Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Instituto de Nutrição Josué de Castro
Programa de Pós-Graduação em Nutrição (PPGN)

ESTUDO DOS POLIMORFISMOS DO RECEPTOR DE VITAMINA D E AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE 25 HIDROXIVITAMINA D EM PACIENTES COM DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS

Marcela Diogo Romi

Rio de Janeiro
2016

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Instituto de Nutrição Josué de Castro
Programa de Pós-Graduação em Nutrição (PPGN)

ESTUDO DOS POLIMORFISMOS DO RECEPTOR DE VITAMINA D E AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE 25 HIDROXIVITAMINA D EM PACIENTES COM DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS

Marcela Diogo Romi

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição (PPGN) do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de **Mestre em Nutrição Humana.**

Orientadora:
Profª Drª Márcia Soares da Mota e Silva Lopes

Coorientadora:
Drª Cyrla Zaltman

Rio de Janeiro
2016

R765e Romi, Marcela Diogo.

Estudo dos polimorfismos do receptor de Vitamina D e avaliação da concentração de 25 hidroxivitamina D em pacientes com doenças inflamatórias intestinais. / Marcela Diogo Romi. - Rio de Janeiro, 2016.
79f.

Orientadora: Márcia Soares da Mota e Silva Lopes.
Coorientadora: Cyrla Zaltman.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2016.

1. Doença de Crohn. 2. Retocolite Ulcerativa. 3. Receptores de cacitriol. 4. Polimorfismos genéticos. 5. Vitamina D. I. Lopes, Márcia Soares da Mota e Silva, orient. II. Zaltman, Cyrla, coorient. III. Título.

ESTUDO DOS POLIMORFISMOS DO RECEPTOR DE VITAMINA D E AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE 25 HIDROXIVITAMINA D EM PACIENTES COM DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição (PPGN) do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de **Mestre em Nutrição Humana.**

Examinada por:

_____
Profª Drª Márcia Soares Lopes da Silva
Doutora em Ciências / UFRJ
Presidente da banca examinadora

_____
Profª Drª Eliane Lopes Rosado
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos / UFV
Examinadora Titular

_____
Profª Drª Fátima Lúcia de Carvalho Sardinha
Doutora em Ciências / UNIFESP
Examinadora titular

_____
Profª Drª Cristina Fajardo Diestel
Doutora em Fisiopatologia e Ciências Cirúrgicas / UERJ
Examinadora Titular

DEDICATÓRIA

À minha família que sempre me incentivou
na busca pelo conhecimento.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me acompanhar até aqui e permitir que eu concluísse mais essa etapa.

Aos meus queridos pais, por todo amor e apoio incondicionais, por me ensinarem a ser perseverante e por acreditarem no meu potencial.

Ao meu amado marido, por estar sempre ao meu lado e me apoiar em todas as decisões, pelo incentivo e compreensão durante os momentos difíceis desse percurso.

Às minhas orientadoras, Profª. Drª. Cyrla Zaltman e Profª. Drª. Marcia Soares pela oportunidade, por contribuírem para meu desenvolvimento acadêmico. Pelo constante estímulo a pesquisa, pela atenção, motivação e carinho durante todo curso de mestrado.

Aos professores do PPGN, pelas contribuições em minha formação acadêmica, em especial à professora Eliane Rosado, pelas excelentes aulas, pelas contribuições teóricas, pela amabilidade em cada contato e pela revisão deste trabalho.

À Profª. Drª. Cristina Diestel, por ser uma inspiração na profissão, pela participação na minha formação durante a residência em nutrição clínica, pelo incentivo à pesquisa, carinho e amizade.

À Prof.ª. Drª. Fernanda Britto da Universidade Veiga de Almeida, pela disponibilidade e atenção para esclarecer todas minhas dúvidas em relação a parte experimental do trabalho.

Ao professor Rogério Emygdio, pelo auxílio nas análises estatísticas da pesquisa.

Às colegas Tainá Nunes e Jeanne Mendonça, pela colaboração em todas as etapas da execução da pesquisa.

Às amigas Clarissa Quirino, Anna Carolina Coimbra e Marjorie Ostrowiski, por compartilharem as mesmas aflições, pela ajuda nos momentos de insegurança e ansiedade.

Às minhas amigas da UERJ, da residência no HUPE e da Ideal Fire, pela amizade, incentivo e torcida durante essa jornada.

Aos pacientes participantes da pesquisa, pois sem eles nada disso seria possível.

Muito obrigada!

RESUMO

ROMI, Marcela Diogo. Estudo dos polimorfismos do receptor de vitamina D e avaliação da concentração de 25 hidroxivitamina D em pacientes com doenças inflamatórias intestinais. Dissertação (Mestrado em Ciências Nutricionais) – Instituto de Nutrição Josué de Castro, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, 2016.

Os polimorfismos do receptor de vitamina D (VDR) têm sido implicados no aumento da susceptibilidade as doenças inflamatórias intestinais (DII). Essas variantes genéticas podem determinar alterações nos mecanismos de ação da vitamina D e afetar o curso clínico da doença. No Brasil, são escassos os estudos que avaliem esses polimorfismos em pacientes com DII. Dessa forma, este estudo teve por objetivo investigar os polimorfismos do gene VDR e sua associação com estado nutricional de vitamina D e com fatores de mau prognóstico em pacientes com doença inflamatória intestinal. Foi realizado estudo caso-controle envolvendo 107 pacientes com doença de Crohn (DC) e 43 com retocolite ulcerativa (RCU) acompanhados no Serviço de Gastroenterologia - UFRJ, e 81 indivíduos saudáveis, nos quais foram pesquisados os polimorfismos ApaI (“Aa”, “aa”), TaqI (“Tt”, “tt”) e FokI (“Ff, “ff”) do VDR. A genotipagem foi feita pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real e a dosagem de 25(OH)D por imunoensaio por quimioluminescência, sendo valores $\leq$30 ng/mL considerados hipovitaminose D. Aspectos clínicos, demográficos e fatores de mau prognostico foram coletados de prontuários. Os dados foram analisados por meio do *software Statistical Package for the Social Sciences*. Foi observado que os genótipos “aa" (ApaI) e "Tt" (TaqI) foram mais frequentes em DC. Não houve diferença na distribuição dos polimorfismos entre o grupo controle e RCU. Os genótipos “Aa” e “aa” foram considerados protetores contra o uso de imunossupressores e os genótipos “Tt” e “tt” protetores contra o uso de corticosteroides no momento do diagnóstico, em DC. Os genótipos “Tt” e “tt” foram associados com necessidade de mais de 2 cursos de corticosteroides durante a evolução da doença em RCU. Foi realizada a dosagem de 25(OH)D em 44 pacientes com DII, sendo verificada hipovitaminose D em 38,6% (n=17), sem associação dessa deficiência com das características clínicas ou com os polimorfismos. Assim, foi detectado associação das variantes genéticas ApaI e TaqI, mas não de FokI, com DC e com fatores prognósticos nesse grupo. Embora os polimorfismos não tenham sido associados a RCU, constatou-se que TaqI foi associado com preditor de má evolução de doença nesses pacientes. Novos estudos com amostras maiores são necessários para melhor entendimento da prevalência e das associações de risco destes polimorfismos, em pacientes com DII em nosso população.

Palavras-chaves: Vitamina D, doença inflamatória intestinal, doença de Crohn, retocolite ulcerativa, polimorfismo, receptor de calcitriol.

ABSTRACT

ROMI, Marcela Diogo. Study of the vitamin D receptor gene polymorphisms and serum 25-hydroxyvitamin D in patients with inflammatory bowel disease. Dissertação (Mestrado em Ciências Nutricionais) – Instituto de Nutrição Josué de Castro, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, 2016.

The ApaI, TaqI and FokI vitamin D receptor (VDR) gene polymorphism have been implicated in increased susceptibility to inflammatory bowel diseases (IBD). These genetic variants can also determine changes in vitamin D mechanisms of action and affect the clinical course of the disease. In Brazil, there are a lack of reports concerning these polymorphisms in IBD patients. The aim of this study was to investigate the VDR gene polymorphisms and its association with nutritional status of vitamin D and with poor prognostic factors in patients with IBD. Was performed a case-control study involved 107 patients with Crohn's disease (CD) and 43 with ulcerative colitis (UC) attended in the Gastroenterology Department - UFRJ, and 81 healthy subjects, in which ApaI, ("Aa", "aa"), TaqI ("Tt", "tt") e FokI ("Ff, "ff") VDR polymorphisms were evaluated. The genotyping was performed by Polymerase Chain Reaction (PCR) in real time technique. The concentration of 25(OH)D was measured by chemiluminescence immunoassay, the cut-off used to determine vitamin D deficiency was 30 ng / ml. Demographic, clinical features and poor prognostic factors of patients were obtained from the chart review. Data were analyzed using the Statistical Package for Social Sciences software. The genotype "aa" (ApaI) and "Tt" (TaqI were more frequent in DC. There was no difference in the distribution of polymorphisms between the control group and RCU. Genotypes "Aa" and "aa" were considered protective against the use of immunosuppressants and genotypes "Tt" and "tt" confer protection against the use of corticosteroids at the time of diagnosis in DC. The genotypes "Tt" and "tt" were associated with need of more than 2 corticosteroids courses during the course of the disease in RCU. The 25(OH)D level was measured in 44 patients with IBD, was verified hypovitaminosis D in 38.6% (n = 17). There was no association between clinical features or VDR polymorphisms and this deficiency. Thus, it was detected association of genetic variants ApaI and TaqI, but no FokI, with DC and prognostic factors in this group. Although polymorphisms have not been associated with UC, it was found that TaqI was associated with poor prognosis predictor of disease in these patients. Also were observed no associations with vitamin D deficiency. Further studies with larger samples shoud be conduced to better understand the prevalence and risk associations of these polymorphisms in patients with IBD in our country.

Keywords: Vitamin D, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, ulcerative colitis, polymorphism, calcitriol receptor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Metabolismo da vitamina D e principais efeitos biológicos.

Figura 2: Interação entre vitamina D e seu receptor nas células alvo.

Figura 3: Gene do receptor de vitamina D.

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1: Estudos de associação dos polimorfismos do gene do receptor de vitamina D e a susceptibilidade à doença inflamatória intestinal.

Tabela 2: Características clinico-demográficas dos grupos estudados.

Tabela 3: Distribuição da frequência dos polimorfismos do receptor da vitamina D (ApaI, TaqI e FokI) nos grupos estudados.

Tabela 4: Características clínico-demográficas dos pacientes com doença de Crohn e retocolite ulcerativa, de acordo com a concentração sérica de 25(OH)D.

Tabela 5: Distribuição dos polimorfismos do receptor de vitamina D nos grupos doença de Crohn e retocolite ulcerativa, de acordo com a concentração sérica de 25(OH)D.

Tabela 6: Análise de associação entre polimorfismos do gene do receptor de vitamina D (ApaI, FokI e TaqI) com fatores de mau prognóstico evolutivo e desfechos clínicos na doença de Crohn.

Tabela 7: Análise de associação entre polimorfismos do gene do receptor de vitamina D (ApaI, FokI e TaqI) com fatores de mau prognóstico evolutivo e desfechos clínicos na retocolite ulcerativa.

LISTAS DE ANEXOS

Anexo A – Termo de aprovação do Comitê de ética em pesquisa HUCFF/UFRJ

Anexo B – Termo de Consentimento Livre Esclarecido e Informado

Anexo C – Ficha de coleta de dados

Anexo D – Classificação de Montreal

Anexo E – Índices de atividade de doença

LISTAS DE SIGLAS E ABREVIATURAS

$1,25(OH)_2D3$ – 1,25-dihidroxivitamina D, calcitriol
25(OH)D – 25-hidroxivitamina D
5-ASA – Ácido 5-aminossalicílico
ASCA – Anticorpos anti-*Saccharomyces Cerevisiae*
CARD15 – *Caspase recruitment domain-containing protein* 15
CEP – Comitê de Ética em Pesquisa
CI – Colite indeterminada
DBP – *Vitamin D binding protein* – Proteína ligadora de vitamina D
DC – Doença de Crohn
DII – Doença Inflamatória Intestinal
DNA – Ácido desoxiribonucleico
HLA - Human leukocyte antigen - Antígeno leucocitário humano
HUCFF – Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
IBD1 – *Inflammatory Bowel Disease 1* - Doença Inflamatória Intestinal 1
IBDQ – *Inflammatory Bowel Disease Questionnaire* – Questionário de *Doença* Inflamatória Intestinal
IL – Interleucina
INF-γ – Interferon-gama
INJC – Instituto de Nutrição Josué de Castro
JAK2 – Proteínas janus quinase 2
MAP-K – Proteíno-quinases ativadas por mitógenos
MDR -1 – *Multi-drug resistance gene* – Gene de resistência a múltiplas drogas
MHC – *major histocompatibility complex* - Complexo principal de histocompatibilidade
NF-κB – Fator nuclear-kappa B
NLR –*Nod–like Receptor* – Receptor tipo Nod
NOD2 – *nucleotide-binding oligomerization domain* 2 – Domínio 2 de ligação e oligomerização de nucleotídeos
OCTN1/ OCTN2 – *organic cátion transporters 1 e 2* – transportador orgânico de cátions
p-ANCA – Anticorpo anticitoplasma de neutrófilo perinuclear
PCR – Reação em cadeia da polimerase
Pgp – P-glicoproteína
PPAR – Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma
RCU – Retocolite Ulcerativa
RNA – Ácido ribonucleico
RXR – Rceptor X retinóide
SLC22A4/ SLC22A5 – *solute carrier family 22, members 4 e 5*- carreador de solutos
SNPs – Single nucleotide polymorphisms - Polimorfismos de nucleotídeo único
SPSS – *Statistical Package for the Social Sciences*

STAT 3 – *Signal transducers and activators of transcription* 3 - Transdutora de sinal e ativadora de transcrição 3
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGI – Trato gastrointestinal
Th – T *helper*
TLR – *Toll-like receptor* - Receptor tipo toll
TNF – Fator de Necrose Tumoral
UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro
UTR – Unstranlated region – Região não traduzida
VDR – *Vitamin D receptor* - Receptor de vitamina D
VDRE – *Vitamin D response elements* – Elementos de resposta à vitamina D

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 14
2. REFERENCIAL TEÓRICO 15
Doenças inflamatórias intestinais: aspectos clínicos e epidemiológicos 15
Etiopatogênese das doenças inflamatórias intestinais 16
Diagnóstico e tratamento das doenças inflamatórias intestinais 21
Fatores preditores de má evolução em doenças inflamatórias intestinais 22
Vitamina D 25
Vitamina D e doenças inflamatórias intestinais 29
Receptor da vitamina D 31
Polimorfismo do receptor de vitamina D 33
Polimorfismo do receptor de vitamina D e doenças inflamatórias intestinais 35
3. JUSTIFICATIVA 38
4. OBJETIVOS 39
Objetivo geral 39
Objetivos específicos 39
5. CASUÍSTICA E MÉTODOS 40
Desenho do estudo 40
Considerações éticas 40
Populações do estudo 40
Avaliação do polimorfismo do gene VDR 42
Dosagem de 25(OH) Vitamina D 43
Análise estatística 43
6. RESULTADOS 44
Caracterização da população 44
Frequência genotípica do polimorfismo do receptor da vitamina D 46
Avaliação do estado nutricional de vitamina D 48
Polimorfismo do receptor da vitamina D e fatores prognósticos em DII 50
7. DISCUSSÃO 53
8. CONCLUSÕES 60
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFIAS 61
10. ANEXOS 73

1. INTRODUÇÃO

Doenças inflamatórias intestinais (DII) são afecções crônicas, caracterizadas por processo inflamatório, que acometem o trato gastrintestinal (TGI), cursando com períodos de exacerbação e remissão (ALASTAIR; EMMA; EMMA, 2011). Acredita-se que a sua etiopatogenia seja decorrente da perda de tolerância à microbiota intestinal, associada à desregulação da resposta imunológica a fatores ambientais em indivíduos geneticamente susceptíveis. Suas principais formas de apresentação são a retocolite ulcerativa (RCU) e a doença de Crohn (DC) (MURDOCH et al., 2015).

Em geral, a incidência e prevalência das DII são mais elevadas em países industrializados (ÓRDAS et al., 2012), especialmente naqueles do norte da Europa Ocidental, Canadá, Estados Unidos da América, Austrália, e Nova Zelândia (BURISCH; MUNKHOLM, 2013). No Brasil, estudos epidemiológicos sobre DII são escassos, embora aumento nas frequências de consultas ambulatoriais e internações em grandes centros urbanos tenha sido observado (VICTORIA; SASSAK; NUNES, 2009; KLEINUBING-JUNIOR et al., 2011).

Por se tratar de doenças poligênicas complexas, inúmeros genes têm sido relacionados com o surgimento de DC e RCU (KHOR; GARDET; XAVIER, 2011), incluindo o gene receptor da vitamina D (VDR; do inglês *Vitamin D receptor*) que sintetiza o receptor da vitamina D, por meio do qual a vitamina D exerce suas funções biológicas. Variações genéticas têm sido descritas para o gene VDR. Os polimorfismos de VDR mais estudados são: BsmI, ApaI, TaqI e FokI (KRELA-KAZMIERCZAL et al., 2015).

A vitamina D exerce inúmeras ações no sistema imunológico e uma revisão da literatura sugere sua influência na etiopatogênese de doenças autoimunes (YANG et al., 2013a). Entretanto, o papel da vitamina D e/ou do seu receptor (VDR) na susceptibilidade às DII e no curso evolutivo dessas doenças ainda é controverso (WANG et al., 2014). No Brasil, não existem artigos publicados que tenham estudado os polimorfismos do VDR e sua associação com estado nutricional de vitamina D em pacientes com DII, concomitantemente, justificando a realização deste estudo.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Doenças inflamatórias intestinais: aspectos clínicos e epidemiológicos

A RCU é caracterizada pela inflamação das camadas intestinais mucosa e submucosa, que acomete o reto e extensão variável do cólon de forma contínua (Figura 1) (DIGNASS et al., 2012). É comumente diagnosticada na adolescência tardia ou no início da idade adulta, mas pode ocorrer em qualquer faixa etária, atingindo ambos os sexos de forma homogênea (DA SILVA et al., 2014). Os sintomas da RCU são dependentes de extensão e gravidade da doença. Diarreia sanguinolenta é mais frequentemente observada, mas sangramento retal, urgência ou tenesmo e evacuação noturna também são relatados (MOWAT et al., 2011).

Por outro lado, a DC é caracterizada por inflamação transmural, envolvendo todas as camadas do TGI, afetando de modo descontínuo qualquer porção deste, embora as regiões mais comumente acometidas sejam íleo e cólon (MOWAT et al., 2011). Manifestações perianais da doença, como fístulas, estão presentes em pelo menos 10% dos casos, no momento do diagnóstico (CARD; HUBBARD; LOGAN, 2003; MURDOCH et al., 2015). Apresenta distribuição semelhante em ambos os sexos, com tendência para sexo feminino, acomete com mais frequência adultos jovens, na faixa etária entre 20 a 40 anos e um segundo pico a partir dos 55 anos (MISZPUTEN, 2002; DOROFEEV; SHVETS, 2014).

Na DC, os sintomas são mais heterogêneos, pois dependem do segmento intestinal afetado e da gravidade da doença. Geralmente incluem diarreia por mais de 6 semanas, dor abdominal e / ou perda de peso. Assim como na RCU, sintomas sistêmicos como mal-estar, anorexia, ou febre são característicos da atividade de doença (VAN ASSCHE et al., 2010).

As manifestações clínicas da DC podem variar também de acordo com a forma evolutiva que a doença adquire. São três os fenótipos: inflamatório ou não estenosante não penetrante, caracterizado por processo inflamatório contínuo; estenosante, com o surgimento de regiões de estreitamento do lúmen; e penetrante, com o surgimento de fistulas (enteroentéricas, enterovesicais, enterocutâneas, porém não se incluem as perianais) (CARD; HUBBARD; LOGAN, 2003; SOFIA et al., 2014).

Embora afete principalmente o TGI, manifestações extraintestinais, que podem preceder o diagnóstico, são observadas em até 50% dos pacientes (HARBORD et al., 2016). Os distúrbios mais frequentemente encontrados são músculo esqueléticos, mucocutâneos, oftalmológicos e afecções do sistema hepatobiliar, como a colangite esclerosante primária (ISENE et al., 2015). No entanto, as menos frequentes, como manifestações pulmonares ou

neurológicas, também devem ser consideradas em pacientes com DII. Estes sintomas podem relacionar-se à atividade da doença intestinal ou cursar de maneira independente (OTT; SCHOLMERICH, 2013). A patogênese destas manifestações extraintestinais não é totalmente conhecida, mas há evidência de que fatores ambientais, imunológicos e genéticos estejam implicados (KAMIRIS et al., 2016).

A ocorrência de DII em todo o mundo tem aumentado ao longo dos últimos anos. Em contraste com os países desenvolvidos da América do Norte e Europa Ocidental, onde a incidência vem se estabilizando ou diminuindo, o número de casos tem aumentado nos países em desenvolvimento, como os da América Latina, da Ásia e na Europa Oriental (LAKATOS, 2006; DA SILVA et al., 2014; DOROFEEV; SHVETS, 2014). No entanto, a taxa de incidência pode variar de 0,5 a 31,5 casos de RCU e de 5 a 10 casos de DC por 100.000 pessoas por ano, dependendo da população estudada (BURISCH; MUNKHOLM, 2013). As taxas de prevalência, incidência e mortalidade no Brasil, em sua totalidade, ainda são desconhecidas, o que pode estar relacionado a subnotificações ou a dificuldades de diagnóstico (SOUZA; BELASCO; AGUILAR-NASCIMENTO, 2008).

Contudo, estudos epidemiológicos regionais da DII foram realizados no Brasil. Victoria e colaboradores (2009) estimaram a incidência e prevalência de DII na cidade de Botucatu, no estado de São Paulo, durante o período de 20 anos (1986 - 2005). Embora tenha sido verificada maior incidência da RCU (4,48 casos/100.000 habitantes) em relação à DC, houve decréscimo a partir de 2001. As prevalências de DC e RCU atingiram 5,65 e 14,81 casos/100.000 habitantes, respectivamente.

