $\Delta F508$  (Grupo 2) e ausência de  $\Delta F508$  (Grupo 3).

#### **4.4.2 Antropometria**

Os métodos de avaliação para as medidas realizadas foram os seguintes:

- **Peso** - A pesagem dos pacientes acima de 15 Kg foi realizada em balança eletrônica Filizola®, com carga máxima de 150 Kg, com variação do peso medido de 50 g. Os pacientes foram pesados somente de avental padronizado pelo hospital. Com os pacientes com pesagem menor de 15 kg, foi utilizada balança pediátrica Filizola®, com variação do peso medido de 5 g.

- **Estatura/comprimento** - Para a medição da estatura foi utilizado um estadiômetro fixo na parede, com lâmina horizontal móvel e graduação em centímetros, com menor divisão em milímetros.

A medida do comprimento foi realizada do topo da cabeça ao calcanhar, com a criança deitada em uma prancha, com lâmina de madeira fixa de um lado e móvel do outro (topo da cabeça na parte fixa), sendo a parte móvel colocada de modo a ficar paralela aos pés da criança.

Foi utilizado para coleta de dados uma ficha (Anexo A), onde constavam: nome, data de nascimento, nº prontuário, idade, sexo, médias de dia da internação hospitalar, data da coleta e do armazenamento das fezes, mutação, suplementação pancreática, motivo da internação, peso, estatura ou comprimento e avaliação nutricional. A idade foi avaliada em anos. Os meses foram transformados para anos através de regra de três, ou seja, um mês corresponde a 1/12 anos e assim sucessivamente.

A partir da coleta de dados de peso, estatura e idade, foi avaliado o percentil do Índice de Massa Corporal ( $IMC = \text{peso}/\text{estatura}^2$ ) para sexo e idade, utilizando como padrão de referência o das curvas de crescimento do CDC/NCHS (2000), que avalia crianças e adolescentes dois a 20 anos de idade; para crianças com idade menor de dois anos, utilizou-se percentil de Peso para Estatura (P/E) CDC/NCHS (2000), conforme recomendação do Consenso Norte-Americano de Fibrose Cística (BOROWITZ *et al.*, 2002). A classificação do estado nutricional dos pacientes foi feita através dos percentis de IMC e percentis de P/E conforme Tabela 1.

Tabela 1 - Critérios para definição do estado nutricional em pacientes com Fibrose Cística

Percentis de Peso-estatura < 2 anos	Percentis de IMC > 2 anos	Classificação do estado nutricional
> 25	> 25	Eutrófico
10 -25	10 -25	Risco nutricional
< 10	< 10	Tratar como desnutrição

Fonte: Borowitz *et al.* (2002); *Consensus Report on Nutrition for Pediatric Patients With Cystic Fibrosis*

#### 4.4.3 Concentração da Elastase-1 fecal

As fezes coletadas foram armazenadas no Laboratório Experimental de Gastroenterologia e Hepatologia do HCPA, em geladeira, na temperatura -20 graus celsius até a realização dos testes. Conforme orientação do fabricante (*ScheBo Biotech AG, Germany*), o material pode ser armazenado até 1 ano.

Foi feita a quantificação da Elastase -1 Fecal, utilizando-se o método ELISA *sandwich* monoclonal, que usa dois anticorpos monoclonais contra diferentes epitopos da Elastase pancreática humana. Usou-se como ponto de corte, o valor 200µg/g, classificando como suficientes pancreáticos para pacientes cujos valores estavam acima de 200µg/g e insuficientes pancreáticos, abaixo de 200µg/g da Elastase. Foram considerados valores entre 100 µg/g -200 µg/g IP moderada e valores abaixo 100 µg/g IP grave, conforme orientação do fabricante. Foram analisadas 81 amostras de fezes de 51 pacientes. Trinta alíquotas foram duplicadas de 10 pacientes de cada grupo.

#### 4.4.4 Protocolo do teste ELISA

Protocolo do teste ELISA *sandwich* pelo fabricante - SCHEBO-BIOTECH-Germany/2008:

- 1) Preparação da amostra, do tampão de lavagem e do tampão de extração.
- 2) Separação de uma pequena porção das fezes homogeneizadas (10 mg fezes/ml de tampão).
- 3) Diluição do extrato de fezes na amostra.
- 4) Pipetagem de 50µl de brancos, padrões controles e amostra em duplicatas nas tiras de Elisa.
- 5) Incubação em 30 minutos em temperatura ambiente.
- 6) Lavagem. Depois se adicionou 50 µl de anti Elastase-1 - complexo streptavidina pronto para uso.
- 7) Incubação em 15 minutos em temperatura ambiente e no escuro.
- 8) Lavagem. Adicionou-se 100 µl de substrato pronto para o uso.
- 9) Incubação em 15 minutos em temperatura ambiente e no escuro.
- 10) Adicionou-se 100 µl de solução de parada.
- 11) Leitura da placa no comprimento de onda 450nm.
- 12) Avaliação com curva padrão, usando uma escala de logaritmo duplo.

#### 4.5 LOGÍSTICA

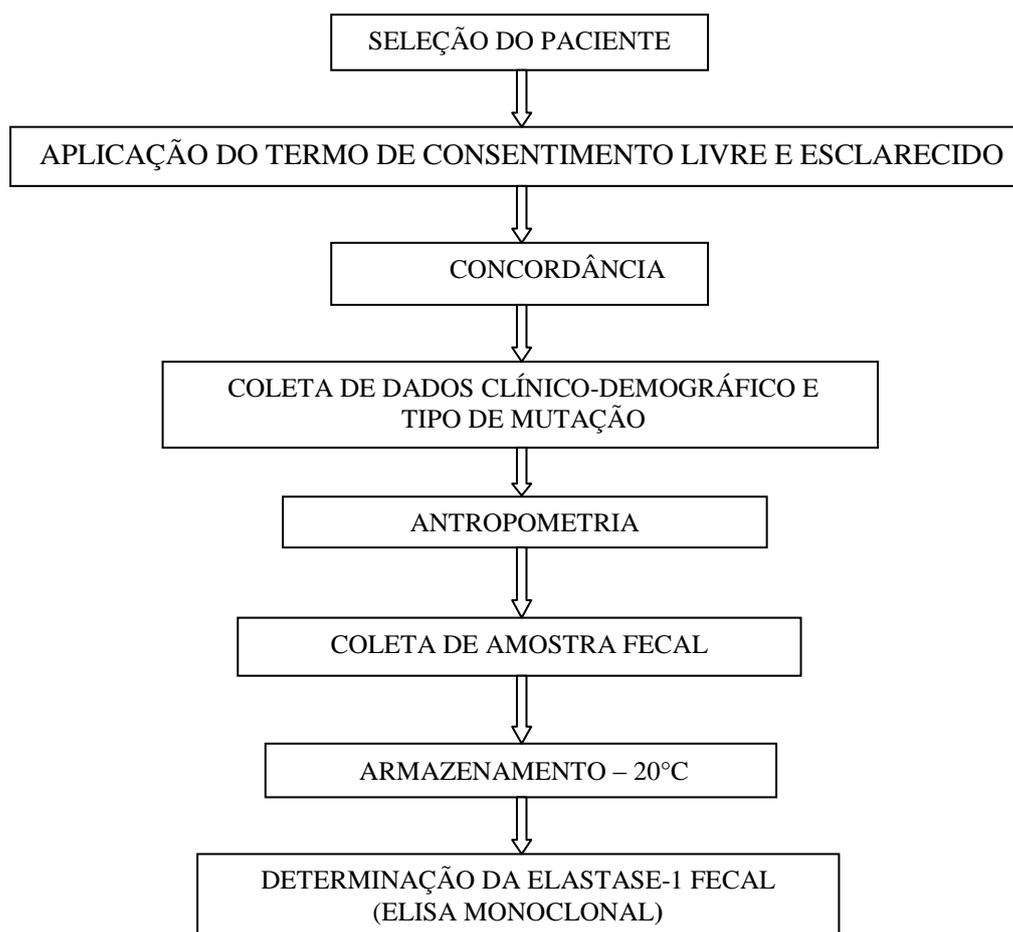


Figura 2 - Fluxograma para seleção dos pacientes

#### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis quantitativas (concentração da Elastase, dose enzima, idade, PIMC, PP/E, dias de internação) foram descritas através da média e desvio padrão (distribuição simétrica)

ou mediana e amplitude de variação/amplitude interquartílica (distribuição assimétrica). As variáveis qualitativas (sexo, mutação  $\Delta F508$ , estado nutricional) foram descritas através de frequências absolutas e relativas.

Para avaliar a associação entre as variáveis qualitativas, o teste qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher foram aplicados. Foi utilizado o teste de Mann-Whitney para as variáveis quantitativas contínuas em relação à insuficiência pancreática. O teste de Kruskal-Wallis foi aplicado para o estado nutricional.

O nível de significância adotado foi de 5% e as análises foram realizadas no programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 13.0.

#### 4.7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Durante o estudo não houve interferência quanto à admissão dos pacientes, manejo terapêutico e/ou permanência hospitalar. Para participar do estudo, todos assinaram o Termo de Consentimento Informado Livre e Esclarecido (Apêndice A).

O projeto de pesquisa elaborado para o desenvolvimento deste estudo foi aprovado pela Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, conforme consta na Resolução do Projeto número 06-368.

---

---

## **5 RESULTADOS**

---

---

## 5 RESULTADOS

Cinquenta e um pacientes com diagnóstico de Fibrose Cística, acompanhados na internação e no ambulatório de Pneumologia Pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, no período de setembro 2007 a novembro 2008, participaram do estudo. Representavam aproximadamente 34% dos pacientes acompanhados pelo setor. Oitenta pacientes foram selecionados e 29 excluídos pelos seguintes motivos: um recusou-se a participar do estudo, 11 não entregaram a amostra de fezes, seis estavam com fezes líquidas e 11 não foram genotipados

A amostra foi constituída por três grupos: G1 = 17 pacientes homocigotos para mutação  $\Delta F508$ ; G2 = 17 pacientes heterocigotos para mutação  $\Delta F508$ ; G3 = 17 pacientes com ausência da mutação  $\Delta F508$

Houve predominância de 62,7% (n=32) do sexo masculino. A idade dos pacientes variou entre 4 meses e 17 anos, com média de idade de 9,11 anos ( $\pm 4,74$  anos).

Os pacientes internados representaram 88,2% (45/51) da amostra estudada, enquanto 11,7% (6/51) eram ambulatoriais. Os motivos da internação foram: *check-up* anual de rotina (25/51:55,5%); exacerbação pulmonar (10/51:22,2%); febre (6/51:13,3%); baixo peso (3/51:6,7%); crise de asma (1/51:2,2%). A mediana de dias de internação foi 19, variando de 11 a 65 dias.

Oitenta e dois por cento dos pacientes eram procedentes do interior do Rio Grande do Sul e grande Porto Alegre; 12% eram moradores de Porto Alegre e seis por cento procedentes de outros estados.

A terapia de reposição enzimática foi instituída de 46 (90,2%) pacientes. De acordo com informações dos responsáveis, a mediana de utilização da enzima administrada foi de 5346,88 unidades de lipase por kg/dia (510 -15652). Quatro pacientes (7,8%) recebiam enzima acima de 10.000 unidades de lipase/kg/dia (Figura 3). Entre os diferentes grupos de pacientes não

houve diferença significativa na dose de enzima por kg/dia (teste de Kruskal-Wallis;  $p = 0,457$ ).

## 5.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS DA AMOSTRA

A tabela 2 descreve as características demográficas e clínicas da amostra estudada.

Tabela 2 - Características demográficas e clínicas dos pacientes avaliados

<b>Variáveis</b>	<b>n=51</b>
<b>Sexo – n(%)</b>	
Masculino	32 (62,7)
Feminino	19 (37,3)
<b>Etnia</b>	
Caucasóides	51 (100)
<b>Idade (anos) – Média <math>\pm</math> DP</b>	9,11 $\pm$ 4,74
<i>Homozigotos <math>\Delta F508</math> (grupo 1)</i>	9,10 $\pm$ 4,82
<i>Heterozigoto <math>\Delta F508</math> (grupo 2)</i>	8,72 $\pm$ 5,32
<i>Ausência <math>\Delta F508</math> (grupo 3)</i>	9,52 $\pm$ 4,28
<b>Origem do paciente – n(%)</b>	
Internação	45 (88,2)
Ambulatório	6 (11,8)
Motivo da internação – n(%)	
<i>Check-up de rotina</i>	25 (55,6)
<i>Exacerbação pulmonar</i>	10 (22,2)
<i>Febre</i>	6 (13,3)
<i>Baixo peso</i>	3 (6,7)
<i>Asma</i>	1 (2,2)
<i>Dias de internação – Mediana (Mín. – Máx.)</i>	19 (11 – 65)
<i>Suplementação Enzimática – n(%)</i>	46 (90,2)
<i>Percentil P/E** - Mediana (P25 – P75)</i>	38,6 (4,4 – 69,4)
<i>Percentil IMC* - Mediana (P25 – P75)</i>	30,6 (13,8 – 69,0)

\* somente para as crianças acima de 2 anos (n=44) \*\* somente para as crianças abaixo de 2 anos (n=7)

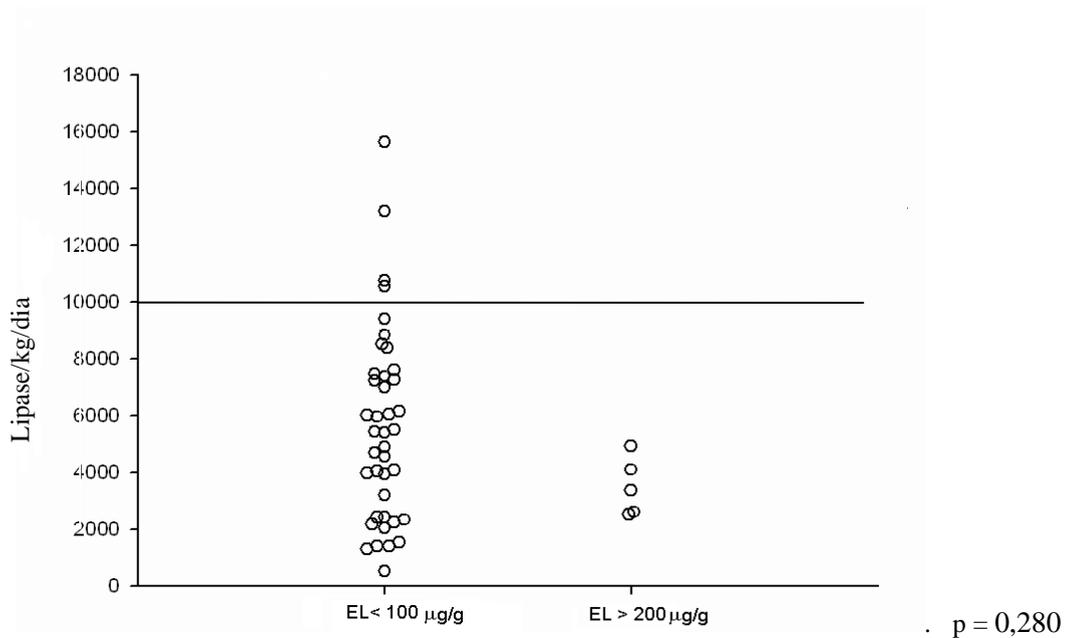


Figura 3 - Gráfico DOT PLOT: quantidade (u) de lipase kg/dia em pacientes com concentração de EL-1 fecal <100µg/g e >200µg/g

## 5.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA ELASTASE-1 FECAL

Houve 10/51 (19,6%) pacientes com concentrações de Elastase-1 fecal acima de 200µg/g, sendo considerados suficientes pancreáticos (SP). Em 41/51 (80,4%), o teste de Elastase apresentou valores abaixo de 100µg/g e os pacientes foram considerados insuficientes pancreáticos (IP). Não houve pacientes com valores de Elastase entre 100µg/g e 200µg/g (Figura 4).

