

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina

**PESQUISA DE ANTICORPOS ANTIGLIADINA (CLASSES
IGA E IGG) E ANTICORPOS ANTIENDOMÍCIO CLASSE IGA,
EM PACIENTES COM DOENÇAS REUMATOLÓGICAS
AUTO-IMUNES DO AMBULATÓRIO DE REUMATOLOGIA
DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS - UFMG**

VICTOR DE BARROS KOEHNE

Belo Horizonte
2007

VICTOR DE BARROS KOEHNE

PESQUISA DE ANTICORPOS ANTIGLIADINA (CLASSES IGA E IGG) E ANTICORPOS ANTIENDOMÍSIO CLASSE IGA, EM PACIENTES COM DOENÇAS REUMATOLÓGICAS AUTO-IMUNES DO AMBULATÓRIO DE REUMATOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS - UFMG

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Medicina.

Área de concentração Gastroenterologia,

Orientador: Prof. Dr. Aloísio Sales da Cunha

Co-orientadora: Profa. Dra. Magda Bahia

Belo Horizonte

Universidade Federal de Minas Gerais

2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Prof. Dr. Ronaldo Tadêu Pena

Vice-Reitora: Profa. Dra. Heloisa Maria Murgel Starling

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Dr. Jaime Arturo Ramirez

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Dr. Carlos Alberto Pereira Tavares

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Prof. Dr. Francisco José Penna

Vice-Diretor: Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Coordenador Centro de Pós-Graduação: Prof. Dr. Carlos Faria Santos Amaral

Subcoordenador Centro de Pós-Graduação: Prof. Dr. João Lúcio dos Santos Jr.

Chefe do Departamento de Clínica Médica: Prof. Dr. Dirceu Bartolomeu Greco

COLEGIADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GASTROENTEROLOGIA

Coordenador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Vaz Coelho

Profa. Dra. Cláudia Alves Couto

Profa. Dra. Luciana Dias Moretzsohn

Profa. Dra. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Luiz Fernando Veloso (Representante Discente)

Trabalho realizado com o suporte financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), através do Programa PROF.

Aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Aloísio Sales da Cunha, Professor Titular do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), pela competência, gentileza e paciência com que me conduziu ao longo deste trabalho, assim como pelo seu exemplo de conhecimento e dedicação à Ciência.

À Dra. Magda Bahia, Professora Adjunta do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da UFMG, por compartilhar seus conhecimentos e orientar-me, com inteligência e dinamismo, na organização e realização da pesquisa, que lhe exigiu não apenas precioso tempo, mas até mesmo certa medida de sacrifício físico.

Às eficientes médicas do Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG, Profa. Dra. Cristina Costa Duarte Lanna e Dras. Gilda Aparecida Ferreira, Maria Raquel da Costa Pinto e Rejane Pinheiro Damasceno, por sua inestimável participação no trabalho, obtendo a adesão de seus pacientes, preenchendo os protocolos de pesquisa e termos de consentimento, ao mesmo tempo em que se desdobravam no atendimento ambulatorial e na orientação aos futuros médicos especialistas.

Ao Dr. Marco Antônio Parreiras de Carvalho, Professor Adjunto do Departamento do Aparelho Locomotor da Faculdade de Medicina da UFMG, Coordenador do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas, por sua participação na organização da pesquisa e por sua generosidade em ter-me aberto as portas de seu Ambulatório.

Ao Dr. Roberto Santoro Meirelles, colega e amigo gastroenterologista do Instituto Hermes Pardini, por sua gentileza em me possibilitar a realização, nesse laboratório, dos exames de anticorpos antitransglutaminase tecidual e dosagem de IgA sérica.

Ao Dr. Eduardo Alves Bambirra, Professor Titular do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFMG, pela valiosa e competente análise histológica do material de biópsia dos pacientes.

À Sra Maria Helena dos Reis Pimenta, funcionária do Serviço de Arquivo Médico do Hospital das Clínicas da UFMG, pelo obséquio em me franquear o acesso aos prontuários dos pacientes, mesmo durante período de restrição de atividades em seu setor.

Aos alunos de Iniciação Científica, Marcelo Fonseca Marinho, Paulo Carvalho Pimenta Figueiredo e Renato Olegário Leite Pereira, por sua imprescindível participação na execução dos exames sorológicos.

Aos funcionários do Ambulatório de Reumatologia, Neusa Beata de Almeida Nunes e Renato Vieira e Silva, por sua cortesia na localização dos registros dos pacientes e seus prontuários.

A minha esposa, Kátia, e minha filha, Carolina, pela compreensão durante todo o tempo em que não pude lhes dar atenção e pelo seu amor constante.

À Professora Magda Barbosa Roquette Taranto, por sua brilhante e carinhosa correção gramatical desse trabalho.

Aos pacientes do Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG, sem os quais este trabalho não teria sido possível.

RESUMO

Realizou-se estudo clínico, transversal, com o objetivo de investigar a prevalência de exames sorológicos positivos para doença celíaca, especificamente anticorpos anti gliadina (AGA) das classes imunoglobulina A (IgA) e imunoglobulina G (IgG) e anticorpos antiendomísio classe IgA (EmA), em pacientes com doenças reumatológicas auto-imunes acompanhados no Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, em Belo Horizonte. Procurou-se também avaliar a correlação entre a positividade dos testes sorológicos com o uso de prednisona e de medicamentos imunossupressores. Os pacientes com exames sorológicos suspeitos para doença celíaca foram submetidos a biópsia duodenal endoscópica e o material obtido examinado por patologista experiente. De novembro de 2005 a março de 2007, avaliaram-se 190 pacientes adultos e pediátricos, com diagnósticos reumatológicos já estabelecidos previamente, divididos nos seguintes grupos: lúpus eritematoso sistêmico (LES) (n= 69), artrite reumatóide (AR) (n= 48), artrite reumatóide juvenil (ARJ) (n= 32) e espondiloartropatias (n= 41). Em todos foi realizada pesquisa de AGA IgA e AGA IgG por ensaio imunoenzimático *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) e pesquisa de EmA por imunofluorescência indireta, utilizando-se como substrato cordão umbilical humano. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os quatro grupos de pacientes em relação às leituras de densidade óptica dos AGA IgA e dos AGA IgG. Houve quatro soros positivos (2,1%) para AGA IgA, todos com resultados negativos para AGA IgG e EmA, sendo dois deles de pacientes com AR, um com LES e um com ARJ. Três soros (1,6%) tiveram resultado positivo para AGA IgG, todos com resultado negativo para AGA IgA e EmA, sendo um de paciente com LES, um com AR e um com espondiloartropatia relacionada à doença de Crohn. Todos os sete pacientes com anticorpos anti gliadina positivos foram submetidos à biópsia duodenal endoscópica. Na pesquisa de EmA, a diluição do soro em 1:2,5 mostrou resultados positivos em 94 pacientes (49,5%); e na diluição de 1:5, em 41 (21,6%). Em 11 indivíduos obteve-se resultado positivo para EmA na diluição 1:40, correspondendo a três pacientes com LES, quatro com AR e quatro com espondiloartropatias, sendo realizadas biópsias endoscópicas duodenais em nove deles. O material de biópsia foi considerado satisfatório para análise histológica em todos os 16 pacientes estudados, não se constatando alterações significativas da mucosa duodenal em nenhum deles. Todos os soros positivos para EmA apresentaram resultado negativo para a pesquisa de anticorpos antitransglutaminase tecidual classe IgA (tTG). A positividade para EmA associou-se a leituras de densidade óptica mais altas para AGA IgA, mas não se observou relação entre positividade de EmA e as leituras de densidade óptica de AGA IgG. O uso de prednisona e de imunossupressores não se relacionou às leituras de densidade óptica dos AGA IgA, tampouco dos AGA IgG. O uso dessas medicações se relacionou, contudo, à menor positividade para EmA. Em conclusão, os resultados positivos para AGA IgA, AGA IgG ou EmA não implicaram na presença de doença celíaca na população estudada. Mais estudos são necessários para se avaliar com maior acurácia a prevalência dessa doença em pacientes reumatológicos.

Palavras-chave: Doença celíaca. Doenças reumatológicas. Anticorpos anti gliadina. Anticorpos antiendomísio.

ABSTRACT

A clinical study was carried out for investigating the prevalence of positive serologic tests for coeliac disease, particularly IgA and IgG classes antigliadine antibodies (AGA) and IgA class antiendomysium antibodies (EmA), in autoimmune rheumatologic disease patients followed in the Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, in Belo Horizonte. It has also been tried to evaluate the correlation between the positive serologic tests with the use of prednisone and immunosuppressor medication. Patients presenting serologic tests suspected for coeliac disease underwent duodenal endoscopic biopsy and the collected material was examined by an expert pathologist. From November 2005 to March 2007, 190 adult and pediatric patients with previous rheumatologic diagnosis were evaluated, divided into groups as follows: systemic lupus erythematosus (LES) (n=69), rheumatoid arthritis (AR) (n=48), juvenile rheumatoid arthritis (ARJ) (n=32) and spondyloarthropathies (n=41). IgA AGA and IgG AGA research was carried out on all of them by immunoenzymatic assay (ELISA) and EmA research by indirect immunofluorescence, using human umbilical cord substrate. There was no statistically significant difference among the four patients' groups related to the IgA AGA and IgG AGA optical density readings. There was four positive sera (2.1%) for IgA AGA, all with negative results for IgG AGA and EmA, two of these from AR patients, one LES, one from ARJ. Three sera (1.6%) had positive results for IgG AGA, all with negative results for IgA AGA and EmA, one from LES patient, one from AR patient and one with spondyloarthropathy related to Crohn's disease. All seven patients presenting positive antigliadine antibodies tests underwent duodenal endoscopic biopsies. In the EmA research, the serum dilution in 1:2.5 showed positive results for 94 patients (49.5%), and in the 1:5 dilution for 41 (21.6%). Eleven individuals had positive results for EmA in the 1:40 dilution, corresponding to three LES patients, four AR patients and four patients with spondyloarthropathies, and nine of these underwent duodenal endoscopic biopsy. All the biopsy material from the 16 patients studied was considered satisfactory for the histological analysis, and no significant changes were proved in the duodenal mucosa. All the positive sera for EmA had negative results for the IgA (tTG) tissue antitransglutaminase antibodies. The positive EmA was associated to higher optical density readings for IgA AGA, but there was no relation between positive EmA and IgG AGA optical density readings. The use of prednisone and immunosuppressors wasn't related to the IgA AGA optical density readings, neither to the IgG AGA readings. The use of these medication, however, was related to less positive EmA. In conclusion, positive results for AGA IgA, AGA IgG or EmA did not imply in the presence of coeliac disease in the studied population. More studies are required in order to estimate more accurately the prevalence of this disease in rheumatologic patients.

Keywords: Coeliac Disease. Rheumatologic diseases. Antigliadine antibodies. Antiendomysium antibodies.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGA	Anticorpos antigliadina
AGA IgA	Anticorpos antigliadina da classe IgA
AGA IgG	Anticorpos antigliadina da classe IgG
AINE	Antiinflamatórios não esteróides
APC	Célula apresentadora de antígeno
AR	Artrite reumatóide
ARJ	Artrite reumatóide juvenil
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CCP	Peptídeo citrulinado cíclico
DC	Doença celíaca
DFC	Difosfato de cloroquina
DNA	<i>Desoxiribonucleic acid</i>
ELISA	<i>Enzyme linked immunossorbent assay</i>
EmA	Anticorpos antiendomísio da classe IgA
EmA IgG	Anticorpos antiendomísio da classe IgG
ESPGAN	<i>European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition</i>
HIV	<i>Human immunodeficiency virus</i>
HLA	<i>Human leucocyte antigen</i>
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
LES	Lúpus eritematoso sistêmico
NASPGHAN	<i>North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition</i>
NIH	<i>National Institutes of Health</i>
PBS	Tampão fosfato salino
PDN	Prednisona
Rho	Coeficiente de correlação de Spearman
SDS	Sulfato sódico
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
tTG	Anticorpos antitransglutaminase tecidual classe IgA
tTG IgG	Anticorpos antitransglutaminase tecidual da classe IgG
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figuras

Figura 1 - Doença celíaca. Segunda porção duodenal.....	45
Figura 2 - Doença celíaca. Bulbo duodenal de aspecto noduloso.....	45
Figura 3 – Doença celíaca. Aspecto histológico da mucosa da segunda porção duodenal.....	47
Figura 4 - Doença celíaca. Aumento de linfócitos intra-epiteliais.....	47
Figura 5a - Pesquisa de EmA. Controle positivo.....	59
Figura 5b - Pesquisa de EmA. Controle positivo	59
Figura 6 - Paciente positivo para EmA. Segunda porção duodenal de aspecto normal.....	68
Figura 7a - Paciente positivo para EmA. Aspecto histológico da segunda porção duodenal sem alterações.....	69
Figura 7b - Paciente positivo para EmA. Aspecto histológico da segunda porção duodenal sem alterações.....	69

Quadro

Quadro 1 - Classificação histológica da doença celíaca.....	40
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação das leituras de densidade óptica dos anticorpos anti- <i>gliadina</i> das classes IgA e IgG em 190 pacientes reumatológicos.....	57
Tabela 2 - Comparação da positividade dos anticorpos anti- <i>endomísio</i> nas diversas diluições de soro, em 190 pacientes reumatológicos.....	61
Tabela 3 - Correlação entre a leitura de densidade óptica dos anticorpos anti- <i>gliadina</i> classe IgA e IgG e a positividade dos anticorpos anti- <i>endomísio</i> usando diluição do soro 1:2,5 e 1:40, em 190 pacientes reumatológicos.....	62
Tabela 4 - Resultados das determinações de anticorpos anti- <i>transglutaminase</i> tecidual em 11 pacientes positivos para anticorpos anti- <i>endomísio</i> na diluição 1:40.....	63
Tabela 5 - Correlação das leituras de densidade óptica dos anticorpos anti- <i>gliadina</i> das classes IgA e IgG com o uso de medicamentos, em 190 pacientes reumatológicos.....	64
Tabela 6 - Correlação das leituras de densidade óptica dos anticorpos anti- <i>gliadina</i> das classes IgA e IgG com o uso de medicamentos, considerando-se a dose de prednisona diária, em 190 pacientes reumatológicos.....	65
Tabela 7 - Correlação da positividade para anticorpos anti- <i>endomísio</i> IgA, na diluição do soro 1:2,5, com o uso de medicamentos, em 190 pacientes reumatológicos.....	66
Tabela 8 - Correlação da positividade para anticorpos anti- <i>endomísio</i> IgA, na diluição do soro 1:40, com o uso de medicamentos, em 190 pacientes reumatológicos.....	67

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 Aspectos gerais da doença celíaca.....	18
2.2 Doença celíaca e doenças auto-imunes.....	20
2.3 Doença celíaca e doenças reumatológicas auto-imunes.....	23
2.4 Testes sorológicos na doença celíaca.....	28
2.4.1 Anticorpos antigliadina.....	28
2.4.2 Anticorpos antiendomísio.....	30
2.4.3 Anticorpos antitransglutaminase tecidual.....	33
2.4.4 Testes sorológicos para doença celíaca e deficiência de IgA.....	36
2.4.5 Considerações finais sobre o uso de testes sorológicos na doença celíaca.....	37
2.5 Diagnóstico endoscópico e histológico da doença celíaca.....	39
3 OBJETIVOS.....	48
3.1 Objetivo geral.....	48
3.2 Objetivos específicos.....	48
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	49
4.1 Pacientes.....	49
4.2 Procedimentos.....	49
4.2.1 Marcadores sorológicos.....	50
4.2.1.1 Determinação dos anticorpos antigliadina classes IgA e IgG.....	50
4.2.1.2 Determinação dos anticorpos antiendomísio classe IgA.....	51
4.2.1.3 Determinação dos anticorpos antitransglutaminase tecidual classe IgA.....	52
4.2.2 Endoscopia digestiva e biópsia duodenal.....	53
4.3 Análise estatística.....	54
4.4 Aspectos éticos.....	55

5 RESULTADOS.....	56
5.1 Pacientes.....	56
5.2 Anticorpos antigliadina IgA e IgG.....	57
5.3 Anticorpos antiendomísio IgA.....	58
5.4 Anticorpos antigliadina IgA e IgG e anticorpos antiendomísio IgA.....	62
5.5 Anticorpos antitransglutaminase tecidual IgA.....	63
5.6 Anticorpos antigliadina IgA e IgG e uso de medicamentos.....	64
5.7 Anticorpos antiendomísio IgA e uso de medicamentos.....	65
5.8 Positividade de anticorpos antiendomísio e antigliadina e análise histológica duodenal.....	67
6 DISCUSSÃO.....	71
7 CONCLUSÕES.....	76
REFERÊNCIAS.....	77
ANEXO E APÊNDICES.....	92

1 INTRODUÇÃO

A doença celíaca (DC) faz parte do grupo de afecções relacionadas à sensibilidade ao glúten, fração protéica contida na farinha de cereais, como trigo, centeio e cevada, constituindo enteropatia de base imunológica que acomete apenas indivíduos com predisposição genética.

A primeira menção à enfermidade com sintomas semelhantes aos da DC parece vir de Areteus da Capadócia, no primeiro século da Era Cristã. Em 1888, Samuel Ghee descreveu seu quadro clínico com detalhes (SCHUPPAN, 2000), porém não pôde estabelecer o papel do glúten em sua gênese, o que só foi feito por Dicke, em 1950, quando demonstrou que a remoção do trigo da dieta fazia desaparecer os sintomas da doença.

Anteriormente considerada rara, na atualidade a DC tem sido diagnosticada com crescente frequência no mundo, sendo citada prevalência de 0,33% a 1,5% na Europa (DUBÉ *et al.*, 2005; JOHNSTON *et al.*, 1997; MÄKI *et al.*, 2003; RODRIGO, 2006) e de 0,7% a 1,3% nos Estados Unidos (FASANO *et al.*, 2003; REWERS, 2005; ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006).

Cataldo e Montalto (2007), em artigo de revisão recente, mostraram que a doença tornou-se problema de saúde pública também nos países em desenvolvimento, sendo frequente entre sul-americanos (MANDAL; MAYBERRY, 2000), indianos (SOOD *et al.*, 2006) e árabes (HILL *et al.*, 2002; ROSTAMI *et al.*, 2004), ainda que seja rara na China, Japão e entre negros africanos. Em todos os estudos confirmou-se a presença significativa dos antígenos de histocompatibilidade *human leucocyte antigen* (HLA) classe II dos tipos DQ2 e DQ8 nas populações susceptíveis, fator genético reconhecido como necessário, porém não suficiente, para manifestação da DC.

No Brasil, país de notável miscigenação, Gandolfi *et al.* (2000) estudaram 2.045 doadores de sangue em Brasília, utilizando, como testes sorológicos, anticorpos antiendomíseo da classe IgA (EmA) e anticorpos antigliadina da classe IgA (AGA IgA), após triagem inicial com anticorpos antigliadina da classe imunoglobulina G (AGA IgG), encontrando prevalência de 1/681. Nisihara *et al.* (2002), em Curitiba, constataram prevalência de 1/1.000, usando como teste de triagem a pesquisa de anticorpos antitransglutaminase

tecidual classe IgA (tTG) e EmA. Pratesi *et al.* (2003), empregando tTG como teste de triagem, verificaram prevalência de DC de 0,34% na população de Brasília, sendo maior em adultos que em crianças. Melo *et al.* (2006), em 3.000 doadores de sangue de Ribeirão Preto, São Paulo, registraram 11 casos de DC, com prevalência de 1/273, tendo realizado biópsia jejunal nos casos positivos, simultaneamente, para tTG e EmA.

O maior número de casos de DC hoje em dia decorre não só da ampla disponibilidade de testes sorológicos de triagem, com boa sensibilidade e especificidade, como também do maior reconhecimento das formas atípicas e não diarréicas, atualmente consideradas as mais comuns (GREEN *et al.*, 2001). Estima-se que mais de 50% dos novos casos detectados nos países desenvolvidos são descobertos como resultado do rastreamento em grupos de alto risco, com a época mais comum do diagnóstico passando dos primeiros anos de vida para a idade adulta (FASANO, 2005; TREEM, 2004).

O motivo da associação entre DC e outras doenças auto-imunes é assunto controverso. Atualmente, duas teorias tentam explicar essa relação. A primeira postula que há desequilíbrio de ligação entre os genes pertencentes ao sistema de histocompatibilidade ou não, que seria comum à DC e a essas doenças e que predisporia o indivíduo à sua manifestação. É de interesse notar a associação reconhecida entre várias delas, inclusive a DC, e o HLA DR17, anteriormente denominado DR3 (ALY *et al.*, 2006; CARUSO *et al.*, 2000; KOMATIREDDY *et al.*, 1995; SCHWARTZ, 1992; THORSBY, 1997).

Outra teoria sugere que a cascata de eventos imunológicos que se desenvolve na DC predispõe ao aparecimento de outras doenças auto-imunes, em indivíduos geneticamente predispostos. Em favor desta última está a evidência de que a transglutaminase tecidual é apenas um dos auto-antígenos envolvidos nas reações auto-imunes induzidas pelo glúten. Outros auto-antígenos, normalmente resguardados da interação com o sistema imunitário, podem ser colocados em exposição direta a ele e levar a uma resposta auto-imune após o início do processo inflamatório induzido pela gliadina. Assim, a produção persistente de algumas citocinas inflamatórias, como os interferons e o fator de necrose tumoral, podem determinar o processamento de auto-antígenos e sua apresentação aos linfócitos T pelas células apresentadoras de antígenos, desencadeando reações auto-imunitárias contra eles. Esse fenômeno foi bem

descrito no diabetes tipo I, no qual as manifestações clínicas aparecem depois de o paciente ter produzido resposta auto-imune a vários auto-antígenos (anticorpos antiinsulina, anticélulas de ilhotas, etc.) e podem estar presentes também na DC, o que explicaria o aumento da incidência de doenças auto-imunes e de auto-anticorpos em vários pacientes com essa doença (CATALDO; MARINO, 2003; FASANO, 2005).

Entre as doenças auto-imunes, aquelas com manifestações reumatológicas constituem, certamente, um grupo em que a DC foi pouco estudada. Além disso, nota-se, em nosso país, a falta de padronização das técnicas para a realização de exames sorológicos nos laboratórios e a indefinição da acurácia dos mesmos como testes de triagem dos pacientes a serem submetidos à biópsia intestinal. Vale lembrar, ainda, que na prática laboratorial diária são normalmente utilizados *kits* importados, com bulas que recomendam a utilização de pontos de corte obtidos em estudos realizados em populações diferentes da brasileira, tanto no aspecto genético quanto na prevalência de afecções que podem influenciar nos resultados.

O intuito deste estudo foi contribuir para melhor avaliação do comportamento dos testes sorológicos para DC, especificamente dos anticorpos antigliadina e antiendomísio, em pacientes com doenças reumatológicas auto-imunes, tanto adultos quanto pediátricos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da doença celíaca

A DC leva a alterações inflamatórias crônicas do intestino delgado, principalmente de sua porção proximal, podendo ocasionar quadros clínicos associados à má-absorção, diarreia, desnutrição e déficit de desenvolvimento ou mesmo mostrar-se sem sinais e sintomas relevantes, o que pode ocorrer em cerca de um terço dos casos (CICLITIRA, 2001; VILELA; FERRARI, 2004). Nos estudos mais recentes, a diarreia está presente em apenas 45% dos pacientes no momento do diagnóstico (TREEM, 2004; ZIPSER *et al.*, 2003).

Atualmente, a Associação Americana de Gastroenterologia (ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006) divide as formas de apresentação da DC em:

- forma clássica: pacientes com sintomas típicos de má-absorção, apresentando desnutrição, diarreia e distensão abdominal, associados à atrofia das vilosidades intestinais;
- forma atípica: constitui a maioria dos casos, havendo pouca ou nenhuma manifestação de sinais e sintomas gastrointestinais, mesmo com atrofia vilositária. Nessa forma, a doença é evidenciada por alterações, como: baixa estatura, anemia, infertilidade, osteoporose ou distúrbios neurológicos;
- forma latente: é constituída por pacientes em que a mucosa intestinal é normal ou apresenta apenas aumento do número de linfócitos intra-epiteliais, mas que já apresentou atrofia das vilosidades anteriormente, havendo retorno da mesma ao normal com dieta isenta de glúten. Também engloba os casos sem alterações arquiteturais da mucosa no momento da avaliação, mas que, futuramente, desenvolverão atrofia vilositária responsiva à dieta sem glúten;
- forma assintomática ou silenciosa: ocorre principalmente em familiares de pacientes com DC, caracterizando-se por testes sorológicos positivos associados a alterações vilositárias, não se associando a manifestações clínicas, havendo normalização histológica após introdução de dieta sem glúten;

- forma refratária: composta de pacientes com diagnóstico inquestionável de DC, que não apresentam resposta significativa à dieta sem glúten desde o início ou que mostram deterioração do quadro clínico e histológico, mesmo não transgredindo a dieta, após período de boa resposta inicial.

Alguns estudos mostram que a taxa de mortalidade entre os indivíduos com DC não tratados pode alcançar o dobro da taxa da população geral, o que se deve principalmente ao aumento de oito vezes da incidência de neoplasias malignas, principalmente de linfomas do intestino delgado, que são 20 a 30 vezes mais freqüentes nesses indivíduos (CATASSI; BEARZI; GEOFFREY, 2005; ROSSI, 2004; SILANO *et al.*, 2007). Trabalhos mais recentes têm mostrado, contudo, que o risco de neoplasias associadas à DC foi superestimado nos estudos iniciais (ASKLING *et al.*, 2002; HEEL; WEST, 2006; RODRIGO, 2006).

Apesar disso, acredita-se que a dieta sem glúten é indispensável para o tratamento dessa afecção, mesmo nos casos paucissintomáticos, já que propicia diminuição do risco de neoplasias, correção de anemias carenciais e de quadros de infertilidade, melhoria do estado nutricional e da qualidade de vida (GREEN; JABRI, 2003). Sabe-se, ainda, que a dieta pode corrigir totalmente a densidade óssea diminuída das crianças com DC, além de melhorar ou impedir a progressão da osteoporose, que ocorre em cerca de 50% dos adultos acometidos (RAMOS-REMUS; BAHLAS; VACA-MORALES, 1997; TREEM, 2004).

Os dados atuais da literatura não permitem preconizar rastreamento sorológico para DC em toda a população brasileira. Entretanto, deve-se lembrar sempre da possibilidade de sua existência, especialmente quando se lida com pacientes apresentando certas características, as quais determinam prevalência aumentada para essa enteropatia, quais sejam:

- parentes de primeiro grau de pacientes com DC (BOOK; ZONE; NEUHAUSEN, 2003; KOTZE *et al.*, 2001);
- doenças auto-imunes, notadamente distúrbios da tireóide (tireoidite de Hashimoto, doença de Basedow-Graves), doença de Addison e diabetes *mellitus* tipo I (GREEN, 2005; KUMAR; RAJAHYASHA; WORTSMAN, 2001; TALAL *et al.*, 1997; TANURE, 2002; VOLTA *et al.*, 2002);

- síndrome de Down (CARLSSON *et al.*, 1998; NISHIHARA *et al.*, 2001);
- anemia de etiologia indeterminada (KOTZE, 2004a; RANSFORD *et al.*, 2002);
- diarreia crônica de etiologia indeterminada ou pacientes com critérios de Roma para o diagnóstico de síndrome do intestino irritável (MEIN; LADABAUM, 2004; O'LEARY *et al.*, 2002; SANDERS *et al.*, 2001; SANDERS, 2003);
- deficiência de IgA sérica (CATALDO *et al.*, 1998; RICHTER, 2004);
- alterações neurológicas inexplicadas, como ataxia, epilepsia, calcificações cerebrais e enxaqueca (BUSHARA, 2005);
- hipertransaminasemia isolada (FARRE *et al.*, 2002);
- nefropatia por IgA (COLLIN *et al.*, 2002);
- outros casos: osteoporose inexplicada de surgimento precoce (MATHER *et al.*, 2001), aftas recorrentes, abortos de repetição (ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006).