No estudo realizado por Parente et al. (2015), foram avaliadas as características demográficas e os fenótipos clínicos da DII em Teresina, no Piauí, demonstrando que do total de 252 pacientes com DII incluídos, 152 (60,3%) tinham RCU e 100 (39,7%) DC.

Etiopatogênese das doenças inflamatórias intestinais

A etiologia das DII não está completamente elucidada, no entanto, acredita-se que seja multifatorial, na qual susceptibilidade genética, fatores ambientais, microbiota intestinal e o sistema imunológico estejam envolvidos em sua patogênese (LODDO; ROMANO, 2015).

Embora os estudos de associação do genoma humano tenham mostrado que as DII possuem importante componente genético, a predisposição genética somente não é suficiente para ocasionar o desenvolvimento da doença. Outros fatores, incluindo os ambientais, devem

desempenhar papel determinante, sugerindo o fenômeno "gatilhos múltiplos" que precipitam o surgimento da doença (LEONE; CHANG; DEVKOTA, 2013).

Fatores genéticos

RCU e DC, os principais subfenótipos de DII, são doenças poligênicas complexas (SAADATI et al., 2016). Uma meta-análise, utilizando dados de estudos de associação do genoma, incluindo mais de 75.000 pacientes adolescentes e adultos com DII e controles saudáveis, identificou 163 *loci* de susceptibilidade para DII, abrangendo aproximadamente 300 potenciais genes candidatos. Destes 163 *loci*, 110 conferiram risco para desenvolvimento de ambos fenótipos. Dos *loci* restantes, 30 são classificados como específicos para DC e 23 para RCU (JOSTINS et al., 2012). As variações genéticas, de maneira geral, relacionam-se com o reconhecimento de antígenos bacterianos e com os mecanismos de defesa do organismo e essas alterações contribuem para o estado de inflamação intestinal (DANESE; FIOCCHI, 2011).

O gene CARD15 (do inglês *caspase recruitment domain-containing protein* 15), inicialmente chamado de NOD2 (do inglês *nucleotide-binding oligomerization domain* 2), localizado na região IBD1 (do inglês Inflammatory Bowel Disease 1) do cromossomo 16, é o mais estudado e suas variantes genéticas estão relacionadas com aumento da susceptibilidade ao desenvolvimento de DC, sendo observadas em aproximadamente 25-35% dos pacientes com ascendência europeia (NEWMAN; SIMINOVITCH, 2005; SARTOR, 2006). A proteína intracelular transcrita ativa as cascatas do fator nuclear *kappa* B (NF-κB, do inglês *nuclear factor kappa B*) e das proteíno-quinases ativadas por mitógenos (MAP-K, do inglês *mitogen activated protein kinases*), em resposta a estímulos de antígenos bacterianos (LODDO; ROMANO, 2015). O NF-κB desempenha função importante na manutenção da homeostasia da mucosa e age como mediador nas respostas específicas a patógenos. É fator de transcrição pró-inflamatório, induzindo a expressão de mediadores inflamatórios envolvidos na patogênese da DC, como TNF-α e outras citocinas pró-inflamatórias (IL (interleucina) -1, IL-6, IL-12; IL-18), anti-inflamatórias (IL-10), quimiocinas (IL-8) e moléculas de adesão, as defensinas (SARTOR, 2006). O polimorfismo do gene NOD2/CARD15 tem sido associada à localização ileal e aos fenótipos estenosante e penetrante da DC (CLEYNEN et al., 2013).

Mutações nas regiões de transcrição dos genes SLC22A4 e SLC22A5 (do inglês *solute carrier family 22, members 4 e 5*), que codificam as proteínas OCTN1 e OCTN2 (do inglês *organic cátion transporters 1 e 2*), respectivamente, localizadas na região IBD5 no

cromossomo 5, também têm sido associadas com DC. Essas variantes funcionais de transportadores de cátions orgânicos são ativamente expressas no epitélio intestinal, macrófagos e células T (SARTOR, 2006).

Os genes mais associados com a RCU são aqueles que codificam o sistema antígeno leucocitário humano (HLA, do inglês *human leukocyte antigen*), situados no braço curto do cromossomo 6, sua principal função é promover o reconhecimento dos antígenos pelos linfócitos T, sendo caracterizados por serem altamente polimórficos (CHO; WEAVER, 2007; DIGNASS et al., 2012). Os de classe II DR2, DR9, e DRB1, que codificam glicoproteínas presentes nas membranas de linfócitos B, macrófagos, monócitos, células de *Langerhans*, células dendríticas, células endoteliais e linfócitos T ativados, foram identificados como genes de susceptibilidade para RCU, enquanto DR4 foi verificado como gene protetor. O haplótipo HLA DRB1 está associado à susceptibilidade de doença extensa e aumento do risco de colectomia (SARLOS et al., 2014).

Outros genes que possuem forte associação com a RCU são os que codificam as proteínas da via se sinalização Janus Kinase/Transdutores de Sinal e Ativadores de Transcrição (JAK/STAT), a proteína tirosina quinase JAK2, no cromossomo 9, e a STAT3 (do inglês *signal transducers and activators of transcription 3*), no cromossomo 17, regulando a expressão de uma variedade de genes em resposta a estímulos celulares, e assim desempenha papel fundamental em diversos processos, tais como o crescimento celular e a apoptose (POLGAR et al., 2012).

O gene de resistência a múltiplas drogas (MDR-1, do inglês *multi-drug resistance gene*), que expressa a P-glicoproteína (Pgp), responsável pelo desenvolvimento de resistência a diversas drogas citotóxicas não relacionadas quimicamente, demostra associações com RCU e DC. Os genes dos receptores tipo Toll (TLR-2, 4, e 9, do inglês *toll like receptors*), componentes da imunidade inata, sendo responsáveis pelo reconhecimento de antígenos e ativação de vias de transcrição, também têm sido associados com maior susceptibilidade às DII (SARLOS et al., 2014).

A identificação de variantes genéticas pode definir um fenótipo da doença específica para ajudar a acompanhar a progressão clínica e, eventualmente, desenvolver novas terapias direcionadas (LODDO; ROMANO, 2015).

Fatores imunológicos

A contribuição das disfunções no sistema imunológico no desenvolvimento da DII é amplamente aceita. Nestas doenças, ocorrem defeitos na defesa imunológica contra microorganismos intestinais em dois níveis, com falha da barreira epitelial mucosa e alteração das respostas imunológicas inata e adquirida do hospedeiro (MATRICON; BARNICH; ARDID, 2010).

O primeiro mecanismo de defesa do intestino é o epitélio, que unido por junções *tight*, constitui barreira física que impede a penetração de elementos nocivos com potencial de estimulação do sistema imunológico. Aumento na permeabilidade intestinal tem sido observado em pacientes com DII e em alguns dos seus parentes em primeiro grau. A redução de outros fatores protetores, como defensinas na DC e de certos tipos de mucina na RCU, também é frequente (WEHKAMP et al., 2005; TURNER, 2006). Isso associado à alteração do balanço entre as bactérias benéficas e patogênicas na microbiota intestinal, descrito nas DII, implica na perda da tolerância às bactérias entéricas comensais, favorecendo a instalação, amplificação e a perpetuação do processo inflamatório nesses indivíduos (MASAKAZU; YASUHIRO; MAMORU, 2010).

A imunidade inata é responsável pelas respostas iniciais e rápidas, que localizam e erradicam patógenos invasores para a sobrevivência do hospedeiro. No intestino, inclui as células epiteliais fagocíticas da barreira intestinal e de dentro da lâmina própria (MEDZHITOV; JANEWAY, 2000). Os neutrófilos são as células que primeiro respondem a todos os tipos de insulto e desempenham papel central no processo inflamatório. Durante a resposta inata inicial, há aumento da permeabilidade vascular e observa-se infiltração de neutrófilos nos tecidos, onde liberam peptídeos antimicrobianos e espécies reativas de oxigênio que podem, por si só, causar danos aos tecidos. Essas células também recrutam e ativam outros glóbulos brancos do sangue (por exemplo, macrófagos), por meio da produção de quimiocinas, TNF-α, IL-1B, IL-6 e IL-8 (HANAUER, 2006).

As células apresentadoras de antígenos (neutrófilos, macrófagos e células dentríticas) expressam vários tipos de receptores da imunidade inata, como TLR e tipo *Nod* (NLR, do inglês *nucleotide-binding oligomerization domain like receptors*), que reconhecem padrões microbianos gerais. Adequada resposta imunológica inata é fundamental para o reconhecimento da microbiota intestinal e o desenvolvimento do processo de tolerância. Na DII, há um defeito na imunidade inata, de modo que as bactérias que deveriam ser reconhecidas e toleradas, exacerbam e deflagram a inflamação (LEE et al., 2006).

Por outro lado, há incremento na imunidade adaptativa, ocorre hiperativação da resposta imunomediada por células T *helper* (Th2), com aumento da infiltração de células *natural-killer* no cólon, que está associada à hipersecreção de IL-13, com potencial citotóxico. As secreções de IL-5 e IL-17 também se encontram aumentadas em RCU. Na DC, ocorre ativação excessiva da resposta Th1, com maior secreção de interferon gama (IFN-*γ),* IL-1B e TNF-α. Na mucosa intestinal dos pacientes com DC, os macrófagos que, juntamente com as células dendríticas, atuam como apresentadores de antígenos produzem grandes quantidades de citocinas indutoras, como por exemplo, IL-12, e IL-18 (TARGAN; KARP, 2005; DANESE; FIOCCHI, 2011).

A ativação de células-T indiferenciadas, os principais condutores da resposta imunológica, é precipitada pelas células apresentadoras de antígeno. A secreção de citocinas também induz a maturação dessas células-T, que é presumivelmente influenciada por fatores genéticos e ambientais (DAVIES; ABREU, 2015).

Fatores ambientais

Dados epidemiológicos e laboratoriais, bem como observações clínicas indicam a importância da influência do ambiente no desenvolvimento de DII. Diante disso, muitos possíveis fatores têm sido investigados, incluindo tabagismo, dieta, aspectos psicológicos, utilização de medicamentos anti-inflamatórios não-esteroides e de contraceptivos orais, apendicectomia, ausência de aleitamento materno, bem como ocorrência de infecções prévias (MOLODECKY; KAPLAN, 2010).

A associação entre dieta e DII tem sido extensivamente estudada. Alguns mecanismos pelos quais fatores dietéticos influenciam o desenvolvimento das DII incluem modulação dos mediadores inflamatórios, efeitos na permeabilidade da mucosa intestinal, promoção da alteração na expressão de genes e indução de mudanças na composição da microbiota intestinal (LAKATOS, 2009; CHAPMAN-KIDDELL et al., 2010; CABRÉ; DOMÈNECH, 2012). O padrão de dieta ocidental, com elevada ingestão de gorduras totais e carboidratos simples, além de consumo reduzido de fibras dietéticas, está implicado no aumento da incidência de DII (CHAPMAN-KIDDELL et al., 2010).

Da mesma forma, há indícios de que a dieta possa modular significativamente a atividade da doença (DIXON et al., 2015). Alguns componentes dietéticos, com propriedades anti-inflamatória ou anti-oxidante, podem ter efeitos benéficos sobre o curso de doença e na melhora dos sintomas (URANGA et al., 2016). Devido as suas ações no sistema imunológico,

a vitamina D tem sido apontada como possível fator dietético com papel na patogênese e no tratamento das DII (LEGAKI; GAZOULI, 2016). A maioria dos estudos que discutem as recomendações dietéticas, conclui que são necessárias dietas individualizadas para os pacientes com DII (NEUMAN; NANAU, 2012).

No que se refere à microbiota intestinal, os pacientes com DII apresentam alteração em sua composição. Há disbiose caracterizada por redução dos membros dominantes da microbiota intestinal pertencentes aos filos *Firmicutes e Bacteroidetes*. Esse desequilíbrio causa mudanças funcionais que parecem estar envolvidas na fisiopatologia de muitas doenças, incluindo DII (MORGAN et al., 2012; MATSUOKA; KANAI; 2015).

Diagnóstico e tratamento das doenças inflamatórias intestinais

Não há padrão ouro estabelecido para diagnosticar DII, portanto, a investigação deve envolver história clínica, exame físico, achados endoscópicos, histológicas e radiológicos, associados a marcadores bioquímicos, além de exclusão de agente infeccioso (VAN ASSCHE et al., 2010; DIGNASS et al., 2012). Contudo, considerando esses critérios, cerca de 5% dos pacientes com acometimento colônico são inclassificáveis, sendo denominados como “tipos não classificados”. Nos casos em que foi realizada colectomia, e mesmo após análise da peça cirúrgica, não foi estabelecido diagnóstico, os pacientes são ditos com colite indeterminada (CI) (SILVERBERG et al., 2005; MOWAT et al., 2011).

O exame endoscópico é o método de escolha para o diagnóstico inicial, além de ser fundamental no manejo da doença, pois permite avaliar as características, a extensão e a gravidade das lesões, além da coleta de biópsias para análise microscópica (KIM; JANG, 2013). Os achados endoscópicos da RCU são caracterizados por mucosa edematosa, com perda do padrão vascular submucoso, enantema difuso, granularidade, exsudação e friabilidade. Quando a inflamação afeta todo o cólon, podem ser encontradas alterações no íleo terminal por ileíte de refluxo (DIGNASS et al., 2012).

Na DC, observam-se vilosidades com arquitetura irregular, inflamação focal (descontínua) crônica, com infiltração de linfócitos e células plasmáticas. Grande variedade de características microscópicas que ajudam a estabelecer seu diagnóstico foi identificada, sendo a distorção de criptas e a presença de granulomas as mais frequentes (VAN ASSCHE et al., 2010).

As DII são estratificadas de acordo com a classificação clínica de Montreal, que pode ser utilizada na avaliação prognóstica da doença. A RCU é classificada segundo sua

localização no TGI e a gravidade de doença. Já na DC, esta categorização considera, além da localização da doença, seu padrão evolutivo e a idade de início da mesma. (SILVERBERG et al., 2005). A extensão da inflamação e a gravidade da doença irão influenciar na escolha da melhor opção terapêutica para cada paciente (SATSANGI et al., 2006).

A abordagem convencional das DII tem por objetivo induzir e manter a remissão clínica, livre de corticosteroides, minimizando assim o impacto na qualidade de vida. (D'HAENS; GEBOES; RUTGEERTS, 2014). Os aminosalicitatos (derivados de ácido 5-aminossalicílico (5-ASA)) atuam na indução e manutenção da remissão, sendo a terapia de primeira escolha para o tratamento da RCU. Em DC, a sulfasalazina é eficaz em pacientes com doença com acometimento colônico, mas não em doença do intestino delgado. Os corticosteroides são agentes anti-inflamatórios potentes usados em crises moderadas e graves da DC ou da RCU, sem nenhum papel na terapia de manutenção (MOWAT et al., 2011).

Como adjuvantes, as tiopurinas (azatioprina ou mercaptopurina) são amplamente utilizadas como terapia de indução e manutenção de remissão em DC e nos casos de falha ou intolerância ao tratamento com derivados de 5-ASA em RCU ou para pacientes que necessitam de repetidos cursos de esteroide. Outro agente imunossupressor é o metrotrexato, utilizado como segunda opção em doentes resistentes ou intolerantes a azatioprina ou mercaptopurina (MOWAT et al., 2011).

Com os avanços na compreensão da fisiopatologia das DII e o advento de tratamentos biológicos, que visam diretamente mediadores pró-inflamatórios, os objetivos terapêuticos evoluíram, incluindo a cicatrização da mucosa intestinal. Infliximab e adalimumab, anticorpos monoclonais anti-fator de necrose tumoral (TNF), têm demonstrado eficácia na indução e manutenção da remissão na RCU moderada a grave (AKIHO et al., 2015) e também em pacientes com DC com fenótipo inflamatório ou fistulizante (MOWAT et al., 2011).

O tratamento cirúrgico é considerado o último recurso, em casos de doença refratária à terapia medicamentosa. Na DC complicada, a cirurgia em estágio inicial é uma alternativa válida. Na RCU está indicada também na presença de câncer colo retal, e acometimento de coto retal de colectomia prévia (MOWAT et al., 2011).

Fatores preditores de má evolução em doenças inflamatórias intestinais

Nos últimos anos, diferentes aspectos têm sido envolvidos como possíveis influenciadores de má evolução nas DII, e entre estes se incluem fatores demográficos, clínicos, ambientais e genéticos que podem atuar separada ou associadamente, e inclusive se

inter-relacionar (PEYRIN-BIROULET et al., 2010). A consideração destes dados pode melhorar a gestão dos pacientes com DII, por meio do desenvolvimento de estratégias terapêuticas que visam modificar o curso clínico da doença, reduzindo o risco de recidiva, hospitalizações e cirurgias (NG et al., 2015).

Stallmach et al. (2014), em estudo multicêntrico incluindo 262 centros de referência, com pacientes com RCU, por meio de análise de regressão multivariada de *Cox*, identificaram parâmetros clínicos no momento do diagnóstico que permitem prever doença grave. Sendo caracterizada pela necessidade de medicamento imunossupressor, sendo estes: idade jovem, extensão da RCU na apresentação inicial (pancolite), exigência de internação do paciente, uso de esteroides e corticodependencia.

Sugere-se que, além de ser fator de proteção para o surgimento de RCU, apendicectomia pode influenciar o curso clínico da doença, contudo, os dados são conflitantes, necessitando ser investigado em estudos prospectivos (DA SILVA et al., 2014). Enquanto alguns trabalhos indicam que reduz a taxa de recorrência da doença, necessidade de tratamento com imunossupressor e colectomia (FLORIN; PANDEYA; RADFORD-SMITH, 2004), outro estudo, que combinou a avaliação de coorte retrospectiva com 2980 pacientes com RCU e meta-análise sobre o tema, concluiu que apendicectomia não estava associada com diminuição da gravidade da doença (PARIAN et al., 2016).

Por outro lado, a colangite esclerosante primária está associada com risco aumentado de câncer colorretal em RCU (ZHENG; JIANG, 2016), que juntamente com a colectomia, são os principais desfechos desfavoráveis em RCU, em termos de qualidade de vida e mortalidade (DA SILVA et al., 2014). Nesse contexto, pacientes que apresentam colangite esclerosante primária desenvolvem um fenótipo de doença diferenciado dos demais indivíduos com RCU (SOKOL et al., 2008).

Ao avaliar a necessidade de cirurgia nos pacientes com RCU, verificou-se risco elevado de colectomia associado com doença extensa, uso de pelo menos um curso de corticosteroides ou hospitalização devido a complicações da doença (DIAS et al., 2015).

Tabagismo é um dos fatores ambientais de risco para DII mais importantes e bem caracterizados, porém essa associação é complexa e seu mecanismo patogênico não está claro (LEGAKI; GAZOULI, 2016). Historicamente, estudos demonstraram o efeito protetor do tabagismo na RCU, maior risco para o desenvolvimento de doença em ex-fumantes, e piora da evolução clínica com a cessação do hábito de fumar (COSNES, 2004).

Da mesma forma, foi observado risco reduzido de RCU em fumantes, além de pacientes com curso mais brando de doença, com menor número de internações, necessidade de esteróides e colectomia (LAKATOS; SZAMOSI; LAKATOS, 2007). De outro modo, recente metánalise reunindo 16 estudos que avaliaram o efeito do tabagismo sobre a extensão e atividade de doença, necessidade de colectomia e desenvolvimento de bolsite, concluiu que o tabagismo parece não afetar a história natural da RCU. Comparados aos não fumantes, não foram observados benefícios em relação aos desfechos avaliados (TO; FORD; GRACIE, 2016).

Em DC, o tabagismo ativo no momento do diagnóstico foi associado com a necessidade precoce de cirurgia (menos de 3 anos após diagnóstico) (SANDS et al., 2003) e considerado fator preditivo de desenvolvimento de doença complicada por estenoses e fístulas (LAKATOS et al., 2009). Após ressecções intestinais, o tabagismo tem sido sugerido como forte preditor de recaída no pós-operatório, sendo duas vezes maior a necessidade de nova cirurgia. Outro preditor indiscutível independente de recorrência pós-operatória é a história de ressecção prévia (BEAUGERIE; SOKOL, 2012).

O estudo de Cosnes et al. (2002), com 1.199 pacientes com DC e tempo médio de acompanhamento de 8,6 anos, identificou que a idade inferior a 40 anos e a presença de lesão perianal no momento do diagnóstico são preditores independentes do desenvolvimento de fenótipo penetrante, enquanto que o desenvolvimento de fenótipo estenosante teve envolvimento jejunal ou ileal como preditores (COSNES et al., 2002). Lesões em TGI superior no momento do diagnóstico também foram apontadas como preditores de evolução desfavorável, com risco aumentado de recidiva da doença (WOLTERS et al., 2006; BEAUGERIE; SOKOL, 2012). Assim como na RCU, a gravidade da doença não parece ser afetada pela história familiar de DII (HENRIKSEN et al., 2007).

Beaugerie et al. (2006) realizaram um estudo coorte, em um centro de referência em Paris, com tempo de seguimento de cinco anos após o diagnóstico de DC, a fim de identificar fatores preditivos de curso de doença incapacitante. Sendo definida como presença de pelo menos um dos seguintes critérios de gravidade: necessidade de dois ou mais cursos de corticoterapia e/ou corticodependência; hospitalização para tratamento ou por complicações da doença; presença de sintomas incapacitantes crônicos, como fortes dores abdominais e diarreia recorrente; necessidade de terapia imunossupressora; ressecção intestinal ou intervenção cirúrgica para tratamento da doença perianal.

Os parâmetros clínicos identificados como fatores prognósticos independentes foram o tratamento inicial com corticosteroides, idade inferior a 40 anos no momento do surgimento da doença e presença de doença perianal ao diagnóstico, sendo significativamente associados ao desenvolvimento de doença incapacitante (BEAUGERIE et al., 2006). Outro estudo de coorte com tempo de acompanhamento superior a cinco anos, utilizando o mesmo conceito de curso de doença incapacitante proposto por Beaugerie et al. (2006), verificou ainda que a doença íleo-colônica também é um marcador preditivo desta enfermidade (LOLY; BELAICHE; LOUIS, 2008).