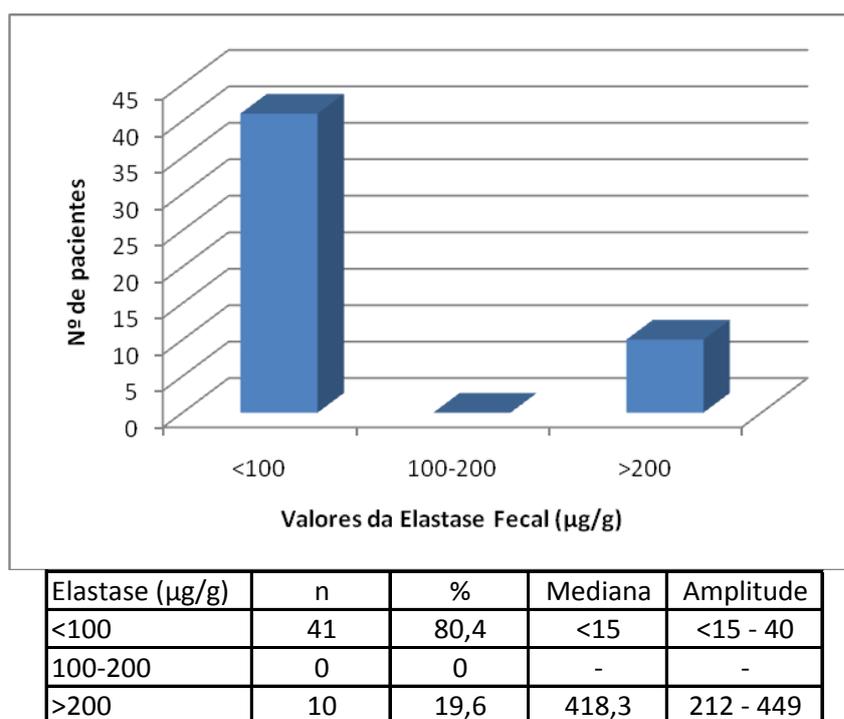


Figura 4 - Valores da Elastase fecal categorizados em três faixas na população em estudo

Em relação aos pacientes com suficiência pancreática, 3/10 (30%) eram heterozigotos para  $\Delta F508$  e 7/10 (70%) pacientes não apresentavam a mutação  $\Delta F508$ , seja em homozigose ou heterozigose. No que se refere à amostra de pacientes com IP, 17/41 (41,5%) eram homozigotos para a mutação  $\Delta F508$ , 14/41 (34,1%) eram heterozigotos para  $\Delta F508$  e 10/41 pacientes (24,4%) não apresentavam a mutação  $\Delta F508$ .

Houve associação estatisticamente significativa entre a mutação  $\Delta F508$  e a concentração da EL-1 fecal  $< 100\mu\text{g/g}$  (Tabela 3). Todos os homozigotos para  $\Delta F508$  (17/17) apresentaram insuficiência pancreática intensa. O grupo heterozigoto para  $\Delta F508$  apresentou proporções semelhantes de concentrações de Elastase.

Como pode ser observado na Tabela 3, todos os pacientes com concentração de EL-1 fecal  $< 100\mu\text{g/g}$  utilizavam enzimas. Dos 10 pacientes considerados suficientes pelo teste de Elastase, 5 (50%) faziam terapia de reposição enzimática (Tabela 3).

Tabela 3 - Relação entre idade, sexo, mutação  $\Delta F508$  e uso de enzimas com a concentração da Elastase

Variáveis	Insuficiência Pancreática			P
	Intensa (EL<100 $\mu\text{g/g}$ ) n=41 n (%)	Moderada (100<EL<200 $\mu\text{g/g}$ ) n=0 n (%)	Ausente (EL>200 $\mu\text{g/g}$ ) n=10 n (%)	
Sexo				
Masculino	26 (63,4)		6 (60,0)	1,000*
Feminino	15 (36,6)		4 (40,0)	
Faixa etária				
< 2 anos	5 (12,2)		2 (20,0)	0,474**
2 – 9 anos	15 (36,6)		5 (50,0)	
10 – 17 anos	21 (51,2)		3 (30,0)	
Mutação				
Homozigoto p/ $\Delta F508$	17 (41,5)		0 (0,0)	0,010**
Heterozigoto p/ $\Delta F508$	14 (34,1)		3 (30,0)	
Ausência de $\Delta F508$	10 (24,4)		7 (70,0)	
Terapia de reposição enzimática				
Sim	41 (100,0)		5 (50,0)	0,001*
Não	0 (0,0)		5 (50,0)	
Lipase unid. Kg/dia – Mediana (Mín. – Máx.)	5427,1 (510 – 15652)		3381,1 (2520 – 4932,0)	0,280***

\* teste Exato de Fisher \*\* teste qui-quadrado de Pearson \*\*\* teste de Mann-Whitney

A dose de lipase por kg/dia foi similar entre os grupos com concentração de EL-1 fecal <100 $\mu\text{g/g}$  e >200 $\mu\text{g/g}$ , como pode ser apreciado na Figura 3. Não houve relação entre o sexo e a faixa etária com a concentração da EL-1 fecal < 100 $\mu\text{g/g}$  (Tabela 3).

Da amostra estudada, 30/51 (58,8%) pacientes eram eutróficos, a maioria maiores de 2 anos, sendo 36,7% homozigoto para  $\Delta F508$ , 23,3% heterozigoto para  $\Delta F508$  e 40,0% não portadores desta mutação.

Desnutrição ou risco nutricional considerado como P/E ou IMC abaixo do percentil 10 e valores entre percentis 10-25 respectivamente, foram observados em 21/51 (41,2%) dos pacientes. Destes, 11 eram desnutridos e 10 apresentavam-se em risco nutricional. Tanto no grupo desnutrido quanto no grupo em risco nutricional houve uma maior prevalência da

mutação  $\Delta F508$  em heterozigose. Quando estes resultados foram analisados estatisticamente, entretanto, não houve relação entre o estado nutricional com o sexo, a idade, a mutação  $\Delta F508$  e a concentração de EL-1 fecal, como apresentado na Tabela 4.

Em relação ao IMC, a mediana do percentil para os pacientes acima de 2 anos foi de 30,6 (13,8 – 69) e do percentil de P/E foi de 38,6 (4,4 - 69,4), calculado para crianças menores de 2 anos. Do total de 51 crianças e adolescentes, 11 foram considerados desnutridos (21,6%), 10 em risco nutricional (19,6%) e 30 eutróficos (58,8%). Não houve relação entre o diagnóstico do estado nutricional, o sexo, a idade do paciente, o tipo de mutação para FC ou a concentração de EL- 1 fecal.

Tabela 4 - Relação entre sexo, idade, mutação  $\Delta F508$ , concentração da Elastase com o estado nutricional

Variáveis	Estado Nutricional			P
	Desnutrição (< P10) n=11 n (%)	Risco Nutricional (P 10-25) n=10 n (%)	Eutróficos (> P25) n=30 n (%)	
<b>Sexo</b>				
Masculino	8 (72,7)	7 (70,0)	17 (56,7)	0,558*
Feminino	3 (27,3)	3 (30,0)	13 (43,3)	
<b>Faixa etária</b>				
< 2 anos	3 (27,3)	1 (10,0)	3 (10,0)	0,580*
2 – 9 anos	4 (36,4)	3 (30,0)	13 (43,3)	
10 – 17 anos	4 (36,4)	6 (60,0)	14 (46,7)	
<b>Mutação</b>				
Homozigoto p/ $\Delta F508$	2 (18,2)	4 (40,0)	11 (36,7)	0,260*
Heterozigoto p/ $\Delta F508$	5 (45,5)	5 (50,0)	7 (23,3)	
Ausência de $\Delta F508$	4 (36,4)	1 (10,0)	12 (40,0)	
Elastase Fecal-Mediana	<15 (15 – 411,9)	<15 (15 – 17)	<15 (15 – 18)	0,541**
<b>Mediana (P25 – P75)</b>				
<b>Concentração da Elastase</b>				
<100 $\mu$ g/g	7 (63,6)	9 (90,0)	25 (83,3)	0,258*
>200 $\mu$ g/g	4 (36,4)	1 (10,0)	5 (16,7)	
(Mín.- Máx.)	(< 15-428)	(< 15-445)	(< 15-449)	

\* teste qui-quadrado de Pearson

\*\* teste de Kruskal-Wallis

---

---

## **6 DISCUSSÃO**

---

---

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

De acordo com Cardoso *et al.* (2007), no Brasil, a morbimortalidade ainda é muito grande, embora a sobrevida dos portadores de FC tenha aumentado de maneira bastante considerável nos últimos 50 anos. Isto ocorre devido aos avanços terapêuticos e acompanhamento interdisciplinar.

Desde a década de 80, o Hospital de Clínicas de Porto Alegre se constitui em um centro de tratamento da Fibrose Cística, iniciado pela equipe de Pneumologia Infantil (KANG *et al.*, 2004).

Na FC há intrínseca relação entre genótipo e fenótipo e genes modificadores têm influência no fenótipo dos pacientes com FC (ROZMAHEL *et al.*, 1996; BROWN *et al.*, 1999). Sendo assim, o paciente homocigoto para mutação  $\Delta F508$  apresenta alto grau de gravidade da doença pancreática, enquanto o paciente heterocigoto para esta mutação apresenta quadro clínico menos grave (DALLALANA, 2008). Keren *et al.* (1990) demonstra isto em seu estudo de relação entre genótipo e fenótipo, onde 99% dos 52% de homocigotos estudados tinham IP, enquanto dos 40% de heterocigotos estudados, 72% apresentaram IP. Borowitz e cols. (2004) observaram que a presença de uma mutação suave da CFTR não exclui a IP e que alguns pacientes que seriam classificados como SP pelo genótipo apresentaram manifestações clínicas (fenótipo) de IP.

Pacientes considerados suficientes pancreáticos têm uma melhor sobrevida (GASKIN *et al.*, 1982; BOROWITZ *et al.*, 2005; BOROWITZ *et al.*, 2007), enquanto os insuficientes pancreáticos exigem a utilização permanente de enzimas pancreáticas em seu tratamento. Nesses casos, há aumento de custos e podem ocorrer efeitos adversos significativos, além de

manifestações psicossociais importantes como, por exemplo, a colonopatia fibrosante, que é uma complicação não raramente observada com uso de doses de lipase acima de 10.000 unidades/Kg/dia (LITTLEWOOD *et al.*, 2006). Dados dos pacientes registrados no *Cystic Fibrosis Foundation*, do ano de 1990 a 1995, relataram que a mediana de sobrevivência dos pacientes SP é maior de 50 anos, enquanto dos IP é de 32 anos (BOROWITZ *et al.*, 2004).

Embora a suspeita de insuficiência pancreática ocorra através da avaliação clínica, sobretudo em presença de esteatorreia e desnutrição, é importante defini-la através de um método objetivo.

## 6.2 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA

### 6.2.1 Características demográficas e clínicas

A amostra do presente estudo foi constituída na totalidade de pacientes caucasóides. Houve discreta predominância do sexo masculino, como já observado em casuísticas anteriores (REIS *et al.*, 2000; WALKOWIAK *et al.*, 2002, ALVAREZ *et al.*, 2004; BAKER *et al.*, 2005). Enquanto para a doença hepática, o sexo masculino parece ser mais afetado (COLOMBO *et al.*, 2006) e para o desenvolvimento de DRFC (ALVES *et al.*, 2007), o gênero feminino parece se constituir em grupo de risco, o mesmo não é observado quando se contempla a existência de IP.

No que se refere à faixa etária, a média de idade dos pacientes foi de  $9,11 \pm 4,74$  anos. Classificando os pacientes nos 3 grupos, de acordo com a presença da mutação, a média de idade entre os homozigotos foi de  $9,10 \pm 4,82$ ; entre os heterozigotos, de  $8,72 \pm 5,32$  e os com ausência de  $\Delta F508$ , foi de  $9,52 \pm 4,28$ . Sete (14%) pacientes eram menores de dois anos. Não houve relação entre idade e a maior ou menor concentração de EL-1 fecal, a qual tem sido

relacionada à idade apenas nas primeiras semanas de vida. Baixos valores foram encontrados em recém-nascidos prematuros e a termo. Von Seebach & Henker (1997), analisaram fezes de 28 crianças nascidos pré-termo e 27 crianças nascidas a termo. Observaram um valor médio de EL de 63,9 µg/g no mecônio, que aumentou gradualmente para 200 µg/g em um mês, independente da idade gestacional. Assim, a EL-1 fecal é baixa nas primeiras semanas de crianças não portadoras de FC e subirá a níveis normais em lactentes SP.

Nesse estudo, 90,2% (46/51) dos pacientes considerados clinicamente IP faziam corretamente o uso de enzimas pancreáticas. Cinco (10,8%) pacientes, com idade de 8 meses a 10 anos, que utilizavam enzimas, apresentaram EL-1 fecal acima de 200µg/g, o que configura insuficiência pancreática.

No estudo de Cohen e cols. (2005) foram acompanhadas 85 crianças por 24 meses, com idade entre 6.0-8,9 anos e diagnóstico de leve e moderada IP (medido pelo coeficiente de absorção de gordura). As crianças faziam utilização de enzimas pancreáticas e foi verificada a concentração de EL-1 fecal em todas. Os autores classificaram os pacientes como tendo função residual pancreática aqueles com EL-1 fecal >15 µg/g e os com EL-1 fecal ≤ 15 µg/g como nenhuma atividade pancreática. Quarenta e seis casos eram homozigotos para ΔF508, 23 casos heterozigotos e seis casos com ausência de ΔF508. Dez crianças (12%) apresentaram atividade residual pancreática e 75, nenhuma atividade pancreática. As crianças sem atividade residual tinham significativamente (P = 0,007) maior probabilidade de serem homozigotos para ΔF508 (46/75) do que aquelas com atividade residual (61% versus 11%). Estes dados sugerem que um número substancial (12% da amostra) das crianças com FC apresentaram o estado pancreático mal classificado. Os autores concluíram que a avaliação da concentração da EL-1 fecal deve ser utilizado para verificar o estado pancreático dos pacientes com FC.

Borowitz *et al.* (2004) estudaram por seis meses 1.215 indivíduos de 33 locais credenciados na *Cystic Fibrosis Foundation Registry* de Nova York. A média de idade dos

pacientes foi 13,5 anos, variando de um mês a 64 anos. Fazia parte do estudo a suspensão das enzimas pancreáticas na dependência do resultado do teste da EL-1 fecal  $>200\mu\text{g/g}$ , exceto aqueles indivíduos que apresentaram pancreatite. A EL-1 fecal estava  $<200\mu\text{g/g}$  em 1.074 (88,4%) indivíduos, 1.050 recebiam enzimas pancreáticas e 24 não recebiam enzimas. Estes 24 pacientes, portanto, foram incorretamente classificados em relação ao estado funcional do pâncreas.