2.2 Doença celíaca e doenças auto-imunes

A relação entre DC e os antígenos de histocompatibilidade de classe II, DQ2 e DQ8, codificados no braço curto do cromossomo 6, já está bem estabelecida. Em aproximadamente 95% dos casos de DC estão presentes os alelos DQA1*05 e DQB1*02, os quais estão localizados no mesmo cromossomo, isto é, em posição *cis*, no haplótipo HLA DR17. Os mesmos alelos estão localizados em cromossomos diferentes, ou seja, em *trans*, nos indivíduos HLA DR11/DR7 ou HLA DR12/DR7 (anteriormente HLA DR5/DR7). Em ambos os casos o genótipo codifica a molécula HLA DQ2. Em torno de 5% dos pacientes com DC apresentam o haplótipo HLA DR4, nos quais estão presentes os alelos DQA1*03 e DQB1*0302, codificando a molécula HLA DQ8, havendo poucos casos sem os dois antígenos (GREEN; JABRI, 2003; KAGNOFF, 2007; SOLLID; THORSBY, 1993; UTYIAMA; REASON; KOTZE, 2004a).

Estudos estimam que cerca de 10% dos parentes de primeiro grau de pacientes com DC também apresentam a doença. Quando atinge pacientes

gêmeos idênticos, a DC afeta apenas um dos irmãos em 25% das vezes, acometendo ambos em 75% das ocasiões (BOOK; ZONE; NEUHAUSEN, 2003; GREEN; JABRI, 2003; RODRIGO, 2006). Esses estudos mostram que, apesar de ser condição necessária, a presença dos HLA DQ2 e DQ8 não é suficiente para o surgimento da DC. Outros fatores genéticos ainda não completamente elucidados têm importância fundamental na sua fisiopatologia, havendo várias regiões do genoma com probabilidade de aumentar a susceptibilidade à doença, sendo mais citadas algumas regiões dos cromossomos 5 e 11 (BELZEN *et al.*, 2003; BOLOGNESI *et al.*, 2003; GREEN; JABRI, 2003; KAGNOFF, 2007; UTYIAMA; REASON; KOTZE, 2004).

Como na maioria das doenças de base genética, influências ambientais também têm muita importância para a gênese da DC. Alguns autores levantam a hipótese de que a idade precoce na introdução de cereais na dieta (NORRIS *et al.*, 2005), a ocorrência de infecções intestinais bacterianas e virais (LARS *et al.*, 2006; STENE *et al.*, 2006) e a realização de operações sobre o sistema digestório, aumentando a permeabilidade da mucosa (KAGNOFF, 2007; ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006), são fatores que podem predispor os indivíduos geneticamente susceptíveis à deflagração do processo auto-imune.

A teoria atual sobre a etiopatogênese da DC revela a interação dos fatores genéticos com os ambientais. As evidências mostram que o glúten, sendo mal digerido pelas enzimas do intestino delgado, é quebrado em peptídeos de 10 a 50 aminoácidos de comprimento, ricos em glutamina, que atravessam o epitélio. Na lâmina própria, a enzima transglutaminase tecidual atua sobre os mesmos, transformando seus resíduos glutamina em ácido glutâmico, carregado negativamente, através de desaminação. Dessa forma carregados, os peptídeos aumentam sua afinidade de ligação com as moléculas DQ2 e DQ8 das células apresentadoras de antígenos (APC) da mucosa. Os linfócitos T CD4, reconhecendo o conjunto formado pelos peptídeos do glúten associados às moléculas HLA das APC, entram então em atividade, produzindo citocinas como o interferon gama, o que inicia a cascata de reações imunológicas que leva, por fim, às alterações histológicas e humorais observadas na doença (GREEN; JABRI, 2003; KAGNOFF, 2007).

Durante a cascata de eventos imunológicos da DC, são produzidos anticorpos contra a gliadina, a enzima transglutaminase tecidual, assim como

contra vários auto-antígenos, podendo muitos deles estar relacionados a diversas doenças auto-imunes (CATALDO; MARINO, 2003; FASANO; CATASSI, 2001; FASANO, 2005).

O fenômeno de formação de auto-anticorpos pode preceder a manifestação da DC por anos, sendo reconhecido também em várias outras doenças auto-imunes, como no diabetes *mellitus* tipo I, no lúpus eritematoso sistêmico (LES) e na artrite reumatóide (AR). Nesta última, a geração de anticorpos antipeptídeo citrulinado cíclico (antiCCP) e anticorpos antifator reumatóide, antes do aparecimento de sua manifestação clínica, revela a existência de uma fase inicial assintomática da doença. No caso do LES, é citada a existência de anticorpos antinucleares precedendo o quadro clínico por muitos anos (DORNER; HANSEN, 2004).

Alguns autores reconhecem semelhanças entre a AR e a DC também no desencadeamento da resposta auto-imune. Assim, na AR, a modificação enzimática de proteínas, no caso sua citrulinação, pode formar epítomos que se ligam fortemente a moléculas HLA classe II, resultando no surgimento de reações inflamatórias na sinóvia (DORNER; HANSEN, 2004; MEYER, 2004).

Em importante estudo envolvendo 909 pacientes com DC, Ventura, Magazzú e Greco (1999) mostraram que a prevalência de doenças auto-imunes entre eles é significativamente mais alta que na população geral, relacionando-se com o tempo de exposição ao glúten antes do diagnóstico e tratamento. Em 77,5% dos casos em que houve a coexistência da DC com distúrbios auto-imunes, estes foram diagnosticados primeiramente, não se reconhecendo, em fase anterior, a presença da enteropatia. A prevalência de doenças do tecido conjuntivo nos casos de DC foi de 1,3%. Dessa forma, esse estudo sugere que a instituição precoce de dieta sem glúten pode prevenir o aparecimento dos auto-anticorpos e de suas doenças relacionadas.

Treem (2004) também relatou existência mais freqüente de auto-anticorpos quando o diagnóstico da DC é feito mais tardiamente, com tendência ao desaparecimento dos mesmos após instituição de dieta sem glúten.

Em estudo retrospectivo, Guidetti *et al.* (2001) avaliaram 422 pacientes com DC, encontrando doenças auto-imunes em 21,5% deles, sendo mais freqüentes as doenças tireoidianas auto-imunes e o diabetes *mellitus*, com prevalência, respectivamente, de 13,5% e 3,8%. O diagnóstico da doença auto-

imune antecedeu a descoberta da DC em 64,5% dos casos. Todavia, em 35,5% deles ocorreu posteriormente, já com o paciente seguindo dieta sem glúten.

Utilizando questionário estruturado, Cataldo e Marino (2003) encontraram maior incidência de doenças auto-imunes também em parentes de primeiro grau de pacientes com DC, quando comparados a um grupo-controle. A prevalência dessas doenças foi mais alta nos indivíduos de maior idade, associando-se, na maior parte das vezes, a formas silenciosas da DC.

Estudando 56 pacientes com DC, Utyama *et al.* (2001), no Brasil, verificaram 25% de positividade para pelo menos um auto-anticorpo, excluindo-se os marcadores para DC. Aproximadamente 9% dos pacientes apresentaram positividade para anticorpos antinucleares, mas nenhum demonstrou pesquisa positiva para anticorpos antiDNA (ácido desoxirribonucléico) nativo, nem evidências de LES ou de outras doenças reumatológicas. Em 17,8% dos parentes de primeiro grau dos indivíduos com DC, foram detectados auto-anticorpos diversos, assim como em 4,9% dos controles. Os pacientes com DC que seguiam dieta sem glúten não tiveram menos prevalência de auto-anticorpos do que os pacientes que ingeriam essa proteína.

2.3 Doença celíaca e doenças reumatológicas auto-imunes

Sabe-se que a DC pode cursar com artrites e artralguas, que podem preceder ou ocorrer na ausência de manifestações intestinais. O padrão mais comum associado à doença é o acometimento simétrico poliarticular não erosivo e não deformante de grandes articulações, como joelhos, quadril e ombros, muitas vezes com envolvimento axial e sacroilíaco, melhorando freqüentemente com a retirada do glúten da alimentação (BOURNE *et al.*, 1985; CARLI *et al.*, 1995; HOLDEN; ORCHARD; WORDSWORTH, 2003).

Avaliando 200 adultos com DC, Lubrano *et al.* (1996) constataram artrite em 26% deles, contra 7,5% de indivíduos controles com idade semelhante. O acometimento articular foi mais prevalente entre aqueles que não seguiam dieta sem glúten. Em São Paulo, Freitas *et al.* (2002) registraram artralgia em 23% de 48 adultos com DC e idade média de 41 anos. Usai *et al.* (1995), utilizando

estudos de cintilografia óssea, encontraram 63,6% de positividade para sacroiliíte em 22 adultos com DC, tendo a maioria deles queixa de lombalgia.

As queixas articulares dos pacientes com DC podem, contudo, resultar de doenças reumatológicas auto-imunes concomitantes. Vilela *et al.* (2004), estudando os aspectos clínicos e histológicos de 34 adultos com DC, relatam, entre eles, dois casos de LES e um de AR.

Em artigo de revisão, Farrel e Kelly (2002) consideram como já estabelecida a associação entre DC e síndrome de Sjögren e também AR, sendo a associação com o LES citada como possível.

Para Delbrel *et al.* (2003), a associação da DC com artrite reumatóide juvenil (ARJ), apesar de provável, necessita ser confirmada. Segundo os autores, não há prova da associação da DC com LES e AR, sendo sua descrição apenas esporádica.

Catassi *et al.* (2007) recomendam a pesquisa de DC em pacientes com fatores de risco para a mesma, citando entre estes últimos a presença de AR e de outras colagenoses, como forma de se aumentar a detecção da doença na população norte-americana.

O LES caracteriza-se pelo acometimento inflamatório de múltiplos órgãos e sistemas, associado à produção de anticorpos que reagem a vários antígenos do núcleo, citoplasma e membrana celular. A maior parte dos trabalhos relacionando a DC ao LES é constituída por relatos de casos esporádicos (HADJIVASSILIOU *et al.*, 2004; MONDHER *et al.*, 2004; MUKAMEL *et al.*, 1994; RUSTGI; PEPPERCORN, 1988; VARDEL *et al.*, 1989). Marai *et al.* (2004) realizaram pesquisa de tTG com enzima recombinante humana em 100 pacientes com LES, encontrando um único caso de DC entre eles. No entanto, a associação entre essas doenças não parece improvável, uma vez que o haplótipo DR17 está presente em 70% a 90% dos casos de DC e em 40% dos casos de LES. Também o antígeno HLA B8 apresenta prevalência aumentada em ambas as doenças (MONDHER *et al.*, 2004; REINERTSEN, 1978; RUSTGI; PEPPERCORN, 1988).

Por outro lado, a AR, doença que atinge cerca de 1% da população em geral (CARVALHO; PÁDUA, 1993), está associada ao HLA DR4 e a pelo menos cinco alelos HLA-DRB1: DRB1*0401, DRB1*0404, DRB1*0101, DRB1*0405 e DRB1*1402 (DONADI, 2001). Sua associação com a DC é controversa e baseia-se também, principalmente, em relatos de casos da literatura (PARKE *et al.*,

1984). Allen (2004) e Farrel e Kelly (2002) consideram certa a associação entre as duas doenças. Fasano e Catassi (2001) estimam prevalência de DC entre 1,5% e 7,5% entre os pacientes com AR. No entanto, Francis, Carty e Scott (2002), em trabalho envolvendo 160 pacientes ingleses com AR, constataram um único caso de DC entre eles, o que resultou em prevalência de 0,63%, equivalente à da população geral de seu país.

Paimela *et al.* (1995), estudando 78 pacientes com AR, encontraram positividade para AGA (IgA e/ou IgG) em 37% deles e em 12% dos controles. Os anticorpos anti-reticulina foram positivos, respectivamente, em 4% e 0%. A análise histológica intestinal não confirmou a DC em nenhum indivíduo da pesquisa.

Nisihara *et al.* (2007), no Brasil, investigaram 85 pacientes com AR e 97 controles sadios, não encontrando positividade para EmA em nenhum deles.

Em 2003, Luft *et al.* avaliaram o soro de 50 pacientes com síndrome de Sjögren, 50 com LES, 50 com AR e 50 controles sadios, encontrando positividade para a pesquisa de tTG em, respectivamente, 12%, 6%, 2% e 4% deles. Não foi feita confirmação histológica de DC em todos esses indivíduos. Levando-se em conta apenas os casos avaliados por biópsia intestinal, não se observou maior frequência de resultados falso-positivos para o exame de tTG entre os pacientes reumatológicos em relação à população controle.

Feighery *et al.* (2003) realizaram pesquisa de EmA em 53 pacientes com AR e 46 com LES, empregando soro diluído em 1:10 e utilizando esôfago de macaco como substrato. Não verificaram resultado positivo para esse exame no grupo com LES, havendo um único caso positivo no grupo com AR, o qual não foi submetido à biópsia intestinal. Em contrapartida, a pesquisa de tTG com enzima de cobaia teve 11% de resultados positivos entre os indivíduos com AR e 22% nos indivíduos com LES, não havendo confirmação histológica de DC em nenhum deles.

Rensch *et al.* (2001) obtiveram 23% de positividade para pelo menos uma classe de anticorpos antigliadina em 103 pacientes com LES, não havendo alteração da mucosa intestinal sugestiva de DC em nenhum deles. Em todos os casos a pesquisa de EmA foi negativa.

As espondiloartropatias, por sua vez, não se associam aos haplótipos mais prevalentes na DC, mas sim a 23 alelos HLA-B*27 (HLAB*2701 até

HLA-B*2723). Essas doenças caracterizam-se pela presença de entesite, inflamação dos pontos de fixação dos tendões, ligamentos e cápsulas articulares aos ossos. Entre elas, incluem-se a espondilite anquilosante, artrites reativas - como a síndrome de Reiter - artrite psoriática, espondiloartropatias associadas às doenças inflamatórias intestinais auto-imunes e espondiloartropatias indiferenciadas. A história clínica e o exame físico são os fatores principais para o diagnóstico, sendo sugestivos quadros de dor lombar ligada a sacroiliíte, dactilite e manifestações extra-articulares, como uveíte e erupção cutânea (BRENT; KATARIA, 2004). Em populações caucasianas, o antígeno HLA-B27 ocorre em mais de 90% dos pacientes com espondilite anquilosante, em 60% a 70% daqueles com artrite reacional, incluindo a doença de Reiter, em 40% a 70% dos com uveíte anterior, em 35% a 75% dos portadores de sacroiliíte associada à doença inflamatória intestinal e em 30% a 40% dos que apresentam sacroiliíte associada à psoríase ou à oligoartropatia indiferenciada. Os mecanismos pelos quais as moléculas HLA-B27 se relacionam à gênese das espondiloartropatias não são conhecidos (DONADI, 2001).

Kallikorm, Uibo e Uibo (2000) pesquisaram 74 pacientes hospitalizados com espondiloartropatias diversas, evidenciando apenas um caso de DC. Os AGA IgA foram positivos em 12% deles, os AGA IgG em 4%, sendo o teste EmA positivo apenas naquele com enteropatia confirmada.

Riente *et al.* (2004) observaram positividade para tTG com enzima humana em 1/43 pacientes com espondilite anquilosante, 1/75 pacientes com artrite psoriática, 1/79 pacientes com AR e em 3/78 controles sadios, não constatando diferença significativa na prevalência desses anticorpos entre esses grupos. Não houve confirmação de DC por biópsia intestinal em nenhum caso positivo.

Dentre as espondiloartropatias, a artrite psoriática é a que apresenta relatos mais consistentes na literatura, indicando associação com a DC. Alguns estudos sugerem que até 15% dos pacientes com psoríase apresentam positividade para AGA IgA e alguns portadores de artrite psoriática mostram melhora com dieta sem glúten. Todavia, outros trabalhos não confirmam esses dados (HOLDEN; ORCHARD; WORDSWORTH, 2003).

Em 114 pacientes com artrite psoriática, Lindqvist *et al.* (2002) apontaram cinco casos de DC, indicando, assim, prevalência de 4,4% em sua

amostra. Nenhum deles foi positivo para EmA, fato que relacionaram à atrofia vilositária intestinal pouco acentuada em sua análise histológica. Todos os casos foram positivos para AGA IgA, sendo os títulos dos indivíduos com artrite significativamente mais elevados que o dos controles, mesmo após exclusão daqueles com DC.

Avaliando 26 pacientes com artrite psoriática e 33 com AR e utilizando transglutaminase recombinante humana para pesquisa de tTG no soro e no líquido sinovial, Spadaro *et al.* (2002) obtiveram 42% de resultados positivos em pacientes do primeiro grupo e 33% no segundo. Nenhum deles apresentou DC ou positividade para EmA com esôfago de macaco. Houve boa correlação entre os níveis de tTG no soro com os níveis desses anticorpos no líquido sinovial, não havendo resultado positivo para tTG no soro dos controles sadios. Os autores sugerem que a transglutaminase tecidual talvez não seja o único antígeno do teste para EmA e que os tTG possam significar um marcador de dano tecidual.

Em relação às crianças, a ARJ, também conhecida como artrite juvenil idiopática, é uma das doenças reumáticas mais prevalentes. Os seus critérios diagnósticos incluem artrite, início antes dos 16 anos de idade e exclusão de outras formas de artrite juvenil (FOELDVARI; BIDDE, 2000). Apresenta associação ao HLA DR4 na forma soropositiva e ao HLA DR5 (atualmente DR11, DR12 e DR13) - (KAGNOFF, 2007) na forma pauciarticular (THORSBY, 1997). Não há ainda consenso sobre prevalência maior ou não de DC entre os acometidos por ARJ, sendo os resultados das pesquisas ainda conflitantes (MILLER, 1997).

George *et al.* (1996) estimam prevalência de DC entre 0,4% e 2% nos pacientes com ARJ. Em seu estudo com 62 crianças com essa doença, 1,5% delas apresentou também DC.

Foram encontrados quatro casos de positividade para EmA entre 119 crianças com ARJ avaliadas por Lepore *et al.* (1996). Três delas apresentavam atrofia vilositária intestinal, todas sem sintomas intestinais. Demonstraram, assim, prevalência de DC de 2,5%, valor sete vezes mais alto do que o esperado para a população local. A positividade freqüente de AGA IgA e IgG, em sua experiência, não teve boa correspondência com alterações histológicas, havendo alta taxa de falso-positivos com esses anticorpos.

Stagi *et al.* (2005), em pesquisa realizada em 151 crianças com ARJ, demonstraram presença de DC em 10 delas (6,6%), indicando prevalência bem acima da obtida na população geral. Houve também maior prevalência de doenças auto-imunes da tireóide entre elas, quando comparadas aos controles. De forma geral, evidencia-se, assim, falta de uniformidade na literatura nos registros de prevalência de DC entre as doenças reumatológicas de adultos e crianças. Em sua grande maioria, os trabalhos que mencionam associação entre essas enfermidades envolvem amostras de pequeno tamanho ou baseiam-se em relatos de casos.

2.4 Testes sorológicos na doença celíaca

2.4.1 Anticorpos antigliadina

Dados da literatura ressaltam a importância de testes sorológicos no rastreamento, diagnóstico e monitorização da dieta isenta de glúten em pacientes com DC. Na prática clínica, os testes utilizados baseiam-se na pesquisa dos anticorpos antigliadina, antiendomísio e antitransglutaminase tecidual, tanto da classe IgA como IgG. Outros exames sorológicos, como a pesquisa dos anticorpos anti-reticulina e antijejuno humano, foram progressivamente abandonados em virtude de sua menor acurácia e/ou maior dificuldade de realização (GHEDIRA *et al.*, 2001; KOTZE *et al.*, 1999; KOTZE, 2004a; ROMALDINI; BARBIERI, 1999).

Em 1958, Berger descreveu a pesquisa dos anticorpos antigliadina, incorporando sua utilização na prática clínica a partir da década de 70. A dosagem dos anticorpos antigliadina utiliza técnica imunoenzimática ELISA, sendo pesquisados anticorpos das classes IgA e IgG. De modo geral, para o diagnóstico da DC, os AGA IgA apresentam maior especificidade e os AGA IgG maior sensibilidade (KOTZE, 2004a).

Após a instituição de dieta sem glúten, os AGA IgA mostram-se bastante úteis para monitorização, já que apresentam queda rápida, normalizando-se, em média, em dois a seis meses, elevando-se, também rapidamente, em casos de transgressão dietética (FARREL; KELLY, 2002; MEDEIROS *et al.*, 1994; PIETZAK, 2005).

Nos grupos com baixa prevalência de DC, o valor preditivo dos AGA é considerado baixo, podendo ser identificados em casos de infecção intestinal viral e bacteriana, alergia alimentar, em outras doenças auto-imunes, em parasitoses intestinais e em indivíduos normais (KOTZE, 2004a; ROMALDINI; BARBIERI, 1999; SORELL *et al.*, 2004).

Kotze (2004a) relata sensibilidade entre 46% e 92% e especificidade de 83% a 92% para os AGA IgA; para os AGA IgG, sensibilidade entre 62% e 96% e especificidade de 63% a 97%.

No Serviço de Gastroenterologia Pediátrica do Hospital das Clínicas da UFMG, Bahia *et al.* (2001) encontraram sensibilidade de 95,5% e 90,9% e especificidade de 95,7% e 97,8% para AGA IgA e AGA IgG, respectivamente. Os autores concluíram que resultados negativos para ambas as classes de AGA têm valor preditivo negativo de 99,9% em crianças.

Hill (2005), em revisão da literatura, calculou sensibilidade geral (somando-se adultos e crianças) para AGA IgG entre 57% e 100% e especificidade entre 47% e 94%, sendo que, para crianças, a sensibilidade variou de 83% a 100% e a especificidade de 47% a 94%. Para adultos, a acurácia dos AGA IgG mostrou-se menor, com sensibilidade entre 57% e 78% e especificidade entre 71% e 87%. No caso dos AGA IgA, a sensibilidade geral e em crianças foi de 52% a 100% e a especificidade de 71% a 100%. Em adultos, a sensibilidade oscilou entre 55% e 100% e a especificidade entre 82% e 100%.

A Associação Norte-americana de Gastroenterologia, em recente artigo de revisão (ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006), afirma que a sensibilidade dos AGA IgA, nos melhores laboratórios, atinge 85% a 90%, com especificidade próxima de 90%. Ainda assim, o valor preditivo positivo dos AGA IgA é considerado baixo, o que torna esse exame inadequado para uso na prática clínica diária, segundo essa Associação, uma vez que estão disponíveis exames mais acurados.

Rostom *et al.* (2005), em trabalho de revisão da literatura, concluíram que, quando se utiliza AGA IgA e AGA IgG em paralelo, considerando-se positivo um ou ambos os testes, a sensibilidade varia entre 83% e 100% e a especificidade entre 71% e 99%.

O valor preditivo dos AGA parece diminuir a partir dos dois anos de idade, podendo negatar-se com o tempo em pacientes com DC, apesar da

persistência de alterações da mucosa intestinal (KOTZE, 2004a). Por outro lado, na população geral, a positividade para os AGA IgG parece aumentar com a idade, o que diminui sua especificidade em adultos (KOTZE 2004a; ROSSI, 2004).

A maior utilidade dos AGA, atualmente, relaciona-se ao diagnóstico da DC em pacientes pediátricos. Burgin-Wolff *et al.* (1991) encontraram maior acurácia para os AGA IgA, em relação aos EmAs, em crianças abaixo de dois anos de idade; Ascher *et al.* (1996) obtiveram resultados semelhantes em relação a pacientes com idades inferiores a cinco anos.

Segundo Rodrigo (2006), a pesquisa dos AGA IgA deve ser abandonada como teste diagnóstico para DC em todos os pacientes, devido às suas baixas taxas de sensibilidade e especificidade, ambas em torno de 50%.

O Consenso de 2004 do *National Institutes of Health* (NIH) também não recomenda o uso diagnóstico de rotina dos AGA, com a ressalva de que os testes sorológicos em crianças abaixo de cinco anos requerem ainda mais estudos, podendo haver mais utilidade para a pesquisa desses anticorpos nesse grupo (JAMES, 2005).

2.4.2 Anticorpos antiendomísio

O método para detecção de anticorpos antiendomísio classe IgA através da técnica de imunofluorescência indireta e utilizando como substrato esôfago de macaco foi descrito por Chorzelski *et al.* (1983), mostrando-se bastante superior aos testes então existentes para o diagnóstico da DC (STERN *et al.*, 2000; VOGELSANG *et al.*, 1995). Recentemente, procurou-se utilizar como substrato tecido de cordão umbilical humano, diminuindo-se o custo da técnica, mantendo-se sua acurácia e evitando-se a ameaça a espécies em extinção (KOLHO; SAVILAHTI, 1997; LADINSER; ROSSIPAL; PITTSCHIELER, 1994; NOT *et al.*, 1997; VOLTA *et al.*, 1995).

O cordão umbilical humano, além de facilmente disponível, é rico em endomísio, tecido que circunda as fibras musculares lisas e que está presente, em abundância, nas paredes da veia e das artérias umbilicais. Além disso,

diferentemente de outros tecidos humanos, o cordão umbilical não contém IgA, evitando-se, assim, o problema da reatividade imunológica cruzada.

Estudos iniciais com EmA mostraram resultados falso-positivos para DC em pacientes com alergia à proteína do leite de vaca e em infectados por *Giardia lamblia* (BURGIN-WOLFF *et al.*, 1991; CHAN *et al.*, 1994).

James e Scott (2000), ao avaliar estudos que envolveram 2.006 pacientes com DC, não tratados, e 4.107 indivíduos sem essa doença, referiram sensibilidade de 94% e especificidade de 99% para a pesquisa de EmA. Kotze *et al.* (2001) encontraram 100% de sensibilidade e 99,3% de especificidade em pesquisa com pacientes do sul do Brasil.

O EmA é o melhor marcador sorológico para a DC, segundo Green, Barry e Matsutani (2003). Os autores acreditam, porém, que se deva realizar, sempre, um painel sorológico associando tTG a EmA, como forma de se aumentar a acurácia do diagnóstico.

Em revisão da literatura, Rostom *et al.* (2005) calcularam a sensibilidade do EmA utilizando esôfago de macaco como substrato, em 96% em crianças e 97% em adultos. Avaliando estudos com cordão umbilical humano, os mesmos autores calcularam a sensibilidade do EmA em 97% em crianças e 90% em adultos. A especificidade do teste, com ambos os substratos, atingiu quase 100% em adultos. Em crianças, os dados indicaram especificidade de 97% para o teste com esôfago de macaco e 95% para o teste com cordão umbilical humano.

Kotze *et al.* (2004a) consideram que os testes com EmA apresentam melhor correlação com a biópsia duodenal do que os tTG, principalmente nos pacientes com baixos títulos de anticorpos.

Bahia (2006), em pesquisa realizada com pacientes do Hospital das Clínicas da UFMG, estudou a acurácia dos marcadores sorológicos para diagnóstico da DC. A autora conclui pela superioridade dos EmA, demonstrando especificidade de 100% para esse exame em seu trabalho, tanto usando esôfago de macaco como cordão umbilical humano. A sensibilidade e especificidade para AGA IgA foram de 81,1% e 95,2%, respectivamente; para AGA IgG, 89,2% e 95,2%; para tTG, 83,9% e 96,8%; para EmA com cordão umbilical humano, 87,9% e 100% e para EmA com esôfago de macaco, 88,6% e 100%.

Devido à reconhecida especificidade dos EmA, alguns autores sugerem que os pacientes com resultados positivos para esses anticorpos e com análise

histológica normal devam ser mantidos sob vigilância, principalmente se pertencem a grupo de risco aumentado para DC, uma vez que há possibilidade de estar a doença em sua forma silenciosa ou latente. Nesse caso, para esclarecimento diagnóstico, pode-se recorrer à tipagem HLA, repetir as biópsias e os testes sorológicos após alguns anos, havendo mesmo quem considere um teste com dieta sem glúten em casos sintomáticos (JAMES; SCOTT, 2000; LOGAN, 2005; PAPARO *et al.*, 2005; PICARELLI *et al.*, 1996).