Identificar fatores prognósticos genéticos em DII é uma opção interessante. A principal vantagem é a sua estabilidade em longo prazo, o que não ocorre com outros fatores preditivos potenciais, como parâmetros clínicos ou marcadores sorológicos. Esses preditores têm sido menos estudados em RCU do que em DC, no entanto, apesar do número crescente de *loci* de susceptibilidade identificados em ambas as doenças, poucos têm apresentado implicações na evolução da doença (KHOR; GARDET; XAVIER, 2011). A presença de polimorfismo no gene *NOD2* tem sido associada com curso clínico mais agressivo de CD, maior risco de estenose intestinal, necessidade precoce de cirurgia e menor intervalo até a recaída no pós-operatório (ABREU, 2002).

Anticorpo anti-*saccharomyces cerevisiae* (ASCA, do inglês anti-*saccharomyces cerevisiae antibody*) e anticorpo anticitoplasma de neutrófilo perinuclear (p-ANCA, do inglês *perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies associated*), associados à DC e RCU, respectivamente, foram os primeiros marcadores sorológicos identificados em DII. Esses marcadores utilizados para diferenciar as DII, parecem ter papel prognóstico. Há evidências de que a presença de ASCA implica em DC grave e refratária, ao passo que p-ANCA positivo em doentes com RCU parece estar associado com resistência ao tratamento (PRIDEAUX et al., 2012).

Vitamina D

A vitamina D, ou colecalciferol, é um pró-hormônio esteroide, cuja principal função consiste na regulação da fisiologia osteomineral, em especial do metabolismo do cálcio, por meio da sua interação com as paratireoides, rins e intestino (ARNSON; AMITAL; SHOENFELD, 2007). No entanto, novas perspectivas sobre o papel da vitamina D em vários outros processos fisiológicos têm sido demonstradas, em particular, importante efeito na resposta do sistema imunológico (CANTORNA et al., 2004; HOLICK, 2004).

Está presente na natureza em duas formas principais: vitamina D2 (ergocalciferol), encontrada em plantas, leveduras e fungos; e vitamina D3 (colecalciferol), obtida a partir de fontes animais, tais como óleo de peixe, fígado bovino e gema de ovo. Entretanto, as fontes dietéticas são responsáveis por suprir apenas 20% das necessidades corporais. A principal fonte da vitamina D é a síntese endógena na pele após exposição à radiação ultravioleta (ARNSON; AMITAL; SHOENFELD, 2007; RAMAN et al., 2011).

Metabolismo

O precursor cutâneo da vitamina D (7-desidrocolesterol), exposto à radiação ultravioleta, é submetido a clivagem fotoquímica originando a pré-vitamina D3. Essa molécula termo lábil, em até 48 horas, sofre alteração molecular dependente da temperatura, o que resulta na formação da vitamina D3 (colecalciferol) (Figura 2). A pré-vitamina D3 também pode ser isomerizada, originando produtos biologicamente inativos, mecanismo que evita produção excessiva de vitamina D após períodos de exposição prolongada ao sol. O grau de pigmentação da pele é outro fator limitante para a produção de vitamina D, uma vez que maior conteúdo de melanina limita à penetração de raios ultravioleta (ARNSON; AMITAL; SHOENFELD, 2007; CASTRO, 2011).

No sangue, a vitamina D é carreada principalmente pela proteína ligadora de vitamina D (DBP, do inglês *vitamin D binding protein*), embora uma pequena fração esteja ligada à albumina. Ao alcançar o fígado, a vitamina D sofre hidroxilação, mediada por uma enzima citocromo P450 denominada CYP2R1, sendo convertida em 25-hidroxivitamina D (25(OH)D) que é biologicamente inativa (ARNSON; AMITAL; SHOENFELD, 2007).

A ativação da vitamina D ocorre nas células do túbulo contorcido proximal no rim, onde passa por uma hidroxilação adicional no carbono 1, catalisada pela enzina 1-α-hidroxilase (CYP27B1), originando a 1,25 didroxivitamina D3 (1,25$(OH)_2$D3), forma biologicamente ativa (HOLICK, 2004). Todavia, atualmente, reconhece-se a existência da hidroxilação extra renal da vitamina D, originando a vitamina que agiria de maneira autócrina e parácrina, com funções de inibição da proliferação celular, promoção da diferenciação celular e regulação imunológica. Assim sendo, a vitamina influenciaria o desenvolvimento das doenças autoimunes, cardiovasculares e neoplásicas (LEVENTIS; PATEL, 2008; CHEN et al., 2013).

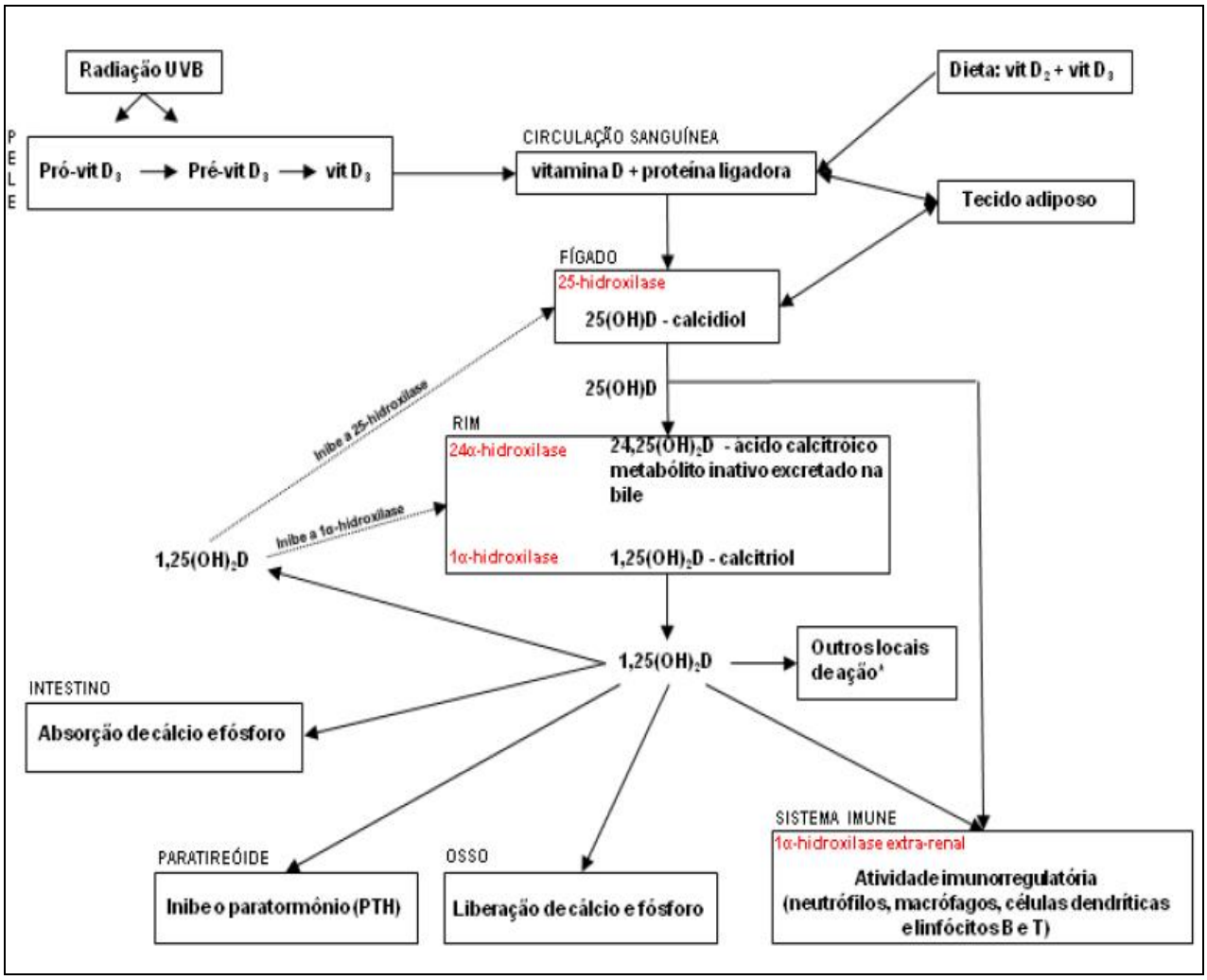

Figura 1: Metabolismo da vitamina D e principais efeitos biológicos (Adaptado de HOLICK, 2007).

A vitamina D pode ser quantificada a partir da concentração de 25(OH)D, que representa a forma circulante em maior quantidade no sangue, refletindo o conteúdo ingerido e produzido na pele (LEVENTIS; PATEL, 2008). Em contrapartida, não há consenso quanto ao ponto de corte para a definição de "suficiência em vitamina D" (CASTRO, 2011).

Especialistas concordam que, para correção do hiperparatiroidismo secundário, redução do risco de quedas e fraturas e a máxima absorção de cálcio, o melhor ponto de corte de 25(OH)D é de 30 ng/mL (75 nmol/L). Dessa maneira, concentrações séricas abaixo de 20 ng/mL (50 nmol/L) são classificadas como deficiência de vitamina D, entre 20 e 29 ng/mL (50 e 74 nmol/L) como insuficiência e entre 30 e 100 ng/mL (75 e 250 nmol/L) como suficiência (HOLICK et al., 2011). Portanto, concentrações séricas de 25(OH)D abaixo de 30 ng/mL (75 nmol/L) são consideradas como hipovitaminose D (HOLICK et al., 2011; 2012). Esse ponto de corte também é recomendado pela diretriz da Sociedade Brasileira de

Endocrinologia e Metabologia (MAEDA et al., 2014), porém diferem daqueles aceitos (20 ng/mL) pelo *Institute of Medicine* (IOM, 2011).

Vitamina D e sistema imunológico

A vitamina D exerce suas funções biológicas por meio da sua ligação a receptores nucleares específicos, os receptores de vitamina D (VDR), que regulam a transcrição do DNA em RNA. Os principais órgãos-alvo para a 1,25$(OH)_2$D3 são intestino delgado, osso (osteoblastos, osteoclastos), glândulas paratireoides e rins. No entanto, esses receptores são expressos por vários tipos de células, incluindo células hematopoiéticas, células epidérmicas, células pancreáticas, miócitos e neurônios (SZODORAY et al., 2008; MARQUES et al., 2010).

A ação biológica da vitamina D se estende além do metabolismo ósseo, e inclui vários efeitos no sistema imunológico, no crescimento e diferenciação de várias linhagens celulares (PELAJO; LOPEZ-BENITEZ; MILLER, 2010). A descoberta da expressão de enzimas 1-alfa-hydroxylase e do VDR em macrófagos, células dendríticas e os linfócitos T e B, apontou que estas células são capazes de converter percursores da vitamina D na sua forma ativa que irá agir de forma autócrina e parácrina nas células do sistema imunológico (ADORINI; PENNA, 2008). Esses achados postularam a atuação da vitamina D em processos de proliferação e diferenciação celular, além de imunomodulação. (MARQUES et al., 2010; WANG; ZHU; DELUCA, 2012).

De maneira geral, o efeito da vitamina D no sistema imunológico se traduz em aumento da imunidade inata associado à regulação multifacetada da imunidade adquirida (ADORINI; PENA, 2008). A 1,25$(OH)_2$D3 é capaz de modular as respostas imunológicas adaptativa, alterando as ações de células T e B ativadas, e inata, regulando macrófagos e células dendríticas (REICH et al., 2014).

Dentre as principais funções da vitamina D no sistema imunológico, podemos destacar o estímulo da resposta quimiotática e fagocítica de macrófagos e da produção de proteínas antimicrobianas, tais como catelicidina, inibição da expressão das moléculas de reconhecimento de antígenos (MHC-II, do inglês *major histocompatibility complex*), inibição da diferenciação de monócitos em células dendríticas e regulação negativa da produção de várias citocinas pró-inflamatórias, tais como a IL-1, IL-6, IL-8, e TNF-α (SUN, 2010).

A vitamina D também atua na regulação da diferenciação e ativação de linfócitos T, diminuindo a produção de citocinas pelas células Th1 (IL-2 e IFN-γ) e aumentando a resposta

celular mediada por Th2 (IL-4, IL-5 e IL-10) (MORA; IWATA; VON ANDRIAN, 2008; SUN, 2010). O aumento da diferenciação de células Th2 é resultado da ação direta da vitamina D3 nas células T CD4, enquanto que a redução na diferenciação de células Th1 é devido aos efeitos da vitamina D3 em células dendríticas (MORA; IWATA; VON ANDRIAN, 2008).

Células Th17 constituem outro alvo da vitamina D, promovendo supressão dessas células por causa da sua capacidade de produzir IL-17, citocina pró-inflamatória. Além disso, a 1,25$(OH)_2$D3 promove a indução de células T reguladoras (Treg), as quais têm propriedades imunossupressoras, sendo protetoras contra a autofagia (SUN, 2010; HEWINSON, 2012).

A concentração sérica de vitamina D necessária para garantir o bom funcionamento do sistema imunológico ainda não está definida. Provavelmente, esse valor deve ser diferente daquele necessário para prevenir a deficiência de vitamina D ou manter a homeostase do cálcio (MARQUES et al., 2010).

Vitamina D e doenças inflamatórias intestinais

A hipovitaminose D tem sido relatada em até 60% dos pacientes com DII (ABRAHAM; PRASAD; MALATY, 2014). Uma meta-análise mostrou que esses pacientes tinham chances 64% maiores de deficiência de vitamina D quando comparados aos controles (DEL PINTO et al., 2015). Contudo, não está claro se a deficiência seria possível contribuinte para o início e progressão da doença ou consequência desta. A maioria dos estudos foi conduzida após o diagnóstico estabelecido da doença e poucas pesquisas de intervenção examinaram esta questão de provar a causalidade (ANANTHAKRISHNAN, 2016).

Foi realizado estudo coorte prospectivo (1986 – 2008) com 72.719 mulheres adultas inscritas no Estudo de Saúde das Enfermeiras, nos Estados Unidos, que documentou incidência de DII na população estudada durante o período de seguimento. Foi demonstrado que concentrações mais elevadas de vitamina D ao rastreio foram associadas com redução significativa no risco de DC incidente e redução não significativa no risco de incidência de RCU (ANANTHAKRISHNAN et al., 2012).

Nos pacientes já diagnosticados, a deficiência de vitamina D pode ocorrer por diferentes mecanismos, como a diminuição da exposição à luz solar ou ingestão reduzida de alimentos fontes de vitamina D (como leite e derivados) devido aos sintomas da doença, por má absorção, em razão da inflamação intestinal ou ressecção intestinal prévia em pacientes

com DC, ou ainda, por maior captação celular no tecido inflamado (PALMER; WEAVER, 2013; DEL PINTO et al., 2015).

A partir de seus efeitos na modulação do sistema imunológico, sugere-se que a vitamina D possa influenciar a gravidade da inflamação na DII. Em estudo retrospectivo com uma população mista com DII, baixas concentrações séricas de 25(OH)D foram associadas com maiores escores de atividade clínica em DC e RCU, mas não com o risco de hospitalizações médicas ou cirúrgicas (ULITSKY et al., 2011).

Porém, outro estudo coorte prospectivo multicêntrico, envolvendo 3.217 pacientes, concentrações séricas reduzidas de 25(OH)D (<20ng/mL) foram associadas com risco aumentado de hospitalizações e cirurgias em DC e RCU (ANANTHAKRISHNAN et al., 2013). Além disso, em estudo retrospectivo com pacientes com DII no sul da Ásia, aqueles com deficiência de vitamina D apresentavam curso de doença mais agressiva, com 14% dos pacientes com deficiência necessitando de tratamento cirúrgico (BOYD, LIMDI, 2013).

Em ensaio clínico não controlado, 18 pacientes com DC foram inicialmente tratados com 1.000 UI de vitamina D por dia, durante 2 semanas. Posteriormente, a dose foi aumentada (até o máximo de 5.000 UI) até atingir concentração sérica de 40 ng/mL de $25(OH)_2D3$. Após 24 semanas, observou-se significativa redução do índice de atividade da DC (CDAI) e melhoria da pontuação em questionário de qualidade de vida para pacientes com DII (IBDQ, do inglês *Inflammatory Bowel Disease Questionnaire*) (YANG et al., 2013b).

Da mesma forma, ao avaliar a qualidade de vida e a atividade de doença, utilizando os índices de atividade de DC simplificado e de atividade clínica de colite simples em adultos, em acompanhamento ambulatorial, um estudo transversal verificou que deficiência e insuficiência de vitamina D estavam associadas à atividade de doença em RCU e DC, mas não à qualidade de vida (TORKI et al., 2015).

Valores reduzidos de vitamina D também têm sido associados com outros resultados clínicos, como resposta à terapia anti-TNF, infecção por *Clostridium difficile* e mortalidade (ARDESIA; FERLAZZO; FRIES, 2015). Zator et al. (2014) realizaram estudo randomizado envolvendo pacientes com DII, submetidos à terapia com anti-TNF, com concentrações séricas de vitamina D inferiores a 30ng/mL, que foram divididos em 2 grupos. Um grupo recebeu a suplementação de 50000 IU vitamina 25(OH)D por 12 semanas, e outro placebo. Após a intervenção, insuficiência de vitamina D foi associada com interrupção precoce do

tratamento com anti- TNF, de forma mais pronunciada em pacientes com DC (ZATOR et al., 2014).

Receptor da vitamina D

O VDR é um receptor nuclear da família dos receptores hormonais expresso em diversos tecidos e células do sistema imunológico, sendo especificamente ativado por 1,25$(OH)_2$D3. Regula a transcrição de diversos genes, produzindo proteínas específicas para executar a atividade biológica da vitamina D (SUN, 2010). Assim, em sua estrutura, ele apresenta domínios específicos para o acoplamento da 1,25$(OH)_2$D3, heterodimerização com o receptor X retinoico (RXR), ligação ao DNA e ativação da transcrição (CHRISTAKOS; DHAWAN; VERSTUYF et al., 2016).

Ao se ligar ao VDR, a vitamina D ativa promove alteração conformacional desse receptor, aumentando sua afinidade pelo RXR, que interage com o mesmo, formando um heterodímero 1,25$(OH)_2$D3-VDR-RXR (CHRISTAKOS et al., 2016). Geralmente, quando o RXR está dimerizado com VDR, ocorre uma alteração alostérica do receptor que o impede de ligar-se ao ácido 9-cis-retinoico, assim o complexo formado não responde ao ligante deste receptor (BARRA et al., 2004).

Então, o heterodímero se acopla a uma sequência específica do DNA nos seus genes-alvos, denominada elementos de resposta à vitamina D (VDRE – *vitamin D response elements*), nas regiões promotoras dos genes que são ativados pela vitamina D. Entretanto, para promover a ativação ou a repressão gênica, o heterodímero recruta complexos de proteínas corregulatórias do VDR que permitem a ligação entre o receptor e o aparato de transcrição, desencadeando a resposta biológica (PIKE; MEYER, 2012) (Figura 3).

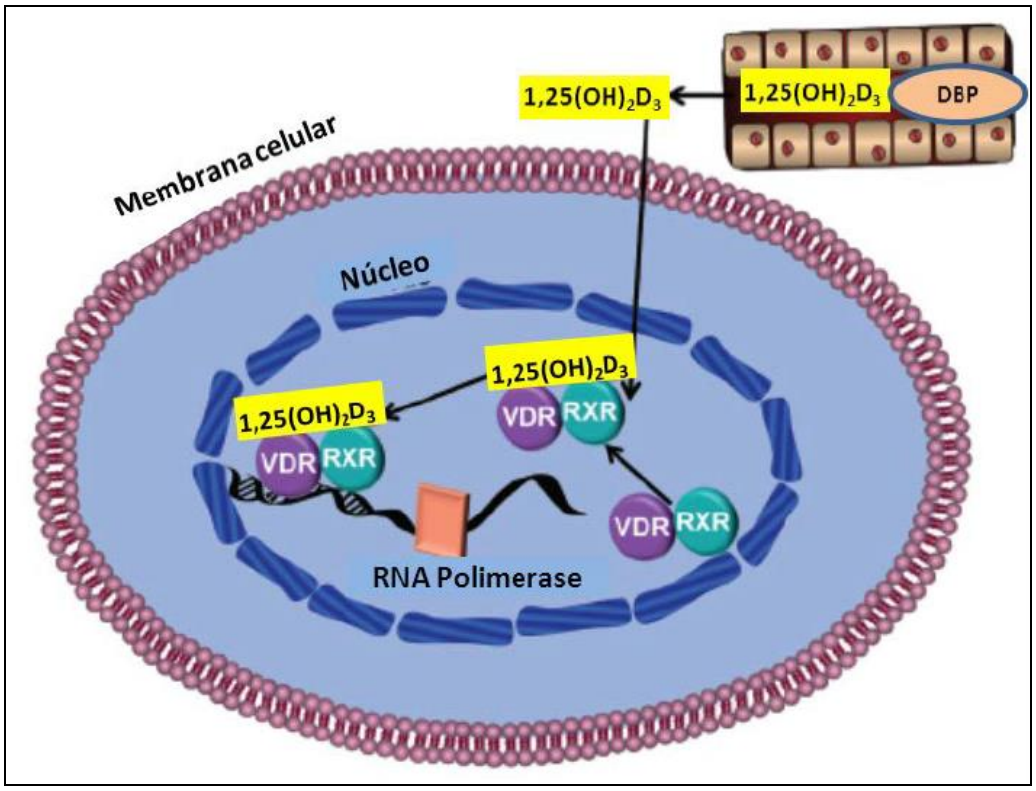

Figura 2: Interação entre vitamina D e seu receptor nas células alvo. (Adaptado de PALOMER et al., 2008). Legenda: DBP: proteína ligadora da vitamina D; 1,25$(OH)_2$D3: 1,25-dihidroxivitamina D3; RXR: receptor X retinoide; VDR: receptor de vitamina D; RNA: ácido ribonucleico.

Assim como outros membros da família de receptores nucleares, o VDR localizado em invaginações da membrana celular pode apresentar respostas rápidas não genômicas, pela ligação da 1,25$(OH)_2$D3. A sinalização intracelular para esse tipo de resposta biológica acontece por meio da indução de canais iônicos de cálcio transmembrana voltagem-dependente (NORMAN, 2006).