A concentração EL-1 fecal observada foi  $> 200\mu\text{g/g}$  em 141(11,6%) indivíduos. Sessenta (42,5%) não faziam terapia de reposição enzimática e foram classificados corretamente como suficientes pancreáticos, mas 81 (57%) utilizavam enzimas pancreáticas sem aparentemente necessitarem. Houve interrupção da terapia de reposição enzimática em 67/81 indivíduos que nunca tinham apresentado pancreatite. Somente 23 (34,3%) concordaram em recolher fezes para balanço de gordura fecal. Mediram coeficiente de absorção de gordura (CAG) após um mês de interrupção de enzimas e tiveram uma média de 96,1% de CAG. Anterior a este estudo, 181/1.215 dos indivíduos nunca tinham realizado um teste objetivo para verificação da função pancreática. A hipótese dos autores de que um número apreciável de pacientes com FC estava classificado erroneamente foi confirmada pelo teste da EL-1 fecal.

Em relação à quantificação da terapia de reposição enzimática, no presente estudo, observou-se que 4/51 (7,8%) ingeriram acima de 10.000 unidades por quilograma de lipase de peso corporal por dia, mas nenhum paciente apresentou a complicação que pode estar associada a altas doses.

### **6.2.2 Atividade da Elastase-1 Fecal**

O Quadro 4 demonstra vários estudos da atividade da EL-1 fecal pelo método Elisa monoclonal e relação com a mutação  $\Delta F508$  da Fibrose Cística em diversos países.

Autor, ano, país	Número de indivíduos	Faixa Etária	Perfil genético	Concentração da Elastase Fecal
Gullo <i>et al.</i> , 1997 Itália	"n" = 72 22 FC	1-14 anos	Não estudado	a) FC com alterações pancreáticas: 22 casos 20/22: EL<20 $\mu$ g/g b) pacientes s/FC e Sem desordem pancreática: 23 casos 20/23 EL>500 $\mu$ g/g 3/23 EL>300<500 $\mu$ g/g c) Controles: 27 hígidos 27/27 EL>500 $\mu$ g/g
Cade <i>et al.</i> , 2000 Reino Unido	142 FC  85 controles	0,1-20,8 anos	93 $\Delta F508$ hmz** 38 $\Delta F508$ htz*** 11 ñ $\Delta F508$	137/142 EL < 100 $\mu$ g/g a) $\Delta F508$ hmz**: EL mediana =10 $\mu$ g/g(2-33) b) $\Delta F508$ htz*: EL mediana=12 $\mu$ g/g(4-39) c) ñ $\Delta F508$ : EL mediana= 29 $\mu$ g/g(4-33) d)Controles:EL= 615 $\mu$ g/g (420-773)
Meyts <i>et al.</i> , 2002 Bélgica	25 FC	13,6 anos ( $\pm$ 5,39)	15 $\Delta F508$ hmz** 6 $\Delta F508$ htz*** 4 ñ $\Delta F508$	19 casos= EL c/ níveis abaixo da detecção do limite inferior do ensaio 15/15 $\Delta F508$ hmz ** 3/6 $\Delta F508$ htz*** 1/4 ñ $\Delta F508$
Galvão <i>et al.</i> , 2004 Brasil ABSTRACT	68 FC	0-22 anos	13 $\Delta F508$ hmz** 27 $\Delta F508$ htz*** 18 ñ $\Delta F508$	Concentração da EL não foi dividido de acordo com as mutações. Dos 68:59 EL<100 $\mu$ g/g, 3 EL >110<200 $\mu$ g/g, 6 EL > 200 $\mu$ g/g
Walkowiak <i>et al.</i> , 2005 Polônia	27 FC	< 2 anos	51 alleles $\Delta F508$ , 5 outros alleles	1º ensaio no período 3-4 meses: EL< 200 $\mu$ g/g em todos pacientes 2º ensaio aos 6 meses: EL < 100 $\mu$ g/g em todos pacientes 3º ensaio aos 12 meses de idade EL < 100 $\mu$ g/g em 100% pacientes
Nosso estudo, 2009  Brasil HCPA	51 FC	9,11 anos ( $\pm$ 4,74)	17 $\Delta F508$ hmz** 17 $\Delta F508$ htz*** 17 ñ $\Delta F508$	Homozigotos 17/17 EL<100 $\mu$ g/g  Heterozigotos 14/17EL<100 $\mu$ g/g 3/17EL>200 $\mu$ g/g  ñ $\Delta F508$ 10/17EL <100 $\mu$ g/g 7/17EL>200 $\mu$ g/g

Quadro 4 – Estudos sobre atividade da Elastase-1 Fecal pelo método Elisa monoclonal e relação com a mutação  $\Delta F508$  da Fibrose Cística

\*\*Hmz= homozigoto \*\*\*Htz=Heterozigoto

Gullo *et al.* (1997), analisaram três grupos de crianças, sendo 27 saudáveis, 22 com FC e 23 sem doença pancreática. Comparou o resultado da EL-1 fecal com quimiotripsina fecal.

Vinte dos vinte dois pacientes com FC tinham valores de EL-1 fecal  $<20 \mu\text{g/g}$ . Diferenças significativas entre os valores da EL-1 dos pacientes com FC e os dois grupos foram altamente significativas ( $P<0,001$ ). Os autores utilizaram o valor de  $132\mu\text{g/g}$  como ponto de corte e encontraram uma sensibilidade de 96% e especificidade de 100% para determinação de IP.

Cade *et al.* (2000) estudaram 142 crianças com FC, sendo 93 homozigotos para  $\Delta\text{F508}$ , 38 heterozigotos para  $\Delta\text{F508}$  e 11 não  $\Delta\text{F508}$ . Somente 7 pacientes apresentaram-se SP pelo teste. A mediana de EL-1 fecal dos pacientes IP foi de  $10\mu\text{g/g}$ . Houve diferenças estatisticamente significativas entre os valores da EL-1 fecal dos pacientes IP e SP ( $P=0,0001$ ) e pacientes IP e grupo controle ( $P<0,0001$ ), mas não houve entre os SP e grupo controle. Os valores da mediana da EL-1 fecal dos homozigotos e heterozigotos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $P=0,62$ ).

No estudo de Meyts *et al.* (2002), 25 pacientes com FC tiveram suas fezes coletadas em sete dias consecutivos. Os autores utilizaram  $200\mu\text{g/g}$  como ponto de corte. Dezenove pacientes tinham IP clássica, com base em sintomas de má absorção e 72 horas de balanço de gordura fecal. Foi confirmado pelo teste que os 19 pacientes tinham IP grave com valores abaixo do limite inferior da detecção do ensaio. Quinze homozigotos para  $\Delta\text{F508}$ , três heterozigotos para  $\Delta\text{F508}$  e um não  $\Delta\text{F508}$ . Este estudo concluiu que o teste pode ser utilizado para diagnosticar IP grave em pacientes com FC.

Galvão *et al.* (2004), sob a forma de *Abstract*, analisaram o perfil genético dos pacientes com FC e avaliaram a IP pelo teste da EL-1 fecal. Cinquenta e nove dos 68 pacientes apresentaram IP grave, três casos com IP moderada e seis casos com SP. A mutação  $\Delta\text{F508}$  estava presente em 69% dos casos. A EL-1 fecal revelou IP grave na maioria dos casos. Neste estudo não houve correlação entre a presença ou ausência da mutação  $\Delta\text{F508}$  com a frequência de desnutrição e ou a idade no momento do diagnóstico.

Já Walkowiak *et al.* (2005) quantificaram a Elastase em 27 crianças com FC em três ensaios em períodos diferentes. No primeiro ensaio as crianças tinham de três a quatro meses de idade e todos apresentavam concentrações abaixo de 200µg/g. No segundo, aos seis meses, apresentaram valores inferiores a 100µg/g. O estudo foi feito em crianças menores de dois anos que tinham mutações classe I ou II (51 alleles ΔF508, 5 outros alleles). Na última medição da concentração, aos 12 meses de idade, 100% das crianças apresentaram-se IP. Neste estudo, os autores recomendaram que pacientes com FC tenham um acompanhamento atento do estado do pâncreas a partir do diagnóstico. Os autores utilizaram 200µg/g como ponte de corte.

No nosso estudo, 80,4% (41/51) dos pacientes, nos quais havia suspeita de IP, apresentaram níveis de Elastase-1 fecal abaixo de 100µg/g. Assim como no estudo de Galvão e cols. (2004), a EL-1 fecal revelou IP grave na maioria dos casos. Na amostra do presente estudo, 78% (40 /51) dos pacientes estavam com Elastase abaixo de 15 µg/g (limite inferior da detecção do ensaio). Como já descrito por Meyts *et al.* (2002) 76% (19/25) dos pacientes estudados apresentaram valores muito baixos. Resultados similares foram observados por Phillips *et al.* (1999), onde a concentração da EL-1 fecal dos pacientes com FC homozigotos para ΔF508 (15/15) estava abaixo de 15 µg/g (limite inferior do ensaio). No presente estudo, 17 pacientes homozigotos para ΔF508 apresentaram concentração de EL-1 fecal abaixo de 100µg/g. O mesmo não ocorreu em relação aos pacientes heterozigotos. Estes resultados estão de acordo com a literatura geral em que os pacientes homozigotos para ΔF508 apresentam maior relação com a IP que os heterozigotos e os não ΔF508 (KEREN *et al.*, 1990; DAFTARY *et al.*, 2006). Nosso estudo apresentou mediana de EL-1 fecal entre os grupos com valores muito baixo <15µg/g, semelhante ao de Cade *et al.* (2000), que relatam mediana de 10µg/g entre os IP.

Em relação à idade, Cohen *et al.* (2005) estimaram que cerca de 85% dos pacientes portadores de FC, apresentam IP. Na presente investigação, nos pacientes em idade escolar na faixa dos 10 aos 17 anos, predominou o grupo de concentração de EL-1 fecal < 100µg/g; foram encontradas cinco (12,5%) crianças menores de dois anos com concentração de EL-1 fecal <100µg/g. Walkowiak *et al.* (2005) encontraram em sua casuística que 100% (27/27) dos pacientes apresentavam IP aos 12 meses de idade.

O Quadro abaixo demonstra em diversos estudos que o teste EL-1 fecal apresenta boa sensibilidade e especificidade para verificação da insuficiência pancreática exócrina, mesmo com pontos de corte diferentes.

Ano/Autor	Doença	Idade em anos	Teste comparativo	Sensibilidade	Especificidade	Ponto de corte
Looser <i>et al.</i> , 1996	Pancreatite	27-52	Quimiotripsina fecal	63-100%	93%	200µg/g
Gullo <i>et al.</i> , 1997	FC	1-14	Quimiotripsina fecal	96%	100%	132µg/g
Soldan <i>et al.</i> , 1997	FC	8-25,3	Secretina-pancreozimina	100%	96%	200µg/g
Cade <i>et al.</i> , 2000	FC	0,1-20,8	Estudo com controles normais	99%	86%	200µg/g

Quadro 5 – Sensibilidade e especificidade do teste Elastase-1 fecal monoclonal

Weintraub *et al.* (2009), em seu estudo de correlação entre testes de função pancreática exócrina em pacientes com FC suficientes pancreáticos, relata que a EL-1 fecal é um teste de pouco valor para esses pacientes, sugerindo que o coeficiente de gordura fecal tem um melhor desempenho. No entanto no Consenso Europeu de 2005, sobre os padrões de atendimento para pacientes com FC, é recomendado o teste da EL-1 fecal para verificação da função pancreática. O consenso sugere que os pacientes SP, cujos genótipos sejam associados à IP,

utilizem o teste para acompanhamento anual. O teste poderá ser feito com frequência menor para aqueles pacientes com genótipos associados à maior preservação do pâncreas (KEREM *et al.*, 2005).

### 6.2.3 Estado nutricional

O Quadro 6 apresenta estudos brasileiros sobre o estado nutricional de pacientes com FC.

Autor, ano, estado	N	Idade	Presença de $\Delta F508$	Presença de desnutrição
Reis <i>et al.</i> , 2000 Minas Gerais	124/127	<18 anos à admissão	n=106 17 homozigoto 30 heterozigoto	63% admissão 45% final seguimento (mediana 44 meses)
Galvão <i>et al.</i> , 2004 São Paulo	77	0-22 anos	n= 58 13 homozigoto 27 heterozigoto	15% em lactentes
Simon, 2006 Rio G. do Sul	85	11,2±3,2anos	n=72 14 homozigotos 24 heterozigotos	8,2%
Ziegler <i>et al.</i> , 2007 Rio G. do Sul	41	23±6,5 anos (16 – 47)	Não estudado	22%
Pinto <i>et al.</i> , 2009 Pernambuco	21	8,4±4,6 anos	Não estudado	WHO: 66,7% Consenso: 33%
Presente Estudo, 2009	51	9,11±4,74anos	n=51 17 homozigotos 17 heterozigotos	21,6%

Quadro 6 – Estado nutricional de pacientes brasileiros com Fibrose Cística de séries publicadas a partir do ano 2000

No presente estudo, foram utilizados o percentil do IMC para as crianças e adolescentes maiores de dois anos e o percentil do P/E para os menores de dois anos, conforme recomendações do *Consensus Report on Nutrition for Pediatric Patients With Cystic Fibrosis* (BOROWITZ *et al.*, 2002). O referido consenso estabelece que o ponto de corte para desnutrição seja o percentil 10 para ambos os parâmetros, o risco nutricional situado entre os percentis 10 e 25, e a eutrofia ou o estado nutricional almejado acima do percentil 25. Dos 51

pacientes avaliados, 30 (58,82%) foram classificados como eutróficos; 11, (21,56%) desnutridos; 10, (19,60%) em risco nutricional, demonstrando uma baixa prevalência de desnutrição. Situação diversa foi relatada em um estudo em Minas Gerais onde Reis *et al.* (2000) acompanharam pacientes com FC por 20 anos, em um centro de tratamento de FC, sendo que 44% dos 83% pacientes que fizeram identificação genética eram  $\Delta F508$ . Os autores encontraram prevalência de desnutrição na admissão ao programa de acompanhamento (mediana de 44 meses), de 63%, reduzindo-se para 45% no final do seguimento. Cabe ressaltar que os autores utilizaram um ponto de corte abaixo de menos dois DP para o diagnóstico de desnutrição. Galvão *et al.* (2004), em *Abstract* apresentado em um congresso em Paris, verificaram o estado nutricional em crianças e adolescentes com idade de zero a 22 anos e 15% de 64 casos avaliados apresentaram desnutrição em lactentes, utilizando menos dois DP como ponto de corte. A identificação da mutação foi feita em 58 pacientes, sendo: 13 (22,4%) homozigoto para  $\Delta F508$ ; 27(46,6%) heterozigoto; 18 (31%) com ausência de  $\Delta F508$ . Neste estudo não houve correlação entre a presença ou ausência da mutação  $\Delta F508$  e a frequência de desnutrição.

Já Simon (2006), numa dissertação de mestrado, avaliou 85 crianças entre seis e 18 anos, deste mesmo centro de referência. Foi feita identificação da mutação em 72 pacientes (85%), sendo 14 (20%) homozigotos e 24 (34%) heterozigotos para  $\Delta F508$ . A autora utilizou como pontos de corte acima do percentil 10 do IMC e  $<90\%$  do P/E, conforme Consenso Europeu (SINAASAPPEL *et al.*, 2002). O estudo encontrou 77,7% de eutróficos, 14,1% PIMC 10 e 25 e 8,2% abaixo do P10. Neste estudo, a autora concluiu que o IMC abaixo do percentil 10 é fator preditivo de redução do volume expiratório forçado.