A alta especificidade do EmA citada pela literatura contrasta com os dados mais recentes sobre sua sensibilidade, considerada inferior a 90% nos grupos de pacientes com graus de atrofia vilositária mais leves (ROSTOM *et al.*, 2005). Nesse sentido, Rostami *et al.* (1999) encontraram sensibilidade de 100% para casos de DC com atrofia vilositária total (classificação IIIc de Marsh), mas de apenas 70% nos pacientes com atrofia subtotal (Marsh IIIb) e de 31% nos casos de atrofia parcial (Marsh IIIa). Em relação aos AGA IgA, sua sensibilidade foi, respectivamente, de 82%, 70% e 31% em cada um desses grupos histológicos. A combinação de AGA IgA e EmA mostrou sensibilidade de 76%, revelando, assim, valor limitado no rastreamento da enteropatia.

Mais recentemente, Abrams *et al.* (2004) estudaram 115 pacientes com DC confirmada por histopatologia e pela resposta à dieta sem glúten, descrevendo sensibilidade de 64% para EmA. Nos casos de atrofia vilositária parcial, apenas 33% dos pacientes foram positivos para esses anticorpos, contra 77% naqueles com atrofia total. Aproximadamente 39% dos casos com EmA negativo apresentavam AGA IgG e AGA IgA também negativos. A sensibilidade para AGA IgA foi de 66%, sendo de 50% naqueles com atrofia parcial. Para AGA IgG, a sensibilidade geral foi de 76%, sendo de 41% nos casos de atrofia parcial. Todos os testes sorológicos (AGA e EmA) foram negativos em 15% dos pacientes. Aqueles com EmA positivo não diferiram dos que apresentavam EmA negativo, seja na forma de apresentação (clássica ou silenciosa), tempo de existência dos sintomas, história familiar de DC ou idade de realização do diagnóstico.

Os dados atuais da literatura sugerem, contudo, grande influência da idade do paciente na sensibilidade dos exames sorológicos para diagnóstico da DC, incluindo-se o EmA. Kwiecien *et al.* (2005) acompanharam 15 crianças com atrofia vilositária e suspeita de DC, todas com EmA negativo no início do estudo.

Em duas delas foi confirmado o diagnóstico da doença, sendo que ambas tinham menos de dois anos de idade no começo da pesquisa. Nas duas houve positividade dos anticorpos antiendomísio alguns anos após a primeira biópsia intestinal. Os pesquisadores relatam que até 20% das crianças com DC abaixo de dois anos podem exibir EmA negativo, já que não têm resposta imunológica completa. Os resultados dos trabalhos de Ascher *et al.* (1996), Baudon *et al.* (2004) e Burgin-Wolff *et al.* (1991) corroboram essa informação.

A utilização dos EmA na monitorização da dieta apresenta limitações. Sabe-se que os resultados positivos podem demorar mais de um ano para negativarem-se com a retirada do glúten, demorando também algum tempo para elevarem-se novamente, após transgressão da dieta. Não se sabe, ainda, a quantidade e frequência de ingestão de glúten capazes de positivar novamente o teste de EmA, não ocorrendo alteração de seus níveis no caso de transgressões discretas e ocasionais. Vários estudos têm mostrado que a recuperação das vilosidades ocorre posteriormente à negatificação do exame, podendo levar anos ou ser incompleta, mesmo nos pacientes que seguem rigorosamente a dieta. A recuperação histológica parece ser mais lenta e parcial em adultos do que em crianças (DICKY; HUGHES; MCMILLAN, 2001; JAMES; SCOTT, 2000; MULDER, 2005; WILLIAM *et al.*, 2000).

2.4.3 Anticorpos antitransglutaminase tecidual

Em 1997, Dieterich *et al.* demonstraram que o principal, senão o único epítipo, contra o qual são dirigidos os anticorpos antiendomísio é a enzima transglutaminase tecidual. Essa enzima distribui-se amplamente em vários tecidos e órgãos humanos, sendo secretada por vários tipos de células e parece ter importante função na formação e estabilização da matriz extracelular, catalisando a ligação cruzada entre os resíduos de glutamina e lisina em substratos protéicos. Seu papel é significativo na fisiopatologia da DC, aumentando a afinidade dos peptídeos derivados da digestão do glúten para ligação com as moléculas HLA II das células apresentadoras de antígenos da mucosa intestinal (GREEN; JABRI, 2003; KAGNOFF, 2007).

A pesquisa dos anticorpos contra a transglutaminase tecidual é realizada por intermédio de ensaio imunoenzimático ELISA, eliminando fatores operador-dependentes que podem interferir na pesquisa dos EmA (GOMEZ *et al.*, 2002).

Inicialmente, a técnica utilizava a transglutaminase de cobaias (*Cavia porcellus*), o que diminuía sua acurácia. Isso se devia à presença de proteínas contaminantes no extrato enzimático obtido desses animais, além de diferenças antigênicas entre a enzima humana e a de cobaias, devido às suas diferentes estruturas moleculares. A enzima de origem animal foi posteriormente substituída pela transglutaminase humana purificada obtida de hemácias ou produzida por engenharia genética, denominada transglutaminase humana recombinante (HILL *et al.*, 2005; LEON *et al.*, 2001).

Em artigo de revisão, Rostom *et al.* (2005) calcularam especificidade entre 95% e 99%, tanto para os exames de tTG com enzima de cobaia quanto com a humana. A sensibilidade da tTG com proteína de cobaia foi de 90% em adultos e de 93% em crianças. A sensibilidade com transglutaminase humana foi de 98% e 96%, respectivamente, em adultos e crianças.

Zintzaras e Germenis (2006) compararam, em estudo de metanálise, a performance de métodos de tTG utilizando enzima de cobaias, enzima humana recombinante e humana purificada, referenciando sensibilidades respectivas de 91%, 94% e 94%. Quanto à especificidade, foram, respectivamente, 89%, 95% e 94%. Concluíram, assim, pela superioridade das duas últimas sobre a primeira.

Tonutti *et al.* (2003), em trabalho franco-italiano envolvendo 64 laboratórios e 7.948 pacientes, 1.162 deles com DC, concluíram pela maior sensibilidade e menor especificidade dos tTGs com enzima de cobaia, em relação aos EmA. O teste de tTG com enzima humana, por sua vez, foi bem mais específico que o teste com enzima de cobaia e tão sensível quanto ele. Os autores consideram o teste para EmA bastante difícil de se interpretar e padronizar.

Em contrapartida, Salmaso *et al.* (2001) observaram maior sensibilidade para o EmA do que para o tTG com enzima de cobaia, em pacientes pediátricos.

Por sua vez, Mäki *et al.* (2003), em estudo realizado em escolares finlandeses, mostraram concordância entre a pesquisa de tTG e de EmA em 3651 exames, de um total de 3.654, indicando correspondência quase perfeita entre os dois testes.

Hill *et al.* (2005) não observaram diferenças na acurácia entre tTG e EmA, recomendando o uso de qualquer um deles como exame sorológico de triagem, não vendo, assim, vantagens na associação dos dois testes.

Carrocio *et al.* (2003) e Rossi (2004) relatam que os exames de EmA e de tTG, mesmo utilizando enzima humana, apontam freqüentemente resultados falso-positivos para DC, quando utilizados em pacientes com doenças hepáticas auto-imunes ou com diabetes *mellitus* tipo I, questionando sua utilização para monitorização da dieta sem glúten em pacientes com DC desses grupos. Os autores alertam, ainda, sobre a significativa variabilidade da acurácia dos tTG, conforme o *kit* comercial empregado.

De forma semelhante ao teste de EmA, a pesquisa para tTG freqüentemente é negativa em pacientes com DC de menos de dois anos de idade, assim como em todos aqueles que apresentam graus de atrofia vilositária inferior a Marsh III, sejam adultos ou crianças (ABRAMS *et al.*, 2004; RODRIGO, 2006; ROSTOM *et al.*, 2005). Tursi, Brandimarte e Giorgetti (2003) constataram positividade para tTG em 7,69% dos casos com lesões Marsh I, 95,83% de positividade nas lesões Marsh III, com valores intermediários em lesões Marsh II.

Da mesma forma, Abrams *et al.* (2006) encontraram sensibilidade de 90% para pacientes com atrofia vilositária total (Marsh IIIC) e de 42,3% naqueles com atrofia parcial (Marsh IIIa e IIIb). Por esse motivo, para indivíduos sem deficiência de IgA, a Associação Norte-americana de Gastroenterologia estima que a sensibilidade de qualquer exame sorológico seja inferior a 70%, quando são consideradas todas as formas histológicas da DC (ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006).

2.4.4 Testes sorológicos para doença celíaca e deficiência de IgA

Limitação importante dos métodos que pesquisam anticorpos da classe IgA é sua ausência nos indivíduos que apresentam baixos níveis séricos dessa

imunoglobulina. A deficiência de imunoglobulina A atinge aproximadamente 1,7% a 3% dos pacientes com DC, taxa 10 a 15 vezes mais alta do que na população geral. Em contrapartida, em torno de 8% dos indivíduos com deficiência de IgA são acometidos por DC (JAMES; SCOTT, 2000; ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006).

Como forma de contornar esse problema, alguns autores recomendam a dosagem sérica de IgA, rotineiramente, nos protocolos de diagnóstico de DC (ROSSI, 2004; STERN *et al.*, 2000). Outros sugerem o uso de testes sorológicos envolvendo pesquisa de anticorpos classe IgG associados aos de classe IgA. A pesquisa de AGA IgG, entretanto, apesar de apresentar sensibilidade e especificidade por volta de 80% a 90%, é um método que deixa a desejar, devido ao seu baixo valor preditivo positivo (HILL, 2005; ROSTOM *et al.*, 2005; ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006).

Recentemente, introduziu-se, na prática clínica, os testes para anticorpos antiendomísio da classe IgG (EmA IgG) e anticorpos antitransglutaminase tecidual da classe IgG (tTG IgG). Esses exames apresentam maior especificidade do que os AGA IgG, havendo ainda algumas dúvidas quanto à sua sensibilidade na população geral. Rostom *et al.* (2005) citam especificidade de 98% e sensibilidade de apenas 40%, tanto para os EmA IgG como para os tTG IgG, o que contra-indicaria seu uso isolado para o diagnóstico da doença.

Cataldo *et al.* (2000) descreveram 100% de sensibilidade para EmA IgG e tTG IgG no diagnóstico da DC em indivíduos com deficiência de IgA. Contudo, ambos os métodos se mostraram inadequados na monitorização da dieta nesse mesmo grupo, havendo melhor performance dos AGA IgG para essa finalidade.

Em trabalho recente, Diamanti *et al.* (2007) não evidenciaram aumento de sensibilidade na associação de EmA IgG aos EmA em relação ao uso isolado desses últimos. Em pacientes com deficiência de IgA, a sensibilidade de EmA IgG foi equivalente à de tTG IgG.

Rostom, Murray e Kagnoff (2006) referem que pacientes com DC e deficiência de IgA possuem, em geral, altos títulos de AGA IgG, EmA IgG e tTG IgG. Esse fato, segundo os autores, parece proporcionar sensibilidade de 100% para EmA IgG e tTG IgG, quando realizados nesse grupo de indivíduos.

Segundo Hill (2005), o acréscimo de rotina de um método sorológico com pesquisa de anticorpos classe IgG, ou mesmo da dosagem sérica de IgA,

parece permitir poucos diagnósticos extras de DC, em estudos de rastreamento populacional.

Treem (2004) estima que a estratégia de se associar rotineiramente a dosagem sérica de IgA, para rastreamento de DC na população geral, detectou apenas um único caso adicional dessa doença em 8.500 indivíduos pesquisados.

Sendo assim, a maior parte dos estudos atuais parece indicar que a pesquisa de anticorpos classe IgG e/ou a dosagem sérica de IgA deverá ser realizada apenas em pacientes com suspeita de deficiência dessa imunoglobulina e em pacientes com quadro sugestivo de DC e exames com anticorpos IgA negativos. Naqueles casos com todos os exames sorológicos negativos, em que persiste a suspeita de DC, seria útil fazer a pesquisa dos antígenos HLA DQ2 e DQ8, tendo em vista seu valor preditivo negativo de praticamente 100%. Outra alternativa seria proceder-se de imediato à biópsia intestinal (LEFFLER; KELLY, 2006; ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006; TREEM, 2004).

2.4.5 Considerações finais sobre o uso de testes sorológicos na doença celíaca

Os estudos mais antigos utilizavam três etapas consecutivas de exames como estratégia diagnóstica para a DC. Iniciava-se com a pesquisa de AGA IgG e IgA como método de triagem inicial. Os casos positivos eram confirmados por outro teste sorológico, geralmente EmA e, caso esse exame também fosse positivo, procedia-se à biópsia intestinal. Nos casos positivos apenas para AGA IgG, realizava-se a dosagem da imunoglobulina A, caso isso não tivesse sido feito como rotina no início da pesquisa. Aqueles com deficiência de IgA também seriam biopsiados (GANDOLFI *et al.*, 2000; HORVATH; IVOR; HILL, 2002).

Stern *et al.* (2000), assim como vários outros autores (HILL, 2005; ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006; RODRIGO, 2006), não obtiveram benefício em associar pesquisa de AGA, tanto IgG quanto IgA, aos EmA ou aos tTG.

Recentemente, a Sociedade Pediátrica Norte-americana de Gastroenterologia, Pediatria e Nutrição (NASPGHAN) - (HILL *et al.*, 2005) e a Associação Norte-Americana de Gastroenterologia (ROSTOM; MURRAY;

KAGNOFF, 2006) recomendaram o teste tTG como o único exame sorológico a ser utilizado na pesquisa inicial da DC, devido a sua boa performance tanto em adultos como em crianças, aliada ao seu mais baixo custo e facilidade de execução.

Já o Consenso do NIH de 2004 não faz distinção entre a utilização de EmA ou de tTG com transglutaminase humana no diagnóstico da DC, uma vez que sua acurácia se mostra equivalente (JAMES, 2005).

No entanto, vários trabalhos sugerem a necessidade de se associarem exames sorológicos. Gomez *et al.* (2002), Tonutti *et al.* (2003), assim como Rossi (2004), recomendam que se confirme um teste tTG positivo com a pesquisa de EmA. Caso ambos sejam positivos, indica-se a biópsia confirmatória. Dessa forma, associa-se a sensibilidade do primeiro exame à alta especificidade dos dois exames feitos em série. Pacientes com tTG negativo e dosagem de IgA normal teriam o diagnóstico de DC descartado.

Scoglio *et al.* (2003) estimaram probabilidade pré-teste de 75% para DC em pacientes com sintomas clássicos dessa doença e calcularam que a positividade de ambos os testes sorológicos, EmA e tTG, resultaria em valor preditivo positivo de 99%, tornando a biópsia intestinal confirmatória dispensável nessa circunstância.

Treem (2004) calcula que cerca de 20% dos casos de DC seriam perdidos caso o único teste realizado fosse a pesquisa de tTG.

Na investigação de Dickey, MacMillan e Hughes (2001), houve discordância entre EmA e tTG em até um terço dos seus pacientes com DC.

Um estudo da prevalência da DC em 1.571 doadores de sangue de Israel concluiu que um único marcador sorológico seria insuficiente para estabelecer a real prevalência da doença (SHAMIR *et al.*, 2002).

Hill *et al.* (2005) lembram que os dados sobre os testes sorológicos advêm de estudos conduzidos em centros de pesquisa, não sendo provável que sua performance se mantenha tão boa quando usados na prática clínica. Isso se deve a:

- Deficiência de padronização dos testes comerciais entre os laboratórios, assim como variações nos pontos de corte empregados (ABRAMS *et al.*, 2006).
- Estudos em ambientes de pesquisa com proporção muito maior de

pacientes com DC em relação à amostra total estudada, influenciando na probabilidade pré-teste dos mesmos. Rostom *et al.* (2005) mostraram que a quase totalidade dos trabalhos científicos foi realizada em amostras com prevalência média de DC entre 30% e 45%. Na grande maioria das populações do planeta, a prevalência para DC é igual ou inferior a 1%. Sendo assim, a especificidade dos exames teria de ser quase perfeita para que seu valor preditivo positivo fosse maior que 90%.

- Não há ainda um padrão-ouro para o diagnóstico de DC: variações na gravidade das alterações histológicas e na experiência dos patologistas podem influenciar na taxa de diagnósticos (VILELA *et al.*, 2002).

Novos testes sorológicos, como a pesquisa de anticorpos antiactina (CLEMENTE *et al.*, 2004) e de anticorpos contra peptídeos desaminados da gliadina (SCHWERTZ *et al.*, 2004), ainda estão em fase de avaliação, podendo contribuir, no futuro, para a acurácia do diagnóstico e acompanhamento de pacientes com DC.

2.5 Diagnóstico endoscópico e histológico da doença celíaca

Para o diagnóstico da DC, o estudo histológico do intestino delgado permanece essencial, na grande maioria dos casos (HILL *et al.*, 2005; JAMES, 2005; ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006; SCOGLIO *et al.*, 2003).

As alterações histológicas da mucosa intestinal dos pacientes com DC incluem: aumento de linfócitos intra-epiteliais, ou seja, mais de 30 linfócitos por 100 enterócitos; diminuição da altura das células epiteliais que, de colunares, tornam-se cuboidais; perda da polaridade nuclear, com pseudo-estratificação do epitélio; descontinuidade da borda em escova dos enterócitos (HILL *et al.*, 2005; KAGNOFF, 2007). A análise anatomopatológica pode revelar simples aumento de linfócitos intra-epiteliais infiltrando as vilosidades, que se apresentam com arquitetura preservada, havendo relação vilosidade-cripta normal, de 3-5:1, caracterizando o padrão tipo 1 – infiltrativo – de Marsh. Com a progressão da

inflamação, ocorre alongamento das criptas, refletindo a tentativa de regeneração mitótica da mucosa (tipo 2 – hiperplásico), seguido pela redução das vilosidades (tipo 3 – destrutivo), atingindo-se, finalmente, o tipo hipoplásico (tipo 4), em que há acentuada hipoplasia de criptas com vilosidades muito reduzidas (CORAZZA; VILLANACCI, 2005; DICKSON; STEUTKER; CHETTY, 2006; MARSH, 1992) - (QUADRO 1).

QUADRO 1

Classificação histológica da doença celíaca

Marsh 0: Normal	<ul style="list-style-type: none"> • Mucosa e arquitetura vilosa normais (relação maior que 2,5 a 3 para 1 entre as vilosidades e as criptas).
Marsh I: Infiltrativo	<ul style="list-style-type: none"> • Mucosa e arquitetura vilosa normais; • Número aumentado de linfócitos intra-epiteliais (acima de 30 linfócitos por 100 enterócitos).
Marsh II: Hiperplásico	<ul style="list-style-type: none"> • Similar ao acima, mas com criptas alongadas, com aumento da divisão celular nas mesmas.
Marsh IIIa: Atrofia vilositária parcial	<ul style="list-style-type: none"> • Vilos curtos e achatados; • Infiltração linfocitária moderada; • Criptas hiperplásicas alongadas.
Marsh IIIb: Atrofia vilositária subtotal	<ul style="list-style-type: none"> • Vilosidades claramente atróficas, mas ainda distinguíveis; • Criptas alargadas, cujas células epiteliais imaturas são geradas em ritmo acelerado; • Aumento de células inflamatórias;
Marsh IIIc: Atrofia vilositária total	<ul style="list-style-type: none"> • Completa perda de vilosidades; • Grande hiperplasia de criptas, com infiltrado linfocitário.
Marsh IV: Hipoplásico	<ul style="list-style-type: none"> • Atrofia vilositária total; • Criptas hipoplásicas; • Contagem linfocitária intraepitelial normal.

Casos sintomáticos com forma clássica de apresentação costumam mostrar algum grau de atrofia vilositária, mas, em alguns pacientes, mesmo o aumento inespecífico de linfócitos intra-epiteliais, sem outras alterações histológicas, pode corresponder a quadro de diarreia crônica, que se resolve com a instituição de dieta sem glúten (ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006).

Apesar de constituírem elementos imprescindíveis para o diagnóstico, sabe-se que as alterações histológicas observadas na DC não são patognomônicas dessa entidade (FERRARI; CUNHA, 1994; KOTZE, 2004b; ROSSI, 2004). Segundo Dickson, Streutker e Chetty (2006), o uso de antiinflamatórios não esteróides e várias doenças, como LES, retocolite ulcerativa idiopática e doença de Crohn, podem cursar com aumento inespecífico de linfócitos intra-epiteliais na mucosa do delgado. Mesmo a associação de atrofia de vilosidades com hiperplasia de criptas pode estar presente em diversas enfermidades, como na síndrome de Zollinger-Ellison, espru tropical, síndrome de alça cega, subnutrição e gastroenterites virais e bacterianas (FERRARI; CUNHA, 1994; KOTZE, 2004b).

O diagnóstico da DC é dificultado nos pacientes em que não há distorções significativas na arquitetura vilositária intestinal, sendo aí fundamental a experiência do médico examinador. Em tais casos, tem sido constatada pouca concordância na análise histológica intestinal quando o exame é realizado por mais de um patologista (DEWAR; CICLITIRA, 2005; VILELA *et al.*, 2002).

A medicação também pode interferir no diagnóstico anatomopatológico da DC. Ziegler *et al.* (2003) relatam um caso de atrofia vilositária intestinal com diarreia e quadro disabsortivo grave devido ao uso de azatioprina. No entanto, esse mesmo medicamento foi usado com sucesso, por outros autores, para tratamento de pacientes com DC refratária, havendo normalização da arquitetura intestinal em muitos casos (GOERRES *et al.*, 2003; MAURIÑO *et al.*, 2002; ROLNY *et al.*, 1999).

Cumprir lembrar, ainda, que a DC compromete principalmente as porções proximais do intestino delgado, sendo possível obter material para análise histopatológica por via peroral, seja por meio de biópsia com cápsulas de sucção, seja por meio de endoscopia digestiva alta. Enquanto a Sociedade Européia de Gastroenterologia e Nutrição Pediátrica (ESPGAN) recomendou, em 1990, a biópsia intestinal por cápsula, o Consenso do NIH de 2004, a

NASPGHAN, em 2005, e a Associação Americana de Gastroenterologia, em 2006, recomendaram a biópsia duodenal múltipla por endoscopia para o diagnóstico histológico da DC (HILL *et al.*, 2005; JAMES, 2005; ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006; WALKER-SMITH *et al.*, 1990).

Segundo Rodrigo (2006), a maior vantagem do uso de cápsulas está em sua utilização naqueles pacientes com DC em que há atrofia vilositária significativa no jejuno proximal, em área normalmente não alcançada pelos endoscópios, coexistindo com diminuição discreta das vilosidades no duodeno proximal.

Ravelli, Bolognini e Villanacci (2005), contudo, referem que a colheita do material por biópsia endoscópica nas primeiras porções do duodeno não é menos adequada para o diagnóstico da DC do que a realizada nas porções distais do duodeno ou no jejuno proximal.

Utilizando colonoscópio e pinças de biópsia jumbo, Thijs *et al.* (2004) compararam material de biópsia colhido no jejuno com material colhido no duodeno, em 142 pacientes com suspeita de DC. Em todos os casos em que foi constatada alteração histológica de grau III de Marsh, houve concordância entre a histologia do jejuno e a do duodeno. Nos 56 pacientes com alterações de graus I e II de Marsh na biópsia jejunal, houve três casos em que a biópsia duodenal mostrou-se normal. Contudo, os autores não mencionam quantos pacientes com alterações histológicas mais leves tiveram seu diagnóstico de DC confirmado.

Leffler e Kelly (2006) recomendam o uso de biópsia jejunal por cápsula quando, apesar da biópsia endoscópica normal, persistir ainda a suspeita clínica de DC.

Sejam quais forem a origem e o método de colheita do espécime, este deve ser estendido em papel de filtro, antes de sua imersão em formol, com as vilosidades voltadas para cima. Fazendo-se isso, evita-se o corte oblíquo da mucosa durante o processamento do material, o que poderia levar ao falso diagnóstico de atrofia vilositária. O uso de lupa estereoscópica para essa orientação, apesar de desejável, não é considerado indispensável por alguns autores (FERRARI; CUNHA, 1994).

As cápsulas de sucção devem ser deglutidas pelo paciente, aguardando-se sua migração além do ângulo de Treitz, o que é confirmado por exame radiológico, para a colheita de fragmento de mucosa jejunal. Apresentam a

vantagem de serem aparelhos de custo mais baixo, não requerendo treinamento demorado para sua execução (FERRARI; CUNHA, 1994; KOTZE, 2004b).

A colheita de fragmentos da mucosa duodenal durante exame de endoscopia digestiva alta deve ser feita logo após a região da papila. Prefere-se essa região, onde a presença de glândulas de Brünner é menor, já que a mucosa que recobre essas estruturas pode mostrar aspecto sugestivo de atrofia vilositária, sem significado patogênico (OLDS *et al.*, 2002).

Deve-se tomar cuidado com a avaliação da relação vilosidade-cripta, quando o material é obtido na segunda porção duodenal, pois nesse segmento as vilosidades costumam ser mais largas e curtas do que na terceira e quarta porções, regiões que têm histologia semelhante ao jejuno e onde as alterações da DC foram descritas inicialmente (FERRARI; VILELA, 2004).

As biópsias endoscópicas, se por um lado resultam em fragmentos de menor tamanho e de manuseio mais difícil para orientação, possibilitam a análise visual da superfície mucosa e podem ser obtidas de forma dirigida para as áreas que se consideram mais representativas, além de permitir a coleta de vários fragmentos. A técnica endoscópica dispensa, ainda, o uso de aparelhos de radiografia, sendo mais rápida e confortável para o paciente, constituindo-se na forma de coleta mais utilizada atualmente (HILL *et al.*, 2005; KOTZE, 2004b; OLDS *et al.*, 2002; ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006; TRONCON, 1994).

Recomenda-se colher pelo menos quatro a seis fragmentos intestinais, uma vez que as alterações vilositárias na DC podem ser focais. Nesse aspecto, a colheita endoscópica apresenta nítida vantagem sobre o uso de cápsulas de sucção, as quais não permitem usualmente a retirada múltipla de espécimes (OLDS *et al.*, 2002; ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006).

As biópsias com pinças endoscópicas jumbo, de 9 mm de abertura, rendem fragmentos de maior tamanho, porém as pinças de tamanho padrão, de 6 a 8 mm, também parecem fornecer material adequado (DANDALIDES *et al.*, 1989; KIRKBERG; LATORRE; HARTARD, 1989; LEE; GREEN, 2005).

Kirberg, Latorre e Hartard (1989) estabelecem como adequados para a análise anatomopatológica os fragmentos de biópsia que apresentam pelo menos quatro unidades de criptas e vilosidades contíguas, sem corte tangencial, além de alcançar toda a espessura da mucosa, atingindo a *muscularis mucosae*, não havendo a penetração significativa de glândulas de Brunner através da mesma.

Kotze (2004b) considera adequados os fragmentos que incluem pelo menos porção da *muscularis mucosae*, contêm pelo menos três vilosidades contínuas, com criptas perpendiculares, e cujos artefatos de colheita não interferem na identificação dos tecidos e células.

A análise anatomopatológica em fragmentos de boa qualidade permanece indispensável na avaliação da DC, principalmente quando se sabe que o aspecto do duodeno, visto à endoscopia, não apresenta boa correlação com os achados histopatológicos encontrados. Das alterações endoscópicas da DC, são citadas, por ordem de frequência: padrão em mosaico da mucosa, bordas das pregas de Kerkring serrilhadas (*scalloped folds*), diminuição do número de pregas da segunda porção duodenal (menos de três), granulosidade do bulbo duodenal e visibilidade dos vasos da submucosa (OLDS *et al.*, 2002). Todos esses aspectos visuais refletem o padrão de atrofia das vilosidades, daí não serem úteis na detecção dos casos em que a atrofia é pequena ou inexistente, podendo, contudo, chamar a atenção para o diagnóstico, quando presentes (OXENTENKO *et al.*, 2002) - (FIG. 1; 2).