O VDR é sintetizado a partir de um gene localizado no cromossomo 12, na posição 12q 13.1, conhecido como gene VDR (MIYAMOTO et al., 1997). Este gene VDR possui 9 éxons e 8 íntrons distribuídos entre as regiões 5´promotora e 3´regulatória. Nesta última, existe uma longa região 3´ que ainda não foi traduzida, sendo conhecida como 3 *unstranlated region* (3´UTR), sendo esta envolvida na expressão genética, especialmente por meio da regulação da estabilidade do RNA mensageiro (DURRIN et al., 1999). Os éxons 2 e 3 do gene VDR estão envolvidos com o domínio de ligação ao DNA, e os éxons 7, 8 e 9 estão envolvidos com o domínio de ligação à vitamina D (PALOMER et al., 2008; WANG; ZHU; DELUCA, 2012).

Polimorfismo do receptor de vitamina D

O tipo mais frequente de polimorfismo no genoma humano consiste em variantes nas posições de um único nucleotídeo em um cromossomo, chamados polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs, do inglês *single nucleotide polymorphisms*) (WANG; ZHU; DELUCA, 2012), que podem ou não ter efeitos biológicos (VALDIVIELSO; FERNANDES, 2006).

Variantes genéticas do VDR foram identificadas em regiões promotoras nos éxons 1, entre os éxons 2 e 9 e na região 3´UTR. A maioria dos polimorfismos descritos localiza-se em regiões regulatórias, determinando alterações na expressão gênica, mas não mudanças estruturais na sequência dos aminoácidos da proteína a ser sintetizada, sendo denominados polimorfismos sinônimos, com efeito funcional desconhecido (UITTERLINDEN et al., 2004).

Os polimorfismos de VDR mais estudados são BsmI, ApaI, TaqI e FokI (Figura 4), os quais foram definidos e nomeados, historicamente, pelas enzimas de restrição associadas (BURTON; TOBIN; HOPPER, 2005). Esses polimorfismos têm sido associados com a ocorrência de: doenças autoimunes, como diabetes mellitus tipo 1, artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico, esclerose múltipla e DII (MARQUES et al., 2010; YANG et al., 2013a).

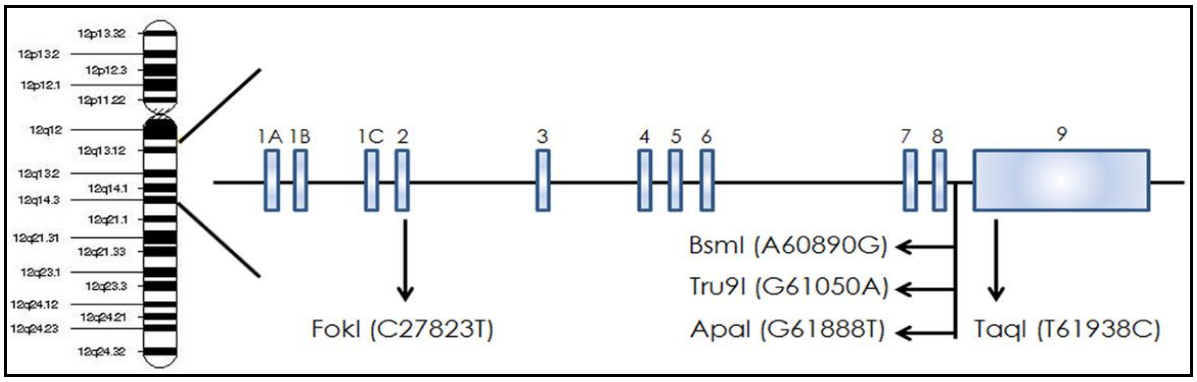

Figura 3: Gene do receptor de vitamina D e seus polimorfismos (MORAND et al., 2014).

Os polimorfismos ApaI e TaqI estão localizados na região 3’ regulatória do gene. ApaI (rs7975232) é definido pela substituição timina por guanina (T→G) na posição 64978 do intron 8, sendo nomeado “A” para o alelo com timina e “a” para o alelo com guanina. Já polimorfismo TaqI (rs731236), na posição 65058 do exon 9, é definido pela substituição de timina por citosina (T→C), sendo definido “T” para o alelo com timina e “t” para o alelo

citosina. Esse polimorfismo resulta na troca de um códon (ATC→ATT), que codifica o mesmo aminoácido isoleucina. O polimorfismo FokI (rs 2228570) está localizado no éxon 2, na posição 30920, sendo definido pela substituição de citosina por timina (C→T) com "F" indicando a presença de citosina e "f" de timina. E o polimorfismo BsmI (rs1544410) está localizado no íntron 8 e corresponde a troca de uma guanina (G) por uma adenina (A) (MORRISON et al., 1994). A inicial maiúscula de cada variante é utilizada para designar o alelo selvagem, enquanto as iniciais minúsculas são utilizadas para indicar os alelos polimórficos.

Embora ApaI e TaqI não produzam nenhuma alteração estrutural na proteína VDR, alterações na estabilidade e na eficiência de tradução do RNA mensageiro (RNAm) têm sido descritas, resultando na redução da expressão do gene VDR (CARVALHO et al., 2015). Tem se investigado.a extensão do desequilíbrio de ligação, que ocorre quando há associação não-aleatória entre os alelos em diferentes *loci*, entre as variantes genéticas ApaI, TaqI e BsmI do VDR Atualmente, três haplótipos estão bem definidos envolvendo esses polimorfismos: baT, BAt e bAT, mas não se sabe sua relevância funcional (MORRISON et al., 1994; MONTICIELO et al., 2012).

Já o polimorfismo FokI, por estar localizado no início do éxon 2, ocasiona a criação de um códon de iniciação adicional (ACG→ATG). A presença da variante FokI, definida como "f" (códon ATG), determina a produção da proteína do VDR completa (427 aminoácidos), enquanto que a ausência da variante FokI definida como "F" (códon ACG), inicia a tradução de outra região e sintetiza uma versão levemente truncada da proteína do VDR, com três aminoácidos a menos (424 aminoácidos) (ARAI et al., 1997; MONTICIELO et al., 2012). Foi demonstrado *in vitro* que a proteína curta parece ter atividade transcricional maior que a proteína longa (JURUTKA et al., 2000), podendo ocasionar maior funcionalidade do VDR, o que modificaria o efeito determinado pela vitamina D em diferentes células e tecidos (MONTICIELO et al., 2012; CARVALHO et al., 2015). O polimorfismo FokI pode ser considerado um marcador genético independente, pois não parece estar em desequilíbrio de ligação com qualquer outro polimorfismo do gene VDR (MONTICIELO et al., 2012).

Polimorfismo do receptor de vitamina D e doenças inflamatórias intestinais

Desde 2000, quando foi realizado o primeiro estudo caso-controle envolvendo a presença do polimorfismo do receptor da vitamina D e a susceptibilidade à DII (SIMMONS et al., 2000), os achados de diferentes estudos permanecem conflitantes (XUE et al., 2013; WANG et al., 2014).

Uma meta-análise incluindo nove estudos sobre os quatro polimorfismos VDR: TaqI, BsmI, FokI e ApaI, verificou que em asiáticos, o genótipo "ff" de FokI foi associado com risco aumentado de RCU; redução significativa no risco de DC para todos os portadores do alelo ApaI; aumento significativo no risco de DC para os europeus portadores do genótipo TaqI "tt"; além disso, o genótipo "TT" de TaqI, em homens, está associado à susceptibilidade tanto a RCU quanto a DC (XUE et al., 2013).

Em contraste, outra meta-análise recente realizada por Wang et al. (2014) investigando a associação entre as DII e polimorfismos de VDR, exceto para TaqI, não verificou associação entre os polimorfismos ApaI, BsmI e FokI com DII. No entanto, ao analisar subgrupos foi observada a associação de BsmI, em asiáticos, e ApaI com risco aumentado de DC, enquanto TaqI foi associado com redução do risco de RCU, especialmente em caucasianos, demonstrando a questão de perfis genéticos divergentes entre diferentes grupos étnicos.

Na tabela 1 são descritos trabalhos que avaliaram a associação dos polimorfismos do gene VDR e a susceptibilidade à DII.

Tabela 1 - Estudos de associação dos polimorfismos do gene do receptor de vitamina D e a susceptibilidade à doença inflamatória intestinal.

Autor, ano	Local de estudo População (n amostral) Polimorfismos estudados	Principais resultados
Simmons et al., 2000	Reino Unido/Oxford 567 europeus (RCU=158; DC=245; Controle=164) ApaI, TaqI e FokI	TaqI (genótipo "tt") foi significativamente mais frequente em DC comparado a RCU e grupo controle, sendo associado à suscetibilidade de DC.
Martin et al., 2002	Alemanha 307 europeus (DC=95; RCU=93; Controle=119) TaqI	TaqI (genótipo "tt") foi significativamente mais frequente em RCU comparado aos controles. TaqI (genótipo "tt") foi positivamente associado à DC fistulizante e estenosante.
Dresner-Pollack et al., 2004	Israel/Jerusalém 684 israelenses (DC= 228; sendo Ashk=129 e NAshk=99); RCU=151; Ashk=72 e NAshk=79); Controle =495; Ashk=143 e NAshk=352) BsmI	Genótipo "BB" do polimorfismo BsmI foi mais frequente em pacientes israelenses Ashkenazi com RCU do que no grupo controle Ashkenazi.
Naderi et al., 2008	Irã 380 iranianos (DC=80; RCU=150; Controle=150) ApaI, TaqI, BsmI e FokI	FokI (genótipo "ff") foi significativamente mais frequente em DC e RCU comparado ao grupo controle,
Noble et al., 2008	Edimburgo 680 escoceses (DC=286, RCU=154; Controle=240) ApaI e TaqI	Não foi encontrada diferença estatística entre os grupos DC, RCU e controles para os polimorfismos de VDR estudados.
Pluskiewicz et al., 2009	Polônia 94 europeus (RCU=47; Controle=47) ApaI, BsmI e TaqI	Não foi observada diferença na distribuição dos polimorfismos de VDR entre RCU e grupo controle.
Pei et al., 2011	China 468 Han chineses (RCU=218; Controle=250) ApaI, TaqI, BsmI e FokI	Foi encontrado maior frequência no genótipo "Bb" do polimorfismo BsmI em pacientes com RCU.

Autor, ano	Local de estudo População (n amostral) Polimorfismos estudados	Principais resultados
Hughes et al., 2011	Irlanda 1359 irlandeses (DC=413; RCU=247; Controle=699) ApaI, TaqI, BsmI e FokI	Não foi encontrada associação entre os polimorfismos de VDR na DII. Entretanto, quando DC e RCU foram analisados separadamente, foi encontrado discreto aumento de risco para desenvolver RCU em indivíduos com genótipo "Ff" (FokI) e maior suscetibilidade para desenvolver DC nos indivíduos com o genótipo "BB" ou "bb" (BsmI).
Bentley et al., 2011	Nova Zelândia 1379 neozelandeses (DC=449, RCU=448; Controles=482) FokI, BsmI e TaqI	Não foi encontrada diferença significativa entre os grupos para os polimorfismos de VDR estudados.
Xia et al., 2014	China 871 chineses (RCU=382; Controle=489) ApaI, TaqI, BsmI e FokI	Não foi encontrada diferença entre RCU e controles para os polimorfismos estudados. FokI pode influenciar a gravidade de doença: genótipos "FF" e "Ff" foram mais frequentes em pacientes com doença moderada quando comparado a pacientes com doença grave.
Xia et al., 2015	China 763 chineses (DC=297; Controle=466) ApaI, TaqI, BsmI e FokI 25(OH)D (DC=124; Controle=188)	Polimorfismos foram mais frequentes em DC do que no grupo controle. Deficiência de vitamina D foi significativamente mais frequente em DC do que no grupo controle. Polimorfismo ApaI e deficiência de vitamina D foram considerado fatores de risco independente para DC.

Legenda: DC: Doença de Crohn; RCU: Retocolite ulcerativa; VDR: Receptor de vitamina D; Ashk: Ashkenazi; NAshk: Não Ashkenazi.

3. JUSTIFICATIVA

A descoberta da presença de VDR em células do sistema imunológico evidenciou o papel imunomodulador da vitamina D. O estado nutricional desse micronutriente tem sido estudado nos pacientes com DII, e acredita-se que sua deficiência possa afetar a gravidade da doença. Os polimorfismos do VDR também têm sido associados à ocorrência de doenças autoimunes, incluindo as DII, no entanto, as consequências funcionais dessas variantes genéticas não estão bem elucidadas. No Brasil, são escassos estudos sobre a frequência dos polimorfismos ApaI, TaqI e FokI do VDR em pacientes com DII.

Dessa forma, faz-se necessário caracterizar os polimorfismos do VDR e o estado de vitamina D, em pacientes com DII na população brasileira, a fim de avaliar a relação entre eles e o curso evolutivo das DII.

4. OBJETIVOS

Objetivo geral

Investigar os polimorfismos do gene VDR e sua associação com estado nutricional de vitamina D e com fatores de mau prognóstico em pacientes com doença inflamatória intestinal.

Objetivos específicos

Caracterizar a população estudada quanto aos aspectos clínico-demográficos;

Verificar a frequência de polimorfismos ApaI, TaqI e FokI do gene VDR em pacientes com doenças inflamatórias intestinais;

Avaliar a concentração sérica de 25(OH)D;

Testar associação entre:

- estado nutricional de vitamina D e as características clinico-demográficas dos pacientes com DII;
- polimorfismos do gene VDR e estado nutricional de vitamina D;
- polimorfismos do gene VDR com fatores prognósticos das doenças inflamatórias intestinais.

5. CASUÍSTICA E MÉTODOS

Desenho do estudo

Estudo analítico transversal, caso controle, constituído por três grupos, quais sejam DC, RCU e controle. Trata-se de amostra de conveniência composta por pacientes voluntários recrutados no período de abril 2013 a maio de 2016.

Considerações éticas

O projeto foi elaborado em conformidade com a Resolução 466/2012 e aprovado (CAAE: 04135512.0.0000.5257) pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), sob número de parecer 219011 (Anexo A). A inclusão dos indivíduos dos grupos controle e caso ocorreu após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B).

Populações do estudo

Foram convidados para participar do estudo pacientes com diagnóstico estabelecido de DII (DC e RCU) provenientes do ambulatório especializado de DII do Serviço de Gastroenterologia do HUCFF – UFRJ. A seleção de participantes ocorreu segundo critérios de elegibilidade por meio de dados coletados em prontuário. Foram incluídos pacientes de ambos os sexos, com diferentes graus de atividade e extensão de doença, com idade superior a 18 anos até 65 anos.

Foram inelegíveis para o estudo gestantes e lactantes; indivíduos submetidos a ressecção intestinal anterior com intestino delgado remanescente inferior a 1,80 metros; megacólon tóxico; doenças graves associadas (sepse ou doença pulmonar obstrutiva crônica); pacientes soropositivos para HIV (vírus da imunodeficiência humana) com ou sem síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS); e neoplasias. Foi excluído um paciente em uso de suplemento alimentar de cálcio e vitamina D.

Nos grupos com DII foram avaliados aspectos clínico-demográficos, tais como: sexo, idade, etnia, idade ao diagnóstico, tempo de doença (em anos), localização e comportamento da doença, envolvimento perianal, presença de manifestações intestinais e extraintestinais, tratamentos medicamentosos e cirúrgicos relacionados com a doença e histórico de tabagismo (Anexo C).

O grupo controle foi constituído por indivíduos sem DII, provenientes da clínica de Ortodontia da Universidade Veiga de Almeida, de acordo com os mesmos critérios de elegibilidade dos casos, exceto diagnóstico de DII, durante o período de maio a outubro de 2014.

Em ambos os grupos, a etnia foi caracterizada baseada na cor da pele, segundo a auto declaração do indivíduo (BRASIL, 2003), sendo categorizada em: branco e não-branco (preto, pardo, amarelo e indígena). A idade ao diagnóstico foi estratificada em: ≤ 16 anos, de 17 a 40 anos e > 40 anos, conforme a classificação de Montreal (SILVERBERG et al., 2005).

A localização da doença foi avaliada utilizando-se a Classificação de Montreal (Anexo D). A DC foi categorizada em doença ileal, colônica, ou ileocolônica, com o modificador para envolvimento do TGI alto e doença perianal e o comportamento de doença foi estratificado em doença inflamatória, estenosante e penetrante (SILVERBERG et al., 2005). A categorização da RCU inclui: proctite/proctossigmoidite ou RCU distal, que tem o acometimento limitado ao reto (extensão da inflamação até a porção distal da junção retossigmoide); colite esquerda, onde o acometimento da inflamação se estende até a flexura esplênica; colite extensa ou pancolite, o acometimento se prolonga além desta flexura (SILVERBERG et al., 2005).

Para avaliar o grau de atividade da doença no momento da captação e da dosagem de 25(OH) vitamina D dos pacientes foram utilizados os índices de atividade de doença de Harvey-Bradshaw (1980) para DC e Truelove-Witts (1955) para RCU. A DC é categorizada em doença em remissão (<5 pontos), atividade leve (5- 7 pontos), atividade moderada (8-16 pontos) e acentuada (>16 pontos). Enquanto a RCU é estratificada em leve, moderada ou grave, baseando-se em cinco parâmetros clínicos (temperatura, pulsação, hemoglobina, valor de hemossedimentação e frequência de evacuações com ou sem sangue) (Anexo E).

Quanto ao hábito de fumar, os pacientes foram classificados no momento da inclusão no estudo em: fumantes atuais, quando número de cigarros consumidos era superior a sete, por período superior a 6 meses (SUTHERLAND et al., 1990; COSNES et al., 2013); ex-fumantes, quando interromperam o hábito de fumar por período maior que 6 meses, previamente a inclusão no estudo. Os não-fumantes foram definidos como indivíduos que nunca fumaram (NUNES et al., 2013; KARCZEWSKI et al., 2014).

Foram considerados como fatores de mau prognóstico para DC: sexo feminino, idade < 40 anos no momento do diagnóstico, duração da doença > 5 anos, tabagismo, uso de corticosteroide no início da doença, uso de mais de 2 cursos de esteroides, uso de

imunossupressor, localização ileal e presença de doença perianal, número de hospitalizações relacionadas a complicações da doença ocorridas no período de 5 anos após o diagnóstico, além do histórico de cirurgias relacionadas a DC (ressecções intestinais e tratamento de fístulas/abscessos perianais).

Para RCU foram considerados os seguintes fatores prognósticos para doença: sexo masculino, idade < 40 anos no momento do diagnóstico, duração da doença > 5 anos, o uso de corticosteroide no início da doença, uso de mais de 2 cursos de esteroides, uso de imunossupressor, doença extensa (pancolite), colangite esclerosante primária e número de hospitalizações relacionadas a complicações da doença ocorridas no período de 5 anos após o diagnóstico. Câncer colorretal e colectomia foram considerados desfechos desfavoráveis em RCU.

Avaliação do polimorfismo do gene VDR

A coleta do material foi realizada por meio da técnica de *swab* oral, que consiste no esfregaço da mucosa jugal com cotonete estéril por 15 segundos. O material coletado foi introduzido no tubo do tipo *eppendorf* que continha solução tampão TE (Tris-HCl 10 mM e 1mM EDTA), utilizado para o transporte da amostra até o laboratório de pesquisas clínicas da Faculdade Veiga de Almeida, permanecendo armazenado, em freezer, a menos 20°C.

A extração do ácido desoxirribonucleico (DNA) foi realizada conforme as orientações do fabricante do *kit* comercial *Spin Tissue Mini Kit*- Invisorb® 0213 (Stratec, Molecular GmbH, Berlim). O material contido no tubo tipo *eppendorf* foi transferido para tubo tipo Falcon e levado ao vórtex por 10 segundos. Em seguida, foram adicionados 640µL do mix formado por 600 µL de Tampão de LiseG e 40µL de Proteinase K em cada tubo contendo a amostra e depois foi levado ao vórtex por 30 segundos, sendo posteriormente incubados no Thermomixer a 65°C por 15 minutos. Logo após esse procedimento, foram adicionados 300µL de tampão de ligação no tubo de reação e estes foram levados ao vórtex por 30 segundos. As amostras foram centrifugadas por 2 minutos a 12.000 rpm. Posteriormente foram adicionados 550µL de tampão de lavagem em cada tubo, e novamente centrifugado a 12.000 rpm por 1 minuto. Este procedimento foi repetido por três vezes e após o término, foram adicionados 125µL de tampão eluição em cada amostra e repetido o procedimento de centrifugação, a 9.500 rpm por 2 minutos. O filtro foi descartado e a solução foi transferida para *eppendorf* menor para posterior armazenamento em freezer a menos 20°C.

A genotipagem do VDR foi realizada pela técnica de reação em cadeia de polimerização (PCR) em tempo real, na plataforma 7900ht *fast real-time PCR system* (Applied Biosystems®, USA), utilizando Mix universal e conjunto *primer*/ sonda *TaqMan SNP Genotyping Assay* (Life Technologies®, USA), A reação de amplificação foi realizada em duas etapas: 95ºC por 10 minutos, seguida de 40 repetições de 92ºC, por quinze segundos e 60º C por um minuto. Foram empregados conjuntos de oligonucleotídeos e sondas específicos para cada SNP selecionado, a saber: *kit* de número de identificação C__28977635_10 para o polimorfismo ApaI (rs7975232); o *kit* de número de identificação C_2404008_10 para o polimorfismo TaqI (rs731236), e o *kit* de número de identificação C_12060045_20 (Life Technologies®, USA) para o polimorfismo FokI (rs2228570).

Dosagem de 25(OH) Vitamina D

Foi realizada a dosagem de 25(OH)D, em um sub-amostra de 44 pacientes, no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UFRJ, sendo orientados a permanecerem em jejum por 8 horas anteriores a coleta de sangue.

A concentração de 25(OH)D foi quantificada por meio de imunoensaio por quimioluminescência. Os pontos de corte utilizados foram: valores menores ou iguais a 20 ng/mL indicaram deficiência; entre 21 e 29 ng/mL indicaram insuficiência; entre 30 e 100 ng/mL indicaram suficiência. Dessa forma, concentrações séricas de 25(OH)D abaixo de 30 ng/mL foram consideradas como hipovitaminose D (MAEDA et al., 2014).

