

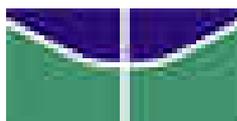
Universidade de Brasília
Faculdade de Medicina
Curso de Pós-Graduação em Medicina

ESTUDO DA PREVALÊNCIA DA DOENÇA CELÍACA EM PACIENTES COM
SÍNDROME DE TURNER

Maria do Carmo Sorci Dias

Brasília

2007



Universidade de Brasília

Faculdade de Medicina

Curso de Pós-Graduação em Medicina

PREVALÊNCIA DA DOENÇA CELÍACA EM PACIENTES COM SÍNDROME DE TURNER

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Medicina da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

MARIA DO CARMO SORCI DIAS

Orientador: Prof. Riccardo Pratesi

Brasília

2007

Dias, Maria do Carmo Sorci

Prevalência da Doença Celíaca em Pacientes com Síndrome de Turner / Maria do Carmo Sorci Dias. Brasília, Faculdade de Medicina, 2007.

Xviii, 126 p. il.

Orientador: Prof. Dr. Riccardo Pratesi

Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Faculdade de Medicina, 2007.

1. Doença Celíaca. 2. Síndrome de Turner. 3. Prevalência. 4. Triagem sorológica. 5. Antígeno leucocitário humano I. Pratesi, Riccardo II. Título

CDU 616.3-056.5

Dedicatória

Ao Nelmo, meu marido, a quem Deus escolheu para partilhar comigo todos os momentos da minha vida.

Aos meus queridos filhos, Juliana e Pedro, pela compreensão, paciência e carinho.

A eles, o meu amor.

“No infinito do amor toca-se o infinito de Deus.”

Agradecimentos Especiais

Ao Professor Riccardo Pratesi, mestre e orientador, pela confiança, incentivo e oportunidade de aperfeiçoamento profissional e acadêmico.

À professora Lenora, pela amizade e pelo apoio constante e por ser para mim, um modelo de mestra e médica.

Agradecimentos

Aos meus pais, Maurício e Arlete, pelo apoio incondicional e incentivo em todos os momentos da minha vida.

Aos professores e funcionários do Laboratório de Genética Humana da UNB/HUB, pela colaboração com os dados deste trabalho.

Ao professor Pedro Tauil, pela gentileza de suas orientações e sugestões.

A todos os amigos, que partilharam minhas incertezas e alegrias e que com generosidade e compreensão me apoiaram neste trabalho, o meu reconhecimento e gratidão.

“O Senhor deu aos homens a ciência para que pudessem glorificá-lo por causa das maravilhas dele”. (Eclo 38, 6)

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xii
1. RESUMO	xv
2. ABSTRACT	xviii
3. INTRODUÇÃO.....	20
3.1 Definição	20
3.2 Histórico	20
3.3 Epidemiologia da Doença Celíaca	24
3.4 Aspectos gerais e epidemiológicos da síndrome de Turner	29
3.5 Fisiopatogenia da doença celíaca	36
3.5.1. Fatores ambientais	37
3.5.2. Fatores genéticos	39
3.5.3. Fatores imunológicos	42
3.6 Quadro Clínico	50
3.7 Diagnóstico	56
3.7.1. Anticorpos anti-reticulina (AAR):	58
3.7.2. Anticorpos antigliadina (AGA):	58
3.7.3. Anticorpos anti-endomísio (EMA)	59
3.7.4. Anticorpos anti-transglutaminase (anti-tTG)	60
3.7.5. Pesquisa de antígenos leucocitários humanos (HLA)	62
3.7.6. Biópsia intestinal e histopatologia	63
3.7.7. Anormalidades laboratoriais e de imagem.....	68
3.8 Tratamento	69
3.9 Prognóstico	74
4. OBJETIVOS.....	77
4.1 Objetivo principal	77

4.2	<i>Objetivo secundário</i>	77
5.	PACIENTES E MÉTODOS.....	79
6.	RESULTADOS	84
7.	DISCUSSÃO.....	88
8.	CONCLUSÕES.....	99
	REFERÊNCIAS.....	101
	ANEXOS.....	124
	<i>Anexo I: Termo de consentimento livre e esclarecido</i>	124
	<i>Anexo II: Análise de Projeto de Pesquisa</i>	126

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1. Fotografia do Dr. Samuel Gee.</i>	21
<i>Figura 2. Fotografia do Dr Willem Dicke no Hospital Wilhelmina Children's na Holanda.</i>	22
<i>Figura 3. Campo de refugiados Saharawi em Smara, Algéria.</i>	27
<i>Figura 4. Taxonomia dos cereais.</i>	38
<i>Figura 5. Demonstração expandida da região relativa ao HLA localizada no cromossomo VI.</i>	40
<i>Figura 6. Haplótipos que predispõem à doença celíaca.</i>	41
<i>Figura 7. Diagrama de Venn: representação da distribuição do DQ2 e DQ8.</i>	42
<i>Figura 8. Patogênese da Doença Celíaca.</i>	47
<i>Figura 9. Mecanismo de ativação dos LIE pela IL-15 em pacientes celíacos.</i>	49
<i>Figura 10. Crianças Saharawi com doença celíaca.</i>	53
<i>Figura 11. O iceberg da doença celíaca e o espectro de sensibilidade ao glúten</i>	56
<i>Figura 12. Padrão de imunofluorescência do IgA-EMA.</i>	60
<i>Figura 13. Imagens endoscópicas do duodeno de pacientes celíacos.</i>	64
<i>Figura 14. Espectro da má absorção e dos sintomas na DC.</i>	65
<i>Figura 15. Padrão histológico segundo a classificação de Marsh.</i>	67
<i>Figura 16. Biópsia intestinal das pacientes com doença celíaca.</i>	86