Recentemente, Ziegler *et al.* (2007) avaliaram 41 pacientes neste mesmo hospital com idade de  $23,7 \pm 6,5$  anos, que foram classificados através do IMC. Consideraram estado nutricional normal quando o IMC estava  $\geq 20 \text{ Kg/m}^2$ , risco nutricional entre  $18,5\text{-}19,9 \text{ Kg/m}^2$

e desnutridos quando inferior a  $18,5 \text{ Kg/m}^2$ . A eutrofia apresentou-se em 26 (63,4%) dos pacientes, risco nutricional em 61 (4,6%) casos e desnutrição em 9 (22%). Não houve associação entre o estado nutricional e a função pulmonar. Simon (2006) e Ziegler *et al.* (2007) não tinham como objetivo estudar as relações entre estado nutricional e a insuficiência pancreática.

Ao avaliar o estado nutricional dos pacientes com FC, deve-se levar em conta qual o critério a ser utilizado, se aquele preconizado pelo OMS (Organização Mundial da Saúde) ou pelos Consensos de FC. Em estudo recente de Pinto *et al.* (2009), os autores utilizaram dois métodos para verificação do estado nutricional em pacientes de FC no Nordeste do Brasil. Os pacientes tinham média de idade de  $8,4 \pm 4,6$  anos e foram classificados como desnutridos aqueles com percentual de P/E < 90%, seguindo o Consenso de FC. Foram observados 66,7% eutróficos e 33,3% com déficit nutricional. Quando estes autores utilizaram os padrões da OMS para crianças menores de cinco anos e a NCHS (*National Center for Health Statistics*) para maiores de 5 anos, encontraram 33,3% eutróficos e 66,7% desnutridos. Foi utilizado como ponte de corte menos um DP. Os autores não fizeram identificação das mutações nesses pacientes. Observou-se que o percentual de desnutridos divergiu quando avaliados pelos padrões da OMS. Este estudo somente descreveu o perfil dos pacientes com FC, não relacionando com a IP e outras variáveis de estudo.

Grande número de autores (BOROWITZ *et al.*, 2004; RIBEIRO *et al.*, 2002; GASKIN *et al.*, 1982; SINAASAPPEL *et al.*, 2002) afirmam que o paciente com FC que não desenvolve IP tem um melhor prognóstico para a doença. Evans *et al.* (2001) creditam isso à manutenção de um melhor estado nutricional. Na presente pesquisa, não se encontrou relação entre o estado nutricional em geral com a maior ou menor concentração da EL-1 fecal. Quando se considerou apenas os 11 desnutridos, se observou que também não houve relação com a concentração de EL-1 fecal abaixo de  $200 \mu\text{g/g}$ . Esses resultados são semelhantes aos

de Baker *et al.* (2005) que quantificaram a concentração da Elastase em 164 pacientes  $\leq$  dois anos e 148/164 apresentaram EL-1 fecal abaixo de  $200\mu\text{g/g}$ . Somente 8,8% (13/148) estavam com déficit nutricional, avaliados através do percentil do P/E. Neste mesmo estudo um grande número de pacientes 84 SP e 725 IP, com idade entre três e 20 anos, foram avaliados pelo percentil do IMC, os quais não apresentaram relação entre o estado nutricional e concentração da EL-1 fecal.

### 6.3 LIMITAÇÕES RELACIONADAS AO ESTUDO

Por questões financeiras, o número de testes foi limitado. Uma limitação do presente estudo é a ausência de comparação com um teste padrão áureo. Não foi possível testar sensibilidade, especificidade e coeficiente de variação (CV) interensaio das fezes dos pacientes. Coletou-se somente uma amostra aleatória de fezes de cada indivíduo, não sendo possível testar este coeficiente. O CV intraensaio mede variações entre as duplicatas, ou seja, mediu-se a concentração da EL-1 fecal duas vezes nas mesmas amostras de fezes. Na presente pesquisa não se conseguiu medir o CV intraensaio dos pacientes que apresentaram concentração de EL-1 fecal reduzida ( $< 200\mu\text{g/g}$ ), pois os valores das alíquotas estavam abaixo do limite inferior do ensaio ( $15\mu\text{g/g}$ ). Meyts *et al.* (2002) demonstraram que o CV intraensaio, baseado em duplicatas, apresentou baixa variabilidade com valores aproximados de 4,06%. Phillips *et al.* (1999) relatam o valor médio de  $457\mu\text{g/g}$  (124-1683), com uma variação intraensaio de 6,4% e variação interensaio de 8,8% em pacientes com investigação de sangue oculto nas fezes. Loser *et al.* (1996) citaram o valor de 7,7% de CV interensaio e 5,8% de variações intraensaio de pacientes com pancreatite crônica. Segundo Cade *et al.* (2000), o CV interensaio e intraensaio são baixos. A EL-1 fecal é um teste indireto, exato e reprodutível da função pancreática, pois os valores são confiáveis em uma pequena amostra

de fezes. Os autores mediram os CV da EL-1 fecal em pacientes com FC e encontraram valores de 7,0% (intraensaio) e de 7,2% (interensaio).

#### 6.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos últimos anos, houve um aumento da sobrevida dos pacientes com FC, devido aos avanços científicos. Contudo a avaliação do correto estado pancreático nestes pacientes ainda é um desafio. Eles são avaliados pelas manifestações clínicas e classificados em insuficientes pancreáticos, se apresentarem esteatorreia e baixo peso.

Sendo a insuficiência pancreática uma importante manifestação clínica dos pacientes com Fibrose Cística é fundamental um diagnóstico correto para o tratamento adequado destes pacientes. O teste Elastase-1 fecal, é de fácil execução e poderá ser feito com uma pequena amostra de fezes. Com os resultados obtidos sugere-se que o teste Elisa Elastase Monoclonal pode ser padronizado para avaliar a função pancreática dos pacientes com FC, estando-se de acordo com Daftary e cols. (2006), os quais sugerem que sejam analisadas amostra de fezes de dias consecutivos de um mesmo paciente.

Durie e cols. (1984), em seu estudo sobre testes de função pancreática para pacientes com FC, relatam alguns critérios a serem observados para que o teste seja satisfatório. Incorporou-se as sugestões dos autores, citando alguns desses critérios como pontos positivos da EL-1 fecal ( Quadro 7).

<b>PONTOS NEGATIVOS</b>
1. A concentração da EL-1 fecal é modificada em presença de lesão intestinal (NOUSIA <i>et al.</i> , 2003) e flora intestinal alterada (MASOERO <i>et al.</i> , 2000).
2. Interpretação deve ser cuidadosa em fezes diarréicas (MASOERO <i>et al.</i> , 2000).
3. Incapacidade de distinguir IP primária da secundária (DAFTARY <i>et al.</i> , 2006).
4. Avalia apenas a IP endógena (DAFTARY <i>et al.</i> , 2006).
<b>PONTOS POSITIVOS</b>
1. Boa correlação entre o teste secretina–pancreozimina (BOROWITZ <i>et al.</i> 2004).
2. Não é degradada no trânsito intestinal (LOSER <i>et al.</i> , 1996).
3. Espécime de fácil obtenção (BOROWITZ <i>et al.</i> , 2004).
4. Sem armazenamento especial (BOROWITZ <i>et al.</i> , 2004).
5. Boa aceitação dos pacientes (BOROWITZ <i>et al.</i> , 2004).
6. Fácil execução (KATISCHINSKI <i>et al.</i> , 1997).
7. Não invasivo (LOSER <i>et al.</i> , 1996).
8. Baixo Custo (KATISCHINSKI <i>et al.</i> , 1997)
9. Não reage com as enzimas suínas (BOROWITZ <i>et al.</i> , 2004)

Quadro 7 – Pontos negativos e positivos do teste Elastase-1 fecal monoclonal

Considerando as limitações de testes diretos e indiretos para avaliação da função pancreática exócrina, a EL-1 fecal é uma alternativa atraente para a detecção e acompanhamento da insuficiência pancreática (DAFTARY *et al.*, 2006) e poderá ser utilizado como teste de triagem para classificar o estado pancreático e tornar-se padrão no cuidado com os pacientes portadores de FC (BOROWITZ *et al.*, 2004).

---

---

## **7 CONCLUSÕES**

---

---

## 7 CONCLUSÕES

- O teste Elastase, foi padronizado, é de fácil execução e foi possível realizar com pequenas amostras de fezes em pacientes até 18 anos.
- Não houve relação entre os valores de EL-1 fecal com sexo, idade e o estado nutricional.
- A atividade de EL-1 fecal  $<100 \mu\text{g/g}$ , indicativa de insuficiência pancreática grave, foi observada em 17/17 (100%) pacientes homozigotos para a mutação  $\Delta\text{F508}$ , 14/17 (82,3%) heterozigotos para a mesma mutação e 10/17 (58,8%) pacientes com ausência da mutação  $\Delta\text{F508}$ . Cinco de 46 (10,8%) pacientes em terapia de reposição enzimática apresentaram atividades de EL-1 fecal  $>200\mu\text{g/g}$ , indicativas de suficiência pancreática.

---

---

## **8 REFERÊNCIAS**

---

---

## 8 REFERÊNCIAS

1. Abreu e Silva FA & Palombini BC. Fibrose Cística (mucoviscosidade) In: Corrêa da Silva, LC. Compêndio de Pneumologia. 2. ed. São Paulo: BYK; 1991.p.977-84.
2. Alvarez AE ,Ribeiro FA, Hessel G ,Bertuzzo CS, Ribeiro JD. Fibrose cística em um centro de referência no Brasil: características clínicas e laboratoriais de 104 pacientes e sua associação com o genótipo e a gravidade da doença.J Pediatr (Rio J) 2004; 80(5):371-379.
2. Alves CAD, Aguiar RA, Alves ACS, Santana MA. Diabetes melito: uma importante comorbidade da fibrose cística. J Bras Pneumol 2007;33(2):213-221.
3. Amanquah SD, Darko R, Maddy SQ, Duah OA. Faecal pancreatic elastase-1 a non invasive measure of exocrine pancreatic function. West Afr J Med 2004 ;23(3):240-244.
4. Andersen DH. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease. Am J Dis Child 1938;56:344-399.
5. Anderson CM, Burke V, Gracey M. The exocrine pancreas: development, physiology and disease. In: Paediatric gastroenterology, 2<sup>nd</sup> edn. Blackwell, Melbourne, Oxford London, Edinburgh, Boston, Palo Alto, 1987, p 456-502.
6. Baker SS, Borowitz D, Duffy L, Fitzpatrick L, Gyamfi J, Baker RD. Pancreatic enzyme therapy and clinical outcomes in patients with cystic fibrosis. J Pediatr 2005;146:189-193.
7. Beharry S, Ellis L, Corey M, Marcon M, Durie P. How useful is Fecal Pancreatic Elastase 1 as a Marker of Exocrine pancreatic Disease? J Pediatr 2002 ;141(1):82-90.
8. Bernardino AL, Ferri A, Passos-Bueno MR, Kim CE, Nakaie CM, Gomes CE, Damasceno N, Zatz M. Molecular analysis in Brazilian cystic fibrosis patients reveals five novel mutations. Gent. Test 2000;4: 69-74.
9. Borowitz D. Evidence for the diagnosis of pancreatic insufficiency. Pediatr Pulmonol 2000;29:167-168.
10. Borowitz D. Update on the evaluation of pancreatic exocrine status in cystic fibrosis. Curr Opin Pulm Med 2005;11:524–527.
11. Borowitz D, Baker RD, Stalling V. Consensus Report on Nutrition for Pediatric Patients With Cystic Fibrosis. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2002; 35:246-59
12. Borowitz D, Baker SS, Duffy L, Baker RD, Fitzpatrick L, Gyamfi J, Jarembek K. Use of fecal elastase-1 to classify pancreatic status in patients with cystic fibrosis. The Journal of Pediatrics 2004; 322-326.
13. Borowitz DS, Grand RJ, Durie PR and the Consensus Committee. Use of pancreatic enzyme supplements for patients with cystic fibrosis in the context of fibrosing colonopathy. J Pediatr 1995;127:681-684.

14. Borowitz D, Lin R, Baker SS. Comparison of Monoclonal and Polyclonal ELISAs for Fecal Elastase in Patients With Cystic Fibrosis and Pancreatic Insufficiency. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2007; 44: 219–223.
15. Brown T, Schwind EL. Update and Review: Cystic Fibrosis. *Journal of Genetic Counseling* 1999; 8(3).
16. Cabello GM, Cabello EH, Llerena JJr, Fernande O, Harris A. The 3120+1G>A splicing mutation in CFTR is common in Brazilian cystic fibrosis patients. *Hum. Biol* 2001;73: 403-409.
17. Cade A, Walters MP, McGinley N, Firth J, Brownlee SP, Littlewood JM. Evaluation of fecal pancreatic elastase-1 as a measure of pancreatic exocrine function in children with cystic fibrosis. *Pediatric Pulmonology* 2000; 29: 172-176.
18. Campos JVM. Defeitos pré-entéricos da absorção. Parte 5. In: Dani R, Castro LP – Eds. *Gastroenterologia Clínica*. 3. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 1993;48:725-732.
19. Cardoso AL, Gurmini J, Spolidoro JVN, Nogueira RJN. Nutrição e Fibrose Cística. *Rev Bras Nutr Clin* 2007;22(2):146-154.
20. Castro HE, Cortina LS, Carro LM. Fibrose Cística. In: Ferreira CT, Carvalho E, Silva RS, editors. *Gastroenterologia e hepatologia em pediatria – diagnóstico e tratamento*. Rio de Janeiro: Medsi;2003
21. CDC growth charts: United States. Kuczmarski RJ, Ogden CL, Grummer-Strawn LM, Flegal Km, Guo SS, Wei R *et al.* *Adv. Data* 2000;8(314):1-27.
22. Cohen JR, Schall JI, Ittenbach RF, Zemel B, Stallings VA. Fecal Elastase: Pancreatic Status Verification and Influence on Nutritional Status in Children with Cystic Fibrosis. *JPGN* 2005;40: 438-444.
23. Colombo C, Battezzati PM, Crosignani A, Morabito A, Costantini D, Padoan R, Giunta A. Liver disease in cystic fibrosis: a prospective study on incidence, risk factors, and outcome. *Hepatology*. 2002;36(6):1374-82.
24. Colombo C, Russo MC, Zazzeron L, Romano G. Liver Disease in Cystic Fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006; 43(Suppl 1).
25. Cordeiro AJA & Robalo. *Pneumologia Fundamental*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian, 1995: 322-329.
26. Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, Gauthier L, Jeanneret A, Lavoie A, *et al.* Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab* 2005;31:221-232.
27. Cystic Fibrosis Mutation database In: CFMDB Statistics. Disponível <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/statisticsPage.html>. Acesso em março 2010.
28. Daftary A, Acton J, Heubi J, Amin R. Fecal elastase-1: Utility in pancreatic function in cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis* 2006; 5: 71-76.