Análise estatística

Os dados foram analisados por meio do software Statistical Package for the Social Sciences - SPSS, versão 19. Para avaliar a normalidade dos dados, foram aplicados os testes de Shapiro Wilk, ratificada por Kolgomorov Smirnov. As variáveis contínuas foram descritas por média, desvio-padrão e as variáveis categóricas foram descritas como proporção (%). Para avaliar a distribuição das variáveis foi utilizado o teste qui-quadrado de Pearson.

Para verificar a associação entre as variáveis foi utilizado o teste não paramétrico Qui-quadrado de Pearson, combinado com o teste de Fisher, e a razão de chances (*odds ratio*- OR) para medir a força de associação entre a exposição e a doença. Em todos os testes, foi observado nível de significância $p<0,05$ e intervalo de confiança de 95% (IC95%).

6. RESULTADOS

Caracterização da população

As características clínico-demográficas dos grupos estudados podem ser visualizadas na Tabela 2. Foram incluídos 231 indivíduos, 81 indivíduos no grupo controle, 107 pacientes com DC e 43 com RCU. Não foi observada diferença significativa quanto à distribuição dos sexos, com predomínio do sexo feminino nos 3 grupos. Os pacientes do grupo DC e RCU apresentavam idade inferior aos do grupo controle (p=0,001). Além disso, os grupos diferiram em relação à cor da pele, com predomínio de indivíduos brancos nos grupos DC e controle, em oposição ao grupo RCU com maioria de não brancos (p=0,005).

Os pacientes com DC foram diagnosticados mais jovens do que os com RCU, segundo a idade (p= 0,030). No grupo DC, 12 (11,21%) pacientes iniciaram a sua doença com idade inferior ou igual a 16 anos, 77 (71,96%) com idade entre 17 a 40 anos e 18 (16,82%) com idade superior a 40 anos. Enquanto no grupo RCU, 3 (6,97%) iniciaram a sua doença com idade inferior ou igual a 16 anos, 25 (58,13%) com idade entre 17 a 40 anos e 15 (34,9%) com idade superior a 40 anos.

Localização ileocolônica foi observada em quase metade dos pacientes com DC (n=50; 46,7%), havendo predomínio de fenótipos estenosante e penetrante (n=46; 43%, em ambas). Acometimento de TGI superior não foi observado e apresentação perianal da doença ocorreu em 32,7% (n=35) desses indivíduos. Enquanto no grupo RCU, a maioria dos pacientes apresentava proctite/proctossigmoidite (n=20; 46,5%), seguida de pancolite (n=14; 32,5%). Estratificando segundo a atividade de doença (DC - Índice Harvey e Bradshaw; RCU – índice Truelove e Witts), a maioria dos pacientes do estudo estava em remissão clínica (n=63; 58,9%) e atividade leve (n=24; 55,8%), em DC e RCU, respectivamente. No momento da inclusão, o uso de imunossupressor foi predominante no grupo DC, enquanto no grupo RCU foram os derivados de 5-ASA.

O número de pacientes que necessitou ser internado pelo menos em dois episódios foi significativamente maior no grupo DC (29% *vs*. 11,6% no grupo RCU). Todos os pacientes já haviam sido hospitalizados pelo menos uma vez devido à doença. A necessidade de cirurgia em decorrência de complicações clínicas da doença foi observada em percentual expressivo (45,8%) no grupo com DC, porém em apenas um paciente com RCU. Nos três grupos estudados houve predomínio de não fumantes. A ocorrência de doenças autoimunes foi pouco frequente nos três grupos.

Tabela 2: Características clínico-demográficas dos grupos estudados.

Variáveis	DC (n= 107)	RCU (n= 43)	Controle (n=81)	p valor
Sexo n (%)				
Feminino	57 (53,3%)	25 (58,1%)	49 (60,5%)	0,599
Masculino	50 (46,7%)	18 (41,9%)	32 (39,5%)	
Idade (Anos - Média±DP)	43,0 ± 13,5	44,8 ± 11,9	50,6 (13,0)	**0,001***
Cor da pele n(%)				
Branco	60 (56,1%)	15 (34,9%)	53 (65,4%)	**0,005***
Não branco	47 (43,9%)	28 (65,1%)	28 (34,6%)	
Duração de doença ≥ 5 anos n (%)	99 (92,5%)	42 (97,7%)	-	**-**
Idade ao diagnóstico (anos - Média±DP)	28,85 ± 10,52	32,7 ± 12,6		**0,030***
Localização para DC**				
Ileal	29 (27,1%)	-	-	
Colônica	27 (25,2%)	-	-	
Ileocolônica	50 (46,7%)	-	-	
Perianal	35 (32,7%)	-	-	
Fenótipo de DC**				
Inflamatório	15 (14,0%)	-	-	
Estenosante	46 (43,0%)	-	-	
Fistulizante	46 (43,0%)	-	-	
Localização para RCU**				
Proctite/proctossigmoidite	-	20 (46,5%)	-	
Colite esquerda	-	9 (20,9%)	-	
Pancolite	-	14 (32,5%)	-	
Atividade de doença				
Remissão	63 (58,9%)		-	**0,033***
Leve	38 (35,5%)	24 (55,8%)	-	
Moderada	5 (4,7%)	7 (16,3%)	-	
Acentuada	1 (0,9%)	12 (27,9%)	-	

Variáveis	DC (n= 107)	RCU (n= 43)	Controle (n=81)	p valor*
Medicações				
Nenhuma	5 (4,7%)	0 (0,0%)	-	**0,0001***
Derivados de 5 ASA	10 (9,3%)	38 (88,4%)	-	
Imunossupressores	57 (53,3%)	14 (32,6%)	-	
Terapia biológica	13 (12,1%)	2 (4,7%)	-	
Esteroides	9 (8,4%)	20 (46,5%)	-	
Hospitalizações n (%)			-	
< 2	76 (71,0%)	38 (88,4%)	-	**0,0245***
≥ 2	31 (29,0%)	5 (11,6%)	-	
Cirurgias (n>0) n (%)	49 (45,8%)	1 (2,3%)	-	**0,006**
Tabagismo n (%)			-	
Fumantes	20 (18,7%)	5 (11,6%)	4 (3,73)	0,191
Ex–fumantes	8 (7,5%)	7 (16,3%)	6 (5,60)	
Não fumantes	79 (73,8%)	31 (72,1%)	71 (90,65)	
Doenças autoimunes n (%)				
Nenhuma	90 (84,1%)	38 (88,4%)	76 (93,8%)	0,609
Esclerose Múltipla	2 (1,9%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Diabetes *Mellitus* tipo 1	3 (2,8%)	1 (2,3%)	1 (1,2%)	
Psoríase	1 (0,9%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Artrite reumatoide	7 (6,5%)	2 (4,7%)	4 (4,9%)	
Hepatite autoimune	3 (2,8%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	

Legenda: DC: Doença de Crohn; RCU: Recolite Ulcerativa; DP: desvio-padrão; 5-ASA: ácido 5-aminosalicílico. Teste quiquadrado de Pearson: DC *vs*. RCU *vs*. Controles (*) significância estatística: $p<0,05$. (**) Segundo Classificação de Montreal (SILVERBERG et al., 2005).

Frequência genotípica do polimorfismo do receptor da vitamina D

A distribuição da frequência genotípica do VDR pode ser observada na Tabela 3. Por motivos técnicos da qualidade de algumas amostras de DNA, a leitura do polimorfismo ApaI foi possível em 98,13% (105/107) e 71,60% (58/81), do grupo DC e do grupo controle, respectivamente. Foi realizada a leitura de todas as amostras do grupo RCU. Foi verificada diferença significativa entre a distribuição dos genótipos ao se comparar os grupos estudados. O genótipo “aa” foi mais frequente no grupo DC e o “AA” ao grupo controle (p=0,0063). Não houve diferença entre o grupo RCU e o controle (Tabela 3).

Quanto ao polimorfismo TaqI, a leitura foi executável em 88,78% (95/107) do grupo DC, 93,02% (40/43) do grupo RCU e 92,60% (75/81) do controle. Foi verificada diferença significativa entre a distribuição dos genótipos, com “Tt” mais frequente no grupo DC e o “TT” no grupo controle (*p*=0,033). Não houve diferença entre o grupo RCU e o controle (Tabela 3).

Com relação ao polimorfismo FokI, foram obtidas as análises de 89,72% (96/107) pacientes com DC e 96,29% (78/81) participantes do grupo controle. Foi realizada a leitura de todas as amostras do grupo RCU. O polimorfismo FokI não apresentou diferença significativa na distribuição dos genótipos entre os grupos DC ou RCU e controle. Cabe ressaltar que o genótipo "FF" foi o mais frequente nos 3 grupos.

Tabela 3: Distribuição da frequência dos polimorfismos do receptor da vitamina D (ApaI, TaqI e FokI) nos grupos estudados.

Genótipo	**DC**		***p*-valor[a]**	**RCU**		***p*-valor[b]**	**Controle**	
ApaI	n (105)	%	**0,0063***	n (43)	%	0,0847	n (58)	%
AA	27	25,7		9	20,9		24	41,4
Aa	26	24,8		18	41,9		20	34,5
aa	52	49,5		16	37,2		14	24,1
TaqI	n (95)	%	**0,0333***	n (40)	%	0,2314	n (75)	%
TT	32	33,7		23	57,5		35	46,7
Tt	48	50,5		13	32,5		23	30,7
tt	15	15,8		4	10,0		17	22,7
FokI	n (96)	%	0,4243	n (43)	%	0,0885	n (78)	%
FF	52	54,2		21	48,8		35	44,9
Ff	34	35,4		18	41,9		35	44,9
ff	10	10,4		4	9,3		8	10,3

Legenda: DC: Doença de Crohn; RCU: Recolite Ulcerativa. Teste Quiquadrado de Pearson: [a] DC *vs*. Controles; [b] RCU *vs.* controles. (*) significância estatística: *p*<0,05.

Avaliação do estado nutricional de vitamina D

Foi realizada a dosagem de 25(OH)D em 44 pacientes. Em nosso estudo estratificamos as concentrações de 25(OH)D em <30 ng/mL e ≥30 ng/mL, sendo verificada hipovitaminose D em 38,6% dos pacientes (n=17). Não houve diferenças entre as características clínicas dos pacientes com hipovitaminose D e dos com concentração sérica adequada.

No grupo DC, 8 pacientes (36,4%) estavam com deficiência de vitamina D e 14 (63,6%) com suficiência. De forma semelhante, no grupo RCU, 9 pacientes (40,9%) tiveram deficiência de vitamina D e 13 (59,1%) apresentaram concentrações adequadas. Na Tabela 4 podem ser visualizadas as características clínicas dos pacientes com DC e RCU, de acordo com o estado nutricional de vitamina D.

Tabela 4: Características clínico-demográficas dos pacientes com DC e RCU, de acordo com a concentração sérica de 25(OH)D (n=44).

		25(OH)D (ng/mL)		*p* valor*
		< 30 n (%)	**≥ 30 n (%)**	
Doença	DC	8 (47,1)	14 (51,9)	0,757
	RCU	9 (52,9)	13 (48,1)	
Idade	17- 40 anos	7 (41,2)	9 (33,3)	0,598
	>40 anos	10 (58,8)	18 (66,7)	
Sexo	Masculino	5 (29,4)	16 (59,3)	0,054
	Feminino	12 (70,6)	11 (40,7)	
Cor da Pele	Branco	7 (41,2)	14 (51,9)	0,490
	Não branco	10 (58,8)	13 (48,1)	
Atividade de doença				
	Remissão	8 (47,1)	9 (33,3)	0,465
	Leve	7 (41,2)	11 (40,7)	
	Moderada	2 (11,8)	7 (25,9)	
	Acentuada	0 (0,0)	0 (0,0)	
Localização para DC **				
	Ileal	2 (28,6)	4 (28,6)	0,082
	Colônica	4 (57,1)	2 (14,3)	
	Ileocolônica	1 (14,3)	8 (57,1)	
	Doença perianal	3 (37,5)	4 (28,6)	
Localização para RCU **				
	Proctite	5 (55,6)	6 (46,2)	0,416
	Colite esquerda	2 (22,2)	1 (7,7)	
	Pancolite	2 (22,2)	6 (46,2)	
Tabagismo				
	Fumante atual	2 (11,8)	4 (14,8)	0,092
	Ex-fumante	0 (0,0)	6 (22,2)	
	Não fumante	15 (88,2)	17 (63,0)	

Legenda: DC: Doença de Crohn; RCU: Recolite Ulcerativa. Teste exato de Fisher: (*) significância estatística: $p<0,05$. (**) Segundo Classificação de Montreal (SILVERBERG et al., 2005).

Com relação à distribuição entre os genótipos, nos grupos DC e RCU, comparando aqueles com 25(OH)D <30 ng/mL e ≥30 ng/mL, não foram observadas diferenças

significativas, como pode ser observado na Tabela 5. No grupo DC, para o polimorfismo ApaI, hipovitaminose D foi distribuída entre os genótipos “AA” e “aa” e suficiência de vitamina D foi mais frequente no genótipo “aa”. Para TaqI, hipovitaminose D foi mais frequente no “Tt” e suficiência no “TT”. E para FokI, hipovitaminose foi mais frequente no “Ff” e suficiência no “FF”. No grupo RCU, para o polimorfismo ApaI, hipovitaminose D e suficiência de vitamina D foram mais frequentes no genótipo “Aa”. Para TaqI, hipovitaminose D e suficiência foram mais frequentes no “TT”. E para FokI hipovitaminose D e suficiência foram mais frequentes no “FF”.

Tabela 5: Distribuição dos polimorfismos do receptor de vitamina D nos grupos DC e RCU, de acordo com a concentração sérica de 25(OH)D

		DC (n=22) 25(OH)D (ng/mL) n (%)			**RCU (n=22) 25(OH)D (ng/mL) n (%)**		
Genótipo		**< 30**	**≥ 30**	**p valor***	**< 30**	**≥ 30**	**p valor***
ApaI	**AA**	4 (50,0)	2 (14,3)	0,118	1 (11,1)	2 (15,4)	0,085
	Aa	0 (0,0)	3 (21,4)		5 (55,6)	7 (53,8)	
	aa	4 (50,0)	9 (64,3)		3 (33,3)	4 (30,8)	
TaqI	**TT**	3 (37,5)	6 (46,2)	0,874	6 (66,7)	6 (50,0)	0,646
	Tt	4 (50,0)	5 (38,5)		2 (22,2)	5 (41,7)	
	tt	1 (12,5)	2 (15,4)		1 (11,1)	1 (8,3)	
FokI	**FF**	3 (37,5)	10 (76,9)	0,082	5 (55,6)	7 (53,8)	0,436
	Ff	4 (50,0)	1 (7,7)		4 (44,4)	4 (30,8)	
	ff	1 (12,5)	2 (15,4)		0 (0,0)	2 (15,4)	

Legenda: DC: Doença de Crohn. RCU: Recolite Ulcerativa. Teste Quiquadrado de Pearson: <30 *vs.* ≥30. (*) significância estatística $p<0,05$.

Polimorfismo do receptor da vitamina D e fatores prognósticos em DII

No grupo DC, como pode ser observado na Tabela 6, foi detectada associação significativa de ApaI com o uso de imunossupressor. Pacientes com genótipo “AA” apresentam chance 4,4 vezes (1/0,225) maior de utilizar imunossupressor quando comparado aqueles com genótipos “Aa” e “aa” (OR= 0,225; 95% IC = 0,071 - 0,712).

Foi verificada também associação de TaqI com necessidade de corticosteroides ao diagnóstico. Pacientes com genótipo “TT” apresentaram chance 4,1 vezes maior (1/0,242) de utilizar corticosteroides no momento do diagnóstico do que aqueles que carreavam o alelo polimórfico – “Tt” e “tt” (OR= 0,242; 95% IC =0,065 - 0,901).

Para o polimorfismo FokI não foram encontradas associações. Nenhum genótipo associou-se com desfechos clínicos, como hospitalização por complicação da doença ou necessidade de intervenção cirúrgica, nos pacientes com DC.

Tabela 6: Análise de associação entre polimorfismos do VDR (ApaI, FokI e TaqI) com fatores de mau prognóstico evolutivo e desfechos clínicos na doença de Crohn.

	ApaI (Aa+aa)		**TaqI (Tt+tt)**		**FokI (Ff+ff)**	
Fatores prognósticos	***p* valor**	**OR (IC 95%)**	***p* valor**	**OR (IC 95%)**	***p* valor**	**OR (IC 95%)**
Idade ao diagnóstico < 40 (anos)**	1,000	1,067 (0,438 - 2,596)	0,826	0,846 (0,357 - 2,002)	0,302	0,617 (0,272 - 1,402)
Sexo feminino	0,185	1,882 (0,774 - 4,577)	0,829	0,855 (0,365 - 2,004)	1,000	0,939 (0,420 - 2,099)
Localização**						
Ileal	1,000	0,933 (0,357 - 2,442)	0,810	0,813 (0,320 - 2,064)	0,704	2,347 (0,954 - 5,776)
Perianal	0,814	0,842 (0,325 - 2,179)	0,255	1,711 (0,701 - 4,176)	0,825	0,869 (0,363 - 2,080)
Fenótipo Estenosante	0,115	2,256 (0,883 - 5,763)	0,187	2,000 (0,816 - 4,901)	0,538	1,348 (0,599 - 3,031)
Penetrante	0,116	0,473 (0,195 - 1,150)	1,000	1,096 (0,462 - 2,601)	0,298	0,603 (0,264 - 1,381)
Uso de esteroides ao diagnóstico	0,109	5,2 (0,647 - 41,798)	**0,04 ***	**0,242 (0,065 - 0,901)**	0,370	0,478 (0,136 - 1,674)
> 2 Cursos de esteroides	0,646	0,676 (0,117 - 3,915)	0,660	2,102 (0,225 - 19,624)	1,000	1,195 (0,229 - 6,243)
Uso de imunossupressores	**0,01 ***	**0,225 (0,071 - 0,712)**	0,495	1,389 (0,568 - 3,402)	0,830	0,850 (0,365 - 1,978)
Duração da doença > 5 anos	1,000	0,96 (0,182 - 5,068)	0,713	0,633 (0,120 - 3,332)	0,723	1,454 (0,327 - 6,460)
Tabagismo ativo	1,000	0,856 (0,156 - 4,694)	1,000	1,293 (0,237 - 7,064)	0,723	0,688 (0,155 - 3,056)
Desfechos						
> 2 Hospitalizações	1,000	1,042 (0,444 - 3,212)	0,808	0,870 (0,334 - 2,265)	0,501	0,686 (0,280 - 1,680)
Ressecção intestinal	0,180	1,983 (0,807 - 4,874)	0,831	0,907 (0,386 - 2,129)	0,686	0,833 (0,373 - 1,863)

Legenda: OR: *Odds ratio*; IC: Intervalo de confiança. Teste Quiquadrado de Pearson, *odds ratio*. (*) significância estatística: $p<0,05$. (**) Segundo Classificação de Montreal (SILVERBERG et al., 2005).

No grupo RCU, apenas o polimorfismo TaqI foi associado com fator prognóstico de doença. Pacientes com genótipos “Tt” e “tt” apresentaram chance 4,19 vezes maior de necessitar utilizar mais dois cursos de corticosteroides do que os pacientes sem o polimorfismo (Tabela 7).

Tabela 7: Análise de associação entre polimorfismos do VDR (ApaI, FokI e TaqI) com fatores de mau prognóstico evolutivo e desfechos clínicos na retocolite ulcerativa.

	ApaI (Aa+aa)		**TaqI (Tt+tt)**		**FokI (Ff+ff)**	
Fatores prognósticos	***p* valor**	**OR (IC 95%)**	***p* valor**	**OR (IC 95%)**	***p* valor**	**OR (IC 95%)**
Idade ao diagnóstico <40 (anos)**	0,417	0,45 (0,098 - 2,057)	1,000	1,247 (0,329 - 4,731)	0,185	2,942 (0,739 - 11,713)
Sexo masculino	0,455	0,495 (0,112 - 2,118)	0,108	3,265 (0,879 - 12,128)	0,358	2,000 (0,583 - 6,867)
Localização						
Pancolite**	0,693	1,909 (0,341 - 10,679)	0,333	0,479 (0,118 - 1,939)	0,747	1,429 (0,395 - 5,163)
Uso de esteroides ao diagnóstico	1,000	0,686 (0,121 - 3,891)	0,179	3,000 (0,668 - 13,472)	0,510	1,700 (0,442 - 6,545)
> 2 Cursos de esteroides	0,477	0,56 (0,127 - 2,464)	**0,031 ***	**4,19 (1,104 - 15,901)**	0,044	3,611 (1,102 - 12,888)
Uso de imunossupressores	0,442	0,521 (0,115 - 2,352)	1,000	1,247 (0,329 - 4,731)	1,000	0,933 (0,261 - 3,343)
Duração da doença > 5 anos	0,209	0,190 (0,102 - 0,355)	0,425	0,410 (0,282 - 0,598)	1,000	0,500 (0,370 - 0,677)
Colangite esclerosante primária	1,000	1,281 (1,089 - 1,507)	1,000	1,325 (0,080 - 23,667)	0,233	2,158 (1,552 - 3,000)
Não tabagismo	1,000	0,938 (0,092 - 9,597)	1,000	1,125 (0,167 - 7,600)	0,664	1,667 (0,249 - 11,133)
Desfechos						
> 2 Hospitalizações	1,000	1,273 (1,087 - 1,490)	0,425	2,438 (1,673 - 3,551)	0,488	2,100 (1,529 - 2,884)
Colectomia	0,209	5,250 (2,814 - 9,973)	0,425	2,438 (1,673 - 3,551)	1,000	2,000 (1,478 - 2,706)
Câncer colorretal	1,000	1,281 (1,089 - 1,507)	1,000	1,773 (1,345 - 2,336)	1,000	0,952 (0,056 - 16,279)

Legenda: OR: *Odds ratio*; IC: Intervalo de confiança. Teste Quiquadrado de Pearson, *odds ratio*. (*) significância estatística: p<0,05. (**) Segundo Classificação de Montreal (SILVERBERG et al., 2005).