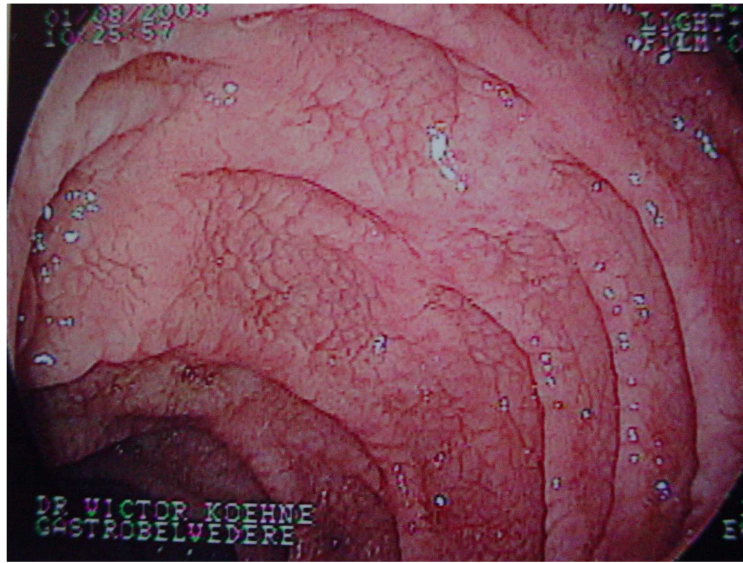


FIGURA 1 - Doença celíaca. Segunda porção duodenal.
Observar padrão em mosaico e pregas com bordas serrilhadas (arquivo do autor).

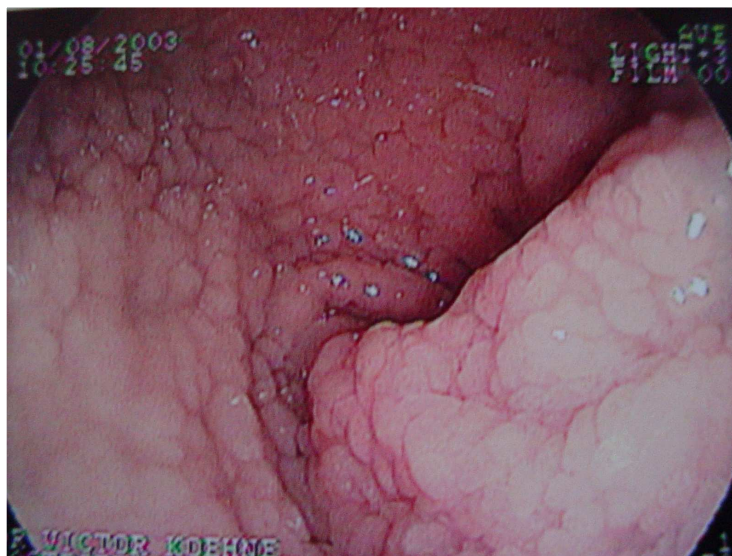


FIGURA 2 – Doença celíaca. Bulbo duodenal de aspecto noduloso.
(Arquivo do autor).

Dickey e Hughes (2001) encontraram pelo menos uma dessas alterações em 77% de 129 pacientes com DC submetidos a exame endoscópico, estando presentes em 58% dos casos com atrofia parcial e em 82% dos casos com atrofia total. Jabbari *et al.* (1988), avaliando 28 pacientes com DC, observaram aspecto em mosaico da mucosa, com pregas de bordas irregulares, em 80% deles.

Por outro lado, Lee e Green (2005) verificaram grande variação na literatura para a sensibilidade das alterações endoscópicas no diagnóstico de DC, com taxas variando de 50% a 94%.

Já a especificidade para os marcadores endoscópicos mostra-se sempre alta, sendo superior a 83% na maior parte dos trabalhos, o que indica a necessidade de se realizar biópsia duodenal, uma vez estando presente algum deles (BARDELLA *et al.*, 2000; OLDS *et al.*, 2002).

Apesar disso, deve-se estar atento para o fato de que esses marcadores não são patognomônicos de DC. Shah *et al.* (2000) encontraram aspectos semelhantes em casos de enterite eosinofílica, giardíase, espru tropical, infecções oportunistas relacionadas ao HIV e enteropatia pelo HIV.

Em resumo, a biópsia intestinal, seja realizada por meio de endoscopia digestiva, seja através do uso de cápsulas de sucção, continua sendo o padrão-ouro para o diagnóstico e monitoramento da DC, sendo recomendada antes do tratamento dietético para todos os indivíduos com sorologia positiva para essa doença (LEFFLER; KELLY, 2006; OLDS *et al.*, 2002) - (FIG. 3; 4).

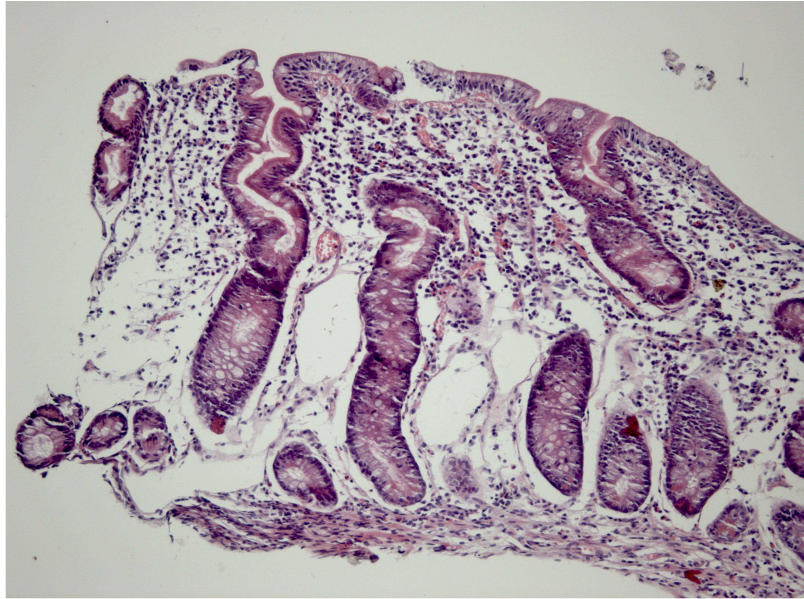


FIGURA 3 - Doença celíaca. Aspecto histológico da mucosa da segunda porção duodenal.

Marsh 3C - Aumento de 600X - Arquivo do autor.

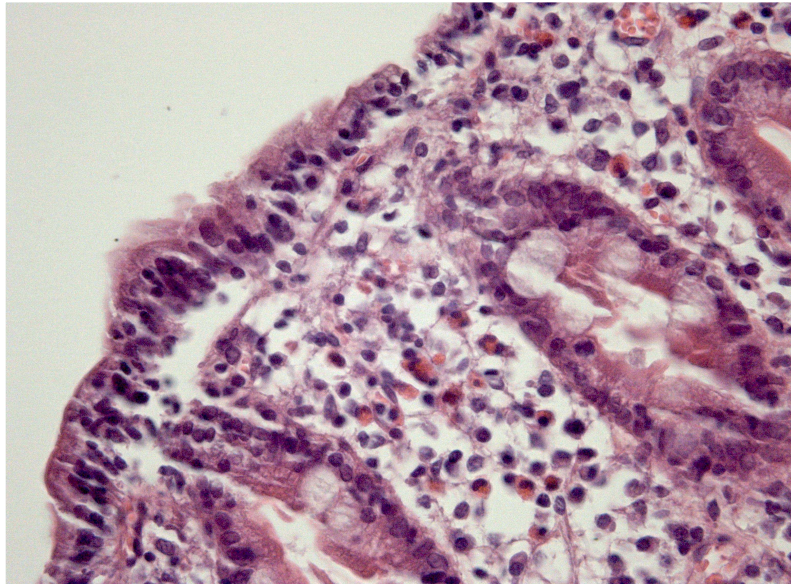


FIGURA 4 – Doença celíaca. Aumento de linfócitos intra-epiteliais.

Notar orla em escova descontínua e aumento do infiltrado linfoplasmocitário da lâmina própria - Aumento de 1000X - Arquivo do autor.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Estudar a prevalência de exames sorológicos positivos para DC, especificamente anticorpos antigliadina de classes IgA e IgG e anticorpos antiendomísio classe IgA, em pacientes com doenças reumatológicas auto-imunes, adultos e pediátricos, acompanhados ambulatorialmente no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, em Belo Horizonte.

3.2 Objetivos específicos

- Comparar os grupos reumatológicos estudados (LES, AR, ARJ e espondiloartropatias) quanto à determinação de anticorpos antigliadina e à positividade da pesquisa de anticorpos antiendomísio.
- Correlacionar a positividade dos anticorpos antiendomísio com a leitura de densidade óptica dos anticorpos antigliadina de classes IgA e IgG, nos pacientes reumatológicos.
- Correlacionar a positividade dos anticorpos antiendomísio com a determinação dos anticorpos antitransglutaminase tecidual classe IgA, nos mesmos pacientes.
- Correlacionar a positividade do exame de anticorpos antiendomísio e a leitura óptica dos testes de anticorpos antigliadina com o uso de prednisona e de medicação imunossupressora, em pacientes reumatológicos.
- Avaliar a adequação do material obtido por biópsia duodenal endoscópica para a análise histológica.
- Correlacionar a positividade dos anticorpos antiendomísio e antigliadina com a análise histológica do material obtido por biópsia duodenal endoscópica, confirmando-se ou não a presença de DC.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Pacientes

Foram estudados 190 pacientes com doenças reumatológicas autoimunes atendidos no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, durante o período de novembro de 2005 a março de 2007. Selecionaram-se para a pesquisa aqueles que já tivessem diagnóstico firmado de LES, AR, ARJ e espondiloartropatias, havendo nesse Serviço um ambulatório específico para cada uma dessas doenças.

Os pacientes foram distribuídos em quatro grupos:

- Grupo 1– pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. N= 69.
- Grupo 2– pacientes com artrite reumatóide. N= 48.
- Grupo 3– pacientes com artrite reumatóide juvenil. N= 32.
- Grupo 4– pacientes com espondiloartropatias, especificamente: espondilite anquilosante, artrites reativas, artrite psoriática, enteroartropatias da doença de Crohn e da retocolite ulcerativa idiopática e espondiloartropatias indiferenciadas. N=41.

4.2 Procedimentos

Durante sua consulta periódica no Serviço de Reumatologia, os pacientes (ou seus responsáveis) eram informados sobre os objetivos da pesquisa e esclarecidos sobre o conteúdo do termo de consentimento (APÊNDICE A). Foi preenchido protocolo de pesquisa suscinto (APÊNDICE B) para cada um dos que concordavam em participar da pesquisa e seu sangue foi colhido para o estudo, na ocasião em que deveriam se submeter a exames hematológicos para controle de sua doença reumatológica.

A determinação dos AGA foi realizada como exame de rotina no Laboratório de Pós-Graduação da Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Medicina da UFMG e os soros de todos os pacientes foram

estocados a -20°C para posterior pesquisa dos EmA. Nos soros positivos para a pesquisa desses anticorpos foi feita a determinação de tTG, em laboratório particular. Nesse mesmo laboratório foi realizada a dosagem da IgA para os casos positivos para AGA IgG que apresentavam exames negativos tanto para AGA IgA como para EmA.

Os pacientes com resultados positivos para AGA IgA, AGA IgG ou EmA tiveram seus prontuários analisados e foram interrogados pessoalmente, para averiguar-se a presença de anemia ou diarreia crônica, no intuito de se procurarem sinais clínicos e laboratoriais sugestivos de DC. Não foram pesquisadas outras manifestações da doença por dificuldades operacionais.

4.2.1 Marcadores sorológicos

4.2.1.1 Determinação dos anticorpos antigliadina classes IgA e IgG

Coletavam-se 5 ml de sangue de cada paciente e aguardava-se sua coagulação, procedendo-se em seguida à centrifugação, sendo o soro dividido em dois frascos identificados e congelados a -20 °C. Para a determinação dos anticorpos antigliadina, foi utilizado ensaio imunoenzimático pela técnica de ELISA, conforme descrita por Volta *et al.* (1985), com as modificações descritas a seguir.

As placas de poliestireno para micro-ELISA foram sensibilizadas com gliadina bruta marca Sigma, 100 µl por poço da placa, diluída em tampão carbonato/ bicarbonato em pH 9,6, na concentração de 50 µl/ml por 12 horas, a 4°C. Em seguida, eram lavadas cinco vezes em água corrente. Após a sensibilização, eram submetidas a bloqueio com albumina bovina marca Sigma, diluída em PBS-*Tween* 20 a 2%, no volume de 150 µl por poço e mantidas em estufa a 37°C durante uma hora, com nova lavagem em água. Depositavam-se os soros nas placas, conforme mapa com controles positivos, negativos e brancos, nas concentrações de 1:100 para IgA e 1:500 para IgG. Novamente eram colocadas em estufa a 37° C por uma hora e, depois, lavadas por cinco vezes. Os conjugados antiIgA humana, ligados à peroxidase (Sigma), eram dispostos nas placas na concentração de 1:1000, 100 µl por poço, tanto para IgG como para IgA, em estufa a 37°C por uma hora e lavadas novamente cinco vezes. Para a

revelação do sistema enzimático, eram adicionados 100 µl de solução de ácido 2,2 azino-bis ethylbez-thiazoline-6-sulfonic (Sigma) em cada poço e as placas mantidas em temperatura ambiente por cinco minutos. A reação era então interrompida com sulfato sódico (SDS–Sigma) a 10% e a leitura de densidade óptica feita em espectrofotômetro para micro-ELISA marca Bio Rad 550, em comprimento de onda de 405 nm.

Todos os soros foram testados em duplicatas. Utilizaram-se para todas as placas os mesmos soros controles positivo e negativo.

Para considerar-se positivo o exame para AGA IgA, utilizou-se como ponto de corte a densidade óptica acima de 0,041 e, para o AGA IgG, acima de 0,140. Esses valores foram obtidos pela média das leituras das densidades ópticas dos soros de pacientes sem queixas gastrointestinais, mais dois desvios-padrão. Esses pacientes haviam sido avaliados num estudo prévio por Bahia (2006), no mesmo laboratório, por meio dos mesmos materiais e métodos.

Pacientes com pesquisa negativa para AGA IgA e EmA que apresentavam pesquisa positiva para AGA IgG tiveram suas imunoglobulinas séricas classe IgA dosadas através de nefelometria (*IMMAGE Immunochemistry Systems IGA, Beckman Coulter Inc, Fullerton, Califórnia*). Os valores de referência normais de IgA utilizados para adultos foram de 82 a 453 mg/dl.

4.2.1.2 Determinação dos anticorpos antiendomísio classe IgA

Seguiu-se a técnica de Chorzelski *et al.* (1983), modificada da seguinte forma: sobre cortes de 3 µm de cordão umbilical humano foram adicionados os soros diluídos em tampão fosfato salino (PBS) na concentração de 1:2,5 com incubação em temperatura ambiente por 30 minutos. As lâminas eram lavadas durante 10 minutos em PBS. Sobre os cortes secos, era colocado o conjugado antilgA humana ligado à fluoresceína (Sigma), na diluição de 1:20. Em seguida, eles eram incubados durante 30 minutos em temperatura ambiente em câmara escura e depois lavados em PBS por 10 minutos.

Sobre as lâminas foram colocados óleo e lamínula, utilizando-se para a leitura microscópio de imunofluorescência Jenamed com aumento de 250 vezes.

Os soros com leituras consideradas positivas em diluição 1:2,5 eram diluídos a 1:5 e 1:40, procedendo-se ao exame da mesma forma nessas diluições.

O resultado final era considerado positivo se houvesse fluorescência em diluição 1:40.

4.2.1.3 Determinação dos anticorpos antitransglutaminase tecidual classe IgA

A pesquisa de tTg foi realizada apenas nos soros considerados positivos para EmA na diluição 1:40. Foi utilizado o *kit* INOVA QUANTA Lite h-tTG IgA (*INOVA Diagnostics Inc, San Diego, California*), que emprega placas de poliestireno revestidas com transglutaminase tecidual humana isolada de glóbulos vermelhos. Foi feita diluição 1:101 dos soros dos pacientes, adicionando-se 5 µl de cada amostra em 500 µl de diluente contendo solução tampão salina Tris, *Tween* 20, estabilizadores protéicos e conservante. As amostras diluídas e os soros controles positivos altos, positivos baixos e negativos eram então adicionados aos poços das placas, sendo incubados durante 30 minutos em temperatura ambiente.

Após lavagem por três vezes com solução de lavagem contendo solução tampão salina Tris e *Tween* 20, eram adicionados 100 µl de conjugado contendo anticorpos de cabra antiIgA humana ligados a peroxidase, estabilizadores protéicos e conservantes. Os poços eram incubados durante 30 minutos à temperatura ambiente, procedendo-se novamente à lavagem com solução tampão por três vezes.

Em seguida, eram adicionados 100 µl de cromogênio TMB a cada poço, sendo feita incubação durante 30 minutos, no escuro e à temperatura ambiente. Após esse tempo, era acrescentada solução de paragem contendo ácido sulfúrico 0,344 M para interromper a reação. A leitura das densidades ópticas era então realizada em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 450 nm. O valor da amostra em unidades era calculado dividindo-se sua densidade óptica pela densidade óptica do controle positivo baixo, multiplicando-se, em seguida, esse resultado pelo valor em unidades do controle positivo baixo, o qual se encontrava marcado em seu rótulo.

Todos os soros foram testados em duplicatas. Utilizaram-se para todas as placas os mesmos soros controles positivos e negativos. Para resultados

abaixo de 20 unidades, a amostra era considerada negativa. Para resultados entre 20 e 30 unidades, era classificada como fracamente positiva, sendo considerada fortemente positiva para resultados superiores a 30 unidades.

4.2.2 Endoscopia digestiva e biópsia duodenal

Os pacientes que apresentaram pesquisa positiva para EmA na diluição 1:40 e os que apresentaram pesquisa positiva para AGA IgA ou AGA IgG foram convocados para a realização de exame de endoscopia digestiva alta. Os exames foram realizados na clínica privada do autor, sendo utilizado endoscópio eletrônico marca Fujinon, modelo EG 200FP. O preparo foi feito com ingestão de 30 gotas (75 mg) de dimeticona diluída em 30 ml de água, cerca de 10 minutos antes do procedimento, sendo feita anestesia tópica da orofaringe com lidocaína *spray* a 10%, cinco borrifos por paciente (cerca de 50 mg). Para a sedação foi utilizado midazolam na dose de 0,1 a 0,15 mg/kg (cerca de 3 mg por paciente, em média), associada à meperidina, 10 a 25 mg por paciente. Realizou-se monitorização com oxímetro de pulso marca Ohmeda com alarme. Não houve intercorrências devido aos exames.

Durante o procedimento, eram colhidos ao menos seis fragmentos da segunda porção duodenal, em região localizada logo após a papila, sendo utilizada para isso pinça de biópsia comum marca Fujinon de 6 mm de abertura.

Os fragmentos obtidos eram colocados sobre papel de filtro, buscando-se orientá-los com a face das vilosidades (de cor rósea) voltada para cima e a face cruenta (vermelha) voltada para o papel, utilizando-se para isso palitos de madeira comuns.

Logo em seguida, o material era colocado em frascos de formalina a 10%, sendo eles enviados ao Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG.

No laboratório, antes do processamento do material, realizou-se exame mesoscópico em lupa estereoscópica, para avaliar a orientação das vilosidades dos fragmentos.

O processamento das amostras seguiu procedimento de rotina, submetendo-se a sucessivos banhos visando à desidratação pelo álcool, diafanização em xilol e, finalmente, inclusão em blocos de parafina. Dos blocos

obtiveram-se múltiplos microcortes de 3 a 5 μm de espessura, utilizando-se micrótomo rotativo adaptado para cortes em parafina. Os cortes parafinados foram submetidos a processamento rotineiro visando à coloração de rotina pela hematoxilina-eosina e montagem com lamínula para exame microscópico, desenvolvendo-se procedimentos técnicos sucessivos, tais como desparafinização, hidratação, coloração, desidratação e montagem. As lâminas foram finalmente coradas e montadas.

Um único patologista examinou todo o material de biópsia para elaboração do laudo anatomopatológico. Esse examinador estava ciente dos propósitos do estudo e das características dos pacientes sob análise.

Os critérios histológicos para o estudo sistemático das amostras foram aqueles utilizados pela Associação Norte-americana de Gastroenterologia (ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006), correspondendo aos critérios de Marsh (1992), modificados. Consideraram-se, em linhas gerais, aspectos da análise do padrão vilositário e críptico geral, enterócitos e orla em escova, número de linfócitos intra-epiteliais e exsudato leucocitário da lâmina própria, bem como achados eventuais.

4.3 Análise estatística

Os dados foram armazenados em programa EPIINFO versão 6.0 e posteriormente transferidos para o programa Excel 2002 para análise no programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versão 13.0, 2004.

Num primeiro momento, a análise estatística objetivou a caracterização da amostra, sendo para isso utilizadas medidas descritivas (média e desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo) para as variáveis quantitativas e distribuições de freqüências para as variáveis qualitativas.

Em todos os testes estatísticos utilizados foi considerado um nível de significância de 5%. Dessa forma, foram consideradas associações estatisticamente significativas aquelas cujo valor p foi inferior a 0,05.

Antes de qualquer análise inferencial, foi necessário testar a normalidade do conjunto de dados para saber se devia ser adotada a classe dos

testes paramétricos, adequados para dados com distribuição normal, ou não paramétricos empregados em dados que não seguem essa forma de distribuição.

Após o teste de normalidade, verificou-se que as variáveis quantitativas em estudo, referentes à determinação de AGA IgA e IgG, não seguiam distribuição normal em todos os grupos, então os testes feitos pertenceram à classe dos testes não paramétricos.

Para fazer comparação entre mais de dois grupos, usou-se o teste de Kruskal-Wallis. Como é um teste não paramétrico, a comparação baseou-se na mediana ao invés da média. Quando a comparação foi entre dois grupos, o teste realizado foi o de Mann-Whitney.

Para comparar as variáveis qualitativas, adotaram-se o teste qui-quadrado e o teste exato de Fisher quando as freqüências observadas foram inferiores a cinco.

Para verificar associação entre variáveis quantitativas e qualitativas, recorreu-se à correlação de Spearman. O coeficiente de correlação de Spearman (ρ) foi usado para avaliar o grau de intensidade dessa relação ($\rho \leq 0,3$: correlação fraca; $0,3 < \rho \leq 0,6$: correlação média; $0,6 < \rho < 0,8$: correlação média para forte; $\rho \geq 0,8$ correlação muito forte).

Para verificar associação entre variáveis categóricas, o teste de escolha foi o qui-quadrado.

4.4 Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Minas Gerais, cujo parecer recebeu o número ETIC 373/05 (ANEXO A).

5 RESULTADOS

5.1 Pacientes

Foram estudados 190 pacientes, sendo 141 (74,2%) do gênero feminino e 49 (25,8%) do gênero masculino. A média de idade foi de 38,8 anos, com desvio-padrão de 17,7, mediana de 39,5, máximo de 76 e mínimo de dois. Entre esses pacientes, 69 (36,3%) apresentavam LES, 48 (25,3%) AR, 32 (16,8%) ARJ e 41 (21,6%) espondiloartropatias.

Dos 69 com diagnóstico de LES, seis (8,7%) eram do gênero masculino e 63 (91,3%) do gênero feminino. A média de idade foi de 37,2 anos, com desvio-padrão de 11, mediana de 37 e amplitude de 18 a 63.

Entre os 48 pacientes com AR, cinco (10,4%) eram do gênero masculino e 43 (89,6%) do gênero feminino. A média de idade foi de 53,6 anos, com desvio-padrão de 12,2, mediana de 54,5 e amplitude de 26 a 76.

Dos 32 pacientes com ARJ, 13 (40,6%) eram do gênero masculino e 19 (59,4%) do gênero feminino. A média de idade foi de 12,5 anos, com desvio-padrão de 6,2, mediana de 10,5 e amplitude de dois a 31.

No grupo das espondiloartropatias, 25 (61%) dos pacientes eram do gênero masculino e 16 (39%) do gênero feminino. Nesse grupo, a média de idade foi de 44,9 anos, sendo o desvio-padrão 14,7, a mediana 46,0, e a amplitude de 23 a 76. Houve 27 casos de espondilite anquilosante, seis de artrite psoriática, seis de espondiloartropatias indiferenciadas, um de artrite reativa de Reiter e um de enteroartropatia associada à doença de Crohn.

Houve diferença estatisticamente significativa entre a idade dos quatro grupos, o que já era esperado, uma vez que a artrite reumatóide juvenil, como o próprio nome indica, acomete indivíduos mais jovens, sendo o início dos sintomas antes dos 16 anos de idade, critério necessário para o diagnóstico dessa doença.

Também houve diferença estatisticamente significativa em relação ao gênero entre os quatro grupos, com predomínio do gênero masculino apenas entre os casos de espondiloartropatias.

5.2 Anticorpos anti gliadina IgA e IgG

A média da leitura das densidades ópticas dos AGA IgA entre os 190 pacientes reumatológicos foi de 0,012, com desvio-padrão de 0,013, mediana de 0,008, mínimo de zero e máximo de 0,102.

A média da leitura das densidades ópticas dos AGA IgG entre esses 190 pacientes foi de 0,024, com desvio-padrão de 0,027, mediana de 0,0185, mínimo de zero e máximo de 0,197.

TABELA 1

Comparação das leituras de densidade óptica dos anticorpos anti gliadina das classes IgA e IgG em 190 pacientes reumatológicos

Variável	Diagnóstico	N	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Mediana	Valor p*
AGAA	LES	69	0,011	0,012	0,000	0,076	0,008	0,102
	Artrite reumatóide	48	0,015	0,016	0,000	0,102	0,010	
	Artrite reumatóide juvenil	32	0,009	0,012	0,000	0,051	0,005	
	Espondiloartropatias	41	0,011	0,008	0,000	0,032	0,010	
AGAG	LES	69	0,022	0,025	0,000	0,163	0,018	0,241
	Artrite reumatóide	48	0,029	0,027	0,000	0,148	0,021	
	Artrite reumatóide juvenil	32	0,022	0,019	0,000	0,076	0,021	
	Espondiloartropatias	41	0,023	0,023	0,000	0,197	0,017	

AGAA: anticorpos anti gliadina classe IgA;

AGAG: anticorpos anti gliadina classe IgG

LES: Lúpus eritematoso sistêmico

*Teste Kruskal-Wallis

Não se verificou diferença estatisticamente significativa entre os quatro grupos de pacientes em relação a AGA IgA e AGA IgG (TAB. 1).

Obtiveram-se quatro pacientes com resultado positivo para AGA IgA: houve uma leitura de densidade óptica de 0,042 em soro de paciente com AR; uma de 0,051 em paciente com ARJ; uma de 0,076 em paciente com LES; e outra

de 0,102, em soro de paciente com AR. Todos eles tiveram exames negativos para AGA IgG e EmA, não apresentando quadro clínico de diarreia ou de anemia.

Constataram-se três pacientes com resultados positivos para AGA IgG, havendo uma leitura de densidade óptica de 0,148 em soro de paciente com AR; uma de 0,163 em paciente com LES; e uma de 0,197 em paciente com espondiloartropatia relacionada à doença de Crohn. A dosagem de IgA sérica nesses pacientes, todos adultos, foi de, respectivamente, 177 mg/dl, 510 mg/dl e 398 mg/dl, não havendo, portanto, deficiência dessa imunoglobulina entre eles. Todos os três tiveram exames negativos para AGA IgA e EmA, não apresentando quadro clínico de diarreia ou de anemia, não tendo sido submetidos à biópsia.

5.3 Anticorpos antiendomísio IgA

Os anticorpos antiendomísio da classe IgA foram pesquisados inicialmente nos soros na diluição de 1:2,5. Os soros positivos nessas diluições foram testados então nas diluições de 1:5 e 1:40.