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1 Prevalência da doença celíaca não diagnosticada: estudos populacionais.....</i>	<i>25</i>
<i>Tabela 2. Características clínicas da síndrome de Turner</i>	<i>32</i>
<i>Tabela 3 Prevalências da doença celíaca em pacientes com síndrome de Turner.....</i>	<i>35</i>
<i>Tabela 4. Possíveis manifestações clínicas da DC</i>	<i>51</i>
<i>Tabela 5. Quadro clínico e histológico da DC em crianças.....</i>	<i>52</i>
<i>Tabela 6. Variações da sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos em adultos e crianças. ...</i>	<i>58</i>
<i>Tabela 7. Classificação histológica de Marsh</i>	<i>66</i>
<i>Tabela 8. Anormalidades laboratoriais relacionadas à DC.....</i>	<i>69</i>
<i>Tabela 9. Anticorpo anti-endomísio (EMA), anticorpos anti-transglutaminase (anti-tTG), cariótipo, HLA e aspectos histológicos em pacientes com Síndrome de Turner.....</i>	<i>84</i>
<i>Tabela 10. Tipo e frequência de cariótipos em 56 casos de síndrome de Turner.....</i>	<i>85</i>

LISTA DE ABREVIATURAS

AGA	Anticorpos anti gliadina
ARA	Anticorpos anti-reticulina
CAA	Célula apresentadora de antígeno
CEP/FM/UNB	Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília
CPH	Complexo Principal de Histocompatibilidade
DC	Doença Celíaca
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
EMA	Anticorpo Antiendomíseo
ESPGAN	Sociedade Européia de Gastroenterologia e Nutrição Pediátrica
ESPGHAN	Sociedade Européia de Gastroenterologia Pediátrica Hepatologia e Nutrição
FICT	Isoticianato de Fluoreceína
GH	Hormônio do crescimento
HLA	Antígeno leucocitário humano
IgA	Imunoglobulina da classe A
IgG	Imunoglobulina da classe G
JO	Junções oclusivas intercelulares
LIE	Linfócitos intraepiteliais
MIC	“MHC class I chain-related gene”
MICA	“MHC class I chain-related gene A”
NK	Célula exterminadora natural
NKG2D	“C-type lectin-like activating immunoreceptor”
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PEP	Prolyl-endopeptidase
SHOX	“Short stature homeobox containig gene”
ST	Síndrome de Turner

TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF β	Fator de transformação do crescimento β
TNF	Fator de necrose tumoral
tTG	Transglutaminase

RESUMO

1. RESUMO

Introdução - A doença celíaca é uma enteropatia do intestino delgado, imunomediada e induzida pelo glúten em pessoas geneticamente susceptíveis. A prevalência da doença celíaca na população geral é de aproximadamente 0,3%-1%. A elevada prevalência da doença celíaca detectada na síndrome de Turner faz com que estas pacientes sejam consideradas grupo de risco para esta afecção. A doença celíaca está associada com os alelos predisponentes do sistema de histocompatibilidade humano DQ2 e DQ8. Embora a associação entre ambas as afecções esteja estabelecida em vários países, este é o primeiro estudo no Brasil a demonstrar esta relação. **Objetivos** - Determinar a prevalência da doença celíaca entre as pacientes com síndrome de Turner acompanhadas em hospital geral de Brasília e identificar a presença de alelos do sistema de histocompatibilidade humano predisponentes nas pacientes com sorologia positiva. **Pacientes e métodos** - 56 pacientes com síndrome de Turner foram avaliadas por meio de dois testes sorológicos: antiendomíseo e anti-transglutaminase. As pacientes que tiveram esses testes positivos foram submetidas à biópsia jejunal. A presença dos alelos DQ2 e DQ8 predisponentes foi determinada pelo teste da reação em cadeia da polimerase. **Resultados** – O diagnóstico da doença celíaca foi estabelecido em duas pacientes com marcadores sorológicos positivos e alterações típicas na biópsia jejunal (2/56). Ambas as pacientes apresentaram os alelos DQ2 no teste da reação em cadeia da polimerase. A prevalência da doença celíaca no grupo estudado foi de 3,6% (IC 95%= 0,8%-6,4%). **Conclusão** – Os dados deste estudo mostram que a prevalência da doença celíaca entre as pacientes com síndrome de Turner é mais elevada que a encontrada em estudos realizados na população

geral. A presença dos alelos DQ2 do sistema de histocompatibilidade humano confirma a susceptibilidade genética para doença.

Descritores - doença celíaca, síndrome de Turner, prevalência, HLA, triagem sorológica.

ABSTRACT

2. ABSTRACT

Background - Celiac disease is an immune mediated small intestinal enteropathy induced by gluten in genetically susceptible individuals. The prevalence of the celiac disease in the general population is approximately 0.3-1%. The high prevalence of celiac disease detected in Turner syndrome makes these patients a risk group for this condition. Celiac disease is associated with human leukocyte antigen alleles DQ2 and DQ8. Although this association has been well established in several countries, this is the first study to demonstrates this relation in Brazil.

Objectives - To determine the prevalence of the celiac disease among Turner syndrome patients followed in a Brasilia general hospital and to determine the presence of predisponent human leukocyte antigen alleles in patients with positive serological results.

Patients/methods - 56 patients with Turner syndrome were evaluated by two serological methods: antiendomysium and anti-tissue transglutaminase antibodies tests. Serologically positive subjects underwent small jejunal biopsy. The presence of DQ2 and DQ8 predisposing alleles was determined by polymerase chain reaction.

Results – The diagnosis of celiac disease was established in two patients (2/56) with positive serological markers and typical result on jejunal biopsy. (2/56). Both patients disclosed a DQ2 allele on polymerase chain reaction. The prevalence of celiac disease in study group was 3.6% (IC 95% = 0.8%-

6.4%). **Conclusion** - The data of this study endorse that the prevalence of the celiac disease among Turner patients is higher than in the general population. The DQ2 alleles of human leukocyte antigen confirm the genetic susceptibilities to disease. **Key-words** - celiac disease, Turner syndrome, prevalence, human leukocyte antigen, serological screening.

INTRODUÇÃO

3. INTRODUÇÃO

3.1 Definição

A Doença Celíaca é caracterizada como uma enteropatia do intestino delgado, imunomediada, e causada por uma permanente sensibilidade ao glúten, em pessoas geneticamente susceptíveis. (Hill *et al*, 2005). A definição da doença está relacionada com as anormalidades encontradas na mucosa intestinal, com a resposta à retirada e reintrodução do glúten e com as reações clínicas associadas (Holmes e Catassi, 2000).