29. Dalcin PTR & Abreu e Silva FA. Fibrose Cística no adulto: aspectos diagnósticos e terapêuticos. *J Pneumol.* 2008;34(2):107-117.
30. Dalcin PTR, Rampon G, Pasin LR, Becker SC, Ramon GM, Oliveira VZ. Percepção da gravidade da doença em pacientes adultos com fibrose cística. *J Bras Pneumol.* 2009;35(1):27-34.
31. Dallalana LT. Fibrose Cística. In: Tarantino, AB. *Doenças Pulmonares.* 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008:546-550.
32. Dominici R & Franzini C. Fecal elastase-1 as a test for pancreatic function: a review. *Clin Chem Lab Méd.* 2002; 40(4): 325-332.
33. Dorfman R, Zielenski J. Genotype-Phenotype Correlations in Cystic Fibrosis In: *Cystic Fibrosis in the 21 st Century.* Switzerland: Karger AG;2006.p 61-68.
34. Döring G, Elborn JS, Johannesson M, Jonge H, Griese M, Smyth A, Heijerman H. For the Consensus Study Group. Clinical trials in cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis* 2007;6: 85–99.
35. Durie PR, Gaskin KJ, Corey M, Kopelman H, Weizman Z, Forstner G. Pancreatic Function Testing in Cystic Fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1984;3 Suppl 1:S89-98
36. Durno C, Corey M, Zielenski J, Tullis E, Tsui L-C, Durie P. Genotype and phenotype correlations in patients with cystic fibrosis and pancreatitis. *Gastroenterology* 2002;123: 1857-1864.
37. Evans AK, Fritzgerald DA, Mckay KO. The impact of meconium ileus on the clinical course of children with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 2001;18(5):784-789.
38. Fagundes EDT, Roquete MLV, Penna FJ, Reis FJC, Goulart EMA, Duque CG. Fatores de risco da hepatopatia da fibrose cística. *J Pediatr (Rio J).* 2005;81(6):478-484.
39. Faranchak AP & Sokol RJ. Cholangiocyte biology and cystic fibrosis liver disease. *Semin Liver Dis* 2001;21:471-88.
40. Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR et al. Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report. *J Pediatr.* 2008;153(2):S4-S14.
41. Fitz SC. The changing epidemiology of cystic fibrosis. *J Pediatr*1993;122:1-9.
42. Galvão LC, Ribeiro A, Rodrigues AAC, Fernandes MM, Bertuzzo C. Evaluation of the Delta F508 mutation and of pancreatic insufficiency by the fecal elastase test and of some clinical characteristics of children and adolescents with cystic fibrosis [poster section abstract PO815]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004 June;39(suppl.1):s367. [2<sup>nd</sup> World Congress of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, Paris 2004 July 3-7].

43. Gaskin KJ, Durie PR, Lee L, Corey M, Levison H, Forstner G. Improved respiratory prognosis in patients with cystic fibrosis with normal fat absorption. *J Pediatr* 1982;100:857-862.
44. Gaskin KJ. The liver and biliary tract in cystic fibrosis. In: Suchy Fj, Sokol Rj, Balistreri WF – Eds. *Liver Disease in Children*. Filadélfia: Lippincott Williams & Wilkins,2001:549-65.
45. Gullo L, Graziano L, Babbini S, Battistini A, Lazzari R, Pezzilli R. Faecal elastase 1 in children with cystic fibrosis. *Eur J Pediatr* 1997. 156: 770-772.
46. Iwańczak F, Smigiel R, Stawarski A, Pawłowicz J, Stembalska A, Mowszet K, Sasiadek M. Genotype and phenotype of gastrointestinal symptoms analysis in children with cystic fibrosis. *Pol Merkur Lekarski*. 2005 ;18(104):205-209.
47. Kang SH, Piovesan DM, Hoffmann CF, Francisco E, Millán T, Lacerda C, *et al*. Características dos pacientes adolescentes e adultos com Fibrose Cística do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. *Revista AMRIGS* 2004;48(3):162-170
48. Katschinski M, Schirra J, Bross A, Goke B, Arnold R. Duodenal Secretion and Fecal Excretion of Pancreatic Elastase-1 in Healthy Humans and Patients with Chronic Pancreatitis. *Pancreas* 1997;15(2):191:200.
49. Keller J, Aghdassi AA, Lerch MM, Mayerle JV, Layer P. Tests of pancreatic exocrine function – clinical significance in pancreatic and non-pancreatic disorders. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2009;23(3):425-39. Review.
50. Kerem E, Conway S, Elborn S, Heijerman H. Standards of care for patients with cystic fibrosis: a European consensus. *Journal of Cystic Fibrosis* 2005;4:7-26.
51. Kerem E, Corey M, Kerem B, Rommens J, Markiewicz D, Levison H, Tsui L, Durie P. The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis analysis of the most common mutation ( $\Delta F508$ ). *N Engl J Med* 1990;323:1517-1522.
52. Knowles MR, Stutts MJ, Yankaskas JR, Gatzky JT, Boucher RCJr. Abnormal respiratory epithelial ion transport in cystic fibrosis. *Clin. Chest Med* 1986;7:285-297.
53. Largman C, Brodrick JW, Geokes C. Purification and characterization of two human pancreatic elastases. *Biochemistry* 1976;15: 2491-2500.
54. Leus J, Van Bieruliet S, Robberecht E. Detection and follow up of exocrine pancreatic insufficiency in Cystic fibrosis: a review. *Eur J Pediatr* 2000;159:563-568.
55. Littlewood JM, Wolfe SP, Conway SP. Doagnosis and Treatmente of intestinal malbsorption in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonl* 2006;41(1):35-49.
56. Littlewood JM. Abdominal pain in cystic fibrosis. *J R SocMed* 1995;88(Suppl. 25):9-17.
57. López-Manzanares FJM, Castillo GC, Molina MM *et al*. Enfermedad hepática y de lãs vias biliares em La fibrosis quística. In: Fernández FJP – Ed. *Fibrosis Quística: Atención Integral, Manejo Clínico y Puesta al Día*. Granada-Es: Alhulia,1998;225-88.

58. Loser C, Mollgaard A, Folsch UR. Faecal elastase 1: a novel, highly sensitive, and specific tubeless pancreatic function test. *Gut* 1996; 39: 580-586.
59. Mallory PA, Travis A. Human pancreatic enzymes: purification and characterization of a none lastolytic enzyme. *J Biochem* 1975; 14:722-730
60. Maróstica PJC, Santos JA, Souza WAS, Raskin S, Silva FAA. Estimativa da incidência de Fibrose Cística em Porto Alegre: análise a partir da frequência da mutação delta F508 em recém-nascidos normais. *Rev. Amrigs* 1995;39 : 205-207.
61. Martins CS, Ribeiro F, Costa FF. Frequency of the cystic fibrosis DF508 mutation in a population from São Paulo state. *Braz J Med Biol Res.* 26 1993; 1037-1040.
62. Masoero G, Zaffino C, Laudi C, Lombardo L, Rocca R, Lucrezia G, Monica PD, Pera A. Fecal Pancreatic Elastase 1 in the Work up of Patients With Chronic Diarrhea. *Int J Pancreatol* 2000 ;28(3):175-179.
63. Meyts I, Wuyts W, Proesmans M, Boeck K. Variability of fecal pancreatic elastase measurements in cystic fibrosis patients. *Journal of Cystic Fibrosis* 2002; 265-268.
64. Miranda AB, Llerena JJr, Dallalana LT, Moura-Neto RS, Suffys PN, Degrave WM. Use of PCR for the determination of the frequency of DF508 mutation in Brazilian cystic fibrosis patients, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1993;88: 309-312.
65. Munch R, Bragger CP, Altorfer J, Hoppe B, Shmerling DH, Ammarm R. Faecal immunoreactive lipase: a simple diagnostic test for cystic fibrosis. *Eur J Pediatr* 1998;157: 282-286.
66. Naruse S, Ishiguro H, Ko SBH, Yoshikawa T, Yamamoto T, Yamamoto A, Futakuchi S, Goto H, Saito Y, Takahashi S. Fecal pancreatic elastase: a reproducible marker for severe exocrine pancreatic insufficiency. *J Gastroenterol* 2006; 41:901–908
67. Noone PG, Knowles MR. CFTR – opathies: disease phenotypes associated with cystic fibrosis transmembrane regulator gene mutations. *Respr Res.* 2001;2(6):328-32.
68. Nousia-Arvanitakis N. Fecal elastase-1 concentration: an indirect test of exocrine pancreatic function and a marker of an enteropathy regardless of cause. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;36:314-315.
69. O'Connor GT, Quinton HB, Kahn R, Robichaud P, Maddock J, LeverT, et al. Case-mix adjustment for evaluation of mortality in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2002;33:99-105
70. Park RW, Grand RJ. Gastrointestinal manifestations of cystic fibrosis: a review. *Gastroenterology* 1981;81:1143-1161.
71. Phillips IJ, Rowe DJ, Dewar P, Connett GJ. Faecal elastase 1: a marker of exocrine pancreatic insufficiency in cystic fibrosis. *Ann Clin Biochem* 1999; 36: 739-742.

72. Pinto ICS, Silva CP, Britto MCA. Perfil nutricional, clínico e socioeconômico de pacientes com fibrose cística atendidos em um centro de referência no nordeste do Brasil. *J Bras Pneumol* 2009;35(2):137-143.
73. Ramírez CI, Martinnéz MC, Fernández FJD. Estudio de la Fibrosis Quística de pâncreas por los diferentes métodos de imagen In: *Fibrosis Quística - Atención integral, manejo clínico y puesta al día*. 1 ed. Granada: Alhuli; 1998.325-391
74. Raskin S, Philips JA III, Krishnamani MRS, Vnencak-Jones C, Parker RA, Rozov T, Cardieri TJM, Marostica P, Abreu F, Giugliani R, Reis F, Rosario NA, Ludwig N, Culpi L. Cystic fibrosis in the Brazilian population: DF508 mutation and KM-19/XV-2C haplotype distribution. *Hum Biol* 1997;69: 499-508.
75. Raskin S, Phillips JA III, Krishnamani MRS, Vnencak-Jones C, Parker RA, Rozov T, Cardieri JM, Marostica P, Abreu F, Giugliani R, Reis F, Rosario NA, Ludwig N, Pilotto RF. DNA analysis of cystic fibrosis in Brazil by direct PCR amplification from Guthrie cards, *Am J. Med. Genet* 1993; 46:665-669.
76. Ratjen F, Doring G. Cystic fibrosis. *Lancet* 2003;361(9358):681-689
77. Reis FJC, Oliveira MCL, Penna FJ, Oliveira MGR, Oliveira EA, Monteiro APAF. Quadro Clínico e nutricional de pacientes com Fibrose Cística: 20 anos de seguimento no HC-UFMG. *Rev Ass Med Brasil* 2000;4: 325-330..
78. Ribeiro JD; Ribeiro MAO; Ribeiro AF. Controvérsias na Fibrose Cística: do pediatra ao especialista. *J. Pediatr (Rio J.)* 2002; 78 :(suppl. 2).
79. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, Zielenski J, Lok S, Plavsic N, Chou JL. Identification of the cystic fibrosis gene: Cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989;245:1066-1073.
80. Rios J, Orellana O. Aspillaga M, Avendano I, Largo I, Riveros N. CFTR mutations in Chilean cystic fibrosis patients. *HumGenet* 1994 ; 94:291-294.
81. Rosenfeld M, Davis R, FitzSimmons S, Pepe M, Ramsey B. Gender gap in cystic fibrosis mortality. *Am J Clin Epidemiol* 1997;145: 794-803.
88. Rozmahel R, Wilschanski M, Matin A, Plyte S, Oliver M, Auerbach W, Moore A, Forstenr J, Dune P, Nadeau J, Bear C, Tsui LC. Modulation of disease severity in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator deficient mice by a secondary genetic factor. *Nat Genet* 1996;12:280-287
82. Schneider A, Funk B, Caspary W, Stein J. Monoclonal versus Polyclonal ELISA for Assessment of Fecal Elastase Concentration: Pitfalls of a New Assay. *Clinical Chemistry* 2005;51:1052-1054.
83. Scott-Jupp R, Lama M, Tanner MS. Prevalence of liver disease in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1991;66:698-70.
84. Sharp H. Cystic fibrosis liver disease and transplantation. *J Pediatr* 1995 ;127:944-6.

85. Silveira TR, Vieira SMG, Genro SK. Mucoviscidose. In: Gayotto LCC, Alves VAF - Eds. Doenças do Fígado e das Vias Biliares. São Paulo: Atheneu, 2001:353-64.
86. Simon MIS. Estado Nutricional e função pulmonar em pacientes com Fibrose Cística. [Dissertação]. Porto Alegre: Universidade do Rio Grande do sul: Porto Alegre, 2006.
87. Sinaasappel M, Stern M, Littlewood J, Wolfe S, Steinkamp G, Heijerman HG et al. Nutrition in patients with cystic fibrosis: a European Consensus. *J Cystic Fibrosis* 2002;1:51-57.
88. Soldan W, Henker J, Sprössig C. Sensitivity and Specificity of Quantitative Determination of Pancreatic Elastase 1 in Feces of Children. *JPGN* 1997;24(1):53-55
89. Streit C, Burlamaque-Neto AC, Abreu e Silva FA, Giuliani R, Pereira MLS. CFTR gene: molecular analysis in patients from south Brazil. *Molecular Genetics and Metabolism* 78 (2003) 259-264.
90. Vankeerberghen A, Cuppens H, Cassiman JJ. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an intriguing protein with pleiotropic functions. *J Cystic Fibrosis* 2002; 1: 13-29.
91. Vieira SM, Genro SK, Silveira TR. Alterações hepáticas relacionadas à Fibrose Cística. In: Ferreira CT, Carvalho E, Silva RS, editors. *Gastroenterologia e hepatologia em pediatria - diagnóstico e tratamento*. Rio de Janeiro: Medsi;2003. p.727-740.
92. Von Seebach I, Henker J. Pancreatic elastase 1 in faeces of preterm and term born infants up to 12 months without insufficiency of exocrine pancreatic function. Abstract. In: 21st European Cystic Fibrosis Conference June 1997. Davos, Switzerland. p. 120.
93. Walkowiak J, Lisowska A, Blaszczyński M. The changing face of the exocrine pancreas in cystic fibrosis: pancreatic sufficiency, pancreatitis and genotype. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 2008, 20:157-160.
94. Walkowiak J, Nousia-Arvanitakis S, Agguridaki C, Fotoulaki M, Strzykala K, Balassopoulou A, Witt M, Herzig KH. Longitudinal follow-up of exocrine pancreatic function in pancreatic sufficient cystic fibrosis patients using the fecal elastase-1 test. *J. Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003 ; 36(4): 474-478.
95. Walkowiak J, Nousia-Arvanitakis S, Cade A, Kashirskaya N, Piotrowski R, Strzykala K, Kouniou M, Pogorzelski A, Sands D, Kapranov N. Fecal elastase-1 cut-off levels in the assessment of exocrine pancreatic function in cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis* 2002; 1:260-264.
96. Walkowiak J, Sands D, Nowakowska A, Piotrowski R, Zybert K, Herzing KH, Milanowski A. Early Decline of Pancreatic Function in Cystic Fibrosis Patients with Class 1 or 2 CFTR Mutations. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005 ;40(2):199-201.
97. Walkowiak J. Fecal elastase-1 test: clinical value in the assessment of exocrine pancreatic function in children. *Eur J Paediatr* 2000;159:869-870.

98. Weintraub A, Blau H, Mussaffi H, Picard E, Bentur L, Kerem E, Stankiewicz H, Wilschanski M. Exocrine Pancreatic Function Testing in Patients With Cystic Fibrosis and Pancreatic Sufficiency: A Correlation Study. *JPGN* 2009; 48:306–310.
99. Welsh MJ, Smith A. Cystic Fibrosis. *Sc Am* 1995;273(6):36-43.
100. Yankaskas JR, Marshall BC, Sufian B, Simon RH, Rodman D. Cystic fibrosis adult care: consensus conference report. *Chest*. 2004;125(1 Suppl):1S-39S.
101. Zentler-Munro PL. Pancreatic exocrine insufficiency and cystic fibrosis. *Curr Opin Gastroenterol* 1989;5:706-710.
102. Ziegler B, Rovedder PME, Lukrafka JL, Oliveira CL, Dalcin PTR. Estado nutricional em pacientes atendidos por um programa de adultos para Fibrose Cística. *Rev HCPA* 2007;27(3):13-19.
103. Zielenski J. Genotype and Phenotype in Cystic Fibrosis. *Respiration* 2000;67:117–133.