Como citado anteriormente, foram considerados positivos para EmA os pacientes cujos soros apresentavam fluorescência com padrão de endomísio, em “favo de mel”, na diluição de 1:40, com aumento de 250 vezes no microscópio de imunofluorescência (FIG. 5a; 5b).

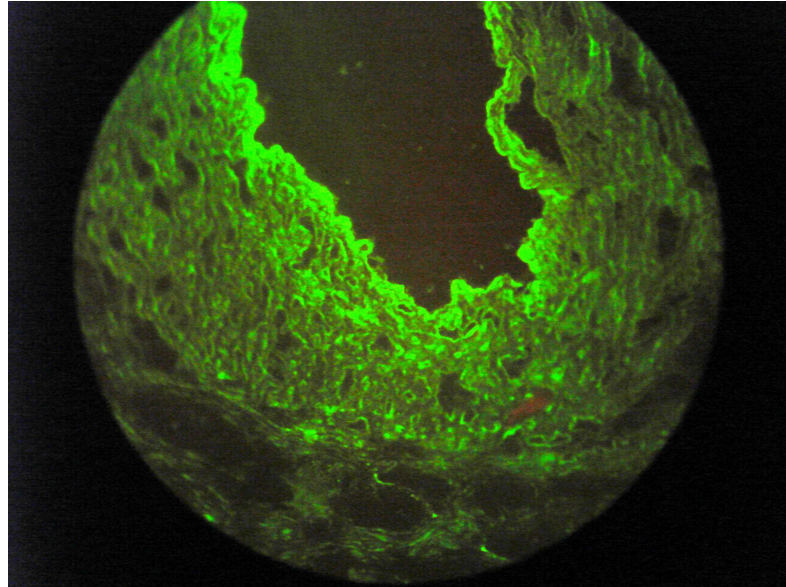


FIGURA 5a - Pesquisa de EmA. Controle positivo.

Aumento 250 X.

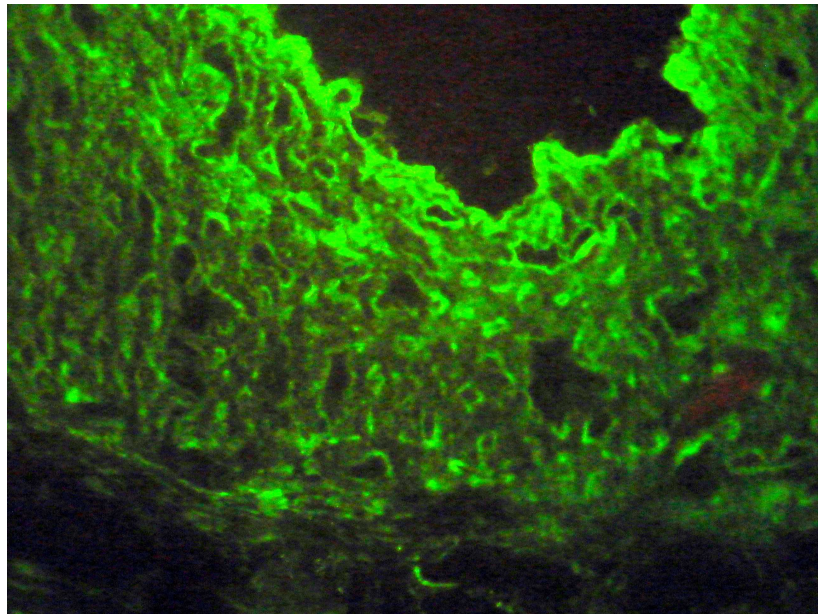


FIGURA 5b - Pesquisa de EmA. Controle positivo.

Maior aumento.

Essa diluição foi definida como a mais acurada para diferenciar pacientes com DC dos outros pacientes, em análise estatística feita em estudo anterior realizado no mesmo laboratório, sendo utilizados os mesmos materiais e métodos (BAHIA, 2006).

Na diluição 1:2,5, obtiveram-se positividade de 49,5% e negatividade de 50,5% para a pesquisa de EmA. Foi considerado positivo para análise estatística o soro com padrão de fluorescência difuso, sugestivo da presença de anticorpos antimúsculo liso, o que ocorreu na diluição 1:2,5 e na diluição 1:5.

Na diluição 1:5, a positividade foi de 21,7%, não tendo sido testados os soros considerados negativos na diluição de 1:2,5. Esses soros foram considerados negativos também na diluição 1:5.

Na diluição 1:40, a positividade foi verificada em 11 soros (5,8%), três deles de pacientes com LES, quatro com AR e quatro com espondilite anquilosante. Não se constatou padrão de fluorescência difuso em nenhum desses casos. Os soros negativos na diluição 1:2,5 não foram testados nessa diluição, sendo considerados negativos também na diluição 1:40 para análise estatística. Todos os pacientes com soros positivos na diluição 1:40 apresentaram resultados positivos na diluição 1:5 (TAB. 2).

TABELA 2

Comparação da positividade dos anticorpos antiendomísio nas diversas diluições de soro em 190 pacientes reumatológicos

End2,5					
Diagnóstico	N/%	Positivo	Negativo	Total	Valor p*
LES	N	34	35	69	0,109
	%	50,7	49,3	100	
Artrite reumatóide	N	28	20	48	100
	%	58,3	41,7	100	
Artrite reumatóide juvenil	N	10	22	32	100
	%	31,3	68,8	100	
Espondiloartropatias	N	22	19	41	100
	%	53,7	46,3	100	
Total	N	94	96	190	100
	%	49,5	50,5	100	

End5					
	N/%	Positivo	Negativo	Total	Valor p*
LES	N	16	53	69	0,299
	%	23,2	76,8	100	
Artrite reumatóide	N	14	34	48	100
	%	29,2	70,8	100	
Artrite reumatóide juvenil	N	4	28	32	100
	%	12,5	87,5	100	
Espondiloartropatias	N	7	33	40	100
	%	17,5	82,5	100	
Total	N	41	148	189	100
	%	21,7	78,3	100	

End40					
	N/%	Positivo	Negativo	Total	Valor p*
LES	N	3	66	69	0,262
	%	4,3	95,7	100	
Artrite reumatóide	N	4	44	48	100
	%	8,3	91,7	100	
Artrite reumatóide juvenil	N	0	32	32	100
	%	0,0	100,0	100	
Espondiloartropatias	N	4	37	41	100
	%	9,8	90,2	100	
Total	N	11	179	190	100
	%	5,8	94,2	100	

End2,5: anticorpos antiendomísio IgA na diluição 1:2,5;

End5: anticorpos antiendomísio IgA na diluição 1:5;

End40: anticorpos antiendomísio IgA na diluição 1:40;

LES.: Lúpus eritematoso sistêmico

*teste Qui-quadrado

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os quatro grupos em relação à positividade de EmA em qualquer diluição do soro,

ou seja, as proporções de positividade não diferiram estatisticamente em relação aos diagnósticos.

5.4 Anticorpos antigliadina IgA e IgG e anticorpos antiendomísio IgA

Observou-se diferença significativa entre a positividade dos EmA em soros diluídos a 1:2,5 e 1:40, em relação aos AGA IgA, mas não se verificou essa diferença em relação aos AGA IgG (TAB. 3).

TABELA 3

Correlação entre a leitura de densidade óptica dos anticorpos antigliadina classe IgA e IgG e a positividade dos anticorpos antiendomísio usando diluição do soro 1:2,5 e 1:40 em 190 pacientes reumatológicos

	End2,5			End40		
	positivo (n=94)	negativo (n=96)	Valor p*	positivo (n=11)	negativo (n=179)	Valor p*
AGAA						
Média	0,013	0,011	0,019	0,024	0,024	0,003
Mediana	0,011	0,007		0,019	0,018	
Desvio-padrão	0,010	0,015		0,025	0,028	
Mínimo	0,000	0,000		0,000	0,000	
Máximo	0,042	0,102		0,163	0,197	
AGAG						
Média	0,019	0,011	0,904	0,017	0,025	0,609
Mediana	0,021	0,008		0,018	0,019	
Desvio-padrão	0,009	0,013		0,010	0,027	
Mínimo	0,004	0,000		0,002	0,000	
Máximo	0,030	0,102		0,037	0,197	

AGAA: anticorpos antigliadina classe IgA;

AGAG: anticorpos antigliadina classe IgG;

End2,5: anticorpos antiendomísio IgA na diluição 1:2,5;

End40: anticorpos antiendomísio IgA na diluição 1:40.

*teste de Mann-Whitney

Houve correlação de Spearman de 0,17 quando se correlacionou a leitura das densidades ópticas dos AGA IgA com a positividade dos EmA em soro diluído 1:2,5.

Quando se utilizou diluição 1:40, houve correlação de Spearman de 0,22 entre a leitura das densidades ópticas de AGA IgA e a positividade para EmA.

Isso significa que, quando a leitura de densidade óptica para AGA IgA foi mais alta, a possibilidade de positividade para EmA foi maior, o que foi demonstrado por correlação de Spearman significativa, ainda que fraca.

5.5 Anticorpos antitransglutaminase tecidual IgA

Todos os 11 soros com positividade para EmA na diluição 1:40 foram pesquisados em relação à presença de tTG, sendo todos negativos para a existência desses anticorpos. Não foi realizada a pesquisa de tTG nos demais pacientes (TAB. 4).

TABELA 4

Resultados das determinações de anticorpos antitransglutaminase tecidual em 11 pacientes positivos para anticorpos antiendomísio na diluição 1:40

Número do soro	tTG - Unidades
2817	5,9
2576	5,6
2715	7,9
2904	8,4
2939	8,4
2658	5,5
2898	6,0
3003	15,7
3020	2,9
2590	3,6
3033	6,0

tTG: anticorpos antitransglutaminase tecidual classe IgA.

5.6 Anticorpos anti gliadina IgA e IgG e uso de medicamentos

Inicialmente, dividiram-se os 190 pacientes em dois grupos, em relação ao uso de medicamentos no momento da colheita de sangue. O primeiro grupo usava apenas antiinflamatórios não esteróides e/ou analgésicos e/ou difosfato de cloroquina (n=45). No segundo grupo, os pacientes tomavam prednisona e/ou imunossupressores (n=145) - (TAB. 5).

Em seguida, a fim de avaliar-se a influência da dose de prednisona nos anticorpos, os pacientes foram divididos em outros dois subgrupos: um que usava antiinflamatórios não esteróides e/ou analgésicos e/ou difosfato de cloroquina e/ou prednisona em dose menor ou igual a 5 mg ao dia (n=65); e outro que usava mais de 5 mg de prednisona ao dia e/ou imunossupressores (n=125) - (TAB. 6).

Em ambos os casos não se verificou associação entre a leitura das densidades ópticas e o grupo do paciente, em relação à medicação tomada, tanto na determinação de AGA IgA quanto na de AGA IgG.

TABELA 5

Correlação das leituras de densidade óptica dos anticorpos anti gliadina das classes IgA e IgG com o uso de medicamentos, em 190 pacientes reumatológicos

	AGAA			AGAG		
	Uso de AINE e/ou DFC (n=45)	Outras medicações (n=145)	Valor p*	Uso de AINE e/ou DFC (n=45)	Outras medicações (n=145)	Valor p*
Média	0,0116	0,0118	0,6770	0,0183	0,0261	0,1200
Mediana	0,0110	0,0080		0,0160	0,0190	
Desvio-padrão	0,0120	0,0129		0,0155	0,0289	
Mínimo	0,0000	0,0000		0,0000	0,0000	
Máximo	0,0760	0,1020		0,0770	0,1970	

AGAA: anticorpos anti gliadina classe IgA;

AGAG: anticorpos anti gliadina classe IgG;

AINE: antiinflamatórios não esteróides;

DFC: difosfato de cloroquina.

*teste de Mann-Whitney

TABELA 6

Correlação das leituras de densidade óptica dos anticorpos anti IgA e IgG com o uso de medicamentos, considerando-se a dose de prednisona diária, em 190 pacientes reumatológicos

	AGAA			AGAG		
	Uso de AINE e/ou DFC e/ou PDN ≤ 5 mg (n=65)	Uso de imunossupressor e/ou PDN > 5 mg (n = 125)	Valor p*	Uso de AINE e/ou DFC e/ou PDN ≤ 5 mg (n=65)	Uso de imunossupressor e/ou PDN > 5 mg (n = 125)	Valor p*
Média	0,011	0,012	0,714	0,019	0,027	0,133
Mediana	0,011	0,008		0,017	0,019	
Desvio-padrão	0,011	0,013		0,015	0,031	
Mínimo	0,000	0,000		0,000	0,000	
Máximo	0,076	0,102		0,077	0,197	

AGAA: anticorpos anti IgA;

AGAG: anticorpos anti IgG;

AINE: anti-inflamatórios não esteróides;

DFC: difosfato de cloroquina;

PDN: prednisona

*teste de Mann-Whitney.

5.7 Anticorpos antiendomísio IgA e uso de medicamentos

Inicialmente, comparou-se a positividade de EmA na diluição 1:2,5, em relação ao uso de medicamentos, utilizando a mesma divisão dos pacientes, conforme exposto anteriormente. Não se encontrou associação entre o uso de medicamentos e a positividade de EmA nessa diluição do soro (TAB. 7).

A seguir, foi comparada a positividade de EmA na diluição 1:40, em relação ao uso de medicamentos, utilizando a mesma divisão em subgrupos já descrita. Nessa diluição, observou-se associação significativa entre a positividade de EmA e o uso de medicamentos. A proporção de indivíduos que usavam apenas anti-inflamatórios não esteróides e/ou difosfato de cloroquina e tinham EmA positivo era maior que a dos que usavam outras medicações. Assim, o uso de imunossupressores e/ou prednisona relacionou-se à negatividade da pesquisa de EmA. Essa associação ficou mais significativa ainda quando os pacientes foram divididos levando-se em conta a dose de prednisona diária (TAB. 8).

TABELA 7

Correlação da positividade para anticorpos antiendomísio IgA, na diluição do soro 1:2,5, com o uso de medicamentos, em 190 pacientes reumatológicos

End2,5		Uso de AINE e/ou DFC	Outras medicações	Total	Valor p*
Positivo	N	21	73	94	0,666
	%	22,3	77,7	100	
Negativo	N	24	72	96	
	%	25,0	75,0	100	
Total	N	45	145	190	
	%	23,7	76,3	100	

End2,5		Uso de AINE e/ou DFC e/ou PDN ≤ 5 mg	Uso de imunossupressor e/ou PDN > 5 mg	Total	Valor p*
Positivo	N	26	68	94	0,06
	%	27,7	72,3	100	
Negativo	N	39	57	96	
	%	40,6	59,4	100	
Total	N	65	125	190	
	%	34,2	65,8	100	

End2,5: anticorpos antiendomísio IgA na diluição 1:2,5;

AINE: antiinflamatórios não esteróides;

DFC: difosfato de cloroquina;

PDN: prednisona

- teste qui-quadrado

TABELA 8

Correlação da positividade para anticorpos antiendomísio IgA, na diluição do soro 1:40, com o uso de medicamentos, em 190 pacientes reumatológicos

End40		Uso de AINE e/ou DFC	Outras medicações	Total	Valor p*
Positivo	N	6	5	11	0,026
	%	54.5	45.5	100	
Negativo	N	39	140	179	
	%	21.8	78.2	100	
Total	N	45	145	190	
	%	23.7	76.3	100	

End40		Uso de AINE e/ou DFC e/ou PDN≤5 mg	Uso de imunossupressor e/ou PDN>5 mg	Total	Valor p*
Positivo	N	8	3	11	0,009
	%	72,7	27,3	100	
Negativo	N	57	122	179	
	%	31,8	68,2	100	
Total	N	65	125	190	
	%	34,2	65,8	100	

End40: anticorpos antiendomísio IgA na diluição 1:40;

AINE: antiinflamatórios não esteróides;

DFC: difosfato de cloroquina;

PDN: prednisona

* teste qui-quadrado.

5.8 Positividade de anticorpos antiendomísio e antigliadina e análise histológica duodenal

Em nove dos 11 pacientes com anticorpos antiendomísio positivos e em todos os sete pacientes com anticorpos antigliadina positivos (IgA ou IgG) foi realizada endoscopia digestiva alta, com biópsia duodenal. Em um paciente isso não foi possível devido ao seu falecimento, e em outro houve recusa em se submeter ao exame de endoscopia digestiva.

Em todos os exames realizados, o aspecto endoscópico do bulbo e da segunda porção duodenais foi considerado normal, não havendo qualquer alteração sugestiva de atrofia vilositária à inspeção macroscópica (FIG. 6).

Os parâmetros observados mostraram-se sem alterações expressivas em todas as amostras de biópsia duodenal examinadas (FIG. 7a; 7b).

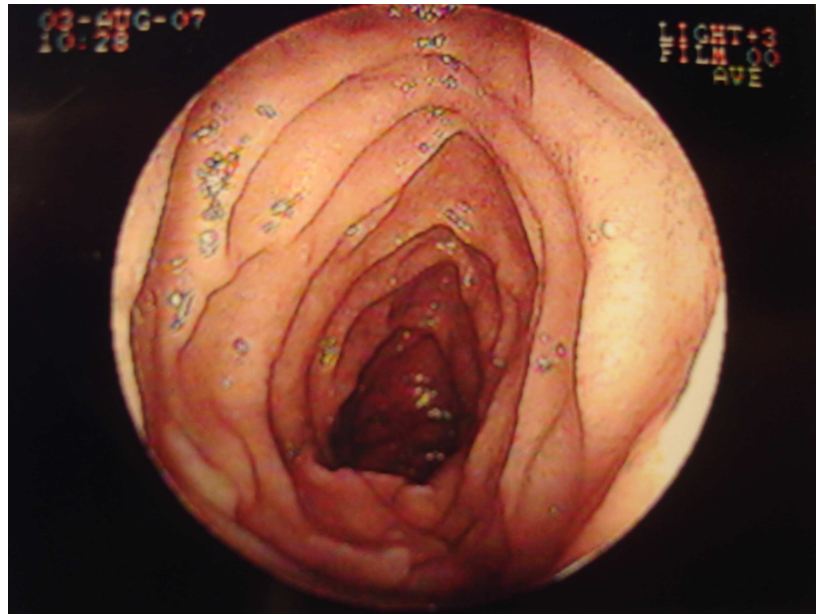


FIGURA 6 - Paciente positivo para EmA. Segunda porção duodenal de aspecto normal.



FIGURA 7a - Paciente positivo para EmA. Aspecto histológico da segunda porção duodenal sem alterações.

Aumento de 400X.

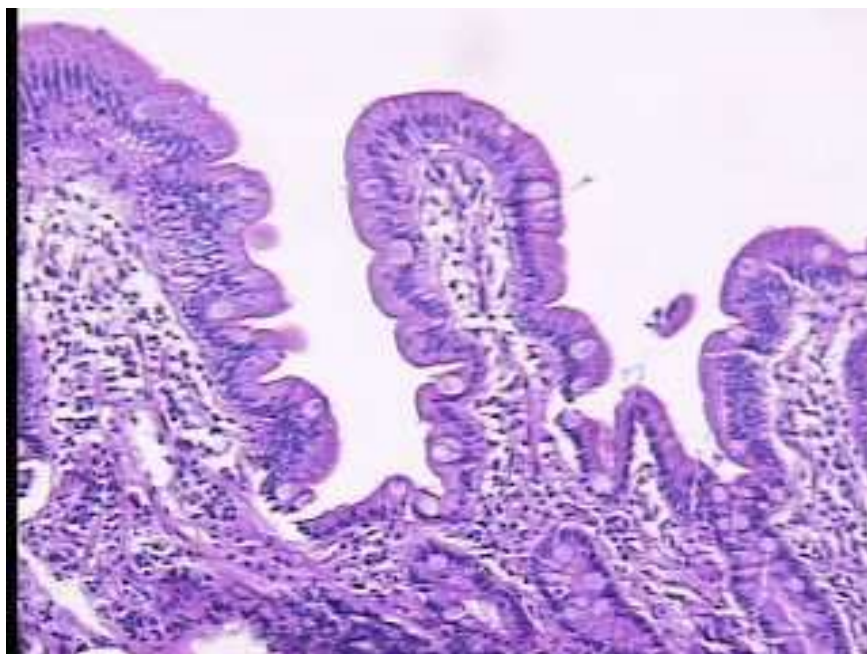


FIGURA 7b - Paciente positivo para EmA. Aspecto histológico da segunda porção duodenal sem alterações.

Aumento de 1000X.

Na totalidade dos casos o padrão vilositário estava preservado, havendo relação cripta-viloidade de 3:1 a 4:1 e os enterócitos se mostravam prismáticos e altos. A orla em escova estava também preservada, havendo linfócitos intra-epiteliais raros e esparsos e o exsudato da lâmina própria era o habitual para a área. Sendo assim, todos foram classificados como Marsh 0, não havendo dúvida em considerarem-se todos os pacientes isentos de sinais histológicos de DC.

Assumindo-se que todos os pacientes positivos para AGA IgA e AGA IgG não apresentavam DC, calculou-se a especificidade para esses exames em, respectivamente, 97,9% e 98,4%. Da mesma forma, a especificidade para o exame de EmA, na presente amostra, foi de 94,2%.

6 DISCUSSÃO

Na literatura médica, observa-se ampla variação no registro da acurácia dos testes sorológicos para pesquisa de doença celíaca (HILL *et al.*, 2005; ROSTOM *et al.*, 2005; ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006). Isso ocorre, em parte, devido ao uso de materiais e métodos diferentes para a realização desses testes nos diversos laboratórios.

Na pesquisa de anticorpos antigliadina pelo método de ELISA, evidenciam-se diversos critérios na escolha dos pontos de corte utilizados para definição da positividade dos testes. Pelo método mais usual, utilizado inclusive nessa pesquisa, obtém-se o ponto de corte através da média das leituras de uma população de indivíduos supostamente sadios, ou isentos da doença estudada, acrescida de dois desvios-padrão (PINCUS, 1996). Outros realizam cálculo semelhante, acrescentando, porém, três desvios-padrão à média (ENGSTRÖM *et al.*, 1992; MASCART-LEMONE; LAMBRECHTS, 1995). Os resultados dos exames de anticorpos antigliadina são muitas vezes fornecidos em unidades arbitrárias, que são obtidas comparando-se a leitura óptica do soro do paciente à de soros controles positivos e negativos, havendo concentrações de anticorpos diferentes nas amostras positivas de cada *kit* utilizado. Alguns testes comerciais fornecem um resultado considerado normal, outro sugestivo de doenças gastrointestinais inespecíficas, e ainda outro indicativo de intolerância ao glúten. Outros testes fornecem ainda pontos de corte diferentes dependendo da idade do paciente (BERGER; SCHMIDT, 1996). De qualquer forma, independentemente dos materiais e métodos empregados, é fundamental a validação dos pontos de corte do teste de anticorpos antigliadina utilizado pelo laboratório através de estudos realizados na população local.

Em relação à pesquisa de anticorpos antiendomísio, nota-se que as diluições do soro utilizadas para considerar-se o exame positivo variam bastante conforme os autores. Kotze *et al.* (2001) utilizam diluição de 1:2,5; Johnston *et al.* (2003) 1:5; Leon *et al.* (2001) 1:10 e Ghedira *et al.* (2001) 1:50.

Utilizando soro diluído em 1:2,5, Bahia (2006) encontrou 39 resultados positivos para EmA, em 173 pacientes controles sem queixas gastrointestinais, não tendo sido constatada DC entre eles. Na diluição de 1:40, nenhum desses pacientes apresentou pesquisa positiva para EmA. Em seu trabalho a autora concluiu, com base em análise estatística, que essa última seria a diluição ideal para separar os pacientes com DC dos demais.

Nota-se nítida influência da diluição do soro em relação aos resultados positivos para EmA: na diluição de 1:2,5, houve 49,5% de positividade; na diluição de 1:5, 21,7%; e na diluição de 1:40, apenas 11 (5,8%) dos soros apresentaram padrão de fluorescência indicativo de resultado positivo.

A diluição do soro é de grande importância quando se leva em conta a presença de anticorpos antimúsculo liso. Tais anticorpos podem ser verificados em pacientes com doenças auto-imunes, neoplasias malignas, infecções virais e mesmo em indivíduos normais (LASAGNI; FERRARI; LAPINI, 1999). Eles produzem fluorescência citoplasmática difusa sobre as células musculares lisas dos cortes de cordão umbilical, impedindo a visualização do padrão fluorescente clássico em “favo de mel” do endomísio, o qual se dispõe em volta dessas células. Esse efeito é mais significativo quando se empregam diluições de 1:2,5 e 1:5.

Volta *et al.* (1995) relataram a presença freqüente de anticorpos antimúsculo liso em pacientes com DC não tratados, resultando em observação, ao microscópio, de padrão fluorescente que mascarava o padrão típico dos EmA na diluição 1:5. Esse padrão só se tornava nítido em diluição igual ou maior a 1:50.

O estudo de Not *et al.* (1997), que comparou o uso de cordão umbilical humano com o esôfago de macaco na pesquisa de EmA, concluiu pela igual eficácia de ambos os substratos. Nessa pesquisa, os autores observaram fluorescência citoplasmática fraca em seis de 22 pacientes com diversas doenças auto-imunes, nas diluições de 1:10 e 1:20, ocorrendo forte fluorescência difusa na diluição 1:5. Os autores atribuíram o fato à provável presença de anticorpos antimúsculo liso no soro.

Lasagni, Ferrari e Lapini (1999) recomendam, em pacientes positivos para anticorpos antimúsculo liso, realizar-se diluição do soro em 1:160, com o objetivo de se revelarem os EmA.

No soro de pacientes acometidos tanto por DC quanto por síndrome de Sjögren, Luft *et al.* (2003) evidenciaram padrão de fluorescência difuso de forte intensidade, que se associava ao padrão reticular de EmA nas diluições de 1:5 e 1:10 e que persistia mesmo na diluição de 1:640, ao contrário do padrão de EmA típico, que desaparecia nessa diluição. Os autores concluíram pela superioridade dos tTg sobre os EmA para diagnóstico da DC em pacientes com essa síndrome, devido à dificuldade de interpretação da fluorescência diante de anticorpos dirigidos contra vários auto-antígenos intra e extracelulares, muitos deles ainda não determinados.

Na presente pesquisa, registrou-se apenas um soro com padrão de fluorescência difuso, sugestivo de anticorpos antimúsculo liso, nas diluições 1:2,5 e 1:5. Na diluição 1:40, evidenciou-se padrão de fluorescência clássico de EmA, sendo a paciente submetida à biópsia duodenal, cujo material não revelou alterações histológicas.

O fato de não se constatarem alterações histológicas sugestivas de DC, nem positividade para tTG, em nenhum dos 11 pacientes positivos para EmA deste estudo, poderia ter mais de uma explicação: possível causa seria a presença de outros auto-anticorpos de classe IgA nesses pacientes, não dirigidos contra a transglutaminase tecidual, que se ligariam a antígenos existentes no cordão umbilical humano, produzindo fluorescência com padrão sugestivo de DC. Deve-se lembrar da particularidade do grupo estudado, composto de pacientes com doenças reumatológicas auto-imunes, em que há notória produção de vários tipos de auto-anticorpos. A pesquisa de anticorpos antimúsculo liso e de outros auto-anticorpos não foi realizada nesta pesquisa. A ausência de positividade para tTG nos pacientes positivos para EmA parece indicar maior especificidade para esse exame no grupo de pacientes reumatológicos com doenças auto-imunes. Isso só poderia ser comprovado, contudo, caso se realizasse o exame em todos os indivíduos do estudo.

Explicação menos provável para os resultados positivos para EmA desta pesquisa seria a interpretação inadequada das lâminas devido à subjetividade na avaliação da fluorescência pelo examinador ou mesmo falha na realização dos procedimentos para realização dos exames. O mesmo examinador responsável pela leitura das lâminas, em estudo anterior realizado no mesmo laboratório, utilizando o mesmo material e métodos, não obteve resultado positivo

em nenhum dos 312 pacientes sem DC, na diluição do soro de 1:40 (BAHIA, 2006).