A enteropatia sensível ao glúten ou doença celíaca recebeu anteriormente denominações como: espru celíaco, espru não tropical, síndrome celíaca, esteatorréia idiopática ou má absorção primária (Ciclitira *et al*, 2001).

3.2 Histórico

No segundo século a.D., Arateus, médico grego da Capadócia, descreveu uma doença diarréica que durava mais de dois dias e levava a grave comprometimento do estado geral associado a edema, palidez, fraqueza e atrofia do corpo. Chamou a atenção, assim, para a natureza crônica de uma afecção que posteriormente denominou-se doença celíaca, palavra originária do grego “*coelom*” ou cavidade do corpo. Observou que a doença acometia mais adultos, principalmente mulheres. Na época, o tratamento consistia em repouso, jejum, mudanças no estilo de vida e massagens (Paveley, 1988).

Em 1888, em uma publicação intitulada “on the Coeliac Affection”, Samuel Gee (Figura 1) fez a primeira descrição da forma clássica da doença, e da sua abrangência a todas as faixas etárias, em especial, crianças entre um e cinco anos. Acreditava que o aspecto principal do tratamento era dietético, embora não tivesse relacionado a patogênese da doença a um alimento específico. (Gee, 1888 citado por: Paveley, 1988).

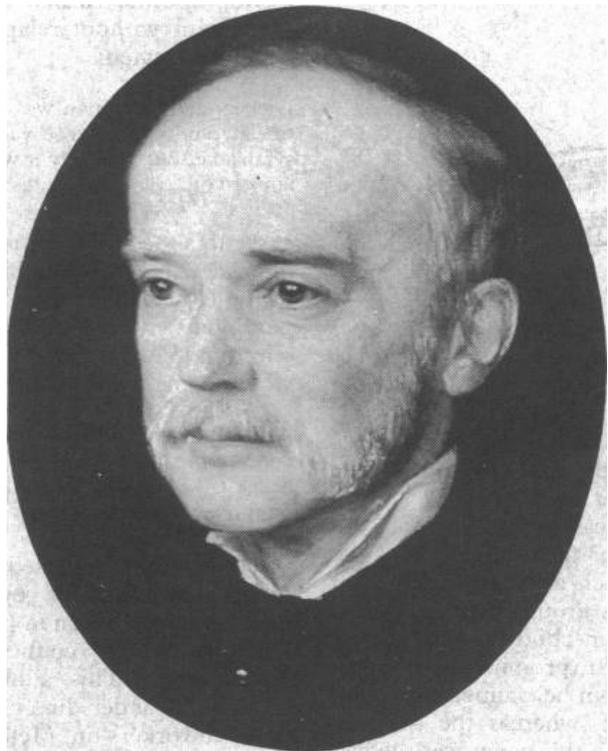


Figura 1 Fotografia do Dr. Samuel Gee.

Em 1918, Still relatou as observações das diferenças entre o tamanho das crianças e a suas idades e apesar de considerar que a causa da doença era um distúrbio digestivo profundo, agravado pela ingestão do pão, não percebeu o significado da sua observação (Still, 1918).

A idéia dietética do tratamento delineava-se com mais força. Em 1924, Sidney Hass descreveu o tratamento de crianças com bananas, excluindo da dieta pão, bolachas, batatas e cereais. Oito das dez crianças que fizeram tal dieta apresentaram cura clínica e duas, não tratadas, morreram (Hass, 1924).

O papel fundamental e específico do trigo na gênese da DC permaneceu suspeito, mas sem confirmação pelos trinta anos seguintes. O relato de uma mãe de que as lesões de pele de sua criança melhoravam com a retirada de pães da sua dieta chamou a atenção do Dr Willem Dicke, pediatra holandês (Figura 2). Durante a segunda Guerra Mundial, houve grande escassez de cereais e pão na Holanda e o Dr Dicke notou evidente recuperação clínica de seus pacientes com má-absorção durante esse período de abstinência ao trigo. Com a reintrodução do trigo na dieta, observou marcante recrudescência dos sintomas. A observação feita por Dicke e colaboradores sobre efeito nocivo de alimentos contendo trigo e de que a fração tóxica seria o glúten, destaca o pioneirismo desses médicos na identificação do elemento dietético causador da doença. (Dicke,1950 citado por: Berge-Henegouwen e Mulder, 1993).



Figura 2. Fotografia do Dr Willem Dicke no Hospital Wilhelmina Children's na Holanda
Fonte: van Berger-Henegouwen e Muddler,1993.

Em 1959, Frazer *et al* purificaram e separaram as frações peptídicas do trigo e demonstraram a sua toxicidade para os celíacos. Em 1962, Rubin *et al* demonstraram que o glúten era o responsável pelas anormalidades da mucosa do intestino delgado em pacientes celíacos (Citado por: Auricchio e Troncone, 1996). Em 1977, Hekkens determinou a estrutura da gliadina responsável pela exacerbação da doença. Na década seguinte, Howell *et al* (1986) descreveram a susceptibilidade genética da DC ao demonstrarem regiões específicas do Complexo Principal Histocompatibilidade (CPH) associadas à DC.

Por algum tempo o diagnóstico da doença celíaca era basicamente clínico. Atribuía-se a “artefatos” os achados histológicos anormais das autópsias. Em 1954, Paulley sugeriu que deveriam ser realizados mais estudos para conhecer a histologia jejunal. Porém, a necessidade de se realizar os estudos histológicos por métodos não tão invasivos levou à criação e ao aprimoramento de instrumentos que são utilizados ainda hoje. Em 1956, Crosby e Heinz W. Kugler publicaram detalhes de um instrumento flexível, a cápsula de Crosby, que possibilitou maiores conhecimentos sobre as alterações histológicas da mucosa jejunal.

As pesquisas sobre a doença tomaram grande impulso nas últimas décadas. Em 1969, a Sociedade Européia de Gastroenterologia e Nutrição Pediátrica (ESPGAN) estabeleceu a realização da biópsia intestinal como critério para o diagnóstico da DC na criança (Meeuwise, 1970). Tal critério foi revisado por Walker-Smith *et al* (1990) vinte anos depois. A possibilidade diagnóstica por exames sorológicos permitiu os estudos epidemiológicos e a identificação das outras formas de manifestação clínica da doença, que não a classicamente

conhecida. Sabe-se hoje, da gênese multifatorial da doença e sua associação com fatores genéticos, imunológicos e ambientais. Várias co-morbidades foram detectadas em associação com a DC. Alimentos sem glúten foram criados para permitir a aderência à restrição dietética. No Brasil e no mundo surgiram as associações de celíacos que prestam informações e esclarecimentos sobre essa doença tão especial (Sdepanian *et al*, 1999).