---

---

**9 ARTIGO: UTILIDADE DA CONCENTRAÇÃO DA ELASTASE-1  
FECAL MONOCLONAL NA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO  
PANCREÁTICA NOS PACIENTES COM FIBROSE CÍSTICA**

---

---

## 9 ARTIGO

### UTILIDADE DA CONCENTRAÇÃO DA ELASTASE-1 FECAL MONOCLONAL NA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PANCREÁTICA NOS PACIENTES COM FIBROSE CÍSTICA

Laboratório Experimental de Gastroenterologia e Hepatologia, Centro de pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Andréa Cristina Silva Gonzales<sup>(1)</sup>, Sandra Maria Gonçalves Vieira<sup>(2)</sup>, Rafael Lucyk Maurer<sup>(3)</sup>  
Fernando Antônio de Abreu e Silva<sup>(4)</sup>, Themis Reverbel da Silveira<sup>(5)</sup>

<sup>(1)</sup> Nutricionista, Mestranda em Saúde da Criança e do Adolescente pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. E-mail: [andreaconzales@yahoo.com.br](mailto:andreaconzales@yahoo.com.br).

<sup>(2)</sup> Doutora, Gastropediatra do Serviço de Pediatria do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade federal do Rio Grande do Sul. E-mail: [sandramvieira16@yahoo.com.br](mailto:sandramvieira16@yahoo.com.br)

<sup>(3)</sup> Mestre em Biologia, Laboratório Experimental de Gastroenterologia e Hepatologia do Centro de pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Universidade Federal do Rio Grande do Sul. E-mail: [rmaurer@hcpa.ufrgs.br](mailto:rmaurer@hcpa.ufrgs.br)

<sup>(4)</sup> Doutor, Professor adjunto de departamento de Pediatria e Puericultura da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. E-mail: [espadaf@terra.com.br](mailto:espadaf@terra.com.br)

<sup>(5)</sup> Doutora, Laboratório Experimental de Gastroenterologia e Hepatologia do Centro de pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. E-mail: [tsilveira@hcpa.ufrgs.br](mailto:tsilveira@hcpa.ufrgs.br)

**Título abreviado:** Elastase-1 fecal monoclonal – Fibrose Cística

#### RESUMO

**Objetivos:** Avaliar a concentração da Elastase -1 fecal (EL-1) em pacientes pediátricos com Fibrose Cística, portadores da mutação  $\Delta F508$  e padronizar o teste Elastase Monoclonal em nosso meio.

**Métodos:** Estudo transversal, 51 pacientes com idade entre 4 meses e 17 anos (média  $9,11 \pm 4,74$ ). Trinta e dois (62,8%) pacientes do sexo masculino. Houve coleta retrospectiva de dados clínico-demográficos e do tipo de mutação. A insuficiência pancreática exócrina foi definida pela atividade da EL-1 fecal  $< 200 \mu\text{g/g}$ . A quantificação da EL1- foi realizada pelo

método ELISA monoclonal. A suplementação pancreática foi utilizada em 46 (90,2%) pacientes.

**Resultados:** Quarenta e um (80,4%) pacientes apresentaram insuficiência pancreática (EL-1 fecal  $< 100\mu\text{g/g}$ ), sendo 17 (41,5%) homozigotos, 14 heterozigotos (34,1%) e 10 não  $\Delta\text{F508}$  (24,4%). Ao considerar a mutação, houve associação estatisticamente significativa entre os homozigotos e a concentração da EL-1 fecal  $< 100\mu\text{g/g}$  ( $P=0,010$ ). Todos os pacientes considerados insuficiente pancreático ( $n= 41$ ) pelo teste, utilizavam suplemento pancreático. Dez (19,6%) apresentaram EL-1 fecal  $> 200\mu\text{g/g}$  e 5/10 (50%) utilizavam enzimas.

**Conclusões:** A atividade de EL -1 fecal  $< 100 \mu\text{g/g}$ , indicativa de insuficiência pancreática, se apresentou em 17/17 (100%) dos homozigotos conforme o esperado, sendo menos freqüente nos heterozigotos para  $\Delta\text{F508}$  e nos pacientes com ausência desta mutação. Não houve relação entre a concentração da EL-1 fecal com idade e sexo dos pacientes. O teste foi padronizado, é de fácil execução e poderá ser utilizado para avaliação da função pancreática dos pacientes com FC.

**Palavras-chave:** Elastase-1 fecal,  $\Delta\text{F508}$ , insuficiência pancreática exócina, Fibrose Cística.

## INTRODUÇÃO

A Fibrose Cística (FC) é reconhecida como uma das mais importantes doenças genéticas, de herança autossômica recessiva, que acomete a população caucasóide, em uma incidência estimada de 1:2500 nascidos vivos <sup>(1)</sup>. É caracterizada por doença pulmonar obstrutiva crônica, íleo meconial, insuficiência pancreática exócrina e elevadas concentrações de eletrólitos no suor <sup>(2)</sup>.

Na FC há uma perda progressiva da função pancreática exócrina devido à obstrução dos ductos intrapancreáticos por secreção mucosa, levando à retenção de enzimas digestivas e

formando um processo inflamatório crônico com fibrose e conseqüente perda da função pancreática <sup>(3)</sup>.

É aceito que dentre as diversas manifestações da FC, o fenótipo pancreático é o que melhor se relaciona ao genótipo, como atestam os estudos de Kerem *et al.* <sup>(4)</sup> e Zielenski <sup>(5)</sup>. Segundo Iwánczak *et al.* <sup>(6)</sup>, existe uma nítida correlação entre a presença da mutação  $\Delta F508$  e a gravidade e frequência das manifestações digestivas.

De acordo com a literatura, aproximadamente 15% dos pacientes com Fibrose Cística (FC) são suficientes pancreáticos (SP) <sup>(7, 8, 9, 10)</sup>, sendo a avaliação da função pancreática exócrina um procedimento obrigatório ao diagnóstico, visando determinar a necessidade de suplementos enzimáticos.

A Elastase pancreática humana 1 (EL-1) foi inicialmente isolada por Mallory e Travis em 1975 e foi originalmente denominada protease E <sup>(11)</sup>. A Elastase pancreática 1 é uma protease digestiva humana específica, sintetizada nas células acinares e secretada no duodeno, através do ducto pancreático. A EL-1 é sintetizada como zimogênio e a enzima madura tem peso molecular de 28 kDa <sup>(12)</sup>. Durante o trânsito intestinal a EL-1 liga-se principalmente a sais biliares e, em contraste com outras enzimas pancreáticas, não é degradada durante a passagem pelo intestino <sup>(13)</sup>.

A medida desta enzima proteolítica nas fezes é feita através de um teste ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), com ampla aceitação em laboratórios clínicos <sup>(10)</sup>. A EL-1 fecal é considerada mais sensível e específica do que outros testes de uso corrente na detecção de insuficiência pancreática exócrina <sup>(14)</sup>. O teste ELISA utiliza dois anticorpos monoclonais obrigatórios, especificamente para diferentes epitopos na Elastase-1 humana <sup>(15)</sup>. São inúmeras as vantagens da medida desta enzima: é estável em uma ampla gama de pH e temperatura e as amostras de fezes podem ser recolhidas e transportadas sem preparação especial <sup>(8,16)</sup>. Pode ser armazenada por até uma semana em temperatura ambiente, durante um

mês em temperatura de 4 graus celsius e à -22 graus celsius, por período prolongado <sup>(13)</sup>. O exame pode ter utilidade também no rastreamento precoce da conversão de um paciente suficiente pancreático para uma situação de insuficiência, podendo ser monitorado anualmente, uma vez que o aparecimento de má absorção é precedido por declínio na concentração de Elastase <sup>(14,17,18)</sup>. O teste também serve para identificar a capacidade residual do estado pancreático <sup>(8)</sup>.

O anticorpo monoclonal contra a Elastase humana não reage com as enzimas suínas, ou seja, é espécie-específica, assim o teste pode ser feito enquanto os pacientes estão fazendo a terapia de reposição enzimática <sup>(8,15)</sup>. Na literatura há um grande número de testes de avaliação de função pancreática exócrina, a maioria dos quais de utilização limitada, seja pelo alto custo ou pela baixa disponibilidade. A medida da EL-1 fecal tem se mostrado promissora e isto é demonstrado na maioria dos estudos com uma sensibilidade de 90-100% e uma especificidade de 93-100%, sendo excelente indicador para insuficiência pancreática exócina (IP) <sup>(13,19,20)</sup>. Os objetivos deste estudo são avaliar e quantificar a concentração da EL -1 fecal em pacientes com Fibrose Cística, portadores da mutação  $\Delta F508$ , padronizar o teste Elastase Monoclonal, comparar os valores de EL-1- fecal em pacientes com FC portadores de mutação  $\Delta F508$  com os sem a mutação.

## **CASUÍSTICA E MÉTODOS**

Foi realizado um estudo transversal com pacientes portadores de Fibrose Cística, de ambos os sexos, com idade entre 4 meses e 17 anos, em acompanhamento no setor de Pneumologia Pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre/RS (HCPA). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa desta instituição, e realizado entre setembro 2007 e novembro 2008.

Os critérios de elegibilidade para o estudo foram os seguintes:

a) Pacientes portadores de FC de ambos os sexos, com idades entre 1 mês e 18 anos, em acompanhamento no setor de Pneumologia Pediátrica do HCPA.

b) Presença de Fibrose Cística, com diagnóstico confirmado através de dois testes de dosagem de sódio e cloreto no suor, ou pela presença ou ausência da mutação  $\Delta F508$ , associada ao diagnóstico clínico

.Foram excluídos deste estudo os pacientes em uso de medicamentos para regularização do hábito intestinal, presença de enterostomia/colostomia, não assinatura do termo de Consentimento Livre e Esclarecido e fezes líquidas por três ou mais vezes ao dia, nas duas semanas precedentes ao exame.

Os dados foram coletados durante a internação e ou acompanhamento ambulatorial de rotina dos pacientes com FC. A rotina de seguimento no ambulatório de Pneumologia Pediátrica do HCPA inclui consultas com a equipe médica a cada 2 meses e *check-up* anual que inclui exames complementares. Para a realização deste estudo os pacientes que frequentam o ambulatório foram convidados por ocasião do *check-up* anual, os dados demográficos foram obtidos do prontuário e a dose de suplemento pancreático foi informada pelos responsáveis do paciente. No momento da obtenção do consentimento pelos responsáveis, foi entregue o frasco para a coleta de fezes.

A análise da mutação para FC foi realizada no Serviço de Genética Médica do HCPA, sendo realizada a pesquisa das seguintes mutações  $\Delta F508$ , G542X, R553X, G551D e N1303K. Foi utilizado método de sequenciamento de DNA ou PCR em tempo real (método padronizado no serviço de Genética do HCPA).

As fezes coletadas foram armazenadas no Laboratório Experimental de Gastroenterologia e Hepatologia, em geladeira, na temperatura de -20 graus celsius, até a realização dos testes. Conforme orientação do fabricante (*ScheBo Biotech AG, Germany*), assim o material estocado pode ser armazenado em um prazo de até 1 ano.

Foi feita a quantificação da EL -1 fecal utilizando-se o método ELISA *sandwich* monoclonal, que usa dois anticorpos monoclonais contra diferentes epitopos da Elastase pancreática humana. Usou-se como ponto de corte o valor 200µg/g, classificando como suficientes pancreáticos pacientes cujos valores estavam acima de 200µg/g e insuficientes pancreáticos, abaixo de 200µg/g da EL-1 fecal. Valores entre 100 µg/g -200 µg/g foram considerados com probabilidade de IP moderada e valores abaixo 100 µg/g, com IP grave, conforme orientação do fabricante. Foram analisadas 81 amostras de fezes de 51 pacientes. Trinta alíquotas foram duplicadas de 10 pacientes de cada grupo.

## **ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Foi feito cálculo do tamanho da amostra, para detectar uma diferença de 1 desvio-padrão entre os níveis de EL-1 fecal, nos 3 grupos de pacientes estudados (grupo 1: pacientes homocigotos para mutação  $\Delta F508$ ; grupo 2: pacientes heterocigotos para mutação  $\Delta F508$ ; grupo 3: pacientes com ausência da mutação  $\Delta F508$ ), considerando  $\alpha = 0,05$ , poder de 80%. Foi estabelecido um número mínimo de 17 pacientes em cada grupo.

As variáveis quantitativas foram descritas através da média e desvio padrão (distribuição simétrica) ou mediana e amplitude de variação/amplitude interquartilica (distribuição assimétrica). As variáveis qualitativas foram descritas através de frequências absolutas e relativas.

Para avaliar a associação entre as variáveis qualitativas, foi aplicado o teste Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher. Para as variáveis quantitativas contínuas, em relação à insuficiência pancreática, foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

O nível de significância adotado foi de 5%, e as análises foram realizadas no programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*), versão 13.0.

## **RESULTADOS**

Participaram do estudo 51 pacientes com diagnóstico de Fibrose Cística, acompanhados na internação e no ambulatório de Pneumologia Pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. A amostra foi constituída de três grupos: G1 = 17 pacientes homozigoto para mutação  $\Delta F508$ ; G2 = 17 pacientes heterozigotos para mutação  $\Delta F508$ ; e G3 = 17 pacientes com ausência da mutação  $\Delta F508$ .

Houve predominância de 62,7% (n=32) do sexo masculino. A idade dos pacientes variou entre 4 meses e 17 anos, com média de idade de 9,11 anos ( $\pm 4,74$  anos).

Os pacientes internados representaram 88,2% (45/51) da amostra estudada, enquanto 11,7% (6/51) eram ambulatoriais. Os motivos da internação foram: *check-up* anual de rotina (25/51:55,5%); exacerbação pulmonar (10/51:22,2%); febre (6/51:13,3%), baixo peso (3/51:6,7%) e crise de asma (1/51:2,2%). A mediana de dias de internação foi de 19, variando de 11 a 65 dias.

A terapia de reposição enzimática foi instituída em 46 (90,2%) pacientes. De acordo com informações dos responsáveis, a mediana de utilização da enzima administrada foi de 5346,88 unidades de lipase por kg/dia (510-15652). Entre os diferentes grupos de pacientes não houve diferença significativa na dose de enzima por kg/dia (teste de Kruskal-Wallis; P = 0,457).

Houve 10/51 (19,6%) pacientes com concentrações de EL-1 fecal acima de 200 $\mu$ g/g, sendo considerados suficientes pancreáticos (SP). Em 41/51 (80,4%), o teste de EL apresentou valores abaixo de 100 $\mu$ g/g e os pacientes foram considerados insuficientes pancreáticos (IP). Não houve pacientes com valores de EL-1 fecal entre 100 $\mu$ g/g e 200 $\mu$ g/g (Figura 1).

Em relação aos pacientes com SP, 3/10 (30%) eram heterozigotos para  $\Delta F508$  e 7/10 (70%) pacientes não apresentavam a mutação  $\Delta F508$ , seja em homozigose ou heterozigose. No que se refere à amostra de pacientes com IP, 17/41 (41,5%) eram homozigotos para a

mutação  $\Delta F508$ , 14/41(34,1%) eram heterozigotos para  $\Delta F508$  e 10/41 pacientes (24,4%) não apresentavam a mutação  $\Delta F508$ .