Resultados positivos para EmA em indivíduos sem alterações histológicas de DC podem indicar, ainda, a forma latente dessa doença, a qual pode vir a se manifestar clinicamente no futuro. Isso só poderia ser confirmado com o acompanhamento sorológico e histológico dos pacientes ao longo dos anos.

A positividade para EmA relacionou-se à leitura da densidade óptica da pesquisa de AGA IgA, mas não da pesquisa de IgG. Ou seja, soros positivos para EmA apresentaram leituras maiores para AGA IgA que soros negativos para esses anticorpos. Esse fato parece refletir maior produção de vários tipos de anticorpos de classe IgA nos indivíduos positivos para EmA.

A pesquisa de AGA revelou menos positividade de casos do que a de EmA. Os quatro pacientes positivos para AGA IgA não tinham positividade para AGA IgG, nem para EmA. Os três com pesquisa positiva para AGA IgG exibiram resultados negativos para AGA IgA e para EmA, não possuindo deficiência de IgA. A maioria dos autores não indicaria a realização de biópsia intestinal para esses indivíduos, devido ao baixo valor preditivo positivo para DC nesses casos (HILL *et al.*, 2005; LOCK; UNSWORTH, 1999; ROSTOM *et al.*, 2005; ROSTOM, MURRAY, KAGNOFF 2006). Todavia, os exames de AGA mostraram, neste trabalho, maior especificidade que os exames de EmA, o que sugere serem menos afetados pelos fatores causadores de interferência nestes últimos.

Embora seja assunto controverso, vários autores relatam que o uso da prednisona e de outros imunossupressores pode resultar na diminuição da produção de anticorpos, principalmente quando administrados em altas doses (CALABRESI; PARKS, 1983; FEDOR; RUBINSTEIN, 2006; HANANIA *et al.*, 2004; POSEY *et al.*, 1978).

Na pesquisa de AGA IgA e AGA IgG, não houve diferença significativa na leitura da densidade óptica entre os pacientes que usavam e os que não usavam esses medicamentos.

A adoção de prednisona e de outros medicamentos imunossupressores relacionou-se de maneira inversa, contudo, à positividade para EmA. Pacientes em uso dessa medicação apresentaram menor incidência de resultados positivos

para EmA, sugerindo menor produção dos anticorpos detectados pela fluorescência nesse grupo.

A análise histológica do material de biópsia duodenal dos pacientes deste estudo não demonstrou alterações significativas. Credita-se isso à ausência, nesses casos, de DC ou de outra enteropatia. Não se pode, contudo, afastar em definitivo a influência do uso de prednisona e de outros imunossupressores nesse resultado, uma vez que o uso dessa medicação pode resultar na melhora das alterações arquiteturais e inflamatórias do intestino delgado (GOERRES *et al.*, 2003; MAURIÑO *et al.*, 2002; MITCHISON *et al.*, 1991; ROSTOM; KAGNOFF; MURRAY, 2006).

A proporção de fragmentos de biópsia duodenal de disposição incorreta no papel de filtro, de pequeno tamanho, sem *muscularis mucosae* ou com menos de três vilosidades contíguas, foi inferior a 40% na presente pesquisa. Como foram realizadas pelo menos seis biópsias em cada exame, obtiveram-se quatro ou mais fragmentos adequados para estudo histológico, por exame endoscópico, em média, o que é considerado satisfatório, de acordo com a literatura (OLDS *et al.*, 2002; ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006). O patologista encarregado relacionou a orientação adequada do material de biópsia no papel de filtro ao seu tamanho. Os fragmentos maiores apresentavam-se, em sua maioria, com as vilosidades dispostas para cima no papel, enquanto os menores mostraram-se muitas vezes torcidos ou invertidos.

7 CONCLUSÕES

- Não houve diferença na leitura de densidade óptica para pesquisa de AGA IgA e AGA IgG, assim como na positividade para EmA, entre os quatro grupos de pacientes reumatológicos estudados.
- As diluições de soro de 1:2,5 e 1:5 mostraram-se inadequadas para pesquisa de EmA, apresentando elevada incidência de resultados falso-positivos para DC. A positividade para EmA associou-se a leituras de densidade óptica mais altas para AGA IgA, mas não houve relação entre a positividade de EmA e as leituras de densidade óptica para pesquisa de AGA IgG.
- A positividade de EmA na diluição 1:40 não se acompanhou de pesquisa positiva para tTG. Isso parece indicar a presença, no soro dos pacientes com doenças reumatológicas auto-ímmunes, de outros anticorpos da classe IgA não relacionados à transglutaminase tecidual, que seriam responsáveis pela observação de fluorescência ao exame microscópico das lâminas.
- O uso de prednisona e de medicamentos imunossupressores não interferiu na leitura de densidade óptica para pesquisa de AGA IgA. O mesmo foi verificado em relação à pesquisa de AGA IgG. O uso de prednisona e de imunossupressores associou-se à menor positividade para EmA.
- A biópsia duodenal por endoscopia, realizada com pinça de tamanho padrão, mostrou-se adequada para avaliação histológica dos casos suspeitos de DC.
- A positividade dos EmA, AGA IgA e AGA IgG não correspondeu a alterações histológicas no material de biópsia duodenal.
- Há necessidade de seguimento dos pacientes com sorologia positiva para anticorpos antiendomísio, pesquisando-se nos mesmos a presença de outros anticorpos causadores dos resultados positivos para esse teste.
- É necessária a realização de novos estudos em pacientes reumatológicos, com o intuito de se avaliar a prevalência da doença celíaca nos mesmos com mais precisão.

REFERÊNCIAS

ABRAMS, J.A *et al.* Seronegative celiac disease: increased prevalence with lesser degrees of villous atrophy. **Dig Dis Sci**, New York, v.49, n.4: p.546-50, April 2004.

ABRAMS, J.A *et al.* Utility in clinical practice of immunoglobulin A Anti-tissue transglutaminase antibody for the diagnosis of celiac disease. **Clin Gastroenterol Hepatology**, Philadelphia, v.4, n.6: p.726-730, June 2006.

ALLEN, P.L.J. Guidelines for the diagnosis and treatment of celiac disease. **Pediatr Nurs**, Nova Scotia, v.30. n.6: p.473-476, 2004.

ALY, T.A. *et al.* Analysis of MHC region remarkable conservation of HLA-A1-B8-DR3 Haplotype. **Diabetes**, New York, v.55: p.1265-1269, 2006.

ASCHER, H. *et al.* Value of serologic markers for clinical diagnosis and population studies of celiac disease. **Scand J Gastroenterol**, Stockholm, v.31:61-67, 1996.

ASKLING, J. *et al.* Cancer incidence in a population-based cohort of individuals hospitalized with celiac disease or dermatitis herpetiformis. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.123: p.1428–1435, 2002.

BAHIA, M. **Avaliação da acurácia dos marcadores sorológicos para diagnóstico de doença celíaca**. 2006. 110 f. Tese (Doutorado em Medicina – Área de concentração em Saúde da Criança e do Adolescente). Curso de Pós Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

BAHIA, M. *et al.* Serum antigliadin antibody levels as a screening criterion for celiac disease in a developing country. **Br Med Biol Res**, São Paulo, v.34: p.415-420, 2001.

BARDELLA, M.T. *et al.* Reevaluation of duodenal endoscopic markers in the diagnosis of celiac disease. **Gastrointest Endosc**, Saint Louis, v.51: p.714-716, 2000.

BAUDON, J.J. *et al.* Diagnosing celiac disease a comparison of human tissue transglutaminase antibodies with antigliadin and antiendomysium antibodies. **Arch Pediatr Adolesc Med**, Chicago, v.158: p.584-588, 2004.

BELZEN, M.J.V. *et al.* A major Non-HLA locus in celiac disease maps to chromosome 19. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.125: p.1032–1041, 2003.

BERGER, E. Zur allergischen pathogenese der coliakie. **Biblioth Paediatr**, Germany, v.67 (suppl 1): p.1-55, 1958.

- BERGER R.; SCHMIDT G. Evaluation of six anti-gliadin antibody assays. **J Immunol Methods**, Amsterdam, v.191: p. 77-86, 1996.
- BOLOGNESI, E. *et al.* Additional factor in some HLA DR3/DQ2 haplotypes confers a fourfold increased genetic risk of celiac disease. **Tissue Antigens**, Copenhagen, v.61: p.308-316, 2003.
- BOOK, L.; ZONE, J.J.; NEUHAUSEN, S.L. Prevalence of celiac disease among relatives of sib pairs with celiac disease in U. S. families. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v. 98, n.2: p.377-381, 2003.
- BOURNE, T. *et al.* Arthritis and coeliac disease. **Ann Rheumatic Dis**, London, v.44: p.592-598, 1985.
- BRENT, L.H.; KATARIA, R.K. Spondyloarthropathies. **Am Fam Physician**, Kansas City, v.69: p.2853-60, 2004.
- BURGIN-WOLFF, A. *et al.* Antigliadin and antiendomysium antibody determination for celiac disease. **Arch Dis Child**, London, v.66: p.941-947, 1991.
- BUSHARA, K.O. Neurologic presentation of celiac disease. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.128 (4 Suppl 1): p.S92-7, Apr 2005.
- CALABRESI, P.; PARKS JR, R.E. Agentes antiproliferativos e substâncias imunossupressoras. *In*: GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S.; GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 6.ed, Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan, 1983, p: 1100-1148.
- CARLI, P. *et al.* Rhumatisme inflammatoire et maladie coeliaque de l'adulte Coïncidence ou lien pathogénique? **Press Med**, Paris, v.24: p.606-610, 1995.
- CARLSSON, A. *et al.* Prevalence of IgA-antigliadin antibodies and IgA-antiendomysium antibodies relatede to celiac disease in children with Down syndrome. **Pediatrics**, Springfield, v.101, n.2: p.272-275, 1998.
- CARROCCIO, A. *et al.* Screening for celiac disease in patients with chronic liver disease. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.125, Issue 4: p.1289, october 2003.
- CARUSO, C. *et al.* HLA, aging, and longevity: a critical reappraisal. **Hum Immunol**, Philadelphia, v.61: p.942-949, 2000.
- CARVALHO, M.A.P.; PÁDUA, P.M. Artrite reumatóide. *In*: **Clínica médica: os princípios da prática ambulatorial**. PEDROSO, E.R.P.; ROCHA, M.O.C.; SILVA, O.A. Ed. Livraria Atheneu Editora, Rio de Janeiro-São Paulo, 1993; p:1202-1211.

- CATALDO, F. *et al.* Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in coeliac disease: an Italian multicentre study. Italian Society of Paediatric Gastroenterology and Hepatology (SIGEP) and "Club del Tenue" Working Groups on Coeliac Disease. **Gut**, London, v.42: p.362-365, 1998.
- CATALDO, F. *et al.* IgG1 antiendomysium and IgG antitissue transglutaminase (anti-tTG) antibodies in coeliac patients with selective IgA deficiency **Gut**, London, v.47; p.366-369, 2000.
- CATALDO, F.; MARINO, V. Increased prevalence of autoimmune diseases in first-degree relatives of patients with coeliac disease. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, London, v.36: p.470-473, 2003.
- CATALDO, F.; MONTALTO, G. Coeliac disease in the developing countries: A new and challenging public health problem. **World J Gastroenterol WGN**, USA, v.13, n.15: p.2153-2159, April 2007.
- CATASSI, C. *et al.* Antiendomysium versus antigliadin antibodies in screening the general population for coeliac disease. **Scand J Gastroenterol**, Stockholm, v.35, n.7: p.732-6, Jul 2000.
- CATASSI, C.; BEARZI, I.; GEOFFREY, K.T. Holmes Association of coeliac disease and intestinal lymphomas and other cancers. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.128, Issue 4, Supplement 1: p.S79-S86, April, 2005.
- CATASSI, C. *et al.* Detection of coeliac disease in primary care: a multicenter case-finding study in North America. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.102: p.1454-1460, 2007.
- CHAN, K.N. *et al.* Endomysial antibody screening in children. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, London, v.18, n.3: p.316-320, April 1994.
- CHORZELSKI, T.P. *et al.* IgA class endomysium antibodies in dermatitis herpetiformis and coeliac disease. **Ann N Y Acad Sci**, New York, v.27: p.162-7, 1983.
- CICLITIRA, P.J. AGA technical review on coeliac sprue. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.120: p.1526-1540, 2001.
- CLEMENTE, M.G. *et al.* Enterocyte actin autoantibody detection: a new diagnostic tool in coeliac disease diagnosis: results of a multicenter study. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.99: p.1551-1556, 2004.
- COLLIN, P. *et al.* Coeliac disease and HLA DQ in patients with IgA nephropathy. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.97: p.2572-2576, 2002.
- CORAZZA, G.R.; VILLANACCI, V. Coeliac disease. **J Clin Pathol**, Thorofare, v.58: p.573-574, 2005.

CRANNEY, A. *et al.* Consequences of testing for celiac disease. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.128: p.S109–S120, 2005.

DANDALIDES, S.M. *et al.* Endoscopic small bowel mucosal biopsy: a controlled trial evaluating forceps size and biopsy location in the diagnosis of normal and abnormal mucosal architecture. **Gastrointest Endosc**, Saint Louis, v.35: p.197-200, 1989.

DELBREL, X. *et al.* Maladie coeliaque et maladies auto-immunes ou maladies systémiques. **Ann Med Intern**, Philadelphia, v.4: p.197-204, 2003.

DEWAR, D.H.; CICLITIRA, .PJ. Clinical features and diagnosis of celiac disease **Gastroenterology**, Philadelphia, v.128:S19-S24, 2005.

DIAMANTI, A. *et al.* Diagnostic value of antiendomysial antibodies of IgG1 class in celiac patients **Eur J Gastroenterol Hepatol**, Limerick, v.19, n.8: p.729, 2007.

DICKE, W.K. Investigation of the harmful effects of certain types of cereal on patients with celiac disease (doctoral thesis). **University of Utrecht**, Netherlands, 1950.

DICKEY, W.; MacMILLAN, S.A.; HUGHES, D.F. Sensitivity of serum tissue transglutaminase antibodies for endomysial antibody positive and negative coeliac patients. **Scand J Gastroenterol**, Stockholm, v.36: p.511-514, 2001.

DICKEY, W.; HUGHES, D. Disappointing sensitivity of endoscopic markers for villous atrophy in a high-risk population: implications for celiac disease diagnosis during routine. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.96: p.2126–2128, 2001.

DICKSON, B.C.; STEUTKER, C.; CHETTY, R. Coeliac disease: an update for pathologists **J Clin Pathol**, Thorofare, v.59: p.1008-1016, 2006.

DIETERICH, W. *et al.* Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. **Nat Med**, New York, v.3: p.797-801, 1997.

DONADI, E.A. Aspectos moleculares do complexo principal de histocompatibilidade: como entender a associação entre o sistema HLA e as doenças reumáticas. **Rev Bras Reumatol**, São Paulo, v.41, n.4: p.225-236, 2001.

DORNER T; HANSEN A. Autoantibodies in normals: the value of predicting rheumatoid arthritis *Arthritis Research & Therapy*, v.6, n.6, **Arthritis Res Ther**, Atlanta, v.6: p.282-284, 2004.

DUBÉ, C. *et al.* The Prevalence of celiac disease in average-risk and at-risk western european populations: a systematic review. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.128: p.S57–S67, 2005.

ENGSTRÖM P.E. *et al.* Class and subclass-associated specificity differences of anti-gliadin antibodies from mucosa and serum. **Immunology**, Oxford, v.77: p. 604-608, 1992.

- FARRE, C. *et al.* Hypertransaminasemia in pediatric celiac disease patients and its prevalence as a diagnostic clue. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.97, n.12: p.3176-3181, 2002.
- FARREL, R.J.; KELLY, C.R. Celiac sprue. **N Engl J Med**, Seattle, v.346: p.180-188, 2002.
- FASANO, A.; CATASSI, C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.120: p.636-651, 2001.
- FASANO, A. *et al.* Prevalence of coeliac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. **Arch Intern Med**, Chicago, v.163: p.286-292, 2003.
- FASANO, A. Clinical presentation of celiac disease in the pediatric population **Gastroenterology**, Philadelphia, v.128: p.S68–S73, 2005.
- FEDOR, M.E.; RUBINSTEIN, A. Effects of long-term low dose corticosteroid therapy on humoral immunity. **Ann Allergy Asthma Immunol**, Jackson, v.97: p.113-116, 2006.
- FEIGHERY, L. *et al.* Anti-transglutaminase antibodies and the serological diagnosis of coeliac disease. **Br J Biomed Sci**, London, v.60, n.1: p.14-18, 2003.
- FERRARI, M.L.A.; CUNHA, A.S. Biópsia do intestino delgado: quando e como? *In*: CASTRO, L.P.; SAVASSI-ROCHA, P.R.; CUNHA-MELO, J.R. **Tópicos em Gastroenterologia 5**, Rio de Janeiro, Ed Medsi; 1994: p. 93-116.
- FOELDVARI, I.; BIDDE, M. Validation of the proposed ILAR classification criteria for juvenile idiopathic arthritis. International League of Associations for Rheumatology. **J Rheumatol**, Galveston, v.27: p.1069–1072, 2000.
- FRANCIS, J.; CARTY, J.E.; SCOTT, B.B. The prevalence of celiac disease in rheumatoid arthritis. **Eur J Gastroenterol Hepatol**, Limerick, v.14: p.1355-1356, 2002.
- FREITAS, I.N. *et al.* Celiac disease in brazilian adults. **J Clin Gastroenterol**, New York, v. 34: p.430-434, 2002.
- GANDOLFI, L. *et al.* Prevalence of celiac disease among blood donors in Brazil. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.95: p.689-92, 2000.
- GEORGE, E.K. *et al.* Juvenile chronic arthritis and coeliac disease in The Netherlands. **Clin Exp Rheumatol**, [s.l.], v.14, n.5: p.571-5, sept. oct., 1999.

- GHEDIRA, I. *et al.* Anticorps anti endomysium, anti réticuline et anti gliadine, intérêt dans le diagnostic de la maladie coeliaque chez l'enfant. **Pathol Biol**, Stuttgart, v.49: p.47-51, 2001.
- GOERRES, J.W.R. *et al.* Azathioprine and prednisone combination therapy in refractory coeliac disease **Aliment. Pharmacol Ther**, Alexandria, v.18: p.487-494, 2003.
- GOMEZ, J.C. *et al.* Value of a screening algorithm for celiac disease using tissue transglutaminase antibodies as first level in a population-based study, **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.97: p.2785-2790, 2002.
- GREEN, P.H.R. *et al.* Characteristics of adult celiac disease in the USA: results of a national survey. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.96: p.131, 2001.
- GREEN, P.H.R.; BARRY, M.; MATSUTANI, M. Serologic tests for celiac disease. **Gastroenterology, Philadelphia**, v. 124: p.585-586, 2003.
- GREEN, P.H.R.; JABRI, B. Coeliac disease. **Lancet**, London, v.362: p.383-391, 2003.
- GREEN, P.H.R. The many faces of celiac disease: clinical presentation of celiac disease in the adult population **Gastroenterology**, Philadelphia, v.128: p.S74–S78, 2005.
- GUIDETTI, C.S. *et al.* Duration of gluten exposure in adult celiac disease does not correlate with the risk for autoimmune disorders **Gut**, London, v.49: p.502–505, 2001.
- HADJIVASSILIOU, M. *et al.* Gluten sensitivity masquerading as systemic lupus erythematosus. **Ann Rheum Dis**, Palo Alto, v.63: p.1501-1503, 2004.
- HANANIA, N. *et al.* Immune response to influenza vaccination in children and adults with asthma: effect of corticosteroid therapy. **J Allergy Clin Immunol**, Saint Louis, 2004; v.113: p.717-724.
- HEEL, D.A.; WEST, J. Recent advances in coeliac disease. **Gut**, London, v.55: p.1037-1046, 2006.
- HILL, I.D. *et al.* Celiac disease: Working Group Report of the First World Congress of Pediatric Gastroenterology, Philadelphia, Hepatology and Nutrition. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, London, v.35, Suppl. 2, p.S78-S88, 2002.
- HILL, I.D. What are the sensitivity and specificity of serologic tests for celiac disease? Do sensitivity and specificity vary in different populations? **Gastroenterology**, Philadelphia, v.128: p.S25-S32, 2005.
- HILL, I.D. *et al.* Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric

Gastroenterology, Philadelphia, Hepatology and Nutrition. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, London, p.40: p.1-19, 2005.

HOLDEN, W.; ORCHARD, T.; WORDSWORTH, P. Enteropathic arthritis. **Rheum Dis Clin N Am**, Washington, v.29: p.513-530, 2003.

HORVATH, K.; IVOR, D.; HILL, A.J.G. Anti-tissue transglutaminase antibody as the first line screening for celiac disease: good-bye antigliadin tests? **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.97, n.11: p 2702-2704, 2002.

JABBARI, M. *et al.* Scalloped valvulae conniventes: an endoscopic marker of celiac sprue. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.95, n.6: p.1518-1522, 1988.

JAMES, M.W.; SCOTT, B.B. Endomysial antibody in the diagnosis and management of celiac disease. **Postgrad Med J**, Minneapolis, v.76: p.466-468, 2000.

JAMES, S.P. National Institutes of Health Consensus Development Conference statement on Celiac Disease, **Gastroenterology**, Philadelphia, v.128, S1; S1-S9, 2005.

JOHNSTON, S.D. *et al.* Prevalence of celiac disease in Northern Ireland. **Lancet**, London, v.350: p.1370, 1997.

JOHNSTON, S.D. *et al.* A comparison of antibodies to tissue transglutaminase with conventional serological tests in the diagnosis of celiac disease. **Eur J Gastroenterol Hepatol**, Limerick, v.15: p.1001-1004, 2003.

KAGNOFF, M.F. Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease. **J Clin Invest**, Thorofare, v.117: p.41-49, January 2007.

KALLIKORM, R.; UIBO, O.; UIBO, R. Coeliac disease in spondyloarthropathy: usefulness of serological screening. **Clin Rheumatol**, Philadelphia, v.19: p.118-122, 2000.

KIRKBERG, A.; LATORRE, J.J.; HARTARD, M.E. Endoscopic small intestinal biopsy in infants and children: its usefulness in the diagnosis of celiac disease and other enteropathies. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, London, 1989, v.9: p.178-181, London.

KOLHO, K.L.; SAVILAHTI, E. IgA endomysium antibodies on human umbilical cord: an excellent diagnostic tool for celiac disease in childhood. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, London, v.24, n.5, p.563-567, May 1997.

KOMATIREDDY, G.R. *et al.* Association of systemic lupus erythematosus and gluten enteropathy. **South Med Jour**, Geneva, v.88: p.673-676, 1995.

KOTZE, L.M.S. *et al.* Comparação dos anticorpos antirreticulina e antiendomíio classe IgA para diagnóstico e controle da dieta na doença celíaca. **Arq Gastroenterol**, São Paulo, v.36: p.177-184, 1999.

- KOTZE, L.M.S. *et al.* Antiendomysium antibodies in Brazilian patients with celiac disease and their first-degree relatives. **Arq Gastroenterol**, São Paulo, v.2: p.94-103, 2001.
- KOTZE, L.M.S. Doença celíaca. *In: Conduas em Gastroenterologia*. Federação Brasileira de Gastroenterologia, Rio de Janeiro, Ed. Revinter, p. 177-197, 2004a.
- KOTZE, L.M.S. Biópsia peroral do intestino delgado. *In: CASTRO, L.P.; COELHO, L.G.V. Gastroenterologia*. Rio de Janeiro. editora MEDSI: p:981-1000, 2004b.
- KUMAR, V.; RAJADHYASHA, M.; WORTSMAN, J. Celiac disease-associated autoimmune endocrinopathies. **Clin Diagn Lab Immunol**, Heidelberg, v.8: p.678-685, 2001.
- KWIECIEN, K. *et al.* Negative results of antiendomysial antibodies: long term follow up. **Arch Dis Child**, London, v.90: p.41-42, 2005.
- LADINSER, B.; ROSSIPAL, E.; PITTSCHIELER, K. Endomysium antibodies in celiac disease: an improved method. **Gut**, London, v.35: p.776-8, 1994.
- LARS, C. *et al.* Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.101: p.2333-2340, 2006.
- LASAGNI, D.; FERRARI, R.; LAPINI, M. Unmasking anti-endomysial antibodies in coeliac subjects positive for anti-smooth muscle antibodies. **Acta Pædiatr**, Oslo, v.88: p.462-4, 1999.
- LEE, S.K.; GREEN, P.H.R. Endoscopy in celiac disease **Curr Opin Gastroenterol**, London, v.21: p.589-594, 2005.
- LEFFLER, D.A.; KELLY, C.P. Update on the evaluation and diagnosis of celiac disease **Curr Opin Allergy Clin Immunol**, Philadelphia, v.6: p.191-196, 2006.
- LEON, F. *et al.* Anti-transglutaminase IgA Elisa: clinical potential and drawbacks in celiac disease diagnosis. **Scand J Gastroenterol**, Stockholm, v.3: p.849-853, 2001.
- LEPORE, L. *et al.* Prevalence of celiac disease in patients with juvenile chronic arthritis. **J Pediatr**, St. Louis, v.129: p.311-313, 1996.
- LINDQVIST, U. *et al.* IgA antibodies to gliadin and coeliac disease in psoriatic arthritis. **Rheumatology**, New York, v.41: p.31-37, 2002.
- LOCK, R.J.; UNSWORTH, D.J. Identifying immunoglobulin-a-deficient children and adults does not necessarily help the serologic diagnosis of coeliac disease. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, London, v.28, n.1: p.81-83, 1999.

- LOGAN, R. Celiac Disease – WGO – OMGE practice guideline. *World Gastroenterology News WGN*, USA, v.10, n.2: p.S1-8, 2005.
- LUBRANO, E. *et al.* The arthritis of coeliac disease. Prevalence and pattern in 200 adult patients. *Br J Rheumatol*, London, v.35: p.1314-1318, 1996.
- LUFT, L.M. *et al.* Autoantibodies to tissue transglutaminase in Sjögren's syndrome and related rheumatic diseases. *J Rheumatol*, Galveston, v.30: p.2613-2619, 2003.
- MÄKI, M. *et al.* Prevalence of celiac disease among children in Finland. *N Engl J Med*, Seattle, v.348: p.2517-2524, 2003.
- MANDAL, A.; MAYBERRY, M.R.C.P. How common is celiac disease in South America?. *Am J Gastroenterol*, Bethesda, v.95, n.3: p.579-580, 2000.
- MARAI, I. *et al.* IgA and IgG tissue transglutaminase antibodies in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, London, v.13: p.241-244, 2004.
- MARSH, M.N. Mucosal pathology in gluten sensitivity. *In*: MARSH, M.N. **Coeliac Disease**. Oxford: Blackwell Scientific Publications 1992, p.136-191.
- MASCAR-LEMONE F.; LAMBRECHTS A. Serology of coeliac disease: early diagnosis and therapeutic impact. *Acta Gastroenterol Belg*, Bruxelles, v.58: p.388-396, 1995.
- MATHER, K.J. *et al.* Prevalence of IgA-antiendomysial antibody in asymptomatic low bone mineral density. *Am J Gastroenterol*, Bethesda, v.96: p.120-125, 2001.
- MAURIÑO, E. *et al.* Azathioprine in refractory sprue: results from a prospective, open-label study *Am J Gastroenterol*, Bethesda, v.97, n.10: p.2595-2602, 2002.
- MEDEIROS, E.H. *et al.* Serum antigliadin antibodies in the diagnosis and follow-up of celiac disease. *Arq Gastroenterol*, São Paulo, v.31: p.154-158, 1994.
- MEIN, S.M.; LADABAUM, U. Serological testing for coeliac disease in patients with symptoms of irritable bowel syndrome: a cost-effectiveness analysis. *Aliment Pharmacol Ther*, Alexandria, v.19, n.11: p.1199-1210, 2004.
- MELO, S.B.C. *et al.* Prevalence and demographic characteristics of celiac disease among blood donors in Ribeirão Preto, state of São Paulo, Brazil. *Dig Dis Sci*, New York, v.51, n.5: p.1020-1025, 2006.
- MEYER, O. Is the celiac disease model relevant to rheumatoid arthritis? *Joint Bone Spine*, Philadelphia, v.71: p.4-6, 2004.
- MILLER, M.L. Clinical aspects of juvenile rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*, London, v.9: p.423-427, 1997.