3.3 Epidemiologia da Doença Celíaca

A idéia de que a DC acometia pessoas de origem européia mudou completamente a partir dos anos 80 com o advento dos testes de rastreamento sorológico realizados em populações de outras etnias. A visão de uma epidemiologia “global” da DC alcançada desde então, permitiu a mudança de alguns conceitos pré-estabelecidos sobre a doença (Catassi, 2005_a).

Os primeiros estudos retratavam a incidência da afecção na Irlanda, Áustria e Suécia levando à impressão de que indivíduos de raça branca seriam preferentemente acometidos. Tais estudos avaliavam somente os casos com a forma clássica, e assim, pensava-se que a DC seria uma doença rara. As prevalências retratadas então, variavam entre 1:1000 a 1:4000 (Catassi, 2005_a).

Com o advento dos testes sorológicos para rastreamento populacional houve uma mudança nos indicadores epidemiológicos relativos à DC. Provavelmente, os dados anteriores estavam subestimados pelo uso de estratégias inadequadas na identificação dos casos (Guandalini & Gupta, 2002).

Após os resultados dos estudos epidemiológicos, a DC passou a ser conhecida como uma das doenças crônicas mais comuns, com taxas de prevalência que variavam entre 0.3% a 1% (Catassi *et al*, 1994; Collin *et al*, 1997; Maki *et al*, 2003; Mustalahti *et al*, 2004). Vários estudos epidemiológicos realizados em populações saudáveis mostraram que a grande maioria dos indivíduos pode ter DC não diagnosticada (van Heel e West, 2006) (Tabela 1).

Tabela 1 Prevalência da doença celíaca não diagnosticada: estudos populacionais.

País	Nº de casos	Faixa etária	Prevalência	Referência
Itália	17.201	crianças	1:210	Catassi <i>et al</i> , 1996
Hungria	427	crianças	1:85	Korponay-Szabo <i>et al</i> , 1999
Suécia	690	crianças	1:77	Carlsson <i>et al</i> , 2001
Finlândia	3.654	crianças	1:99	Maki <i>et al</i> , 2003
Saara	989	crianças	1:18	Catassi <i>et al</i> , 1999
Portugal	5.363	adolescentes	1:134	Antunes, 2002
Israel	1.571	adultos e crianças	1:157	Shamir <i>et al</i> , 2002
EUA	4.126	adultos e crianças	1:133	Fasano <i>et al</i> , 2003
Brasil	4405	adultos e crianças	1:474 e 1:169	Pratesi <i>et al</i> , 2003

Fonte: Baptista, 2006

Nos Estados Unidos da América (EUA), os primeiros estudos revelaram uma baixa prevalência da DC e apesar da maioria da população branca ser de origem européia, pensou-se, a princípio, que esta seria uma doença rara. Como nos EUA é prática comum prescrever dieta isenta de leite, ovo e trigo para o tratamento de diarreia recorrente em crianças, isto pode ter causado impacto tanto na apresentação clínica, quanto na idade de início da doença

(Fasano, 1996). Porém, em 1998, Not *et al*, estudando doadores de sangue, mostrou que a prevalência da doença era de 0.4%, à semelhança da europeia. Na Austrália, Hovell *et al* (2001), mostraram uma prevalência elevada, de 1:251 dos indivíduos pesquisados, dados estes semelhantes aos europeus.

Uma das maiores freqüências de DC do mundo até o momento foi relatada entre os Saharawi, uma população de origem árabe, que vive no oeste do Saara (Figura 3). Os Saharawi vivem em assentamentos e constituem comunidades nômades cujo alimento principal é o pão, introduzido após a colonização espanhola. Catassi *et al* (1999) pesquisaram a ocorrência da DC em 989 crianças e encontraram uma prevalência de 5.6%, quase cinco a dez vezes mais alta que a dos países europeus. Nessas crianças há o predomínio da forma clássica da doença e o risco de morte por diarreia grave e desidratação é consideravelmente elevado. A razão para tão elevada freqüência da DC nesta população ainda não foi totalmente elucidada, mas parece estar relacionada à predisposição genética (Catassi *et al*, 2001).



Figura 3. Campo de refugiados Saharawi em Smara, Algéria

Fonte: disponível em <<http://www.palinstravels.co.uk/photogallery.php?id=1032>> acesso em: 17 fev, 2007

Da mesma forma, em alguns países em desenvolvimento do Oriente Médio, a marca registrada da DC é a severa desnutrição pômbero-estatural e a freqüência da doença é muito elevada (Mohindra *et al*, 2001; Imanzadeh *et al*, 2005; Shahbazkhani *et al*, 2003; Fasano *et al*, 2005; Altuntas *et al*, 1998; Shamir, 2002; Rawashdeh *et al*, 1996; Al-Bayatti, 2002; Shaltout *et al*, 1989; Rastogi *et al*, 1999).

Na América Latina os estudos epidemiológicos ganharam destaque porque a DC era considerada uma afecção pouco freqüente. O primeiro estudo de prevalência da DC foi realizado no Brasil por Gandolfi *et al* (2000). Um grupo de 2045 doadores de sangue presumivelmente saudáveis, foi submetido a

rastreamento sorológico com posterior confirmação diagnóstica por biópsia jejunal. A prevalência encontrada nesse estudo foi de 1:681.

Em 2003, Pratesi *et al* avaliaram 4405 pacientes externos de um hospital geral que compareceram ao laboratório de análises clínicas para a realização de exames de rotina. A prevalência total encontrada foi de 1:275, sendo que a prevalência em crianças menores de quinze anos foi 2.6 vezes maior que nos adultos, compreendendo taxas de 1:184 e 1:474 respectivamente. Os autores ponderaram que antigamente, algumas crianças com DC não tratada poderiam morrer em decorrência de complicações precoces como infecções e má absorção. Mas atualmente, fatores como má nutrição e higiene poderiam contribuir para elevar a mortalidade dessas crianças. Assim, se apenas uma parcela de crianças celíacas sobrevive, então a prevalência em adultos tende a diminuir. Especula-se também se fatores como o maior consumo de alimentos com trigo, a redução na prevalência e duração do aleitamento materno e a introdução precoce de alimentos com glúten em crianças brasileiras estariam influenciando as diferenças encontradas. Outros estudos também apontam para uma maior prevalência da DC em crianças do que em adultos (Catassi *et al*, 1994; Corazza *et al*, 1997).