7. DISCUSSÃO

No presente estudo foi observada associação dos polimorfismos ApaI (“aa”) e TaqI (“Tt”) do VDR nos pacientes com DC, sendo ApaI (“Aa” e “aa”) protetor contra uso de imunossupressores e TaqI (“Tt” e “tt”) contra o uso de corticosteroides no momento do diagnóstico nesse grupo. Embora não tenha sido detectada associação entre os polimorfismos do VDR e RCU, foi demosntrado que os pacientes com polimorfismo TaqI possuem maior chance de utilizarem de mais de 2 cursos de corticosteroides ao longo da vida. Observou-se ainda que os polimorfismos ApaI, TaqI e FokI não estão associados com deficiência de vitamina D em nossa amostra. Este foi o primeiro estudo brasileiro, em pacientes com DII, a investigar os polimorfismos ApaI, TaqI e FokI do gene do VDR e as concentrações séricas de 25(OH)D, concomitantemente, bem como a associação dessas variantes genéticas com o estado nutricional de vitamina D e com diferentes fatores prognósticos envolvidos na má evolução da doença.

Diversas ações biológicas desta vitamina são mediadas pelo VDR que, por sua vez, podem ser afetadas por variações genéticas do gene VDR. A influência dos polimorfismos do gene VDR vem sendo estudada em diversas doenças autoimunes, tais como diabetes mellitus tipo1, artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistêmico, visando principalmente verificar a associação entre estes polimorfismos e a maior susceptibilidade a tais doenças (ABBASI et al., 2010; CARVALHO et al., 2015). Os estudos descritivos e caso-controle em populações brasileiras envolvendo indivíduos saudáveis e em diferentes doenças demonstram a grande variabilidade na frequência genotípica dos polimorfismos de VDR (LINS et al., 2007; SANTOS et al., 2012; DETTOGNI et al., 2013).

O gene VDR é um forte candidato à susceptibilidade para DII, uma vez que alterações na atividade do VDR podem afetar a resposta à vitamina D (SIMMONS et al., 2000). Entretanto, os resultados obtidos em estudos avaliando a associação entre as variações genéticas do VDR e DII, em diferentes populações, têm obtido resultados controversos (WANG et al., 2014). Assim, para investigar os polimorfismos do gene VDR, em pacientes com DII, e verificar sua associação com o curso evolutivo da doença, conduzimos um estudo transversal caso-controle.

No que diz respeito à distribuição por sexo, não houve diferença entre os grupos, sendo observado predomínio do sexo feminino. Este dado está em acordo com o que vem sendo descrito na DC, com tendência de acometimento em mulheres, mas não para RCU, que acomete homens e mulheres de forma homogênea (DOROFEEV; SHVETS, 2014; DA SILVA,

2014). Embora os pacientes do grupo DC e RCU tenham apresentado idade inferior aos do grupo controle (p=0,001), os indivíduos estavam na mesma faixa etária, sendo pouco provável que isso influencie os resultados.

A variabilidade genética do VDR já foi descrita em diferentes grupos étnicos populacionais (UITTERLINDEN et al., 2004; WANG et al., 2014). O fato da população brasileira ser multiracial, com ancestralidades variadas de origem europeia, africana, e ameríndia, associada a distribuição heterogênea em um país de dimensão continental, torna difícil a análise de padrões de frequência destes polimorfismos, tanto em indivíduos saudáveis quanto nos com doenças diversas (LINS et al., 2010).

O método de autoclassificação de cor/raça é utilizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, sendo considerado um método acurado, no entanto, há discussão quanto às categorias utilizadas (BRASIL, 2003). Por esse motivo, optamos por utilizar o método de autoclassificação, categorizando os participantes em brancos e não brancos (preto, pardo, amarelo e indígena). Esse método também foi utilizado por Rezende et al. (2007), em estudo nacional, avaliando a frequência de polimorfismos genéticos do VDR (ApaI, FokI) em indivíduos adultos sadios de etnias negra e branca (baseado em autodeclaração) no Estado de São Paulo. A não detecção de diferença interétnica destes polimorfismos foi questionada em decorrência da metodologia empregada. Dessa forma, a fim de evitar viés, no presente estudo, os resultados obtidos sobre cor da pele foram utilizados somente para caracterizar a população do estudo e não para estabelecer associação com os polimorfismos estudados.

Em nossa amostra houve predomínio de indivíduos brancos nos grupos DC e controle, diferindo do grupo de RCU, no qual a maioria foi de não brancos assim como no estudo epidemiológico de Da Silva et al. (2015), realizado na Bahia. Embora os pacientes com DC tenham sido diagnosticados mais jovens do que os com RCU, a maioria dos pacientes com DII tinha idade no momento do diagnóstico entre 17 e 40 anos. Esse resultado, corroborado pelo observado por Parente et al. (2015), no Piauí, está de acordo com os achados na literatura, que referem o acometimento em principalmente adultos jovens (DOROFEEV; SHVETS, 2014)

Quanto à atividade de doença, os índices foram escolhidos por serem ferramentas amplamente utilizadas na literatura e de fácil aplicação na prática clínica. Contudo, o índice de Truelove-Witts (1955), para RCU, não classifica os pacientes em remissão, sendo agrupados em conjunto com os pacientes com atividade leve. Assim, observou-se remissão clínica seguida de atividade leve na maioria dos pacientes com DC e atividade leve seguida de

atividade acentuada em RCU. Os dados nos estudos são heterogêneos, mas deve-se considerar que esta pesquisa foi realizada com pacientes ambulatoriais, com tempo de doença superior a 5 anos na maior parte dos casos, acompanhados em um hospital de referência para o tratamento das DII, portanto, com acesso facilitado às terapias de primeira linha, esperando-se que tivessem maior adesão (KLEINUBING-JUNIOR et al., 2011; DA SILVA et al., 2014; PARENTE et al., 2015).

Considerando os estudos de polimorfismo do VDR na DC, mais de uma década se passou desde que o primeiro estudo caso-controle investigou a associação entre as variações genéticas do VDR e DII (SIMMONS et al., 2000). No entanto, os resultados obtidos nos estudos posteriores ainda permanecem muito discordantes (WANG et al., 2014).

Em sua meta-análise, Xue et al. (2013) concluíram que o alelo “a” (Aa + aa) do polimorfismo ApaI esteve associado ao menor risco de DII, principalmente relacionado à DC, em comparação com o genótipo “AA”. Esse resultado difere do presente estudo, no qual foi detectada frequência significativamente maior dos genótipos “Aa” e “aa”, com predomínio deste último, no grupo DC quando comparado ao controle, corroborando com estudo de Xia et al. (2014) que identificou o alelo “a” como fator de risco independente para DC em chineses.

No grupo RCU, embora o genótipo heterozigoto “Aa” tenha sido mais frequente, enquanto no grupo controle foi “AA”, não foram observadas diferenças na distribuição genotípica entre os dois grupos, assim como já havia sido descrito em estudos anteriores com outras populações (NADERI et al., 2008; NOBLE et al., 2008; PLUSKIEWICZ et al., 2009; PEI et al., 2011).

Na avaliação da presença do polimorfismo TaqI foi observada distribuição genotípica significativamente diferente entre os grupos DC e controle, com maior frequência do genótipo “Tt” no grupo DC. Nossos resultados estão em concordância com estudo anterior, realizado por Simmons et al. (2000), que obtiveram a frequência do genótipo “Tt” em 44% dos 245 pacientes europeus caucasianos com DC incluídos, seguida pelo genótipo “tt” (22%). Ao comparar os grupos RCU e controle quanto ao polimorfismo TaqI, não foi verificada diferença significativa entre os grupos. Esse resultado se assemelha ao observado por Pei et al. (2011), com maior frequência de “TT” em RCU e controle, sem diferenças na distribuição dos dois grupos, reafirmando a ausência de associação das variantes genéticas TaqI com RCU.

Não foram detectadas diferenças significativas na distribuição genotípica do polimorfismo FokI entre os grupos DC ou RCU e o controle. O genótipo “FF” foi predominante nos três grupos. Apenas o trabalho de Naderi et al. (2008) demonstrou frequência significativamente aumentada do genótipo “ff” em pacientes iranianos com DC e RCU. No grupo DC, houve menor frequência do genótipo “ff”. Nosso resultado se assemelha aos encontrados em duas recentes meta-análises realizadas por Xue et al. (2013) e Wang et al. (2014), que descreveram fraca associação entre o polimorfimo FokI e a DC.

A maioria dos estudos que analisaram as concentrações da vitamina D na DII enfatizou a investigação do metabolismo do cálcio e ósseo. Apesar do importante papel da vitamina D no sistema imunológico, descrito anteriormente, ainda não foi estabelecido ponto de corte para deficiência com efeito imunomodulador deletério (ARDESIA; FERLAZZO; FRIES, 2015).

Considerando as características clínicas dos grupos DC e RCU apresentadas, não foram observadas diferenças entre os grupos com hipovitaminose D e suficiência de vitamina D. A deficiência de vitamina D não foi mais frequente nos pacientes com doença em atividade, resultado discordante do observado na literatura. Lu et al. (2015), reuniram 10 estudos que investigaram a associação entre atividade clínica da DC e vitamina D, em crianças e adultos, em uma meta-análise, concluindo que pacientes com doença ativa eram mais propensos a apresentar concentrações reduzidas de vitamina D. Associação entre baixas concentrações séricas de 25(OH)D e maiores escores de atividade clínica em DC e RCU também foi descrita por Ulitsky et al. (2011) e Torki et al. (2015).

Não foi possível avaliar o período de exposição solar, sendo uma das limitações do estudo. Tendo em vista que tempo e área corporal de exposição à radiação ultravioleta necessários para promover adequada síntese de vitamina D3 na pele são controversos e não podem ser aplicadas em todas as populações, não há consenso sobre o assunto, o que dificultou nossa avaliação (CASTRO, 2011). Além disso, deve se considerar que nestes pacientes, quando submetidos à terapia imussupressora com tiopurinas, a exposição solar é desencorajada e recomenda-se o uso de protetor solar devido ao risco de câncer de pele (VAN ASSCHE et al., 2010).

Um estudo longitudinal, com 965 pacientes com DII, avaliou a concentração de vitamina D e suplementou sistematicamente, durante 5 anos. Nesse período, indivíduos com valores médios de vitamina D reduzidos apresentaram significativamente maior número de prescrições corticostesteroides e terapia biológica, de hospitalizações e cirurgias, e piores

escores de atividade de doença em comparação com indivíduos com concentrações médias normais vitamina D (KABBANI et al., 2016). Estes achados não puderam ser observados devido ao desenho transversal do nosso estudo.

Outras razões para o conflito entre nossos resultados e os demais estudos são variadas, incluindo diferenças no tamanho da amostra, localização geográfica da população estudada, sazonalidade da dosagem de 25(OH)D e ponto de corte definido para deficiência de vitamina D. Nesta pesquisa, não foi avaliada a ingestão de vitamina D, sendo mais uma limitação do estudo. Cabe apontar que no Brasil, são escassas tabelas de composição alimentar que forneçam a quantidade de vitamina D presente nos alimentos.

Os polimorfismos ApaI, TaqI e FokI do gene VDR não foram mais frequentes nos grupos de pacientes com deficiência de vitamina D, demonstrando que em nossa amostra, esse fenótipo bioquímico não está associado com essas variantes genéticas. Um estudo recente evidenciou que a concentração sérica de 25(OH)D está diretamente associada com a expressão de VDR na mucosa colônica de pacientes com RCU (MECKEL et al., 2016). Contudo, ApaI e TaqI podem ocasionar redução da expressão do gene VDR (CARVALHO et al., 2015), sugerindo a hipótese de que mesmo em concentração adequada, a vitamina D pode ter sua ação alterada na presença desses polimorfismos do gene VDR, nos pacientes com DII.

Xia et al. (2015), realizaram o único estudo que avaliou essa associação entre os polimorfismos do VDR e concentração sérica de 25(OH)D, verificando associação dos genótipos polimórficos FokI, ApaI e TaqI e demonstrando que essas variantes genéticas e a deficiência de vitamina D podem ter um efeito sinérgico na susceptibilidade à DC. A escassez de estudos dificulta a comparação com nossos achados.

As DII são caracterizadas por períodos de remissão e recidiva clínica. Em alguns pacientes, a doença pode ter curso agressivo que envolve recaídas frequentes, doença ativa contínua, tratamento médico intensificado, ou mesmo uma abordagem cirúrgica. É importante implementar a terapia apropriada para minimizar complicações e melhorar a qualidade de vida dos pacientes (BLONSKI; BUCHNER; LICHTENSTEIN, 2012). A influência de fatores ambientais, principalmente do tabagismo, como fator modificador da DC, aumentando a susceptibilidade á doença, assim como tornando sua evolução mais complicada e agressiva, está bem estabelecida na literatura (NIELSEN et al., 2009; NUNES et al., 2013). Já para RCU, estudos mais recentes têm demonstrado resultados conflitantes quanto ao efeito protetor do tabagismo (TO; FORD; GRACIE, 2016). No presente estudo, houve predomínio de

indivíduos não fumantes nos 3 grupos, mas enquanto fator prognóstico em DII, tabagismo não foi apresentou associação com os polimorfismos do VDR.

Estudos envolvendo fatores prognósticos de má evolução da DC defendem a tese de que a necessidade de terapia imunossupressora esteja relacionada a maior agressividade e gravidade da doença (D'HAENS ; GEBOES; RUTGEERTS, et al., 1999; LAKATOS et al., 2012). No presente estudo, 53,3% (n=57) dos pacientes com DC estavam em uso de imunossupressor. Adicionalmente, foi constatado que o risco de usar terapia imunossupressora foi 4,4 vezes maior nos indivíduos com DC, sem o polimorfismo ApaI (genótipos "AA"), tendo em vista o valor de odds ratio (OR= 0,225; 95% IC = 0,071 - 0,712), considera-se hipótese de que o alelo "a" seja protetor para o uso de imunossupressores.

Os derivados do 5-ASA por muito tempo foram utilizados no tratamento inicial da DC de atividade leve a moderada, entretanto, esta prática tem sido abandonada devido à ausência de modificações na história natural da doença. Assim, de acordo com as diretrizes mais recentes, os pacientes com doença extensa ou complicada devem ser tratados imediatamente com terapia imunossupressora, com resultados eficazes como terapia de indução e manutenção de remissão (VAN ASSCHE et al., 2010; DIGNASS et al., 2012). Em pacientes com DC localizada e sem complicações no momento do diagnóstico, o uso precoce da terapia imunossupressora é debatido para prevenir a progressão da doença e limitar o impacto clínico incapacitante (VAN ASSCHE et al., 2010). Por esse motivo, é questionável se o uso de imunossupressor deva ser considerado como fator de risco de má evolução da DC. Estudos prospectivos são necessários para reavaliar o papel dos imunossupressores no curso evolutivo da doença.

Na análise de associação de risco entre o polimorfismo TaqI e os fatores de mau prognóstico da DC, pacientes com genótipo "TT" apresentaram chance 4,1 vezes maior de utilizar corticosteroides no momento do diagnóstico do que aqueles que tinham o alelo polimórfico, o qual seria protetor para a necessidade detes farmácos. Seu uso no momento do diagnóstico já havia sido considerado fator prognóstico independente para o desenvolvimento de doença incapacitante anteriormente, sendo assim, aqueles com genótipo "TT" teriam pior evolução da doença (BEAUGERIE et al., 2006). Divergentemente, no grupo RCU, os genótipos "Tt" e "tt" apresentaram chance 4,19 vezes maior de necessitar utilizar mais de dois cursos de corticosteroides do que os pacientes sem o polimorfismo.

Os corticosteroides são agentes anti-inflamatórios potentes usados em crises moderadas e graves das DII, mas pelo fato de não alterarem a história natural da doença,

podem aumentar o risco de realização de procedimentos cirúrgicos relacionados a complicações da DII. Dessa forma, os pacientes que possuem o polimorfismo TaqI, na DC, têm menor probabilidade de apresentar a doença de forma mais grave, enquanto na RCU, estariam mais suscetíveis a má evolução da doença (BEAUGERIE et al., 2006; KRUPOVES et al., 2011). É possível que esta diferença entre DC e RCU tenha ocorrido porque, embora ambas sejam doenças inflamatórias, a etiopatogenia dessas enfermidades ocorre por diferentes vias imunológicas. Destacamos que se a amostra fosse maior, talvez poderia ser observada associação dos polimorfismos com desfecho clínico.

Não foi verificada associação significativa dos polimorfismos individualmente com desfechos clínicos desfavoráveis, como maior frequencia de hospitalizações e necessidade de cirurgias, nos pacientes com DC e RCU. Por motivos técnicos, não foram obtidos os resultados da genotipagem do polimorfismo BsmI, não sendo possível avaliar se o desequilíbrio de ligação entre as variantes genéticas ApaI, TaqI e BsmI do VDR exercem algum efeito sobre o curso evolutivo das DII que pudesse ocasionar desfecho clínico desfavorável, fator limitante em nosso estudo.

Diversos genes contribuem para a susceptibilidade e prognóstico das DII, a interação entre os genes envolvidos pode ampliar ou reduzir a predisposição genética do indivíduo, com a participação de fatores ambientais. Enfatizamos que a detecção destas variações genéticas se faz necessária, dada sua estabilidade em longo prazo, sendo de grande importância a identificação precoce de indivíduos mais susceptíveis à DII e de pior prognóstico evolutivo, visando à elaboração de estratégias terapêuticas mais adequadas e a redução de exposição a fatores ambientais modificadores da doença. Estudos com coortes de longo prazo, prospectivos, com maior número amostral e em diferentes áreas geográficas do Brasil permitirão melhor avaliação do impacto do polimorfismo do VDR nas DII.

8. CONCLUSÕES

- Os polimorfismos ApaI (genótipo “aa”) e TaqI (genótipo “Tt”) do VDR foram mais frequentes em pacientes com DC, quando comparado ao grupo controle. Não houve diferença significativa na distribuição genotípica do polimorfismo FokI entre os 2 grupos.
- A distribuição genotípica dos polimorfismos ApaI, TaqI e FokI foi semelhante entre os grupos RCU e controle.
- O polimorfismo ApaI (genótipos “Aa” e “aa”) foi protetor contra o uso de imunossupressores em DC.
- O polimorfismo TaqI (genótipos “Tt” e “tt”) foi protetor contra o uso de corticosteroides no momento do diagnóstico, em DC. Esses genótipos apresentaram risco de associação com necessidade de mais de 2 cursos de corticosteroides durante a evolução da doença em RCU.
- Não foi observada associação entre o estado nutricional de vitamina D e as características clínicas das DII.
- Não houve associação entre os polimorfismos ApaI, TaqI e FokI do gene VDR com deficiência de vitamina D.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFIAS

ABBASI, M. et al. Lack of association of vitamin D receptor gene BsmI polymorphisms in patients with systemic lupus erythematosus. **Rheumatol Int,** v. 30, n. 11, p. 1537-9, Sep 2010. ISSN 0172-8172.

ABRAHAM, B. P.; PRASAD, P.; MALATY, H. M. Vitamin D deficiency and corticosteroid use are risk factors for low bone mineral density in inflammatory bowel disease patients. **Dig Dis Sci,** v. 59, n. 8, p. 1878-84, Aug 2014. ISSN 0163-2116.

ABREU, M. T. The pathogenesis of inflammatory bowel disease: translational implications for clinicians. **Curr Gastroenterol Rep,** v. 4, n. 6, p. 481-9, Dec 2002. ISSN 1522-8037.

ADORINI, L.; PENNA, G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system. **Nat Clin Pract Rheumatol,** v. 4, n. 8, p. 404-12, Aug 2008. ISSN 1745-8382.

AKIHO, H. et al. Promising biological therapies for ulcerative colitis: A review of the literature. **World J Gastrointest Pathophysiol,** v. 6, n. 4, p. 219-27, Nov 2015. ISSN 2150-5330.

ALASTAIR, F.; EMMA, G.; EMMA, P. Nutrition in inflammatory bowel disease. **JPEN J Parenter Enteral Nutr,** v. 35, n. 5, p. 571-80, Sep 2011. ISSN 0148-6071.

ANANTHAKRISHNAN, A. N. et al. Higher predicted vitamin D status is associated with reduced risk of Crohn's disease. **Gastroenterology,** v. 142, n. 3, p. 482-9, Mar 2012. ISSN 0016-5085.

ANANTHAKRISHNAN, A. N. et al. Normalization of plasma 25-hydroxy vitamin D is associated with reduced risk of surgery in Crohn's disease. **Inflamm Bowel Dis,** v. 19, n. 9, p. 1921-7, Aug 2013. ISSN 1078-0998.

ANANTHAKRISHNAN, A. N. Editorial: Vitamin D and IBD: Can We Get Over the "Causation" Hump? **Am J Gastroenterol,** v. 111, n. 5, p. 720-2, May 2016. ISSN 0002-9270.

ARAI, H. et al. A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. **J Bone Miner Res,** v. 12, n. 6, p. 915-21, Jun 1997. ISSN 0884-0431.

ARDESIA, M.; FERLAZZO, G.; FRIES, W. Vitamin D and inflammatory bowel disease. **Biomed Res Int,** p. 470805, 2015. ISSN: 2314-6141.

ARNSON, Y.; AMITAL, H.; SHOENFELD, Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. **Ann Rheum Dis,** v. 66, n. 9, p. 1137-42, Sep 2007. ISSN 0003-4967.

BARRA, G.B. et al. Mecanismo molecular da ação do hormônio tireoideano. **Arq Bras Endocrinol Metab,** São Paulo, v. 48, n. 1, p. 25-39, Feb 2004. ISSN 1677-9487.

BEAUGERIE, L. et al. Predictors of Crohn's disease. **Gastroenterology,** v. 130, n. 3, p. 650-6, Mar 2006. ISSN 0016-5085.

BEAUGERIE, L.; SOKOL, H. Clinical, serological and genetic predictors of inflammatory bowel disease course. **World J Gastroenterol,** v. 18, n. 29, p. 3806-13, Aug 2012. ISSN 1007-9327.

BENTLEY, R. W. et al. Vitamin D receptor gene polymorphism associated with inflammatory bowel disease in New Zealand males. **Aliment Pharmacol Ther,** v. 33, n. 7, p. 855-6, Apr 2011. ISSN 0269-2813.