MITCHISON, H.C. *et al.* A pilot study of fluticasone propionate in untreated coeliac disease. **Gut**, London, v.32: p.260-5, 1991.

MONDHER, Z. *et al.* Systemic lupus erythematosus with coeliac disease: a report of five cases. **Joint Bone Spine**, Philadelphia, v.71: p.344-346, 2004.

MUKAMEL, M. *et al.* Coeliac disease associated with systemic erythematosus lupus. **Isr J Med Sci**, Tel Aviv, v.30: p.656-658, 1994.

MULDER, C.J.J. Does treatment of coeliac disease require full mucosal recovery? **Rom J Gastroenterol**, Berlin, v.14, n.2: p.147-149, 2005.

NISIHARA, R.M. *et al.* Incidência da doença celíaca em pacientes com síndrome de Down. **Anais do V Congresso Brasileiro de Clínica Médica**. Curitiba. Tema livre n. 49, 2001.

NISIHARA, R.M. *et al.* Prevalência de doença celíaca na região sul do Brasil. **V Semana do Aparelho Digestivo**, [s.l.], 2002. Tema livre n.46.

NISIHARA, R.M. *et al.* Rheumatoid arthritis and anti-endomysial antibodies. **Acta Reum Port**, Lisboa, v. 32, p. 163-167, 2007.

NORRIS, J.M. *et al.* Timing of introduction of gluten into the infant diet is associated with the appearance of CDA in children at increased risk for the disease. **JAMA**, Chicago, v.293: p.2343-2351, 2410-2412, 2005.

NOT, T. *et al.* Anti-endomysium antibody on human umbilical cord vein tissue: an inexpensive and sensitive diagnostic tool for the screening of coeliac disease. **Eur J Pediatr**, Heidelberg, v.156: p.616-618, 1997.

OLDS, G. *et al.* Coeliac disease for the endoscopist. **Gastrointest Endosc**, Saint Louis, v.56: p.407-415, 2002.

O'LEARY, C. *et al.* Coeliac disease and irritable bowel-type symptoms. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.97: p.1463-11467, 2002.

OXENTENKO, A.S. *et al.* The insensitivity of endoscopic markers in coeliac disease. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.97: v.933-938, 2002.

PAIMELA, L. *et al.* Gliadin immune reactivity in patients with rheumatoid arthritis. **Clin Exp Rheumatol**, New York, v.13: p.603-7, 1995.

PAPARO, F. *et al.* Immunohistochemical features of children with positive serum antiendomysium antibodies and architecturally normal small intestinal mucosa. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.100: p.2294-2298, 2005.

PARKE, L. *et al.* Coeliac disease and rheumatoid arthritis. **Ann Rheum Dis**, Palo Alto, v.43: p.378-380, 1984.

- PICARELLI, A. *et al.* Gluten-sensitive disease with mild enteropathy. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.111: p.608-16, 1996.
- PIETZAK, M.M. Follow-up of patients with celiac disease: achieving compliance with treatment. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.128: p.S135–S141, 2005.
- POSEY, W.C. *et al.* The effects of acute corticosteroid therapy for asthma on serum immunoglobulin levels' **J Allergy Clin Immunol**, Saint Louis, v.62: p.340-348, 1978.
- PRATESI, R. *et al.* Prevalence of coeliac disease: unexplained age-related variation in the same population. **Scand J Gastroenterol**, Stockholm, v.38: p.747-750, 2003.
- RAMOS-REMUS, C.; BAHLAS, S.; VACA-MORALES, O. Rheumatic features of gastrointestinal tract, hepatic, and pancreatic diseases. **Curr Opin Rheumatol**, London, v.9: p.56-61, 1997.
- RANSFORD, R.A. *et al.* A controlled, prospective screening study of celiac disease presenting as iron deficiency anemia. **J Clin Gastroenterol**, New York, v.35, n.3: p.228-233, 2002.
- RAVELLI, A.; BOLOGNINI, S.; VILLANACCI, V. Variability of histologic lesions in relation to biopsy site in gluten-sensitive enteropathy. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.100: p.177-185, 2005.
- REINERTSEN, J.L. *et al.* Lymphocyte alloantigens associated with systemic lupus erythematosus. **New Engl J Med**, Seattle, v.299: p.515-8, 1978.
- RENSCH, M.J. *et al.* The prevalence of celiac disease autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.96: p.1113-1115, 2001.
- REWERS, M. Epidemiology of celiac disease: what are the prevalence, incidence, and progression of celiac disease? **Gastroenterology**, Philadelphia v.128: p.S47–S51, 2005.
- RICHTER, D. Celiac disease and IgA deficiency. **Allergy Clin Immunol**, Saint Louis, v. 15: p.191, 2004.
- RIENTE, L. *et al.* Antibodies to tissue transglutaminase and *Saccharomyces cerevisiae* in ankylosing spondylitis and psoriatic arthritis. **J Rheumatol**, Galveston, v.31, n.5: p.920-924, 2004.
- RODRIGO, L. Celiac disease. **World J Gastroenterol**, Toronto, v.12, n.41: p.6585-6593, 2006.
- ROLNY, P. *et al.* Role of immunosuppressive therapy in refractory sprue-like disease. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.94: p.219-25, 1999.

ROMALDINI, C.C.; BARBIERI, D. Anticorpos séricos na doença celíaca. **Arq Gastroenterol**, São Paulo, v.36, n.4: p.259-265, 1999.

ROSSI, T. Celiac disease. **Adolesc Med Clin**, Chicago, v.15:1 p.16-20, 2004.

ROSTAMI, K. *et al.* Sensitivity of antiendomysium and antigliadin antibodies in untreated celiac disease: disappointing in clinical practice. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.94: p.888-894, 1999.

ROSTAMI, K. *et al.* Coeliac disease in Middle Eastern countries: a challenge for the evolutionary history of this complex disorder? **Dig Liver Dis**, New York, v.36: p.694-697, 2004.

ROSTOM, A. *et al.* The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.128: p.S38-S46, 2005.

ROSTOM, A.; MURRAY, J.A.; KAGNOFF, M.F. American Gastroenterological Association (AGA). Institute Technical Review on the Diagnosis and Management of Celiac Disease. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.131: p1981-2002, 2006.

RUSTGI, A.K.; PEPPERCORN, M.A. Gluten-sensitive enteropathy and systemic lupus erythematosus. **Arch Intern Med**, Chicago, v.148: p.1583-1584, 1988.

SALMASO, C. *et al.* Comparison of ELISA for tissue transglutaminase autoantibodies with antiendomysium antibodies in pediatric and adult patients with celiac disease. **Allergy**, Copenhagen, v.56: p.544-547, 2001.

SANDERS, D.S. *et al.* Association of adult celiac disease with irritable bowel syndrome: a case control study in patients fulfilling Rome II criteria referred to secondary care. **Lancet**, London, v.358: p.1504-1508, 2001.

SANDERS, D.S. Celiac disease and IBS-type symptoms: the relationship exists in both directions. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.98: p.707-708, 2003.

SCHUPPAN, D. Current concepts of celiac disease pathogenesis. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.119: p.234-242, 2000.

SCHWARTZ, B.D. Antígenos leucocitários humanos (HLA) do complexo principal de histocompatibilidade. *In*: STITES, D.P.; TERR, A.I. **Imunologia Básica**. Editora Prentice-Hall do Brasil Ltda., Rio de Janeiro, 1992, p: 35-46.

SCHWERTZ, E. *et al.* Mothes serologic assay based on gliadin-related nonapeptides as a highly sensitive and specific diagnostic aid in celiac disease. **Clin Chem**, Washington, v.50, n.12: p.2370 – 2375, December 1, 2004.

SCOGLIO, R. *et al.* Is intestinal biopsy always needed for diagnosis of celiac disease? **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.98, n.6: p.1325-31, June 2003.

- SHAH, V.P. *et al.* All that scallops is not celiac disease. **Gastrointest Endosc**, Saint Louis, v.51, n.6: p.717- 720, 2000.
- SHAMIR, R. *et al.* The use of a single serological marker underestimates the prevalence of celiac disease in Israel: a study of blood donors. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.97: p.2589-2594, 2002.
- SILANO, M. *et al.* Delayed diagnosis of coeliac disease increases cancer risk and the collaborating centers of the Italian registry of the complications of coeliac disease **BMC Gastroenterology, Philadelphia**, London, v.7: p.8, 2007.
- SOLLID, L.V.; THORSBY, E. HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.105: p.910-922, 1993.
- SOOD, A. *et al.* Prevalence of celiac disease among school children in Punjab, North India **J Gastroenterol Hepatol**, Melbourne, v.21: p.1622–1625, 2006.
- SORELL, L. *et al.* Celiac disease diagnosis in patients with giardiasis: high value of antitransglutaminase antibodies. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.99, n.7: p.1330–1332, 2004.
- SPADARO, A. *et al.* Anti-tissue transglutaminase antibodies in inflammatory and degenerative arthropathies. **Reumatismo**, Milano, v.54: p.344-350. 2002.
- STAGI, S. *et al.* Thyroid function, autoimmune thyroiditis and coeliac disease in juvenile idiopathic arthritis. **Rheumatology**, New York, v.44: p.517-520, 2005.
- STENE, L.C. *et al.* Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.101: p.2333–2340, 2006.
- STERN, M. *et al.* Comparative evaluation of serologic tests for celiac disease: a european initiative toward standardization. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, London, v.31, n.5: p.513–519, November 2000.
- TALAL, A.H. *et al.* Celiac disease in an adult population with insulin-dependent diabetes mellitus: use of endomysial antibody testing. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.92, n.8: p.1280-1284, 1997.
- TANURE, M.G. **Prevalência de doença celíaca em pacientes com diabetes mellitus tipo I rastreados com anticorpos antigliadina**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais. 2002
- THIJS, W.J. *et al.* Duodenal versus jejunal biopsies in suspected celiac disease. **Endoscopy**, Baltimore, v.36, n.11: p.993-996, 2004.
- THORSBY, E. HLA associated diseases **Hum Immunol**, Philadelphia, v.53, p.1-11, 1997.

- TONUTTI, E. *et al.* The role of antitissue transglutaminase assay for the diagnosis and monitoring of celiac disease: a French-Italian multicentre study. **J Clin Pathol**, Thorofare, v.56: p.389-393, 2003.
- TREEM, W.R. Emerging concepts in celiac disease. **Curr Opin Pediatr**, London, v.16: p.552-559, 2004.
- TRONCON, L.E.A. Métodos de avaliação da estrutura e função do intestino delgado. *In*: CASTRO, L.P.; SAVASSI-ROCHA, P.R.; CUNHA-MELO, J.R. **Tópicos em Gastroenterologia 5**, Rio de Janeiro, Ed Medsi; 1994: p.75-91.
- TURSI, A.; BRANDIMARTE, G.; GIORGETTI, G.M. Prevalence of antitissue transglutaminase antibodies in different degrees of intestinal damage in celiac disease. **J Clin Gastroenterol**, New York, v.36: p.219-221, 2003.
- USAI, P. *et al.* Adult celiac disease is frequently associated with sacroiliitis. **Dig Dis Sci**, New York, v.40: p.1906-1908, 1995.
- UTYIAMA, S.R.R. *et al.* Spectrum of autoantibodies in celiac patients and relatives. **Dig Dis Sci**, New York, v.46: p.2624-2630, 2001.
- UTYIAMA, S.R.R.; REASON, I.U.J.T.M.; KOTZE, L.M.S. Aspectos genéticos e imunopatogênicos da doença celíaca: visão atual. **Arq Gastroenterol**, São Paulo, v.41, n.2: p.121-128, 2004.
- VARKEL, Y. *et al.* Simultaneous occurrence of systemic lupus erythematosus and coeliac disease-like features. **Postgrad Med J**, Minneapolis, v.65: p.600-602, 1989.
- VENTURA, A.; MAGAZZÚ, G.; GRECO, L. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 117: p.297-303, 1999.
- VILELA, E.G. *et al.* Agreement between pathologists concerning assessment of intestinal biopsies from adult celiac disease patients. **Gastroenterol Int**, Italy, v.15: p.1-8, 2002.
- VILELA, E.G. *et al.* Aspectos clínicos e histológicos de 34 casos de doença celíaca no adulto. **GED**, São Paulo, v.23, n.5: p.205-214, 2004.
- VILELA, E.G.; FERRARI, M.L.A. Doença celíaca do adulto: como diagnosticar? *In*: CASTRO, L.P.; SAVASSI-ROCHA, P.; CUNHA-MELO, J.R. **Tópicos em Gastroenterologia 14**, Rio de Janeiro, Ed. Medsi: p.267-283, 2004.
- VOGELSANG, H. *et al.* Screening for celiac disease: a prospective study on the value of noninvasive tests. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.90: p.394-397, 1995.
- VOLTA, U. *et al.* Antibodies to gliadin detected by immunofluorescence and a micro-ELISA method: markers of active childhood and adult coeliac disease. **Gut**, London, v. 26: p 667-671, 1985.

- VOLTA, U. *et al.* IgA anti-endomysial antibodies on human umbilical cord tissue for celiac disease screening save both money and monkeys. **Dig Dis Sci**, New York, v.40: p.1902-1905, 1995.
- VOLTA, U. *et al.* Celiac disease in autoimmune cholestatic liver disorders. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.97: p.2609-2613, 2002.
- WALKER-SMITH, J.A. *et al.* Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. **Arch Dis Child**, London, v. 65: p.909-911, 1990.
- WILLIAM, D.M.D. *et al.* Disappearance of endomysial antibodies in treated celiac disease does not indicate histological recovery. **Am J Gastroenterol**, Bethesda, v.95: p.712-714, 2000.
- ZIEGLER, T.R. *et al.* Severe villus atrophy and chronic malabsorption induced by azathioprine. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.124: p.1950-1957, 2003.
- ZINTZARAS, E.; GERMENIS, A. Performance of antibodies against tissue transglutaminase for the diagnosis of celiac disease: meta-analysis. **Clin Vaccine Immunol**, Amsterdam, v.13: p.187-192, 2006.
- ZIPSER, R.D. *et al.* Presentation of adult celiac disease in a nationwide patient support group. **Dig Dis Sci**, New York, v.48: p.761-764, 2003.

ANEXO E APÊNDICES

Anexo A – Parecer ético

Apêndice A – Termo de consentimento

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA CRIANÇAS)

PROJETO DE PESQUISA: PREVALÊNCIA DA DOENÇA CELÍACA EM PACIENTES DO AMBULATÓRIO DE REUMATOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFMG - BELO HORIZONTE – MG

RESPONSÁVEL PELO PROJETO: Curso de Pós-Graduação em Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da UFMG

INSTITUIÇÃO: Hospital das Clínicas da UFMG
COEP-UFMG: Av. Presidente Antônio Carlos 6627. TEL: 3499-4592

MÉDICO PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Dr Victor de Barros Koehne
CRMMG: 23747
ENDEREÇO: Av. Luís Paulo Franco 651, Belvedere, BH - TELEFONE: 3286-3643

NOME DO PACIENTE:

DOCUMENTO:

Declaro que em ____/____/____ fui informado que:

- 1- O estudo tem como objetivo identificar a presença de doença celíaca em pacientes do ambulatório de reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG. As pessoas que apresentam essa doença não devem ingerir alimentos que contenham trigo, centeio e cevada, podendo apresentar vários problemas de saúde quando não seguem uma dieta adequada, inclusive com o aparecimento de inflamação do intestino delgado, diminuição do crescimento e aumento do aparecimento de alguns tipos de câncer. Muitas vezes nem o paciente nem o seu médico sabem que esse problema está presente, já que os sintomas podem não ser muito evidentes. Quando o diagnóstico da doença é bem estabelecido, o tratamento consiste unicamente em seguir uma dieta que não contenha os cereais citados acima.
- 2- Se eu concordar com que minha criança participe do estudo, ela fará exames de sangue e, **apenas no caso deles indicarem suspeita dessa doença**, será submetida a endoscopia digestiva alta com biópsias e a colheita de biópsia intestinal por cápsula. O exame de endoscopia digestiva alta será feito após a colocação de um líquido para anestésiar sua garganta, sendo dada ainda uma injeção de calmante em sua veia para que ela durma. Em seguida, um aparelho será introduzido através de sua boca, a fim de se observarem as paredes do estômago e intestino delgado, e para a colheita de material. Para a biópsia intestinal por cápsula a criança

deverá engolir uma pequena cápsula de metal presa na extremidade de um fio, que é retirada pela boca, puxando-se esse fio, após a sua passagem para o intestino. O risco dos exames é muito pequeno, sendo citado um caso de complicação a cada 10.000 endoscopias digestivas altas, devendo-se, principalmente, ao uso excessivo de calmantes no preparo do paciente. A biópsia intestinal também pode apresentar complicações raramente, sendo os poucos casos de dor ou febre após o exame tratados com medicamentos para esses sintomas. No caso de qualquer complicação que decorrer desses exames, essa será tratada pelo médico que os realizou, ou seja, pelo pesquisador (Dr Victor Koehne), que poderá ser contactado pelo telefone acima. Da mesma forma, todas as orientações de tratamento e encaminhamento necessários serão providenciados pelo mesmo.

- 3- Todos os exames e consultas serão gratuitos para minha criança, sendo os resultados entregues com sua devida explicação, e com o tratamento necessário ou com o encaminhamento para tratamento com o médico adequado. Os dados obtidos serão mantidos em sigilo, servindo apenas para o tratamento e para pesquisa, assim como todos os materiais biológicos coletados (sangue, material de biópsia).
- 4- Eu não sou obrigado a continuar autorizando sua participação do projeto e posso, a qualquer momento, retirá-la do mesmo, sem que isso signifique que não será tratada como as outras crianças pacientes desse ambulatório.

Declaro que me sinto satisfeito com as informações dadas, e aceito que minha criança participe do estudo.

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____

Assinatura do médico que obteve o consentimento

(com carimbo)

Assinatura do responsável pelo paciente

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA ADOLESCENTES E CRIANÇAS MAIORES DE 10 ANOS)

PROJETO DE PESQUISA: PREVALÊNCIA DA DOENÇA CELÍACA EM PACIENTES DO AMBULATÓRIO DE REUMATOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFMG - BELO HORIZONTE – MG

RESPONSÁVEL PELO PROJETO: Curso de Pós-Graduação em Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da UFMG

INSTITUIÇÃO: Hospital das Clínicas da UFMG
Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) - UFMG: Av. Presidente Antônio Carlos 6627. TEL: 3499-4592

MÉDICO PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Dr Victor de Barros Koehne
CRMMG: 23747
ENDEREÇO: Av. Luís Paulo Franco 651, Belvedere, BH - TELEFONE: 3286-3643

NOME DO PACIENTE: _____

DOCUMENTO: _____

Declaro que em ____ / ____ / ____ fui informado que:

- 5- O estudo tem como objetivo identificar a presença de doença celíaca em pacientes do ambulatório de reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG. As pessoas que apresentam essa doença não devem ingerir alimentos que contenham trigo, centeio e cevada, podendo apresentar vários problemas de saúde quando não seguem uma dieta adequada, inclusive com o aparecimento de inflamação do intestino delgado, diminuição do crescimento e aumento do aparecimento de alguns tipos de câncer. Muitas vezes nem o paciente nem o seu médico sabem que esse problema está presente, já que os sintomas podem não ser muito evidentes. Quando o diagnóstico da doença é bem estabelecido, o tratamento consiste unicamente em seguir uma dieta que não contenha os cereais citados acima.
- 6- Se eu e meus pais ou responsáveis concordarmos em participar do estudo, farei exames de sangue e, **apenas no caso deles indicarem suspeita dessa doença**, serei submetido a endoscopia digestiva alta com biópsias e a colheita de biópsia intestinal por cápsula. O exame de endoscopia digestiva alta será feito após a colocação de um líquido para anestésiar minha garganta, sendo dada ainda uma injeção de calmante em minha veia para que eu durma. Em seguida, um aparelho será introduzido através de minha boca, a fim de se observarem as paredes do estômago e intestino delgado, e para a colheita de material. Para a biópsia intestinal por cápsula, deverei engolir uma pequena cápsula de metal presa na extremidade de um fio, que é retirada pela boca, puxando-se esse fio, após a sua passagem para o intestino. O risco dos exames é muito pequeno, sendo citado um caso de complicação a cada 10.000 endoscopias

digestivas altas, devendo-se, principalmente, ao uso excessivo de calmantes no preparo do paciente. A biópsia intestinal também pode apresentar complicações raramente, sendo os poucos casos de dor ou febre após o exame tratados com medicamentos para esses sintomas. No caso de qualquer complicação que decorrer desses exames, essa será tratada pelo médico que os realizou , ou seja, pelo pesquisador (Dr Victor Koehne), que poderá ser contactado pelo telefone acima. Da mesma forma, todas as orientações de tratamento e encaminhamento necessários serão providenciados pelo mesmo.

- 7- Todos os exames e consultas serão gratuitos para mim e meus pais, sendo os resultados entregues com sua devida explicação, e com o tratamento necessário ou com o encaminhamento para tratamento com o médico adequado. Os dados obtidos serão mantidos em sigilo, servindo apenas para o tratamento e para pesquisa, assim como todos os materiais biológicos coletados (sangue, material de biópsia).
- 8- Eu não sou obrigado a continuar participando do projeto e posso, a qualquer momento, sair do mesmo, sem que isso signifique que não serei tratado como os outros pacientes desse ambulatório.

Declaro que me sinto satisfeito com as informações dadas, e aceito participar do estudo.

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____

Assinatura do médico que obteve o consentimento

(com carimbo)

Assinatura do paciente

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA ADULTOS)

PROJETO DE PESQUISA: PREVALÊNCIA DA DOENÇA CELÍACA EM PACIENTES DO AMBULATÓRIO DE REUMATOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFMG - BELO HORIZONTE – MG

RESPONSÁVEL PELO PROJETO: Curso de Pós-Graduação em Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da UFMG

INSTITUIÇÃO: Hospital das Clínicas da UFMG

COEP-UFMG: Av. Presidente Antônio Carlos 6627. TEL: 3499-4592

MÉDICO PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Dr Victor de Barros Koehne
CRMMG: 23747

ENDEREÇO: Av. Luís Paulo Franco 651, Belvedere, BH - TELEFONE: 3286-3643

NOME DO PACIENTE: _____

DOCUMENTO: _____

Declaro que em ____/____/____ fui informado que:

- 9- O estudo tem como objetivo identificar a presença de doença celíaca em pacientes do ambulatório de reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG. As pessoas que apresentam essa doença não devem ingerir alimentos que contenham trigo, centeio e cevada, podendo apresentar vários problemas de saúde quando não seguem uma dieta adequada, inclusive com o aparecimento de inflamação do intestino delgado e aumento do aparecimento de alguns tipos de câncer. Muitas vezes nem o paciente nem o seu médico sabem que esse problema está presente, já que os sintomas podem não ser muito evidentes. Quando o diagnóstico da doença é bem estabelecido, o tratamento consiste unicamente em seguir uma dieta que não contenha os cereais citados acima.
- 10- Se eu aceitar em participar do estudo farei exames de sangue e, **apenas no caso deles indicarem suspeita dessa doença**, serei submetido a endoscopia digestiva alta com biópsias e a colheita de biópsia intestinal por cápsula. O exame de endoscopia digestiva alta será feito após a colocação de um líquido em minha garganta para anestesiá-la, sendo dado a mim também um calmante, que pode ser um comprimido ou injeção na veia. Em seguida, um aparelho será introduzido através de minha boca, a fim de se observarem as paredes do estômago e intestino delgado, e para a colheita de material. Para a biópsia intestinal por cápsula deverei engolir uma pequena cápsula de metal presa na extremidade de um fio, que é retirada pela boca, puxando-se esse fio, após a sua passagem para o intestino. Para esse exame não é necessária anestesia local, nem a tomada de calmantes. O risco dos exames é muito pequeno, sendo citado um caso de complicação a cada 10.000 endoscopias digestivas altas, devendo-se, principalmente, ao uso excessivo de calmantes no preparo do paciente. A

biópsia intestinal também pode apresentar complicações raramente, sendo os poucos casos de dor ou febre após o exame tratados com medicamentos para esses sintomas. No caso de qualquer complicação que decorrer desses exames, essa será tratada pelo médico que os realizou , ou seja, pelo pesquisador (Dr Victor Koehne), que poderá ser contactado pelo telefone acima. Da mesma forma, todas as orientações de tratamento e encaminhamento necessários serão providenciados pelo mesmo.

- 11-Todos os exames e consultas serão gratuitos para mim, sendo os resultados entregues com sua devida explicação, e com o tratamento necessário ou com o encaminhamento para tratamento com o médico adequado. Os dados obtidos serão mantidos em sigilo, servindo apenas para meu tratamento e para pesquisa, assim como todos os materiais biológicos coletados (sangue, material de biópsia).
- 12-Eu não sou obrigado a continuar participando do projeto e posso, a qualquer momento, sair do mesmo sem que isso signifique que não serei tratado como os outros pacientes desse ambulatório.

Declaro que me sinto satisfeito com as informações dadas, e estou de acordo em participar do estudo.