Na Argentina, um estudo realizado entre casais submetidos ao exame pré-nupcial obrigatório identificou que a prevalência da DC era de 1:167 (Gomez *et al*, 2001).

A doença ainda é considerada rara nas populações negra, chinesa e japonesa (Farrel e Kelly, 2002) e observa-se ser mais prevalente em mulheres (Ivarsson, 2003).

Um importante estudo multicêntrico italiano identificou, após rastreamento sorológico, sete novos casos de DC na infância para cada paciente celíaco já conhecido (Catassi *et al*, 1994). Tal achado foi verificado também em adultos.

A inegável contribuição destes estudos epidemiológicos foi mostrar que a maioria dos casos de DC não era restrita a povos de origem caucasiana, que não era uma afecção rara, de acometimento exclusivamente intestinal e nem se apresentava apenas em sua forma classicamente conhecida. Tais estudos apontaram para a associação da DC com várias outras afecções, entre elas a ST, objeto do presente estudo.

3.4 Aspectos gerais e epidemiológicos da síndrome de Turner

A ST é uma das doenças genéticas mais comuns decorrente de anomalias dos cromossomos sexuais e afeta aproximadamente uma em 2500 meninas nascidas vivas (Lippe, 1991; Nielsen, 1991). As primeiras descrições da síndrome foram feitas em 1930 por Otto Ullrich e em 1938, por Henry Turner (Elsheikh *et al*, 2002).

Observa-se um número elevado de abortamentos fetais com sobrevida de apenas 1% dos embriões até o termo (Stratakis e Rennert, 1994) e estima-se que mais de 10% dos abortamentos espontâneos tenham o cariótipo 45,X (Hall e Gilchrist, 1990). Os fatores de risco para a concepção de crianças com ST são desconhecidos e em geral não há uma associação com idade avançada dos pais (Jacobs, 1997).

Freqüentemente, o diagnóstico pré-natal é feito acidentalmente, durante o exame cromossômico das vilosidades coriônicas ou do líquido de amniocentese, realizados por razões diversas, mas nessa circunstância, recomenda-se a confirmação diagnóstica após o nascimento. Segundo Gravholt *et al* (1996), a prevalência pré-natal da doença é muito maior que a pós-natal, indicando a ocorrência de altas taxas de fetos com esta síndrome. Os autores descreveram que a prevalência de fetos com ST, era de 392 /100.000 fetos femininos (11^a semana gestacional) pelo exame das vilosidades coriônicas, e de 176 /100.000 (16^a semana gestacional) após amniocentese. A prevalência estimada da ST de 50/ 100.000 meninas nascidas vivas demonstra a elevada taxa de mortalidade intra-uterina, especialmente durante o primeiro trimestre gestacional (Hook e Warburton, 1983).

O exame de ultra-sonografia ante-natal pode sugerir ST quando da presença de aumento da translucência nucal, higroma cístico, braquicefalia, anomalias cardíacas e renais, retardo do crescimento intra-uterino, polihidrâmnio ou oligohidrâmnio. Da mesma forma, alguns exames laboratoriais maternos alterados, tais como alfa-fetoproteína, inibina A, gonadotrofina coriônica humana e estriol não conjugado, podem sugerir a doença no feto (Ruiz *et al*, 1999).

A ST pode ser a consequência de diversas constituições cromossômicas além do cariótipo clássico 45,X. O outro cromossomo sexual pode estar ausente ou sofrer duplicação de seu braço longo (q) com concomitante perda do braço curto (p) para formar um isocromossomo (isoXq). Além disso, pode ocorrer a formação de anel (rX) ou deleção do braço curto ou longo (Xp- ou Xq-). A

completa monossomia (45,X) ocorre em 40-60% dos cariótipos realizados em cultura de linfócitos do sangue periférico, e o restante dos cariótipos mostram mosaicismo (45,X/46,XX; 45,X/46,XiXq; 45,X/46,XY; 45,X/46,XrX) (Donaldson *et al*, 2006). O mosaicismo, bem como as anormalidades estruturais que comprometem determinados segmentos do segundo cromossomo sexual, seja ele X ou Y, gera uma variedade de distúrbios clínicos e citogenéticos (Stratakis e Rennert, 1994; Jacobs *et al*, 1997). Genes envolvidos com o desenvolvimento do sistema linfático, com desenvolvimento ovariano e com a estatura são expressos no cromossomo X. A baixa estatura é um problema comum e causado pela haploinsuficiência do gene SHOX (*short-stature homeobox-containing gene*) (Rao, 1997). Variações na inativação desses genes levam aos vários graus de haploinsuficiência e podem explicar, em parte, a ampla variação fenotípica (Donaldson *et al*, 2006). Esta síndrome apresenta características clínicas que variam dos mais severos fenótipos tais como a baixa estatura, a disgenesia gonadal, o linfedema e os dismorfismos, até fenótipos mais brandos como uma leve redução na estatura final ou uma insuficiência prematura do ovário (Tabela 2).

Tabela 2. Características clínicas da síndrome de Turner

Características	Frequência (%)
Baixa estatura	98
Disgenesia gonadal	95
Micrognatia	60
Cubitus valgus	47
Implantação posterior baixa dos cabelos	42
Pescoço curto	40
Palato em ogiva	38
Encurtamento do quarto metacarpo	37
Nevos múltiplos	25
Pescoço alado	25
Linfedema das mãos e dos pés	22
Displasia da unha	13
Escoliose	11

Fonte: Lippe, 1991

Estudos em uma população pediátrica mostrou que o atraso no diagnóstico da ST era em média de 7.7 anos (Savendahl e Davenport, 2000). A presença de cariótipos que não o 45,X foi relacionada com maiores atrasos no diagnóstico talvez por apresentarem poucos estigmas, porém, a redução da estatura final estava sempre presente (Lyon *et al*, 1985).