BLONSKI, W.; BUCHNER, A. M.; LICHTENSTEIN, G. R. Clinical predictors of aggressive/disabling disease: ulcerative colitis and crohn disease. **Gastroenterol Clin North Am,** v. 41, n. 2, p. 443-62, Jun 2012. ISSN 0889-8553.

BOYD, C. A.; LIMDI, J. K. Vitamin D deficiency and disease outcomes in South Asian patients with IBD. **Dig Dis Sci,** v. 58, n. 7, p. 2124-5, Jul 2013. ISSN 0163-2116.

BRASIL. Ministério Do Planejamento E Gestão. O Sistema Classificatório de Cor ou Raça do IBGE. IPEA: Brasília, 2003.

BURISCH, J.; MUNKHOLM, P. Inflammatory bowel disease epidemiology. **Curr Opin Gastroenterol,** v. 29, n. 4, p. 357-62, Jul 2013. ISSN 0267-1379.

BURTON, P. R.; TOBIN, M. D.; HOPPER, J. L. Key concepts in genetic epidemiology. **Lancet,** v. 366, n. 9489, p. 941-51, Sep 2005. ISSN 0140-6736.

CABRÉ, E.; DOMÈNECH, E. Impact of environmental and dietary factors on the course of inflammatory bowel disease. **World J Gastroenterol,** v. 18, n. 29, p. 3814-22, Aug 2012. ISSN 2219-2840.

CANTORNA, M. T. et al. Vitamin D status, 1,25-dihydroxyvitamin D3, and the immune system. **Am J Clin Nutr,** v. 80, n. 6 Suppl, p. 1717s-20s, Dec 2004. ISSN 0002-9165.

CARD, T.; HUBBARD, R.; LOGAN, R. F. Mortality in inflammatory bowel disease: a population-based cohort study. **Gastroenterology,** v. 125, n. 6, p. 1583-90, Dec 2003. ISSN 0016-5085.

CARVALHO, C. et al. Association between vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms and systemic lupus erythematosus in Portuguese patients. **Lupus,** v. 24, n. 8, p. 846-53, Jul 2015. ISSN 0961-2033.

CASTRO, L. C. G. O sistema endocrinológico vitamina D. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v. 55, n. 8, p. 566-575, 2011. ISSN 1677-9487.

CHAPMAN-KIDDELL, C. A. et al. Role of diet in the development of inflammatory bowel disease. **Inflamm Bowel Dis,** v. 16, n. 1, p. 137-51, Jan 2010. ISSN 1078-0998.

CHEN, Y. et al. Vitamin D receptor inhibits nuclear factor kappaB activation by interacting

with IkappaB kinase beta protein. **J Biol Chem,** v. 288, n. 27, p. 19450-8, Jul 5 2013. ISSN 0021-9258.

CHO, J. H.; WEAVER, C. T. The genetics of inflammatory bowel disease. **Gastroenterology,** v. 133, n. 4, p. 1327-39, Oct 2007. ISSN 0016-5085.

CHRISTAKOS, S. et al. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. **Physiol Rev,** v. 96, n. 1, p. 365-408, Jan 2016. ISSN 0031-9333.

CLEYNEN, I. et al. Genetic factors conferring an increased susceptibility to develop Crohn's disease also influence disease phenotype: results from the IBDchip European Project. **Gut,** v. 62, n. 11, p. 1556-65, Nov 2013. ISSN 0017-5749.

COSNES, J. et al. Early administration of azathioprine vs conventional management of Crohn's Disease: a randomized controlled trial. **Gastroenterology,** v. 145, n. 4, p. 758-65.e2; quiz e14-5, Oct 2013. ISSN 0016-5085.

COSNES, J. et al. Long-term evolution of disease behavior of Crohn's disease. **Inflamm Bowel Dis,** v. 8, n. 4, p. 244-50, Jul 2002. ISSN 1078-0998.

COSNES, J. Tobacco and IBD: relevance in the understanding of disease mechanisms and clinical practice. **Best Pract Res Clin Gastroenterol,** v. 18, n. 3, p. 481-96, Jun 2004. ISSN 1521-6918.

DA SILVA, B. C. et al. Epidemiology, demographic characteristics and prognostic predictors of ulcerative colitis. **World J Gastroenterol,** v. 20, n. 28, p. 9458-67, Jul 2014. ISSN 1007-9327.

DA SILVA B.C. et al. The demographic and clinical characteristics of ulcerative colitis in a northeast brazilian population. **Biomed Res Int**, v. 2015, 2015. ISSN: 2314-6141.

DANESE, S.; FIOCCHI, C. Ulcerative colitis. **N Engl J Med,** v. 365, n. 18, p. 1713-25, Nov 2011. ISSN 1533-4406.

DAVIES, J. M.; ABREU, M. T. The innate immune system and inflammatory bowel disease. **Scand J Gastroenterol,** v. 50, n. 1, p. 24-33, Jan 2015. ISSN 0036-5521.

DEL PINTO, R. et al. Association Between Inflammatory Bowel Disease and Vitamin D Deficiency: A Systematic Review and Meta-analysis. **Inflamm Bowel Dis,** v. 21, n. 11, p. 2708-17, Nov 2015. ISSN 1078-0998.

DETTOGNI, R. S. et al. Polymorphic genetic variation in immune system genes: a study of two populations of Espirito Santo, Brazil. **Mol Biol Rep,** v. 40, n. 8, p. 4843-9, Aug 2013. ISSN 0301-4851.

D'HAENS, G. R. et al. Future directions in inflammatory bowel disease management. **J Crohns Colitis,** v. 8, n. 8, p. 726-34, Aug 2014. ISSN 1873-9946.

D'HAENS, G.; GEBOES, K.; RUTGEERTS, P. Endoscopic and histologic healing of Crohn's

(ileo-) colitis with azathioprine. **Gastrointest Endosc,** v. 50, n. 5, p. 667-71, Nov 1999. ISSN 0016-5107.

DIAS, C. C. et al. Clinical predictors of colectomy in patients with ulcerative colitis: systematic review and meta-analysis of cohort studies. **J Crohns Colitis,** v. 9, n. 2, p. 156-63, Feb 2015. ISSN 1873-9946.

DIGNASS, A. et al. Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis part 1: definitions and diagnosis. J Crohns Colitis, v. 6, n. 10, p. 965-90, Dec 2012. ISSN 1873-9946.

DIXON, L. J. et al. Combinatorial effects of diet and genetics on inflammatory bowel disease pathogenesis. **Inflamm Bowel Dis,** v. 21, n. 4, p. 912-22, Apr 2015. ISSN 1078-0998.

DOROFEEV, A. E.; SHVETS, O. V. Epidemiology and risk factors of inflammatory bowel diseases. **Lik Sprava,** n. 11, p. 22-9, Nov 2014. ISSN 1019-5297.

DRESNER-POLLAK, R. et al. The BsmI vitamin D receptor gene polymorphism is associated with ulcerative colitis in Jewish Ashkenazi patients. **Genet Test,** v. 8, n. 4, p. 417-20, Winter 2004. ISSN 1090-6576.

DURRIN, L. K. et al. Vitamin D receptor 3'-untranslated region polymorphisms: lack of effect on mRNA stability. **Biochim Biophys Acta,** v. 1453, n. 3, p. 311-20, Mar 30 1999. ISSN 0006-3002.

FLORIN, T. H.; PANDEYA, N.; RADFORD-SMITH, G. L. Epidemiology of appendicectomy in primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis: its influence on the clinical behaviour of these diseases. **Gut,** v. 53, n. 7, p. 973-9, Jul 2004. ISSN 0017-5749.

HANAUER, S. B. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. **Inflamm Bowel Dis**, v. 12 Suppl 1, p. S3-9, Jan 2006. ISSN 1078-0998

HARBORD, M. et al. The First European Evidence-based Consensus on Extra-intestinal Manifestations in Inflammatory Bowel Disease. **J Crohns Colitis,** v. 10, n. 3, p. 239-54, Mar 2016. ISSN 1873-9946.

HARVEY, R. F.; BRADSHAW, J. M. A simple index of Crohn's-disease activity. **Lancet,** v. 1, n. 8167, p. 514, Mar 1980. ISSN 0140-6736.

HENRIKSEN, M. et al. Are there any differences in phenotype or disease course between familial and sporadic cases of inflammatory bowel disease? Results of a population-based follow-up study. **Am J Gastroenterol,** v. 102, n. 9, p. 1955-63, Sep 2007. ISSN 0002-9270.

HEWISON, M. Vitamin D and immune function: an overview. **Proc Nutr Soc,** v. 71, n. 1, p. 50-61, Feb 2012. ISSN 0029-6651.

HOLICK, M. F. et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. **J Clin Endocrinol Metab,** v. 96, n. 7, p. 1911-30, Jul 2011. ISSN 0021-972x.

_____. Guidelines for preventing and treating vitamin D deficiency and insufficiency revisited. **J Clin Endocrinol Metab,** v. 97, n. 4, p. 1153-8, Apr 2012. ISSN 0021-972x.

HOLICK, M. F. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. **Am J Clin Nutr,** v. 80, n. 6 Suppl, p. 1678s-88s, Dec 2004.

HOLICK, M. F. Vitamin D deficiency. **N Engl J Med,** v. 357, n. 3, p. 266-81, Jul 2007. ISSN 0028-4793.

HUGHES, D. J. et al. Common variation in the vitamin D receptor gene and risk of inflammatory bowel disease in an Irish case-control study. **Eur J Gastroenterol Hepatol,** v. 23, n. 9, p. 807-12, Sep 2011. ISSN 0954-691x.

INSTITUTE OF MEDICINE COMMITTEE TO REVIEW DIETARY REFERENCE INTAKES FOR VITAMIN D. The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health. In: ROSS, A. C.; TAYLOR, C. L., *et al* (Ed.). **Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D**. Washington (DC): National Academies Press (US) National Academy of Sciences, 2011.

ISENE, R. et al. Extraintestinal manifestations in Crohn's disease and ulcerative colitis: results from a prospective, population-based European inception cohort. **Scand J Gastroenterol,** v. 50, n. 3, p. 300-5, Mar 2015. ISSN 0036-5521.

JOSTINS, L. et al. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. **Nature,** v. 491, n. 7422, p. 119-24, Nov 2012. ISSN 0028-0836.

JURUTKA, P. W. et al. The polymorphic N terminus in human vitamin D receptor isoforms influences transcriptional activity by modulating interaction with transcription factor IIB. **Mol Endocrinol,** v. 14, n. 3, p. 401-20, Mar 2000. ISSN 0888-8809.

KABBANI, T. A. et al. Association of vitamin D level with clinical status in inflammatory bowel disease: a 5-year longitudinal study. **Am J Gastroenterol,** v. 111, n. 5, p. 712-9, May 2016. ISSN 0002-9270.

KARCZEWSKI, J. et al. The effect of cigarette smoking on the clinical course of inflammatory bowel disease. **Prz Gastroenterol,** v. 9, n. 3, p. 153-9, 2014. ISSN 1895-5770.

KARMIRIS, K. et al. Prevalence and Characteristics of Extra-intestinal Manifestations in a Large Cohort of Greek Patients with Inflammatory Bowel Disease. **J Crohns Colitis,** v. 10, n. 4, p. 429-36, Apr 2016. ISSN 1873-9946.

KHOR, B.; GARDET, A.; XAVIER, R. J. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. **Nature,** v. 474, n. 7351, p. 307-17, Jun 2011. ISSN 0028-0836.

KIM, Y. G.; JANG, B. I. The role of colonoscopy in inflammatory bowel disease. **Clin Endosc,** v. 46, n. 4, p. 317-20, Jul 2013. ISSN 2234-2400.

KLEINUBING-JUNIOR, H. et al. Perfil dos pacientes ambulatoriais com doenças

inflamatórias intestinais. **ABCD, arq. bras. cir. dig.,** v. 24, n. 3, p. 200-203, Set 2011.

KRELA-KAZMIERCZAK, I. et al. The importance of vitamin D in the pathology of bone metabolism in inflammatory bowel diseases. **Arch Med Sci,** v. 11, n. 5, p. 1028-32, Out 2015. ISSN 1734-1922.

KRUPOVES, A. et al. Immediate and long-term outcomes of corticosteroid therapy in pediatric Crohn's disease patients. **Inflamm Bowel Dis,** v. 17, n. 4, p. 954-62, Apr 2011. ISSN 1078-0998.

LAKATOS, P. L. et al. Perianal disease, small bowel disease, smoking, prior steroid or early azathioprine/biological therapy are predictors of disease behavior change in patients with Crohn's disease. **World J Gastroenterol,** v. 15, n. 28, p. 3504-10, Jul 2009. ISSN 1007-9327.

LAKATOS, P. L. Recent trends in the epidemiology of inflammatory bowel diseases: up or down? **World J Gastroenterol,** v. 12, n. 38, p. 6102-8, Out 2006. ISSN 1007-9327.

_____. Environmental factors affecting inflammatory bowel disease: have we made progress? **Dig Dis,** v. 27, n. 3, p. 215-25, set 2009. ISSN 0257-2753.

LAKATOS, P. L.; SZAMOSI, T.; LAKATOS, L. Smoking in inflammatory bowel diseases: good, bad or ugly? **World J Gastroenterol,** v. 13, n. 46, p. 6134-9, Dec 2007. ISSN 1007-9327.

LEE, J. et al. Maintenance of colonic homeostasis by distinctive apical TLR9 signalling in intestinal epithelial cells. **Nat Cell Biol,** v. 8, n. 12, p. 1327-36, Dec 2006. ISSN 1465-7392.

LEGAKI, E.; GAZOULI, M. Influence of environmental factors in the development of inflammatory bowel diseases. **World J Gastrointest Pharmacol Ther,** v. 7, n. 1, p. 112-25, Feb 2016. ISSN 2150-5349.

LEONE, V.; CHANG, E. B.; DEVKOTA, S. Diet, microbes, and host genetics: the perfect storm in inflammatory bowel diseases. **J Gastroenterol,** v. 48, n. 3, p. 315-21, Mar 2013. ISSN 0944-1174.

LEVENTIS, P.; PATEL, S. Clinical aspects of vitamin D in the management of rheumatoid arthritis. **Rheumatology (Oxford),** v. 47, n. 11, p. 1617-21, Nov 2008. ISSN 1462-0324.

LINS, T. C. et al. A multiplex single-base extension protocol for genotyping Cdx2, FokI, BsmI, ApaI, and TaqI polymorphisms of the vitamin D receptor gene. **Genet Mol Res,** v. 6, n. 2, p. 316-24, 2007. ISSN 1676-5680.

_____. Genetic composition of Brazilian population samples based on a set of twenty-eight ancestry informative SNPs. **Am J Hum Biol,** v. 22, n. 2, p. 187-92, Mar-Apr 2010. ISSN 1042-0533.

LODDO, I.; ROMANO, C. Inflammatory Bowel Disease: Genetics, Epigenetics, and Pathogenesis. **Front Immunol,** v. 6, p. 551, 2015. ISSN 1664-3224.

LOLY, C.; BELAICHE, J.; LOUIS, E. Predictors of severe Crohn's disease. **Scand J Gastroenterol,** v. 43, n. 8, p. 948-54, Aug 2008. ISSN 0036-5521.

LU, C. et al. Association between 25(OH)D Level, Ultraviolet Exposure, Geographical Location, and Inflammatory Bowel Disease Activity: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PLoS One,** v. 10, n. 7, p. e0132036, 2015. ISSN 1932-6203.

MAEDA, S. S. et al. Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 58, p. 411-433, 2014. ISSN 1677-9487.

MARQUES, C. D. L. et al. A importância dos níveis de vitamina D nas doenças autoimunes. **Rev Bras Reumatol**, v. 50, n. 1, p. 67-80, Feb. 2010. ISSN 1809-4570.

MARTIN, K. et al. Candidate genes colocalized to linkage regions in inflammatory bowel disease. **Digestion,** v. 66, n. 2, p. 121-6, 2002. ISSN 0012-2823.

MASAKAZU, N; YASUHIRO, N; MAMORU, W. Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases. **Intest Res,** v. 8, n. 1, p. 9-17, 2010. ISSN 22881956.

MATRICON, J.; BARNICH, N.; ARDID, D. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. **Self Nonself,** v. 1, n. 4, p. 299-309, Oct 2010. ISSN 1938-2030.

MATSUOKA, K.; KANAI, T. The gut microbiota and inflammatory bowel disease. **Semin Immunopathol,** v. 37, n. 1, p. 47-55, Jan 2015. ISSN 1863-2297.

MEDZHITOV, R.; JANEWAY, C., JR. Innate immune recognition: mechanisms and pathways. **Immunol Rev,** v. 173, p. 89-97, Feb 2000. ISSN 0105-2896.

MECKEL, K. et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentration is inversely associated with mucosal inflammation in patients with ulcerative colitis. **Am J Clin Nutr**, v. 104, n. 1, p. 113-20, Jul 2016. ISSN 0002-9165.

MISZPUTEN, S.J. Doenças inflamatórias intestinais. In:_____. Guia de gastroenterologia. 2.ed. São Paulo: Nestor Schor, 2002. 397p. p.217-31.

MIYAMOTO, K. et al. Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. **Mol Endocrinol,** v. 11, n. 8, p. 1165-79, Jul 1997. ISSN 0888-8809.

MOLODECKY, N. A.; KAPLAN, G. G. Environmental risk factors for inflammatory bowel disease. **Gastroenterol Hepatol,** v. 6, n. 5, p. 339-46, May 2010. ISSN 1554-7914.

MONTICIELO, O. A. et al. Vitamin D and polymorphisms of VDR gene in patients with systemic lupus erythematosus. **Clin Rheumatol,** v. 31, n. 10, p. 1411-21, Oct 2012. ISSN 0770-3198.

MORA, J. R.; IWATA, M.; VON ANDRIAN, U. H. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. **Nat Rev Immunol,** v. 8, n. 9, p. 685-98, Sep 2008. ISSN 1474-1733.

MORAND, G. B. et al. Insights into genetic and epigenetic determinants with impact on vitamin d signaling and cancer association studies: the case of thyroid cancer. **Front Oncol,** v. 4, p. 309, 2014. ISSN 2234-943x.

MORGAN, X. C. et al. Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. **Genome Biol,** v. 13, n. 9, p. R79, 2012. ISSN 1474-7596.

MORRISON, N. A. et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. **Nature,** v. 367, n. 6460, p. 284-7, Jan 20 1994. ISSN 0028-0836.

MOWAT, C. et al. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. **Gut,** Dundee, v.60, n. 5, p. 571-607, 2011. ISSN 0017-5749.

MURDOCH, T. et al. Biomarkers as potential treatment targets in inflammatory bowel disease: A systematic review. **Can J Gastroenterol Hepatol,** v. 29, n. 4, p. 203-8, May 2015. ISSN 2291-2789.

NADERI, N. et al. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms in Iranian patients with inflammatory bowel disease. **J Gastroenterol Hepatol,** v. 23, n. 12, p. 1816-22, Dec 2008. ISSN 0815-9319.

NEUMAN, M. G.; NANAU, R. M. Inflammatory bowel disease: role of diet, microbiota, life style. **Transl Res**, v. 160, n. 1, p. 29-44, Jul 2012. ISSN 1878-1810.

NEWMAN, B.; SIMINOVITCH, K. A. Recent advances in the genetics of inflammatory bowel disease. **Curr Opin Gastroenterol**, v. 21, n. 4, p. 401-7, Jul 2005. ISSN 0267-1379.

NG, S. C. et al. Early Course of Inflammatory Bowel Disease in a Population-Based Inception Cohort Study From 8 Countries in Asia and Australia. **Gastroenterology,** v. 150, n. 1, p. 86-95.e3; quiz e13-4, Jan 2016. ISSN 0016-5085.

NIELSEN, O. H. et al. Influence of smoking on colonic gene expression profile in Crohn's disease. **PLoS One,** v. 4, n. 7, p. e6210, 2009. ISSN 1932-6203.

NOBLE, C. L. et al. Low body mass not vitamin D receptor polymorphisms predict osteoporosis in patients with inflammatory bowel disease. **Aliment Pharmacol Ther,** v. 27, n. 7, p. 588-96, Apr 2008. ISSN 0269-2813.

NORMAN, A. W. Minireview: vitamin D receptor: new assignments for an already busy receptor. **Endocrinology,** v. 147, n. 12, p. 5542-8, Dec 2006. ISSN 0013-7227.

NUNES, T. et al. Does smoking influence Crohn's disease in the biologic era? The TABACROHN study. **Inflamm Bowel Dis,** v. 19, n. 1, p. 23-9, Jan 2013. ISSN 1078-0998.

ORDAS, I. et al. Ulcerative colitis. **Lancet,** v. 380, n. 9853, p. 1606-19, Nov 2012. ISSN 0140-6736.

OTT, C.; SCHOLMERICH, J. Extraintestinal manifestations and complications in IBD. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol,** v. 10, n. 10, p. 585-95, Oct 2013. ISSN 1759-5045.

PALMER, M. T.; WEAVER, C. T. Linking vitamin d deficiency to inflammatory bowel disease. **Inflamm Bowel Dis,** v. 19, n. 10, p. 2245-56, Sep 2013. ISSN 1078-0998.

PALOMER, X. et al. Role of vitamin D in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. **Diabetes Obes Metab,** v. 10, n. 3, p. 185-97, Mar 2008. ISSN 1462-8902.

PARENTE, J. M. et al. Inflammatory bowel disease in an underdeveloped region of Northeastern Brazil. **World J Gastroenterol,** v. 21, n. 4, p. 1197-206, Jan 2015. ISSN 1007-9327.

PARIAN, A. et al. Appendectomy does not decrease the risk of future colectomy in UC: results from a large cohort and meta-analysis. **Gut**, Apr 2016. ISSN 0017-5749.

PEI, F. H. et al. Vitamin D receptor gene polymorphism and ulcerative colitis susceptibility in Han Chinese. **J Dig Dis,** v. 12, n. 2, p. 90-8, Apr 2011. ISSN 1751-2972.

PELAJO, C. F.; LOPEZ-BENITEZ, J. M.; MILLER, L. C. Vitamin D and autoimmune rheumatologic disorders. **Autoimmun Rev,** v. 9, n. 7, p. 507-10, May 2010. ISSN 1568-9972.