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____

Assinatura do médico que obteve o consentimento

(com carimbo)

Assinatura do paciente

Apêndice B – Protocolo de pesquisa

PROTÓCOLO: Pesquisa de anticorpos da doença celíaca em pacientes do Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas – UFMG

Pós Graduação em Gastroenterologia

Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais – Belo Horizonte

IDENTIFICAÇÃO:

Caso nº: _____ Registro: _____ Data
atendimento: ___/___/___

Médica: Dra. _____

Nome do paciente: _____

Data nasc: ___/___/___ **Naturalidade:** _____ **Sexo:** _____

Profissão: _____ **Identidade:** _____

Endereço: _____

Tels: 1) _____ 2) _____

DOENÇA REUMATOLÓGICA: DATA DO DIAGNÓSTICO: ___/___/___

Lúpus eritematoso sistêmico ()

Artrite reumatóide ()

Artrite reumatóide juvenil ()

Espondiloartropatias

- Espondilite anquilosante ()

- Síndrome de Reiter ()

- Artrites reativas (outras) ()

- Artrite psoriásica ()

- Enteroartropatias: Doença de Crohn () Retocolite ulcerativa ()

- Espondiloartropatias indiferenciadas ()

USO ATUAL DE MEDICAMENTOS PARA TRATAMENTO DA DOENÇA
REUMATOLÓGICA:

S__(ESPECIFICAR)

N__

OUTROS MEDICAMENTOS :

N__ Ignorado_____

S__(ESPECIFICAR:_____)

EXAMES SOROLÓGICOS PARA DOENÇA CELÍACA:

Anticorpos Antigliadina IgA:_____ IgG_____ DATA: __/__/____

Anticorpos Antiendomísio IgA:_____ DATA: __/__/____

Anticorpos Antitransglutaminase tecidual_IgA:_____ DATA: __/__/____

IgA: _____ DATA: __/__/____

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	
1	NUMERO	SORO	RGHC	DATANASC	DATAEXAM	SEXO	BIOPSIA	HIPOTROFIA	AGAA	AGAG	END2.5	END5	END40	DIAGCOD	DIAGCOD2	MEDICACAO	MEDIC2	MEDIC3	
2	832	2704	608053	5/6/1951	13/4/2006	F	2	2	0,008	0,055	2	0	0	2	2	2	2	2	4
3	1005	2706	384230	28/3/1952	13/4/2006	F	2	2	0,076	0,077	2	0	0	2	2	8	1	3	
4	1109	2812	626765	27/8/1964	18/5/2006	F	2	2	0,021	0,02	7	2	5	3	3	9	2	4	
5	1110	2813	626639	25/1/1948	18/5/2006	F	2	2	0,042	0,088	7	2	5	3	3	4	2	4	
6	1112	2815	558067	4/10/1953	18/5/2006	M	2	2	0,018	0,029	2	0	0	3	3	9	2	3	
7	1115	2817	694051	14/4/1962	18/5/2006	F	1	1	0,021	0,021	7	2	4	3	3	3	2	4	
8	1163	2707	32186	17/7/1951	13/4/2006	F	2	2	0,022	0,02	2	0	0	2	2	13	2	4	
9	2025	2435	635875	8/8/1979	10/11/2005	M	2	2	0,021	0,001	1	2	5	5	5	4	2	4	
10	2032	2781	736491	18/4/1964	18/5/2006	M	2	2	0,011	0,018	7	7	5	5	5	1	1	3	
11	2035	2784	631142	6/8/1982	18/5/2006	M	2	2	0,012	0,02	2	0	0	5	5	4	2	4	
12	2036	2785	667420	8/7/2000	18/5/2006	M	2	2	0,018	0,029	2	0	0	4	4	4	2	4	
13	2041	2790	694179	15/3/1961	18/5/2006	F	2	2	0,02	0,038	7	7	5	2	2	2	2	4	
14	2042	2791	421873	18/6/1964	18/5/2006	F	2	2	0,012	0,022	2	0	0	2	2	8	1	3	
15	2043	2792	469789	18/9/1935	18/5/2006	F	2	2	0,019	0,017	2	0	0	3	3	8	1	3	
16	2050	2799	348059	21/5/1948	18/5/2006	M	2	2	0,016	0,02	7	7	5	3	3	4	2	4	
17	2059	2808	433292	2/3/1955	18/5/2006	F	2	2	0,026	0,021	7	2	5	3	3	2	2	4	
18	2062	2811	743395	24/8/1980	18/5/2005	M	2	2	0,013	0,017	7	2	5	5	5	1	1	3	
19	2065	2820	513723	3/1/1976	18/5/2006	F	2	2	0,006	0,01	1	7	5	2	2	2	2	4	
20	2068	2823	100642	14/6/1947	18/5/2006	M	2	2	0,016	0,013	2	0	0	5	5	12	1	3	
21	2082	2708	266539	29/11/1941	13/4/2006	F	2	2	0,021	0,057	2	0	0	3	3	2	2	3	
22	2083	2709	559211	14/9/1951	13/4/2006	F	2	2	0,018	0,057	2	0	0	3	3	2	2	4	
23	2086	2712	561534	16/9/1953	13/4/2006	F	2	2	0,038	0,042	7	2	5	2	2	9	2	4	
24	2089	2714	617111	24/9/1964	13/4/2006	F	2	2	0,008	0,028	2	0	0	2	2	13	2	4	
25	2090	2715	762056	28/9/1959	13/4/2006	F	1	1	0,026	0,037	1	2	4	2	2	9	2	3	
26	2091	2716	619989	26/10/1977	13/4/2006	F	2	2	0,009	0,03	2	0	0	2	2	12	1	3	
27	2093	2718	605343	20/12/1955	13/4/2006	F	2	2	0,021	0,041	7	2	5	2	2	4	2	4	
28	2095	2720	677644	25/12/1950	13/4/2006	F	2	2	0,007	0,039	7	2	5	3	3	4	2	4	
29	2096	2721	681609	7/8/1983	13/4/2006	F	2	2	0,003	0,032	2	0	0	2	2	9	2	4	
30	2097	2722	216389	30/1/1983	13/4/2006	F	2	2	0,016	0,017	2	0	0	4	4	1	1	3	
31	2098	2723	416384	30/3/1984	13/4/2006	M	2	2	0,013	0,019	2	0	0	2	2	13	2	4	
32	2100	2725	687194	4/6/1975	13/4/2006	M	2	2	0,014	0,035	7	2	5	2	2	8	1	3	
33	2101	2726	785309	30/10/1959	13/4/2006	F	2	2	0,021	0,032	2	0	0	3	3	4	2	4	
34	2103	2728	660450	11/8/1966	13/4/2006	F	2	2	0,002	0,04	2	0	0	3	3	3	2	4	
35	2104	2729	404794	8/7/1956	13/4/2006	M	2	2	0,03	0,046	7	2	5	5	5	1	1	3	
36	2108	2734	630612	14/5/1997	13/4/2006	F	2	2	0,019	0,064	7	2	5	4	4	4	2	4	
37	2112	2738	315191	17/3/1955	13/4/2006	F	2	2	0,027	0,046	7	7	5	2	2	16	2	4	
38	2114	2740	640683	28/11/1983	13/4/2006	F	2	2	0,028	0,109	7	2	5	2	2	2	2	4	
39	2117	2742	5099	1/8/1952	13/4/2006	F	2	2	0,016	0,026	1	2	5	2	2	9	2	3	
40	2128	2753	475188	18/7/1976	13/4/2006	F	2	2	0,011	0,031	7	2	5	2	2	13	2	4	
41	2133	2758	675219	4/12/1978	13/4/2006	F	2	2	0,024	0,163	1	1	5	2	2	2	2	4	
42	2135	2760	457116	22/9/1949	13/4/2006	F	2	2	0	0,019	2	0	0	3	3	4	2	4	
43	2136	2761	661889	18/7/1964	13/4/2006	F	2	2	0,001	0,023	1	1	5	2	2	4	2	4	
44	2139	2764	581072	4/3/1973	13/4/2006	F	2	2	0	0,013	2	0	0	2	2	9	2	3	
45	2140	2765	574077	2/6/1960	13/4/2006	F	2	2	0,003	0,019	1	1	5	3	3	2	2	3	
46	2141	2766	620159	7/5/1983	13/4/2006	F	2	2	0,018	0,025	7	7	5	2	2	9	2	4	
47	2142	2767	629280	5/5/1973	13/4/2006	F	2	2	0,001	0,011	1	1	5	2	2	9	2	4	
48	2144	2769	614568	3/2/1993	13/4/2006	M	2	2	0	0,013	1	1	5	4	4	4	2	4	
49	2147	2772	466785	22/3/1939	13/4/2006	F	2	2	0,008	0,035	1	1	5	5	5	1	1	3	
50	2150	2775	545506	29/1/1968	13/4/2006	F	2	2	0	0,01	2	0	0	2	2	14	2	4	
51	2162	2846	685630	26/11/1996	22/6/2006	M	2	2	0,028	0,076	2	0	0	4	4	2	2	4	
52	2176	2860	272748	18/7/1957	22/6/2006	F	2	2	0,002	0,011	7	2	5	3	3	4	2	4	
53	2177	2861	687167	26/10/1959	22/6/2006	F	2	2	0,001	0,005	2	0	0	2	2	4	2	4	
54	2183	2868	363219	9/7/1932	22/6/2006	F	2	2	0,006	0,002	7	2	5	5	5	1	1	3	
55	2185	2870	785309	17/4/1973	22/6/2006	F	2	2	0,004	0,002	1	2	5	2	2	12	1	3	
56	2189	2874	4378	2/12/1938	22/6/2006	F	2	2	0,002	0,016	7	2	5	3	3	13	2	4	
57	2191	2876	578395	6/7/1981	22/6/2006	F	2	2	0,005	0,003	2	0	0	2	2	9	2	4	
58	2194	2879	479785	17/12/1938	27/6/2006	F	2	2	0,011	0,016	7	2	5	5	10	12	1	3	
59	2197	2882	653227	13/9/1977	27/6/2006	F	2	2	0,005	0,01	2	0	0	3	3	4	2	4	

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
60	2199	2884	576875	8/5/1956	27/6/2006	M	2	2	0.007	0.018	2	0	0	5	10	1	1	3
61	2200	2885	638337	9/11/1949	27/6/2006	F	2	2	0.017	0.032	1	2	5	3	3	3	2	4
62	2202	2887	520979	6/1/1963	27/6/2006	M	2	2	0.004	0.018	2	0	0	2	2	2	2	3
63	2209	2894	591565	15/4/1967	27/6/2006	F	2	2	0	0.027	2	0	0	2	2	13	2	4
64	2213	2898	310545	27/2/1953	27/6/2006	F	2	2	0.009	0.02	7	7	4	5	5	1	1	3
65	2219	2904	143808	12/8/1952	27/6/2006	M	2	2	0.025	0.021	7	2	4	5	5	1	1	3
66	2220	2905	160982	1/2/1964	27/6/2006	M	2	2	0.011	0.031	1	2	5	5	5	2	2	4
67	2223	2908	639721	9/9/1935	27/6/2006	F	2	2	0.006	0.005	7	2	5	3	3	4	2	4
68	2224	2909	599627	12/3/1971	27/6/2006	F	2	2	0.007	0.016	2	0	0	2	2	9	2	4
69	2225	2910	478968	19/4/1957	27/6/2006	M	2	2	0.016	0.01	2	0	0	5	5	1	1	3
70	2228	2913	562907	24/4/1935	27/6/2006	M	2	2	0.005	0.026	2	0	0	5	5	1	1	3
71	2229	2914	344163	22/3/1943	27/6/2006	F	2	2	0.006	0.021	2	0	0	2	2	2	2	3
72	2233	2918	114488	19/12/1952	27/6/2006	F	2	2	0.002	0.011	2	0	0	5	5	2	2	4
73	2234	2919	572169	15/3/1990	27/6/2006	F	2	2	0.007	0.014	2	0	0	4	4	4	2	4
74	2238	2923	214846	30/3/1954	13/7/2006	F	2	2	0.004	0.008	2	0	0	3	3	8	1	3
75	2241	2926	657399	18/2/1932	13/7/2006	M	2	2	0.005	0.004	7	7	5	3	3	4	2	4
76	2242	2927	238981	20/2/1965	13/7/2006	F	2	2	0.019	0.148	2	0	0	3	3	6	2	4
77	2243	2928	473851	15/7/1979	13/7/2006	F	2	2	0.003	0.01	2	0	0	2	2	2	2	3
78	2245	2930	453452	22/3/1960	13/7/2006	M	2	2	0.011	0.023	2	0	0	5	8	1	1	3
79	2247	2932	664291	30/6/1972	13/7/2006	M	2	2	0	0.001	7	2	5	5	10	2	2	4
80	2254	2939	18229	19/12/1948	13/7/2006	F	1	1	0.03	0.01	1	7	4	3	3	2	2	3
81	2255	2940	628490	16/12/1948	13/7/2006	F	2	2	0.006	0.07	7	7	5	3	3	3	2	4
82	2258	2943	445340	27/4/1961	13/7/2006	F	2	2	0.014	0.006	2	0	0	2	2	13	2	4
83	2260	2945	680803	16/5/1995	13/6/2006	F	2	2	0.001	0.03	2	0	0	4	4	3	2	4
84	2283	2454	328381	5/4/1966	10/11/2005	F	2	2	0.001	0	2	0	0	2	2	2	2	3
85	2289	2460	255686	30/7/1966	10/11/2005	F	2	2	0.003	0.005	2	0	0	2	2	8	1	3
86	2290	2461	787569	8/7/1987	10/11/2005	F	2	2	0	0.018	2	0	0	2	2	9	2	3
87	2295	2466	300705	2/1/1964	10/11/2005	F	2	2	0	0.028	2	0	0	2	2	2	2	3
88	2304	2475	496671	6/6/1979	10/11/2005	F	2	2	0.008	0.002	7	7	5	2	2	13	2	4
89	2309	2480	532025	5/2/1983	15/12/2006	F	2	2	0.012	0.008	2	0	0	2	2	4	2	4
90	2311	2482	640024	18/10/1974	10/11/2005	F	2	2	0.005	0.011	7	7	5	2	2	2	2	4
91	2320	2491	554991	24/10/1960	15/12/2006	F	2	2	0.005	0.001	2	0	0	5	8	4	2	4
92	2339	2510	768549	10/11/1983	28/12/2005	F	2	2	0.021	0.033	2	0	0	2	2	9	2	3
93	2341	2512	576003	5/5/1970	1/12/2005	F	2	2	0.002	0	2	0	0	2	2	12	1	3
94	2343	2514	731754	16/1/1984	1/12/2005	M	2	2	0.021	0.002	2	0	0	2	2	13	2	4
95	2345	2516	517702	27/7/1967	1/12/2005	F	2	2	0.001	0.003	7	7	5	2	2	16	2	4
96	2347	2518	581802	30/3/1998	1/12/2005	F	2	2	0.006	0.019	7	2	5	4	4	4	2	4
97	2350	2521	782162	29/5/1987	1/12/2005	F	2	2	0.005	0.001	7	2	5	2	2	7	2	4
98	2352	2523	439916	2/5/1973	1/12/2005	F	2	2	0.009	0.012	1	1	5	2	2	9	2	4
99	2354	2525	364562	29/7/1957	1/12/2005	M	2	2	0.013	0.017	2	0	0	5	5	1	1	3
100	2364	2535	655994	7/8/1929	27/12/2005	F	2	2	0.002	0.002	2	0	0	3	3	4	2	4
101	2371	2542	653990	3/10/1959	27/12/2005	M	2	2	0.009	0.006	7	7	5	3	3	4	2	4
102	2382	2553	691158	13/10/1962	27/12/2005	F	2	2	0.014	0.013	7	2	5	3	3	3	2	4
103	2387	2558	796527	8/2/2004	27/12/2005	M	2	2	0.006	0.004	2	0	0	4	4	2	2	3
104	2393	2564	161303	31/1/1933	27/12/2005	F	2	2	0.012	0.034	7	2	5	3	3	3	2	4
105	2401	2572	89365	28/12/1952	27/12/2005	F	2	2	0.007	0.027	2	0	0	3	3	2	2	3
106	2403	2574	276744	10/5/1981	27/12/2005	F	2	2	0.006	0.054	2	0	0	2	2	18	2	4
107	2405	2576	394127	12/5/1969	25/1/2006	F	1	1	0.011	0.016	1	1	4	2	2	8	1	3
108	2413	2584	572617	9/1/1990	25/1/2006	M	2	2	0.003	0.006	7	2	5	4	4	4	2	4
109	2416	2587	809765	28/9/1968	25/1/2006	M	2	2	0.008	0.01	7	2	5	5	5	1	1	3
110	2419	2590	211988	13/9/1962	25/1/2006	F	1	1	0.014	0.012	1	7	4	5	5	1	1	3
111	2425	2596	665951	8/5/2001	25/1/2006	M	2	2	0.014	0.012	2	0	0	4	4	4	2	4
112	2426	2597	4364	9/1/1977	25/1/2006	F	2	2	0.007	0.007	7	2	5	5	5	4	2	4
113	2431	2602	575834	30/4/1972	25/1/2006	F	2	2	0.032	0.001	1	7	5	5	5	2	2	4
114	2437	2609	472538	17/5/1953	25/1/2006	F	2	2	0.002	0.007	2	0	0	5	10	4	2	4
115	2462	2634	337934	6/5/1948	23/2/2006	F	2	2	0.015	0.001	7	2	5	2	2	9	2	3
116	2470	2642	699736	11/12/1952	23/2/2006	F	2	2	0.007	0	1	2	5	3	3	4	2	4
117	2475	2647	700595	31/1/1983	14/12/2006	F	2	2	0	0.004	2	0	0	5	8	4	2	4
118	2477	2649	602510	8/3/1996	23/2/2006	F	2	2	0.006	0	7	2	5	4	4	2	2	4

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
119	2478	2650	683134	5/9/1982	23/2/2006	F	2	2	0.002	0.005	7	7	5	2	2	4	2	4
120	2481	2653	739481	29/10/1953	23/2/2006	F	2	2	0.008	0.002	2	0	0	3	3	6	2	4
121	2482	2654	739102	19/10/1946	23/2/2006	M	2	2	0.014	0.014	2	0	0	5	5	1	1	3
122	2486	2658	735865	4/5/1957	23/2/2006	M	1	1	0.021	0.002	7	7	4	5	5	1	1	3
123	2489	2661	256778	17/1/1954	23/3/2006	M	2	2	0.024	0.021	7	2	5	5	8	4	2	4
124	2490	2662	127527	10/11/1976	23/3/2006	F	2	2	0.022	0.02	7	7	5	2	2	9	2	4
125	2491	2663	734194	13/1/1979	23/3/2006	M	2	2	0.023	0.025	2	0	0	5	7	4	2	4
126	2522	2694	738484	28/9/1970	23/3/2006	F	2	2	0.013	0.021	7	7	5	2	2	15	2	4
127	2525	2697	278185	25/6/1951	23/3/2006	F	2	2	0.011	0.028	7	7	5	3	3	9	2	4
128	2527	2699	811491	25/3/1965	23/3/2006	M	2	2	0.016	0.052	7	7	5	5	5	1	1	3
129	2529	2701	815395	5/3/1983	23/3/2006	M	2	2	0.01	0.078	7	2	5	5	10	4	2	4
130	2566	2956	444223	7/11/1931	26/7/2006	F	2	2	0.005	0.019	2	0	0	3	3	4	2	4
131	2574	2964	556765	3/1/1976	26/7/2006	M	2	2	0.006	0.018	2	0	0	2	2	11	2	4
132	2577	2967	11302	18/7/1941	26/7/2006	F	2	2	0.012	0.04	2	0	5	3	3	4	2	4
133	2580	2970	441808	26/5/1964	26/7/2006	F	2	2	0.017	0.043	1	7	5	3	3	5	2	4
134	2593	2983	476506	14/6/1970	25/7/2006	M	2	2	0.016	0.042	2	0	0	5	10	1	1	3
135	2595	2985	149941	12/3/1972	25/7/2006	F	2	2	0.005	0.011	7	2	5	2	2	13	2	4
136	2597	2987	701562	22/11/1945	25/7/2006	M	2	2	0.007	0.013	2	0	0	5	8	12	1	3
137	2598	2988	815678	3/10/1978	25/7/2006	F	2	2	0.012	0.031	2	0	0	3	3	4	2	4
138	2599	2971	557719	28/8/1965	25/7/2006	F	2	2	0.023	0.026	2	0	0	2	2	7	2	4
139	2603	2975	574423	14/11/1975	25/7/2006	F	2	2	0.037	0.011	1	7	5	2	2	2	2	4
140	2607	2979	544918	17/4/1987	25/7/2006	F	2	2	0.009	0.021	2	0	0	4	4	4	2	4
141	2611	2991	652003	26/4/1973	30/8/2006	F	2	2	0.007	0.197	2	0	0	5	9	11	2	4
142	2612	2992	738283	4/11/1992	30/8/2006	M	2	2	0	0.076	2	0	0	4	4	3	2	4
143	2614	2994	134537	19/2/1949	30/8/2006	F	2	2	0.003	0.032	2	0	0	3	3	4	2	4
144	2619	2999	647856	7/12/1955	30/8/2006	F	2	2	0.008	0.038	2	0	0	3	3	4	2	4
145	2623	3003	605509	10/9/1949	30/8/2006	F	1	1	0.004	0.025	1	7	4	3	3	3	2	4
146	2625	3005	808288	8/5/1996	30/8/2006	M	2	2	0.002	0.012	2	0	0	4	4	4	2	4
147	2628	3008	725484	24/11/1930	30/8/2006	F	2	2	0.001	0.067	1	2	5	5	8	4	2	4
148	2629	3009	729805	5/7/1976	30/8/2006	F	2	2	0.006	0.011	2	0	0	5	5	4	2	4
149	2633	3013	633737	25/4/1997	30/8/2006	F	2	2	0.035	0.029	2	0	0	4	4	4	2	4
150	2636	3016	18588	22/9/1971	30/8/2006	F	2	2	0	0.009	2	0	0	5	5	4	2	4
151	2637	3017	245934	12/11/1943	30/8/2006	F	2	2	0.102	0.062	2	0	0	3	3	4	2	4
152	2640	3020	456517	25/10/1955	30/8/2006	M	1	1	0.029	0.018	7	7	4	3	3	4	2	4
153	2653	3033	677426	27/9/1966	6/9/2006	F	1	1	0.023	0.004	3	3	4	2	2	8	1	3
154	2654	3034	248262	1/6/1952	6/9/2006	F	2	2	0.018	0.013	7	2	5	3	3	4	2	4
155	2685	3065	696079	8/11/2000	6/9/2006	F	2	2	0.003	0.011	1	2	5	4	4	10	2	4
156	2698	3078	437380	10/1/1952	6/9/2006	F	2	2	0.007	0.009	7	7	5	3	3	3	2	4
157	2699	3079	621284	8/4/1980	6/9/2006	F	2	2	0.005	0.027	7	7	5	3	3	10	2	4
158	2708	3088	640731	26/6/1936	6/9/2006	F	2	2	0.011	0.004	7	7	5	3	3	1	1	3
159	2710	3090	562617	1/6/1994	6/9/2006	F	2	2	0.002	0.012	2	0	0	4	4	1	1	3
160	2711	3091	525585	7/2/1968	4/10/2006	F	2	2	0.011	0.019	2	0	0	2	2	9	2	3
161	2713	3093	585390	6/6/1996	6/9/2006	M	2	2	0.002	0	2	0	0	4	4	1	1	3
162	2715	3095	710553	25/2/1993	4/10/2006	M	2	2	0.051	0.033	2	0	0	4	4	3	2	4
163	2740	3120	815945	9/6/1989	4/10/2006	F	2	2	0	0.033	2	0	0	4	4	9	2	4
164	2746	3127	675329	10/8/1972	1/11/2006	M	2	2	0.003	0.024	7	2	5	5	5	1	1	3
165	2750	3131	128013	3/5/1972	1/11/2006	M	2	2	0.037	0.003	2	0	0	3	3	3	2	4
166	2752	3133	634521	6/11/1985	1/11/2006	F	2	2	0.024	0.019	7	7	5	4	4	4	2	4
167	2756	3137	299320	17/2/1986	1/11/2006	F	2	2	0	0.02	7	2	5	4	4	4	2	4
168	2758	3139	645929	9/9/1975	1/11/2006	F	2	2	0	0.019	7	2	5	2	2	13	2	4
169	2761	3142	615923	25/10/1989	1/11/2006	F	2	2	0	0.011	2	0	0	4	4	2	2	4
170	2766	3147	692669	8/6/1975	1/11/2006	F	2	2	0.018	0.001	2	0	0	4	4	2	2	3
171	2775	3126	361978	16/5/1988	1/11/2006	M	2	2	0.004	0.009	2	0	0	4	4	12	1	3
172	2776	3157	134246	24/1/1968	1/11/2006	M	2	2	0.003	0.017	2	0	0	2	2	11	2	4
173	2798	3179	728427	17/2/1971	1/11/2006	F	2	2	0	0.083	7	7	5	3	3	2	2	4
174	2805	3187	684844	16/12/1997	23/11/2006	F	2	2	0	0.046	2	0	0	4	4	12	1	3
175	2807	3189	377556	20/11/1949	23/11/2006	F	2	2	0.016	0.021	7	2	5	2	2	1	1	3
176	2813	3195	332248	30/8/1957	23/11/2006	F	2	2	0.002	0.019	7	2	5	2	2	2	2	4
177	2814	3196	331924	22/12/1967	23/11/2006	F	2	2	0	0.004	7	2	5	2	2	8	1	3

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
178	2825	3207	433928	6/1/1948	23/11/2006	F	2	2	0,034	0,039	1	2	5	3	3	17	2	4
179	2829	3211	773582	16/12/2001	23/11/2006	F	2	2	0,001	0,008	2	0	0	4	4	8	1	3
180	2842	3224	445970	28/11/1992	13/12/2006	M	2	2	0,013	0,029	1	1	5	4	4	3	2	4
181	2854	3236	104560	3/8/1948	13/12/2006	F	2	2	0,001	0,009	2	0	0	2	2	13	2	4
182	2863	3245	728718	17/3/2000	23/1/2007	M	2	2	0,005	0,031	2	0	0	4	4	4	2	4
183	2873	3255	432385	23/10/1975	23/1/2007	F	2	2	0,003	0,007	7	2	0	2	2	8	1	3
184	2887	3269	734294	17/6/2000	23/1/2007	F	2	2	0,008	0,018	1	1	5	4	4	4	2	4
185	2888	3270	366965	7/4/1965	23/1/2007	F	2	2	0,013	0,022	2	0	0	2	2	9	2	3
186	2889	3271	523517	27/4/1959	23/1/2007	F	2	2	0	0,013	2	0	0	2	2	9	2	4
187	2890	3272	600321	6/12/1977	23/1/2007	F	2	2	0,019	0,007	7	2	5	2	2	16	2	4
188	2975	3358	774239	5/5/1998	6/3/2007	F	2	2	0	0,013	2	0	0	4	4	3	2	4
189	2991	3374	450971	24/10/1963	27/10/2006	F	2	2	0,008	0,009	7	1	5	2	2	4	2	4
190	2999	3382	310152	7/2/1978	27/3/2007	M	2	2	0,005	0,011	2	0	0	5	5	1	1	3
191	3002	3385	574132	13/6/1952	27/3/2007	F	2	2	0,005	0,019	2	0	0	5	5	1	1	3

BIOPSIA

- 1 REALIZADA
- 2 NÃO REALIZADA

END2.5 E TAMBÉM END5

ANTIENDOMÍCIO NAS DILUIÇÕES 1:2,5 E 1:5, RESPECTIVAMENTE

- 1 POSITIVO
- 2 NEGATIVO
- 3 PADRÃO ANTI-MÚSCULO LISO
- 7 FRACO POSITIVO
- 0 NÃO REALIZADO

END40

ANTIENDOMÍCIO NA DILUIÇÃO 1:40 :

- 4 POSITIVO
- 6 PADRÃO ANTI-MÚSCULO LISO
- 5 NEGATIVO
- 0 NÃO REALIZADO (NEGATIVO NA DILUIÇÃO 1:2,5)

MEDICAÇÃO

- 1 AINE(APENAS)
- 2 PREDNISONA(PDN)
- 3 METOTREXATO(MTX)
- 4 METOTREXATO + PREDNISONA
- 5 LEFLUNOMIDE(LFN)
- 6 LEFLUNOMIDE + PREDNISONA
- 7 METOTREXATO+PREDNISONA+DIFOSFATO CLOROQUINA(DFC)
- 8 DIFOSFATO CLOROQUINA(DFC)
- 9 DIFOSFATO CLOROQUINA(DFC)+PREDNISONA
- 10 DIFOSFATO CLOROQUINA(DFC)+METOTREXATO
- 11 AZATIOPRINA
- 12 SEM MEDICAÇÃO
- 13 AZATIOPRINA+PREDNISONA
- 14 MICOFENOLATO MOFETIL
- 15 CICLOFOSFAMIDA
- 16 CICLOFOSFAMIDA+PREDNISONA
- 17 DIFOSFATO DE CLOROQUINA+METOTREXATO+LEFLUNOMIDA
- 18 AZATIOPRINA+PREDNISONA+ DIFOSFATO CLOROQUINA

HIPOTROFIA

- 1 AUSENTE
- 2 NÃO AVALIADA
- 5 PRESENTE

DIAGCOD

- 2 LUPUS
- 3 ARTRITE REUMATOIDE
- 4 ARTRITE REUMATOIDE JUVENIL
- 5 ESPONDILOARTROPATIA

DIAGCOD2

- 2 LUPUS
- 3 ARTRITE REUMATÓIDE
- 4 ARTRITE REUMATÓIDE JUVENIL
- 5 ESPONDILITE ANQUILOSANTE
- 6 SINDROME DE REITER
- 7 ARTRITES REATIVAS (OUTRAS)
- 8 ARTRITE PSORIÁTICA
- 9 ENTEROARTROPATIAS (CROHN, RCU)
- 10 ESPOND. INDIFERENCIADAS

AGAA

ANTIGLIADINA A:LEITURA OPTICA (VALOR NUMÉRICO)

AGAG

ANTIGLIADINA G: LEITURA OPTICA (VALOR NUMÉRICO)

MEDIC2

- 1 USO DE AINE E/OU DFC
- 2 OUTRAS MEDICAÇÕES

MEDIC3

- 3 USO DE AINE E/OU DFC E/OU PDN<=5 MG
- 4 USO DE IMUNOSSUPRESSOR E/OU PDN> 5 MG