As pacientes com ST podem apresentar uma série de co-morbidades associadas, que requisitam cuidados permanentes de uma equipe multidisciplinar de saúde (Elsheikh *et al*, 2002). Atualmente há a recomendação de se considerar

o diagnóstico de ST em toda mulher que apresente atraso no desenvolvimento estatural (velocidade de crescimento menor que o percentil 10 para a idade) ou puberal ou qualquer dos seguintes achados clínicos: edema de mãos ou pés; pescoço alado; anomalias cardíacas especialmente coarctação da aorta; hipoplasia do ventrículo esquerdo; implantação baixa dos cabelos ou das orelhas; micrognatismo; níveis elevados do hormônio folículo-estimulante (FSH); cubitus valgus; hipoplasia e hiperconvexidade das unhas; nevus pigmentados; fácies característica; encurtamento do quarto metacarpo; pálate em ogiva; anormalidades na morfologia ou no desenvolvimento dentário ou otite média crônica (Bondy, 2007).

A mortalidade está aumentada na ST e um estudo de coorte britânico encontrou que o risco relativo de morte era de 4.2 principalmente devido a problemas cardiovasculares, neurológicos, digestivos, respiratórios e genitourinários (Swerdlow *et al*, 2001).

O primeiro caso da associação de DC e ST foi descrito em 1973 por Thatcher *et al*, em uma mulher de 27 anos. Ela recebeu o diagnóstico de ST por apresentar baixa estatura, disgenesia gonadal e outras alterações fenotípicas sendo o seu cariótipo 45,X. A paciente apresentou também osteomalácia, disfunção hepática e má absorção intestinal e foi submetida a uma biópsia jejunal que mostrou atrofia vilositária subtotal consistente com DC. Em sua história familiar, sabia-se de um primo com doença celíaca. Como os autores não encontraram nenhum relato anterior de semelhante associação, concluíram que a paciente tinha três condições isoladas: ST, disfunção hepática e enteropatia

sensível ao glúten. A associação da DC com ST era considerada muito rara, descrita apenas em relatos de casos (Scobie *et al*, 1979; Ferrer Calvet *et al*, 1982; Lacaille *et al*, 1995; Arslan *et al*, 2000).

Com o advento dos marcadores sorológicos, surgiu o primeiro rastreamento sorológico da DC em pacientes com ST realizado por Bonamico *et al* em 1998. A decisão de realizá-lo aconteceu a partir da observação de que duas meninas com ST tratadas com hormônio do crescimento (GH) não responderam ao tratamento e tinham DC (Passeri *et al*, 1993; Caruso-Nicoletti *et al*, 1994). O estudo italiano avaliou 35 pacientes com ST e três delas tiveram sorologia positiva e biópsia comprobatória, revelando uma prevalência de 8.1% da DC. Com tal resultado ficou mais evidente que ST e DC poderiam estar associadas e que a intolerância ao glúten poderia ser responsável, pelo menos em parte, pela falta de resposta ao GH. Este estudo causou impacto ao chamar a atenção para a necessidade de novos rastreamentos sorológicos e para que tal avaliação fosse feita antes mesmo do tratamento hormonal. A partir de então, surgiram outros estudos revelando as prevalências da DC em pacientes com ST (Tabela 3).

Tabela 3. Prevalências da doença celíaca em pacientes com síndrome de Turner.

REFERÊNCIA	Nº DE PACIENTES	PREVALÊNCIA (%)
Bonamico <i>et al</i> (1998)	35	8,1
Ivarsson <i>et al</i> (1999)	87	5
Schweizer <i>et al</i> (2000)	121	2,5
Gillet <i>et al</i> (1999)	45	2,2
Rujner <i>et al</i> (2001)	48	4,1
Bonamico <i>et al</i> (2002)	389	6,4
Sagodi <i>et al</i> (2006)	63	7,9

Como parte de um estudo sueco multicêntrico com vistas a promover o crescimento em pacientes com ST, Ivarsson *et al* (1999) realizaram o primeiro estudo populacional em 87 crianças e adolescentes com ST. Seus resultados baseados em dosagens de anticorpos antiendomíseo (EMA) com confirmação por biópsia mostraram uma prevalência de 5% (4/87). Embora os valores fossem muito maiores que os encontrados em população saudável da mesma região (Sjöberg *et al*, 1994), as razões para tal não eram conhecidas. Interrogava-se a presença de antígenos leucocitários humanos (HLA) comuns entre as duas doenças, à semelhança do encontrado entre síndrome de Down e DC por Castro *et al* (1993). Na Polônia, pesquisadores investigaram a freqüência da DC e dos alelos do sistema HLA em mulheres com ST atendidas ambulatorialmente. Os autores encontraram uma prevalência de 4.1% (2/48) de DC e estas duas mulheres apresentavam o heterodímero HLA-DQ (Rujner *et al*, 2001).

O maior estudo de prevalência até o momento foi realizado na Itália por Bonamico *et al*, em 2002. Neste estudo multicêntrico, 389 pacientes com ST

foram avaliadas não só para determinação de anticorpos específicos da DC como também para detectar características clínicas e laboratoriais dos pacientes afetados. A prevalência manteve-se elevada: 6.4%. Das 25 pacientes confirmadamente celíacas, dez (40%) apresentavam os sintomas clássicos; oito (32%), sintomas atípicos e em sete (28%), a ausência de sintomas sugeria a forma silenciosa da doença. Os pesquisadores encontraram que aproximadamente 50% das pacientes celíacas tinham outras doenças auto-imunes, tais como tireoidite de Hashimoto, diabetes tipo 1, hepatite auto-imune e trombocitopenia, o que corroborava as avaliações de estudos anteriores (Balestrazzi *et al*, 1986; Manzione *et al*, 1988; Sigurs *et al*, 1993; Radetti *et al*, 1995). A coexistência das duas afecções pode aumentar a prevalência das doenças auto-imunes, mas até o momento, a significância desta associação na indução de outras doenças imunológicas não pôde ser quantificada com exatidão (Bonamico *et al*, 2002).