Houve associação estatisticamente significativa entre a mutação  $\Delta F508$  e a concentração da EL-1 fecal  $<100\mu\text{g/g}$  (Tabela 1). Todos os homozigotos para  $\Delta F508$  (17/17) apresentaram IP intensa. O grupo heterozigoto para  $\Delta F508$  apresentou proporções semelhantes de concentrações de EL-1 fecal.

Como pode ser observado na Tabela 1, todos os pacientes com concentração de EL-1 fecal  $<100\mu\text{g/g}$  utilizavam enzimas. Dos 10 pacientes considerados suficientes pelo teste de EL-1 fecal, 5 (50%) faziam terapia de reposição enzimática. A dose enzimática por kg/dia foi similar entre os grupos com concentração de EL  $<100\mu\text{g/g}$  e  $>200\mu\text{g/g}$ , como pode ser visto na Figura 2. Não houve relação entre o sexo e a faixa etária com a concentração da EL-1 fecal  $<100\mu\text{g/g}$  (Tabela 1).

## DISCUSSÃO

A amostra do presente estudo foi constituída na totalidade de pacientes caucasóides. Houve discreta predominância do sexo masculino, como já observado em casuísticas anteriores <sup>(21,22,23)</sup>.

No que se refere à faixa etária, a média de idade dos pacientes foi de  $9,11\pm 4,74$  anos. Classificando os pacientes nos 3 grupos, de acordo com a presença da mutação, a média de idade entre os homozigotos foi de  $9,10 \pm 4,82$ , entre os heterozigotos de  $8,72 \pm 5,32$  e os com ausência de  $\Delta F508$  foi de  $9,52 \pm 4,28$ . Sete (14%) pacientes eram menores de 2 anos. Não houve relação entre idade e a maior ou menor concentração de EL-1 fecal. A EL-1 fecal tem sido relacionada à idade apenas nas primeiras semanas de vida. Baixos valores foram encontrados em recém-nascidos prematuros e a termo. Von Seebach e Henker <sup>(24)</sup> analisaram fezes de 28 crianças nascidas pré-termo e 27 crianças a termo e observaram um valor médio

de EL de 63,9  $\mu\text{g/g}$  no mecônio, que aumentou gradualmente para 200  $\mu\text{g/g}$  em um mês, independente da idade gestacional. Assim, a EL-1 fecal é baixa nas primeiras semanas de vida de crianças não portadoras de FC e subirá aos níveis normais em lactentes SP.

No presente estudo, 90,2% (46/51) dos pacientes considerados clinicamente IP, faziam corretamente o uso de enzimáticas pancreáticas. Cinco (10,8%) pacientes, com idades de oito meses a 10 anos, que utilizavam enzimas, apresentaram EL-1 fecal acima de 200 $\mu\text{g/g}$ , o que configura SP.

Borowitz *et al.* <sup>(25)</sup> estudaram 1.215 indivíduos de 33 locais credenciados na *Cystic Fibrosis Foundation Registry*, de Nova York, pelo período de 6 meses. A média de idade dos pacientes foi 13,5 anos, variando de um mês a 64 anos. Fazia parte do estudo a suspensão das enzimas pancreáticas na dependência do resultado do teste da EL-1 fecal  $>200\mu\text{g/g}$ , exceto para os indivíduos que apresentaram pancreatite. A EL-1 fecal estava  $<200\mu\text{g/g}$  em 1.074 (88,4%) indivíduos, 1.050 recebiam enzimas pancreáticas e 24 não recebiam enzimas. Estes 24 pacientes, portanto, foram incorretamente classificados em relação ao estado funcional do pâncreas. A concentração EL-1 fecal foi de  $>200\mu\text{g/g}$  em 141 (11,6%) indivíduos. Sessenta (42,5%) não faziam terapia de reposição enzimática e foram classificados corretamente como suficientes pancreáticos, mas 81 (57%) utilizavam enzimas pancreáticas sem aparentemente necessitarem. Houve interrupção da terapia de reposição enzimática de 67/81 indivíduos que nunca tinham apresentado pancreatite. Somente 23 (34,3%) concordaram em recolher fezes para balanço de gordura fecal. Mediram coeficiente de absorção de gordura (CAG) após 1 mês de interrupção de enzimas e tiveram uma média de 96,1% de CAG. Anterior a este estudo, 181/1215 dos indivíduos nunca tinham realizado um teste objetivo para verificação da função pancreática. A hipótese dos autores de que um número apreciável de pacientes com FC estavam classificados erroneamente, foi confirmada pelo teste da EL-1 fecal.

Gullo *et al.* <sup>(26)</sup>, analisaram três grupos de crianças, sendo 27 saudáveis, 22 com FC e 23 sem doença pancreática. Compararam o resultado da EL-1 fecal com quimiotripsina fecal. Vinte dos vinte dois pacientes com FC tinham valores de EL <20 µg/g. Houve diferenças significativas entre os valores da EL-1 fecal dos pacientes com FC, e nos pacientes de 2 grupos foram altamente significativas (P<0,001). Os autores utilizaram o valor de 132µg/g como ponto de corte, encontraram uma sensibilidade de 96% e uma especificidade de 100% para determinação de IP.

Cade *et al.* <sup>(14)</sup> estudaram 142 crianças com FC, sendo 93 homozigotos para ΔF508, 38 heterozigotos para ΔF508 e 11 não ΔF508. Somente sete pacientes apresentaram-se SP pelo teste. A mediana de EL-1 fecal dos pacientes IP foi de 10µg/g. Houve diferenças estatisticamente significativas entre os valores da EL-1 fecal dos pacientes IP e SP (P=0,0001), pacientes IP e grupo controle (P<0,0001), mas não houve diferença entre os SP e grupo controle. Os valores da mediana da EL-1 fecal dos homozigotos e heterozigotos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas (P=0,62).

No presente estudo 80,4% (41/51) dos pacientes nos quais havia suspeita de IP, apresentaram níveis de EL-1 fecal abaixo de 100µg/g, assim como no estudo de Galvão e cols. <sup>(26)</sup>, em que a EL-1 fecal revelou IP grave na maioria dos casos. Na nossa amostra 78% (40 /51) dos pacientes estavam com EL-1 fecal abaixo de 15 µg/g (limite inferior da detecção do ensaio). Como já descrito por Meyts *et al.* <sup>(17)</sup>, 76% (19/25) dos pacientes estudados apresentaram valores muito baixos. Resultados similares foram observados por Phillips *et al.* <sup>(12)</sup>, onde a concentração da EL-1 fecal dos pacientes com FC homozigotos para ΔF508 (15/15) estava abaixo de 15 µg/g (limite inferior do ensaio). No presente estudo, 17 pacientes homozigotos para ΔF508 apresentaram concentração de EL-1 fecal abaixo de 100µg/g. O mesmo não ocorreu em relação aos pacientes heterozigotos. Estes resultados estão de acordo com a literatura geral em que os pacientes homozigotos para ΔF508 apresentam maior relação

com a IP que os heterozigotos e os não  $\Delta F508$  <sup>(10,4)</sup>. Esse estudo apresentou mediana da EL-1 fecal entre os grupos com valores muito baixo ( $<15\mu\text{g/g}$ ), semelhante ao de Cade *et al.* <sup>(14)</sup>, que relatam mediana de  $10\mu\text{g/g}$  entre os IP.

Na presente investigação, nos pacientes em idade escolar, na faixa dos 10 aos 17 anos, predominou o grupo de concentração de EL-1 fecal  $<100\mu\text{g/g}$ . Foram encontradas 5 (12,5%) crianças menores de dois anos com concentração de EL-1 fecal  $<100\mu\text{g/g}$ . Walkowiak *et al.* <sup>(20)</sup> encontrou em sua casuística que 100% (27/27) dos pacientes apresentavam IP aos 12 meses de idade.

Durie e cols. <sup>(28)</sup>, em estudo sobre testes de função pancreática, para pacientes com FC, relatam alguns critérios a serem observados para que o teste seja satisfatório. A tabela 2 incorpora estes critérios em relação à EL-1 fecal e acrescenta aspectos não positivos do teste.

Considerando as limitações de testes diretos e indiretos para avaliação da função pancreática exócrina, a EL-1 fecal é uma alternativa atraente para a detecção e acompanhamento da insuficiência pancreática <sup>(10)</sup> e pode ser utilizado como teste de triagem para classificar o estado pancreático e tornar-se padrão no cuidado com os pacientes portadores de FC <sup>(25)</sup>.

Este estudo conclui, portanto, que foi possível padronizar o teste EL-1 fecal, o qual se revelou de fácil execução com amostras reduzidas de fezes. Não houve relação entre valores da EL-1 fecal com sexo e idade. A atividade de EL -1 fecal  $<100\mu\text{g/g}$ , indicativa de insuficiência pancreática grave, foi observada em 17/17 (100%) pacientes homozigotos para a mutação  $\Delta F508$ ; 14/17 (82,3%) heterozigotos para a mesma mutação e em 10/17 (58,8%) pacientes com ausência de  $\Delta F508$ . Cinco de 46 (10,8%) pacientes em terapia de reposição enzimática apresentaram atividades de EL-1 fecal  $>200\mu\text{g/g}$ , indicativas de suficiência pancreática.

## AGRADECIMENTOS

Às Doutoradas Elenara Andrade Procianoy, Maria Luiza Saraiva Pereira e Joíza Lins Camargo, à Nutricionista Lovaine Rodrigues e a Álvaro Laureano pela colaboração neste trabalho. Ao Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos do HCPA por apoiar este projeto.

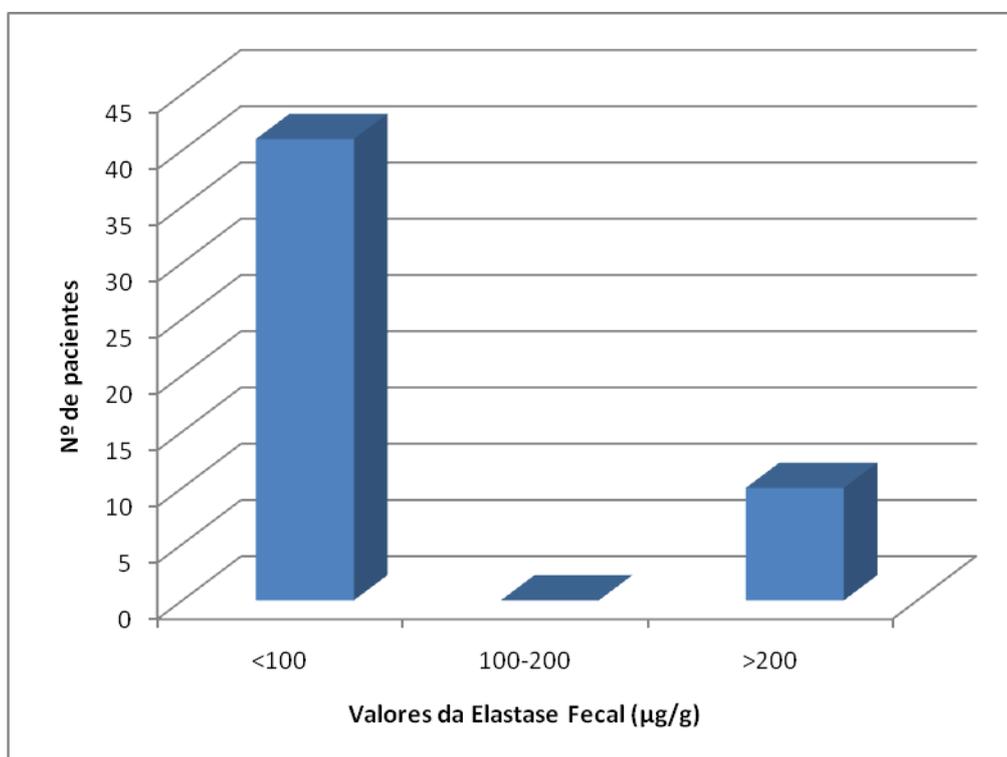
## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Welsh MJ, Smith A. Cystic Fibrosis. *Sc Am* 1995;273(6):36-43.
2. Damasceno N, Reis FJC. Fibrose Cística. *J Pediatr (Rio J)* 1998;74(7):S76-S94.
3. Abreu e Silva FA & Palombini BC. Fibrose Cística (mucoviscosidade) in Corrêa da Silva, LC. *Compêndio de Pneumologia*. 2. ed. São Paulo: BYK; 1991.p.977-84.
4. Kerem E, Corey M, Kerem B, Rommens J, Markiewicz D, Levison H, Tsui L, Durie P. The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis analysis of the most common mutation ( $\Delta F508$ ). *N Engl J Med* 1990;323:1517-1522.
5. Zielenski J. Genotype and Phenotype in Cystic Fibrosis. *Respiration* 2000;67:117–133.
6. Iwańczak F, Smigiel R, Stawarski A, Pawłowicz J, Stembalska A, Mowszet K, Sasiadek M. Genotype and phenotype of gastrointestinal symptoms analysis in children with cystic fibrosis. *Pol Merkur Lekarski* 2005 ;18(104):205-209.
7. Weintraub A, Blau H, Mussaffi H, Picard E, Bentur L, Kerem E, Stankiewicz H, Wilschanski M. Exocrine Pancreatic Function Testing in Patients With Cystic Fibrosis and Pancreatic Sufficiency: A Correlation Study. *JPGN* 2009; 48:306–310.
8. Cohen JR, Schall JI, Ittenbach RF, Zemel B, Stallings VA. Fecal Elastase: Pancreatic Status Verification and Influence on Nutritional Status in Children with Cystic Fibrosis. *JPGN* 40: 438-444, 2005.
9. Leus J, Van Bieruliet S, Robberecht E. Detection and follow up of exocrine pancreatic insufficiency in Cystic fibrosis: a review. *Eur J Pediatr* 2000;159:563-568.
10. Daftary A, Acton J, Heubi J, Amin R. Fecal elastase-1: Utility in pancreatic function in cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis* 2006;5 : 71-76.
11. Mallory PA, Travis A. Human pancreatic enzymes: purification and characterization of a non-lysozymal enzyme. *J Biochem* 1975; 14:722-730
12. Phillips IJ, Rowe DJ, Dewar P, Connett GJ. Faecal elastase 1: a marker of exocrine pancreatic insufficiency in cystic fibrosis. *Ann Clin Biochem* 1999; 36: 739-742.
13. Loser C, Mollgaard A, Folsch UR. Faecal elastase 1: a novel, highly sensitive, and specific tubeless pancreatic function test. *Gut* 1996; 39: 580-586.
14. Cade A, Walters MP, McGinley N, Firth J, Brownlee SP, Littlewood JM. Evaluation of fecal pancreatic elastase-1 as a measure of pancreatic exocrine function in children with cystic fibrosis. *Pediatric Pulmonology* 2000; 29: 172-176.