PEYRIN-BIROULET, L. et al. The natural history of adult Crohn's disease in population-based cohorts. **Am J Gastroenterol,** v. 105, n. 2, p. 289-97, Feb 2010. ISSN 0002-9270.

PIKE, J. W.; MEYER, M. B. The vitamin D receptor: new paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D3. **Rheum Dis Clin North Am,** v. 38, n. 1, p. 13-27, Feb 2012. ISSN 0889-857x.

PLUSKIEWICZ, W.; ZDRZALEK, J.; KARASEK, D. Spine bone mineral density and VDR polymorphism in subjects with ulcerative colitis. **J Bone Miner Metab,** v. 27, n. 5, p. 567-73, 2009. ISSN 0914-8779.

POLGAR, N. et al. Investigation of JAK2, STAT3 and CCR6 polymorphisms and their gene-gene interactions in inflammatory bowel disease. **Int J Immunogenet,** v. 39, n. 3, p. 247-52, Jun 2012. ISSN 1744-3121.

PRIDEAUX, L. et al. Serological antibodies in inflammatory bowel disease: a systematic review. **Inflamm Bowel Dis,** v. 18, n. 7, p. 1340-55, Jul 2012. ISSN 1078-0998.

RAMAN, M. et al. Vitamin D and gastrointestinal diseases: inflammatory bowel disease and colorectal cancer. **Therap Adv Gastroenterol,** v. 4, n. 1, p. 49-62, Jan 2011. ISSN 1756-283x.

REICH, K. M. et al. Vitamin D improves inflammatory bowel disease outcomes: basic science and clinical review. **World J Gastroenterol,** v. 20, n. 17, p. 4934-47, May 2014. ISSN 1007-9327.

REZENDE, V. B. et al. An interethnic comparison of the distribution of vitamin D receptor genotypes and haplotypes. **Clin Chim Acta,** v. 384, n. 1-2, p. 155-9, Sep 2007. ISSN 0009-8981.

SAADATI, H. R. et al. Genome-wide rare copy number variation screening in ulcerative colitis identifies potential susceptibility loci. **BMC Med Genet,** v. 17, n. 1, p. 26, 2016. ISSN 1471-2350.

SANDS, B. E. et al. Risk of early surgery for Crohn's disease: implications for early treatment strategies. **Am J Gastroenterol,** v. 98, n. 12, p. 2712-8, Dec 2003. ISSN 0002-9270.

SANTOS, B. R. et al. Vitamin D deficiency in girls from South Brazil: a cross-sectional study on prevalence and association with vitamin D receptor gene variants. **BMC Pediatr,** v. 12, p. 62, 2012. ISSN 1471-2431.

SARLOS, P. et al. Genetic update on inflammatory factors in ulcerative colitis: Review of the current literature. **World J Gastrointest Pathophysiol,** v. 5, n. 3, p. 304-21, Aug 2014. ISSN 2150-5330.

SARTOR, R. B. Mechanisms of Disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. **Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol,** v. 3, n. 7, Jul 2006. ISSN: 1743-4386.

SATSANGI, J. et al. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. **Gut,** v. 55, n. 6, p. 749-53, Jun 2006. ISSN 0017-5749.

SILVERBERG, M. S. et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. **Can J Gastroenterol,** v. 19 Suppl A, p. 5A-36A, Sep 2005. ISSN 1916-7237.

SIMMONS, J. D. et al. Vitamin D receptor gene polymorphism: association with Crohn's disease susceptibility. **Gut,** v. 47, n. 2, p. 211-4, Aug 2000. ISSN 0017-5749.

SOFIA, M. A. et al. Clinical presentation and disease course of inflammatory bowel disease differs by race in a large tertiary care hospital. **Dig Dis Sci,** v. 59, n. 9, p. 2228-35, Sep 2014. ISSN 0163-2116.

SOKOL, H. et al. Disease activity and cancer risk in inflammatory bowel disease associated with primary sclerosing cholangitis. **World J Gastroenterol,** v. 14, n. 22, p. 3497-503, Jun 2008. ISSN 1007-9327.

SOUZA, M. M. D.; BELASCO, A. G. S.; AGUILAR-NASCIMENTO, J. E. D. Perfil epidemiológico dos pacientes portadores de doença inflamatória intestinal do estado de Mato Grosso. **Rev Bras Colo-proctol**, v. 28**,** p.324-8, 2008. ISSN 1980-5446.

STALLMACH, A. et al. Parameters of a severe disease course in ulcerative colitis. **World J Gastroenterol,** v. 20, n. 35, p. 12574-80, Sep 2014. ISSN 1007-9327.

SUN, J. Vitamin D and mucosal immune function. **Curr Opin Gastroenterol,** v. 26, n. 6, p. 591-5, Nov 2010. ISSN 0267-1379.

SUTHERLAND, L. R. et al. Effect of cigarette smoking on recurrence of Crohn's disease.

Gastroenterology, v. 98, n. 5 Pt 1, p. 1123-8, May 1990. ISSN 0016-5085.

SZODORAY, P. et al. The complex role of vitamin D in autoimmune diseases. **Scand J Immunol,** v. 68, n. 3, p. 261-9, Sep 2008. ISSN 0300-9475.

TARGAN, S. R.; KARP, L. C. Defects in mucosal immunity leading to ulcerative colitis. **Immunol Rev,** v. 206, p. 296-305, Aug 2005. ISSN 0105-2896.

TO, N.; FORD, A. C.; GRACIE, D. J. Systematic review with meta-analysis: the effect of tobacco smoking on the natural history of ulcerative colitis. **Aliment Pharmacol Ther,** v. 44, n. 2, p. 117-26, Jul 2016. ISSN 0269-2813.

TORKI, M. et al. Vitamin D deficiency associated with disease activity in patients with inflammatory bowel diseases. **Dig Dis Sci,** v. 60, n. 10, p. 3085-91, Oct 2015. ISSN 0163-2116.

TRUELOVE, S. C.; WITTS, L. J. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. **Br Med J,** v. 2, n. 4947, p. 1041-8, Oct 1955. ISSN 0007-1447.

TURNER, J. R. Molecular basis of epithelial barrier regulation: from basic mechanisms to clinical application. **Am J Pathol,** v. 169, n. 6, p. 1901-9, Dec 2006. ISSN 0002-9440.

UITTERLINDEN, A. G. et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms in relation to Vitamin D related disease states. **J Steroid Biochem Mol Biol,** v. 89-90, n. 1-5, p. 187-93, May 2004. ISSN 0960-0760.

ULITSKY, A. et al. Vitamin D deficiency in patients with inflammatory bowel disease: association with disease activity and quality of life. **JPEN J Parenter Enteral Nutr,** v. 35, n. 3, p. 308-16, May 2011. ISSN 0148-6071.

URANGA, J. A. et al. Food, nutrients and nutraceuticals affecting the course of inflammatory bowel disease. **Pharmacol Rep**, Jun 2016. ISSN 1734-1140.

VALDIVIELSO, J. M.; FERNANDEZ, E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. **Clin Chim Acta,** v. 371, n. 1-2, p. 1-12, Sep 2006. ISSN 0009-8981.

VAN ASSCHE, G. et al. The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Definitions and diagnosis. **J Crohns Colitis,** v. 4, n. 1, p. 7-27, Feb 2010. ISSN 1873-9946.

VICTORIA, C. R.; SASSAK, L. Y.; NUNES, H. R. Incidence and prevalence rates of inflammatory bowel diseases, in midwestern of Sao Paulo State, Brazil. **Arq Gastroenterol,** v. 46, n. 1, p. 20-5, Jan-Mar 2009. ISSN 0004-2803.

WANG, L. et al. Polymorphisms of the vitamin D receptor gene and the risk of inflammatory bowel disease: a meta-analysis. **Genet Mol Res,** v. 13, n. 2, p. 2598-610, 2014. ISSN 1676-5680.

WANG, Y.; ZHU, J.; DELUCA, H. F. Where is the vitamin D receptor? **Arch Biochem**

Biophys, v. 523, n. 1, p. 123-33, Jul 2012. ISSN 0003-9861.

WEHKAMP, J. et al. Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease. **Proc Natl Acad Sci U S A,** v. 102, n. 50, p. 18129-34, Dez 2005. ISSN 0027-8424.

WOLTERS, F. L. et al. Phenotype at diagnosis predicts recurrence rates in Crohn's disease. **Gut,** v. 55, n. 8, p. 1124-30, Aug 2006. ISSN 0017-5749.

XIA, S. et al. An analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms and serum 25-hydroxyvitamin D levels in patients with Crohn's disease. **Zhonghua Nei Ke Za Zhi,** v. 54, n. 7, p. 601-6, Jul 2015. ISSN 0578-1426.

XIA, S. L. et al. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with the susceptibility to ulcerative colitis in patients from Southeast China. **J Recept Signal Transduct Res,** v. 35, n. 6, p. 530-5, 2014. ISSN 1079-9893.

XUE, L. N. et al. Associations between vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to ulcerative colitis and Crohn's disease: a meta-analysis. **Inflamm Bowel Dis,** v. 19, n. 1, p. 54-60, Jan 2013. ISSN 1078-0998.

YANG, C. Y. et al. The implication of vitamin D and autoimmunity: a comprehensive review. **Clin Rev Allergy Immunol,** v. 45, n. 2, p. 217-26, Oct 2013a. ISSN 1080-0549.

YANG, L. et al. Therapeutic effect of vitamin d supplementation in a pilot study of Crohn's patients. **Clin Transl Gastroenterol,** v. 4, p. 33, 2013b. ISSN: 2155-384X.

ZATOR, Z. A. et al. Pretreatment 25-hydroxyvitamin D levels and durability of anti-tumor necrosis factor-alpha therapy in inflammatory bowel diseases. **JPEN J Parenter Enteral Nutr,** v. 38, n. 3, p. 385-91, Mar-Apr 2014. ISSN 0148-6071.

ZHENG, H. H.; JIANG, X. L. Increased risk of colorectal neoplasia in patients with primary sclerosing cholangitis and inflammatory bowel disease: a meta-analysis of 16 observational studies. **Eur J Gastroenterol Hepatol,** v. 28, n. 4, p. 383-90, Apr 2016. ISSN 0954-691x.

10. ANEXOS

Anexo A –Termo de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa HUCFF/UFRJ

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
CLEMENTINO FRAGA FILHO
((HUCFF/ UFRJ))

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo das alterações genéticas do receptor da Vitamina D e Doença de Crohn
Pesquisador: Tainá Nunes Rodrigues
Área Temática:
Versão: 2
CAAE: 04135512.0.0000.5257
Instituição Proponente: FACULDADE DE MEDICINA - UFRJ ((FM/UFRJ))
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 219.011
Data da Relatoria: 28/02/2013

Apresentação do Projeto:
Protocolo 133-12 do grupo III. Respostas recebidas em 19.2.13
Inicialmente, Constavam os seguintes documentos:
(1) Projeto de pesquisa com orçamento; (2) Folha de Rosto (3) TCLE (4) Curriculos dos pesquisadores (5) Declaração sobre a instituição Coparticipante.
Na versão atual (28-02-13), constam os seguintes documentos:
(1) Carta resposta as pendências (2)NOva versão do TCLE (3)Protocolo atualizado (4)Dissertação

Objetivo da Pesquisa:
Ver parecer anterior.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:
Ver parecer anterior.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:
Ver parecer anterior.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:
Ver parecer anterior.

Recomendações:
Solicita-se rever a data de início da coleta de dados. A coleta de dados somente poderá iniciar após a aprovação do protocolo pelo CEP.

Endereço: Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco Nº255 Sala 01D-46
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 21.941-913
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2562-2480 **Fax:** (21)2562-2481 **E-mail:** cep@hucff.ufrj.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
CLEMENTINO FRAGA FILHO
((HUCFF/ UFRJ))

constrangimentos.
O TCLE corrigido esta anexado junto com os outros documentos na Plataforma Brasil.

Análise: Pendência atendida.

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

Considerações Finais a critério do CEP:
1) De acordo com o item VII.13.d, da Resolução CNS n.º 196/96, o pesquisador deverá apresentar relatórios anuais (parciais ou finais, em função da duração da pesquisa). Nos trabalhos sobre fármacos,medicamentos, vacinas e testes diagnósticos novos ou não registrados no país¿, os relatórios deverão ser semestrais (Resolução CNS n.º 251/97, item V.1.c).
2) Eventuais emendas (modificações) ao protocolo devem ser apresentadas, com justificativa, ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada

RIO DE JANEIRO, 14 de Março de 2013

Assinador por:
Carlos Alberto Guimarães
(Coordenador)

Endereço: Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco Nº255 Sala 01D-46
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 21.941-913
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2562-2480 **Fax:** (21)2562-2481 **E-mail:** cep@hucff.ufrj.br

Anexo B – Termo de Consentimento Livre Esclarecido e Informado

Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ
Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
Termo de Consentimento Livre Esclarecido e Informado

Título do Estudo: ***"*ESTUDO DOS POLIMORFISMOS DO RECEPTOR DA VITAMINA D NA DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL"**

Gostaríamos de solicitar sua participação na pesquisa "Estudo dos polimorfismos do receptor de vitamina D e sua correlação às manifestações clínicas e laboratoriais das doenças inflamatórias intestinais", necessitando para este fim a sua autorização através deste Termo de Consentimento. Para que você possa decidir se quer participar ou não deste estudo, é necessário que você conheça seus benefícios, riscos e implicações.

Esclarecemos que este projeto tem como objetivo principal avaliar a influência de alterações genéticas que ocorrem nos receptores da vitamina D com a atividade da sua doença e seus sintomas, a partir da coleta de uma amostra de seu sangue. Serão pesquisados se existem a presença destas alterações genéticas e também será dosada a quantidade de Vitamina D no sangue.

Trata-se de um estudo experimental testando a hipótese de que pacientes com Doença inflamatória poderiam apresentar algum tipo dessas alterações genéticas relacionadas à vitamina D, que poderiam estar relacionados à maior frequência da doença assim como a gravidade dos sintomas.

A pesquisa da quantidade de vitamina D no sangue poderá auxiliar no entendimento do estado imunológico do indivíduo, e se estiver reduzida, poderá ser motivo de tratamento futuro.

Deverá ser estudado um grupo de indivíduos voluntários que não tenham Doença inflamatória intestinal, para que seus dados analisados sejam comparados com os dos pacientes, tornando mais clara a presença de diferenças entre os indivíduos com e sem a doença em estudo.

Será necessária a coleta de uma amostra de sangue (10mL), para pesquisa da Vitamina. Poderá surgir no local onde foi retirado o sangue, uma mancha roxa (hematoma) que desaparecerá espontaneamente, sem trazer nenhum outro risco à sua saúde e o sangue será guardado em laboratório especializado e não serão utilizados para nenhum outro fim.

No momento da coleta da amostra de sangue, também solicitaremos que os participantes utilizem um cotonete estéril e faça um pequeno movimento com ele na sua mucosa jugal (bochecha) para se verificar a existência dessas alterações genéticas dos receptores da vitamina D, e também não serão utilizados para nenhum outro fim que não seja esse estudo.

É importante informar que não haverá nenhum tipo de compensação financeira ou pagamento pela sua participação, como também não haverá para você qualquer despesa pessoal com exames e consultas.

É garantida a liberdade de querer não participar do projeto de pesquisa ou de retirar o consentimento a qualquer momento, no caso da aceitação, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

Os resultados dos exames, bem como a avaliação do seu prontuário somente serão de competência dos pesquisadores envolvidos no projeto e dos profissionais que possam vir a ter relacionamento de atendimento e/ou de cuidados com você. Não será permitido acesso a terceiros (seguidores, empregadores, superiores hierárquicos) o que garantirá proteção contra qualquer tipo de discriminação e ou estigmatização.

Você tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais da pesquisa, quando em estudos abertos ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores. O pesquisador e sua equipe se responsabilizam por garantir que os nomes dos participantes e os resultados individuais sejam totalmente sigilosos, garantindo a privacidade e a confidencialidade dos dados da pesquisa. Os resultados da pesquisa serão apresentados de forma geral em revistas científicas e palestras. Todas as consultas e exames serão acompanhados por profissionais treinados e realizados em locais adequados.

O acesso à equipe de pesquisa é livre e facilitado para que sejam esclarecidas quaisquer dúvidas, sem constrangimentos, estando o paciente livre para se recusar a participar, sem que lhe cause danos. Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso ao profissional responsável que pode ser encontrado no endereço Rua Professor Rodolpho Paulo Rocco, 255, Cidade Universitária, Campus do Fundão. Cep: 21-941-913, HUCFF – Serviço de Gastroenterologia, telefone: (21)981988228.

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos, visando garantir o bem estar dos pesquisados.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o CEP– sala 1 D-46 1°andar, telefone: 3938-2480 – e-mail: ccp@.hucff.ufrj.br. Horário de funcionamento: De segunda a sexta-feira, das 8h às 16h.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações sobre o estudo acima citado que li ou que foram lidas para mim.

Eu discuti com o Dr(a). _____ , sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízos e sem a perda de atendimento nesta Instituição ou de qualquer benefício que eu possa ter adquirido. Eu receberei uma via desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e a outra ficará com o pesquisador responsável por essa pesquisa. Além disso, estou ciente de que eu (ou meu representante legal) e o pesquisador responsável deveremos rubricar todas as folhas desse TCLE e assinar na última folha.

Rio de Janeiro, ___ de _____ de 201__.

_____	_____
Nome do Paciente	Nome do Representante Legal
_____	_____
Assinatura do Paciente	Assinatura do Representante Legal

Declaro estar ciente das informações deste Termo de Consentimento e concordo em incluir o paciente sob minha responsabilidade como participante nesta pesquisa.

_____	_____
Nome do Pesquisador	Assinatura do Pesquisador

Anexo C – Fichas de coleta de dados

GRUPO: PACIENTES COM DC/ RCU

Entrevistador(a): _____Data: ___/___/200__

Nome:_____ Pront:_____

Idade: _____ Sexo: ____

Endereço:_____

Bairro: _____ Cidade: _____ Estado:_____

Telefones: res._____ cel:_____

Cor da pele:_____

Exposição solar superior a 20 minutos/dia? ( ) não ( ) sim

Utiliza protetor solar? ( ) não ( ) sim

Localização da doença: _____ Fenótipo da doença:_____

Idade ao diagnóstico: _____ Tempo de doença_____

Doença: [ ] remissão [ ] atividade, _____

Manifestações gastrointestinais:

diarréia [ ] não [ ] sim, tempo:_____ vômito [ ] não [ ] sim, tempo:_____ fístula(s) [ ] não [ ] sim, tipo:_____

Comorbidades: _____

Medicamentos em uso: _____

Medicamentos no momento do diagnóstico: _____

Já realizou cirurgia prévia? [ ] não [ ] sim, data:_____ tipo:_____

Tabagismo: Sim [ ] Não [ ]

n° de cigarros / dia:_____há_____

Ex-fumante ( )parou há _____

N° de cigarros / dia:_____há_____

GRUPO: CONTROLE

Entrevistador(a): _____ Data: ___/___/200__

Questionário 1: Dados pessoais

Nome_____ Pront:_____

Idade: _____ Sexo: ____

Endereço:_____

Bairro:_____Cidade:_____Estado:_____

Telefones: res._____ cel:_____

Cor da pele:_____

Exposição solar superior a 20 minutos/dia? ( ) não ( ) sim

Utiliza protetor solar? ( ) não ( ) sim

Comorbidades: _____

Medicamentos em uso: _____

Já realizou cirurgia prévia? ( ) não ( ) sim, data: tipo:

Tabagismo:

Sim ( ) Não ( ) N° de cigarros / dia:_____há_____

Ex-fumante ( ) parou há _____

N° de cigarros / dia:_____há_____

Anexo D – Classificação de Montreal (SILVERBERG et al., 2005)

Doença de Crohn

Idade ao diagnóstico (A)	A1	≤ 16 anos	
	A2	17 – 40 anos	
	A3	> 40 anos	
Localização (L)	L1	Íleo terminal	L1+L4*
	L2	Cólon	L2+L4*
	L3	Íleocolônico	L3+L4*
Comportamento	B1	Não estenosante e não penetrante	B1p#
	B2	Estenosante	B2p#
	B3	Penetrante	B3p#

*Modificador trato gastrointestinal superior (L4) permite a classificação da localização de L4 associada à L1 a L3.

Modificador doença perianal (p) podendo estar associado às categorias comportamento da doença B1 a B3.

Retocolite ulcerativa

Extensão	*Anatomia*
E1 – Proctite ou RCUI distal	Acometimento limitado ao reto (extensão da inflamação até a porção distal da junção retossigmóide)
E2 – RCUI do lado esquerdo	O acometimento da inflamação se estende até a flexura esplênica
E3 – RCUI extensa ou pancolite	O acometimento se estende além da flexura esplênica

Anexo E – Índices de atividade de doença

Doença de Crohn – Harvey e Bradshaw		
Nome do paciente	Data de nascimento	Prontuário
		Pontuação
1. Bem estar geral dos pacientes (no dia anterior) 0 = muito bem, 1 = ligeiramente baixo, 2 = ruim, 3 = muito ruim, 4 = terrível		_____
2. Dor abdominal (no dia anterior) 0 = nenhuma, 1 = leve, 2 =moderada, 3 = grave		
3. Número de evacuações líquidas por dia		_____
4. Massa Abdominal 0 = nenhum, 1 = incerto, 2 = limitado, 3 = limitado ou sensível		_____
5. Complicações: artralgia, uveíte, eritema nodoso, pioderma gangrenoso, úlceras aftosas, fistula anal, nova fistula, abscesso (1 ponto por item)		_____
	Total:	

Pontuação do Índice Harvey Bradshaw	
Remissão	< 3
Moderada atividade	4 – 6
Grave atividade	> 7

Retocolite ulcerativa – Truelove e Witts		
Leve	**Moderada**	**Acentuada**
< 4 episódios de diarreia sem sangue	Intermediária entre as formas acentuadas e leve	> 6 episódios de diarreia com sangue
Sem febre		Temperatura > 37ºC
Sem taquicardia		Frequência cardíaca > 90bpm
Anemia leve (com hemoglobina > 7,5d/L)		Anemia (com hemoglobina < 7,5g/dL)
VHS < 30mm/1ª hora		VHS > 30mm/1ª hora