3.5 Fisiopatogenia da doença celíaca

A doença celíaca tem uma etiologia multifatorial e depende de fatores ambientais, genéticos e imunológicos para sua manifestação. A complexa interação entre estes fatores dificulta sua identificação e impõe limites à completa compreensão dos mecanismos patogênicos da doença. Os conhecimentos atuais mostram o glúten como um fator ambiental precipitante, as moléculas do sistema HLA como fator genético predisponente e como fator imunológico, a resposta anormal dos linfócitos TCD4+ ao glúten (Sollid, 2002).

3.5.1. Fatores ambientais

Para a maioria dos seres humanos, os cereais representam uma importante fonte de nutrientes, contudo para os celíacos, certos cereais têm sido considerados como verdadeiros venenos, que podem destruir a mucosa intestinal (Marsh, 1992) e predispor à malignidade (Corrao *et al*, 2001).

O termo glúten é genericamente aplicado a uma família de proteínas encontradas no trigo, centeio e cevada. O glúten é a parte residual, de baixo valor nutricional, insolúvel em água, que permanece após a retirada do amido da farinha de trigo. As frações protéicas do trigo podem ser classificadas em prolamina (solúvel em etanol), glutenina (insolúvel em etanol), albumina (solúvel em água) e globulina (solúvel em solução de NaCl a 10%) (Ciccocioppo *et al*, 2005). A porção tóxica para os pacientes celíacos é predominantemente a de prolaminas também denominadas gliadina no trigo, secalina no centeio, hordeína na cevada e avenina na aveia (Shamir, 2003).

Trigo, centeio e cevada tem origem ancestral comum na família Triticeae, enquanto a aveia pertence a uma família vizinha, a Aveneae (Figura 4). Não há confirmação da toxicidade da aveia para os pacientes celíacos (Janatuinen *et al*, 2002; Hogberg *et al*, 2004). Apesar das frações da avenina conterem as mesmas seqüências de aminoácidos (QQQPF) que são descritas como tóxicas na gliadina, possuem uma proporção relativamente menor desta fração, o que poderia explicar a razão pela qual a aveia é mais tolerada pelos celíacos (Schuppan, 2000).

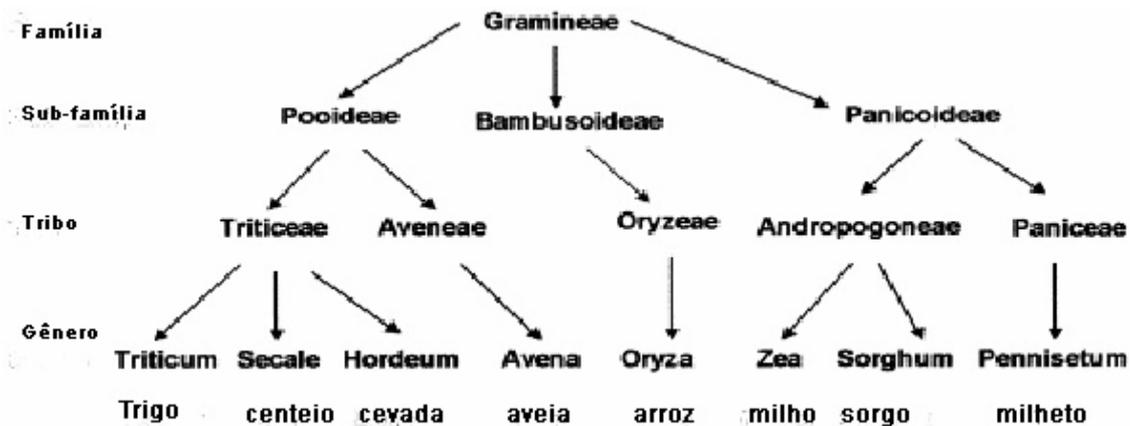


Figura 4: Taxonomia dos cereais.

Fonte: Kagnoff, 2005

A gliadina é uma cadeia polipeptídica que contém pelo menos quarenta componentes separados por eletroforese em três frações maiores: alfa, gama e ômega e subdivididas em subcomponentes alfa 1-11, gama 1-6, e ômega 5 (Wieser, 1991). Na alfa-gliadina, a seqüência repetida de aminoácidos QQQPFP faz com que estes peptídeos imunogênicos desempenhem um forte papel estimulador das células T e sejam reconhecidos pela sua capacidade de desencadear a doença (Van de Wal *et al*, 1998).

Os conhecimentos atuais mostram que diferentes peptídeos do glúten podem causar a doença por maneiras diferentes. Um fragmento é definido como “tóxico” se é capaz de causar danos ao epitélio sem necessitar de reconhecimento prévio pelas células TCD4. Vários pesquisadores identificaram que o peptídeo p31-43 ou p31-49 da α -gliadina estimula esta resposta inata do sistema imunológico (de Ritis *et al*, 1988; Marsh, 1995; Maiuri *et al*, 2003). Por outro lado, peptídeos considerados “imunogênicos” são capazes de produzir uma forte estimulação dos linfócitos TCD4+ da lâmina própria intestinal de celíacos

(Arentz-Hansen *et al*, 2000). Entre eles estão peptídeos da α -gliadina, γ -gliadina e gluteninas de alto e baixo peso molecular, com destaque para o peptídeo 56-75 da α -gliadina, contido no peptídeo 33-mer (Lundin *et al*, 1994; Shan *et al*, 2002). Interessante observar que um mesmo peptídeo pode ter simultaneamente uma ação “tóxica” e “imunogênica” (Fraser *et al*, 2003).

Embora não se conheça com exatidão o papel dos outros fatores ambientais na patogênese da DC, é possível que patógenos entéricos estejam envolvidos na patogênese da doença produzindo um mimetismo molecular entre proteínas virais e a gliadina com subsequente ativação do sistema imune em indivíduos susceptíveis. (Kagnoff *et al*, 1987). Há evidências de que o aleitamento materno pode proteger, alterar e até mesmo atrasar o desenvolvimento da DC, levando a apresentações clínicas menos graves (Ivarsson *et al*, 2002; D’Amico *et al*, 2005).