15. Katschinski M, Schirra J, Bross A, Goke B, Arnold R. Duodenal Secretion and Fecal Excretion of Pancreatic Elastase-1 in Healthy Humans and Patients with Chronic Pancreatitis. *Pancreas*, 1997;15(2):191-200.
16. Borowitz D, Lin R, Baker SS. Comparison of Monoclonal and Polyclonal ELISAs for Fecal Elastase in Patients With Cystic Fibrosis and Pancreatic Insufficiency. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2007; 44:219–223 .
17. Meyts I, Wuyts W, Proesmans M, Boeck K. Variability of fecal pancreatic elastase measurements in cystic fibrosis patients. *Journal of Cystic Fibrosis* 2002; 265-268.
18. Walkowiak J, Lisowska A, Blaszczyński M. The changing face of the exocrine pancreas in cystic fibrosis: pancreatic sufficiency, pancreatitis and genotype. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 2008, 20:157–160.
19. Soldan W, Henker J, Sprössig C. Sensitivity and Specificity of Quantitative Determination of Pancreatic Elastase 1 in Feces of Children. *JPGN* 1997;24(1):53-55
20. Walkowiak J, Sands D, Nowakowska A, Piotrowski R, Zybert K, Herzing KH, Milanowski A. Early Decline of Pancreatic Function in Cystic Fibrosis Patients with Class 1 or 2 CFTR Mutations. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2005 ;40(2):199-201.
21. Reis FJC, Oliveira MCL, Penna FJ, Oliveira MGR, Oliveira EA, Monteiro APAF. Quadro Clínico e nutricional de pacientes com Fibrose Cística: 20 anos de seguimento no HC-UFGM. *Rev. Ass. Med. Brasil* 2000;46(4),325-330.
22. Walkowiak J, Nousia-Arvanitakis S, Cade A, Kashirskaya N, Piotrowski R, Strzykala K, Kouniou M, Pogorzelski A, Sands D, Kapranov N. Fecal elastase-1 cut-off levels in the assessment of exocrine pancreatic function in cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis* 2002; 1:260-264.
23. Alvarez AE ,Ribeiro FA, Hessel G ,Bertuzzo CS, Ribeiro JD. Fibrose cística em um centro de referência no Brasil: características clínicas e laboratoriais de 104 pacientes e sua associação com o genótipo e a gravidade da doença.*J Pediatr (Rio J)* 2004; 80(5):371-379.
24. Von Seebach I, Henker J. Pancreatic elastase 1 in faeces of preterm and term born infants up to 12 months without insufficiency of exocrine pancreatic function. Abstract. In 21st European Cystic Fibrosis Conference June 1997. Davos, Switzerland. p 120.
25. Borowitz D, Baker SS, Duffy L, Baker RD, Fitzpatrick L, Gyamfi J, Jarembek K. Use of fecal elastase-1 to classify pancreatic status in patients with cystic fibrosis. *The Journal of Pediatrics* 2004: 322-326.
26. Gullo L, Graziano L, Babbini S, Battistini A, Lazzari R, Pezzilli R. Faecal elastase 1 in children with cystic fibrosis. *Eur J Pediatr.* 1997. 156: 770-772.
27. Galvão LC, Ribeiro A, Rodrigues AAC, Fernandes MM, Bertuzzo C. Evaluation of the Delta F508 mutation and of pancreatic insufficiency by the fecal elastase test and of some clinical characteristics of children and adolescents with cystic fibrosis [poster section abstract PO815]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004 June;39(suppl.1):s367. [2nd World Congress of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, Paris 2004 July 3-7].
28. Durie PR, Gaskin KJ, Corey M, Kopelman H, Weizman Z, Forstner G. Pancreatic Function Testing in Cystic Fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1984;3 Suppl 1:S89-98

29. Nousia-Arvanitakis N. Fecal elastase-1 concentration: an indirect test of exocrine pancreatic function and a marker of an enteropathy regardless of cause. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;36:314-315.
30. Masoero G, Zaffino C, Laudi C, Lombardo L, Rocca R, Lucrezia G, Monica PD, Pera A. Fecal Pancreatic Elastase 1 in the Work up of Patients With Chronic Diarrhea. *Int J Pancreatol*. 2000 ;28(3):175-179.

## ANEXO A - ILUSTRAÇÕES E TABELAS



Elastase (µg/g)	n	%	Mediana	Amplitude
<100	41	80,4	<15	<15 - 40
100-200	0	0	-	-
>200	10	19,6	418,3	212 - 449

Figura 1 - Valores da Elastase fecal categorizados em três faixas na população em estudo

Tabela 1 – Relação entre idade, sexo e mutação  $\Delta F508$  com a Concentração da Elastase

Variáveis	Insuficiência Pancreática			P
	Intensa (EL<100 $\mu\text{g/g}$ ) n=41 n (%)	Moderada (100<EL<200 $\mu\text{g/g}$ )n=0 n (%)	Ausente (EL>200 $\mu\text{g/g}$ ) n=10 n (%)	
<b>Sexo</b>				
Masculino	26 (63,4)		6 (60,0)	1,000*
Feminino	15 (36,6)		4 (40,0)	
<b>Faixa etária</b>				
< 2 anos	5 (12,2)		2 (20,0)	0,474**
2 – 9 anos	15 (36,6)		5 (50,0)	
10 – 17 anos	21 (51,2)		3 (30,0)	
<b>Mutação</b>				
Homozigoto p/ $\Delta F508$	17 (41,5)		0 (0,0)	0,010**
Heterozigoto p/ $\Delta F508$	14 (34,1)		3 (30,0)	
Ausência de $\Delta F508$	10 (24,4)		7 (70,0)	
<b>Terapia de reposição enzimática</b>				
Sim	41 (100,0)		5 (50,0)	0,001*
Não	0 (0,0)		5 (50,0)	
Lipase unid. Kg/dia – Mediana (Mín – Máx)	5427,1 (510 – 15652)		3381,1 (2520 – 4932,0)	0,280** *

\* teste Exato de Fisher

\*\* teste qui-quadrado de Pearson

\*\*\* teste de Mann-Whitney

Tabela 2 – Pontos negativos e positivos da Elastase-1 fecal

<b>Pontos negativos</b>	<b>Pontos positivos</b>
A concentração da EL-1 fecal é modificada em presença de lesão intestinal <sup>(29)</sup> e flora intestinal alterada <sup>(30)</sup>	Boa correlação entre o teste secretina -pancreozimina <sup>(25)</sup>
A interpretação deve ser cuidadosa em fezes diarréicas <sup>(30)</sup>	Não é degradada no trânsito intestinal <sup>(13)</sup>
Incapacidade de distinguir IP primária da secundária <sup>(10)</sup>	Espécime de fácil obtenção <sup>(25)</sup>
Avalia apenas a IP endógena <sup>(10)</sup>	Sem armazenamento especial <sup>(25)</sup>
	Boa aceitação dos pacientes <sup>(25)</sup>
	Fácil execução <sup>(15)</sup>
	Não invasivo <sup>(13)</sup>
	Baixo custo <sup>(15)</sup>
	Não reage com as enzimas suínas <sup>(25)</sup>

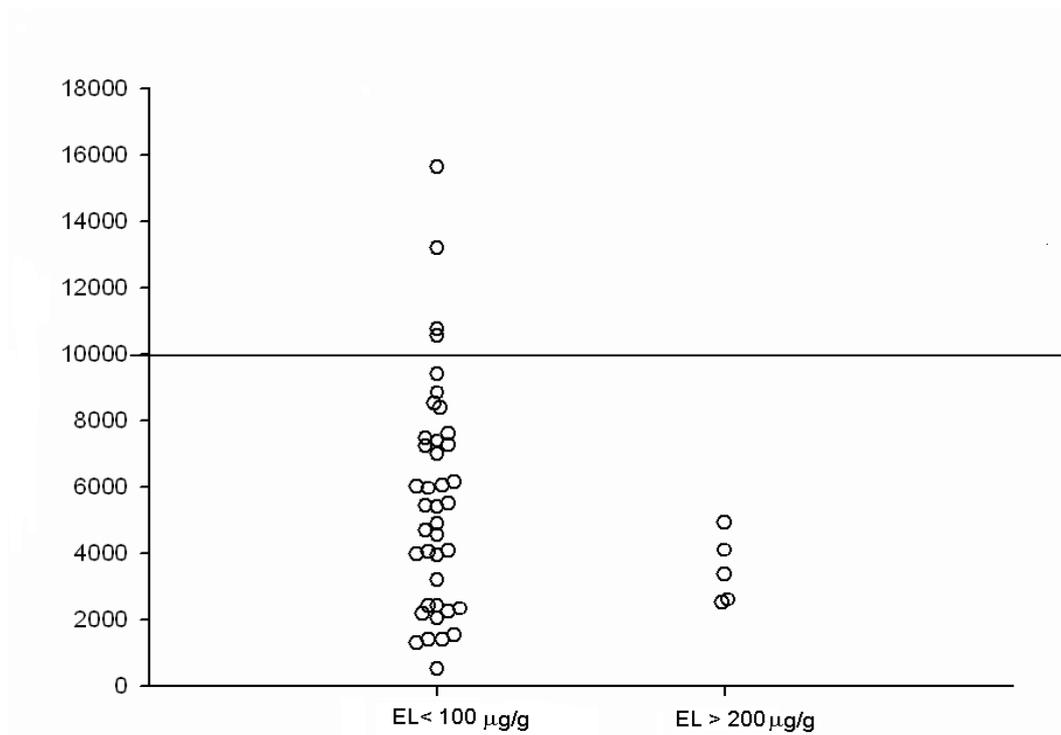


GRÁFICO DOT PLOT

Figura 2 - Quantidade (u) de lipase kg/dia em pacientes com concentração de EL-1 fecal <100µg/g e >200µg/g.

---

---

**10 ANEXOS**

---

---

## 10 ANEXOS

### ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A Fibrose Cística é uma doença genética em que há prejuízo no funcionamento de uma série de órgãos. O pâncreas geralmente não consegue produzir em quantidade suficiente as enzimas que facilitam a digestão, fazendo com que haja deficiência na absorção dos nutrientes e gorduras pelo organismo, podendo causar fezes mal formadas e dificuldade para ganhar peso.

Como é fundamental manter uma nutrição adequada, as crianças cujo pâncreas não consegue mais produzir enzimas em quantidade suficiente para uma digestão adequada recebem essas enzimas através de medicação. De modo geral, avalia-se o funcionamento do pâncreas dos pacientes com Fibrose Cística através da observação das características de suas fezes, e quantidade de enzimas a ser recebida é decidida de acordo com a resposta do paciente ao tratamento.

Neste estudo será realizado um exame, já aplicado em outros hospitais que avalia a função do pâncreas através de uma substância presente nas fezes. Serão necessárias amostras de fezes e de sangue, e preferencialmente serão utilizadas amostras coletadas para exames da assistência do paciente. Caso contrário, serão realizadas coletas de fezes e/ou sangue para a pesquisa, da mesma forma como são realizadas as coletas assistências. A recusa em particular do estudo não trará prejuízo no seu acompanhamento ou de seu filho na instituição.

Eu, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, fui informado dos objetivos e da justificativa dessa pesquisa de forma clara e detalhada. Recebi informações específicas para cada procedimento na qual eu ou meu filho(a)

estaremos envolvidos, dos desconfortos previstos bem como dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Sei ainda que novas informações obtidas durante o estudo me serão fornecidas e que terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa face a essas informações. Também fui informado(a) de que, se houver gastos, eles serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Paciente:

Responsável:

Pesquisador

Orientador

Data:

## ANEXO B - DADOS DO PACIENTE

Nome: Idade: Sexo:

Data de nascimento:

Prontuário:

Endereço:

Data da internação: Data da alta:

Dados Clínicos:

Motivo da internação: check-up ( ) Outros motivos:

Mutação da fibrose:

Suplementação de Enzima? ( ) sim ( ) não Dose:

Avaliação Nutricional: Data:

Peso:

Estatura/comprimento

Diagnóstico nutricional:

Data do armazenamento das fezes:

OBS.:

Exames laboratoriais:

## ANEXO C - BANCO DE DADOS

Num	Sexo	EL-1	Lipase por KG/dia	IDADE	Perc P/E* Perc IMC	DIAG NUT	Motivo Internação	MUTAÇÃO
1	2	<15	4056	12,18	25,64	3	1	3
5	2	<15	510	13,73	40,82	3	1	1
8	1	<15	5962,05	11,97	41,483	3	1	1
9	1	<15	2337,66	10,22	26,94	3	1	1
10	1	<15	6160,16	2,10	17,48	2	2	1
13	1	<15	6037,73	14,53	0	1	2	2
14	1	<15	8391,6	2,38	93,8	3	2	1
16	1	<15	7605,63	13,56	7,45	1	1	2
17	1	<15	8843,53	12,24	3,12	1	1	3
18	2	428,16	Não utiliza	7,73	1,5	1	1	2
19	2	<15	1400	13,04	69,01	3	1	2
20	1	<15	4897,95	12,23	77,73	3	1	2
22	2	411,89	2520	0,69	*0,63	1	1	2
23	1	<15	10557,18	12,22	23,34	2	1	1
26	2	<15	13186,81	5	54,4	3	2	2
27	1	<15	3945,20	9,29	85,57	3	1	1
29	2	431,17	Não utiliza	13,07	73,73	3	1	3
32	2	<15	7384,61	7,02	19,51	2	2	2
33	1	269,74	4102,56	10,90	30,62	3	2	3
35	1	<15	6369,42	12,79	23,07	2	2	2
36	1	212,34	Não utiliza	1,55	*52,81	3	1	2
40	1	<15	7243,46	0,37	*63,08	3	2	2
41	1	<15	9411,76	8,63	51,54	3	1	2
42	1	<15	15652,17	1,91	*71,47	3	2	3
43	2	<15	2425,87	1,73	*3,9	1	2	3
44	2	<15	7272,72	5,73	12,75	2	1	2
45	1	<15	4687,5	17,06	13,78	2	1	2
46	2	<15	2185,79	16,5	47,95	3	Ambulatório	3
49	2	<15	1304,34	6,33	54,59	3	Ambulatório	2
50	2	<15	3973,5	0,31	*24,48	2	2	1
51	2	<15	6013,66	9,66	91,93	3	Ambulatório	1
53	1	346,51	Não utiliza	6,70	7,06	1	1	3
54	2	448,83	4931,5	8,91	44,66	3	Ambulatório	3
56	1	444,73	Não utiliza	14,08	16,84	2	Ambulatório	3
57	2	<15	8530,8	15,30	26,22	3	2	1
58	1	<15	7477,74	9,91	26,21	3	Ambulatório	3
59	1	<15	4081,63	16,02	12,97	2	1	2
60	2	<15	2051,28	14,41	73,61	3	1	3
61	2	<15	2247,91	6,94	80,2	3	2	1
62	1	<15	5448,71	12,23	5,77	1	2	1
63	1	<15	1395,34	10,08	92,3	3	1	3

65	1	40,19	2418,13	9,43	89,48	3	2	3
68	1	<15	3185,84	13,33	16,87	2	2	1
69	1	<15	5517,24	13,70	42,39	3	2	1
72	1	424,64	3381,14	9,82	1,01	1	1	3
73	1	268,94	2608,69	5,83	91,9	3	1	3
74	1	<15	1541,09	9,75	39,82	3	1	1
75	2	<15	5405,4	4,10	54,08	3	2	3
76	1	<15	10760,86	1,07	*5,72	1	2	1
78	1	<15	4556,96	5,92	0,14	1	2	2
80	1	<15	7000	10,51	81,67	3	1	1

**Sexo:** 1=Masculino

2=Feminino

**Diagnóstico nutricional:** 1= desnutrição

2= risco nutricional

3=eutrófico

**Motivo de internação:** 1= *check-up*

2= outros motivos

**Mutação:** 1=homozigoto p/  $\Delta F508$

2=heterozigoto p/  $\Delta F508$

3= ausência de  $\Delta F508$