3.5.2. Fatores genéticos

O papel de fatores genéticos na patogênese da DC tornou-se bem estabelecido a partir de estudos que indicavam uma elevada prevalência da DC entre os familiares dos celíacos (4% a 12%) (Book *et al*, 2003; Fasano *et al*, 2003) e uma concordância da doença em gêmeos idênticos de aproximadamente 75% (Greco *et al*, 2002).

Os genes do Complexo Principal de Histocompatibilidade (CHP) na espécie humana recebem a denominação de sistema HLA e foram agrupados em três regiões (classe I, classe II e classe III) de acordo com as suas localizações no braço curto do cromossomo 6 (Figura 5). Sabe-se hoje que o sistema HLA

compreende mais de 200 *loci* genéticos e é a região mais polimórfica do genoma humano (Louka & Sollid, 2003).

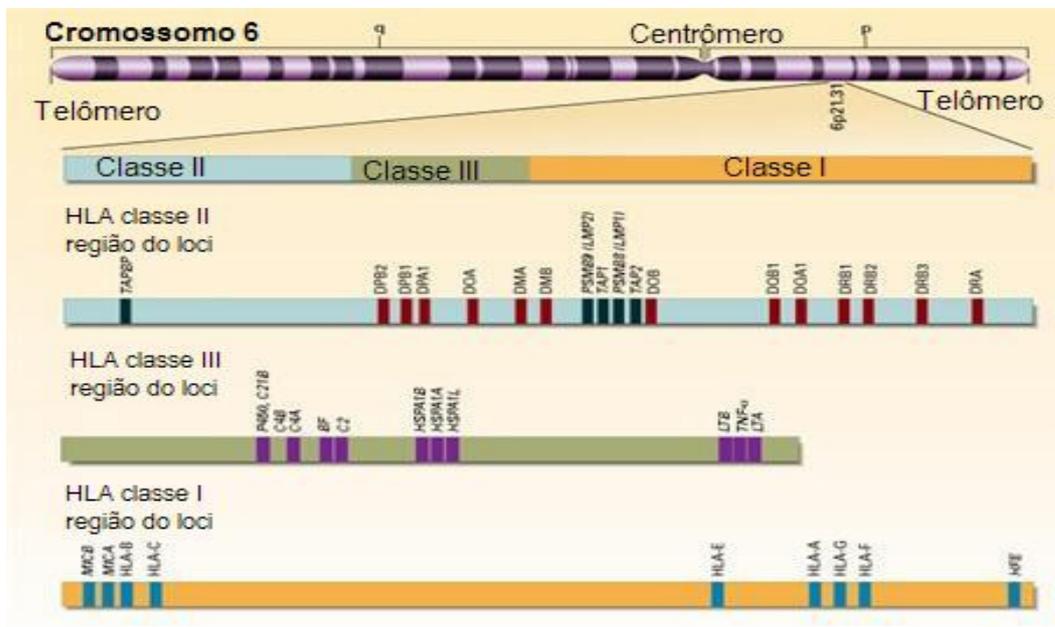


Figura 5. Demonstração expandida da região relativa ao HLA localizada no cromossomo seis.

Os produtos dos genes HLA-DR, DQ e DP são as moléculas clássicas de histocompatibilidade de classe II (Bodmer *et al*, 1999). Os antígenos do sistema HLA da classe II são encontrados na superfície dos linfócitos B, linfócitos T e macrófagos e têm como função principal ligar-se a peptídeos antigênicos e esse complexo é apresentado a um receptor nas células T CD4⁺ (Louka e Sollid, 2003).

A DC está fortemente associada com antígenos HLA da classe II e aproximadamente 95% dos pacientes possuem o heterodímero α , β DQ2 codificado pelos alelos DQA1*0501 e DQB1*02 na posição *cis* com DR3 (no mesmo cromossomo) ou em *trans* com DR5/DR7 (em cromossomos diferentes) (Figura 6). O heterodímero HLA-DQ8 codificado pelos alelos

DQA1*03/DQB1*0302 é encontrado em aproximadamente 5% dos pacientes (Sollid *et al*, 1989).

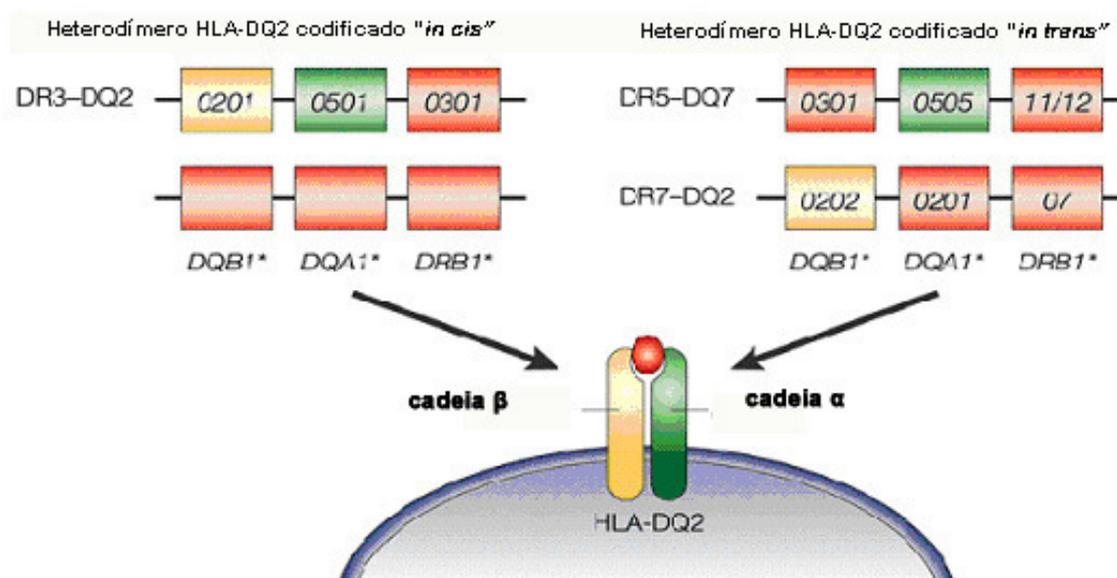


Figura 6. Haplótipos que predisõem à doença celíaca: DQA1*05 e DQB1*02 com disposição em *cis* (um cromossomo) ou em *trans* (ambos os cromossomos) codificam o heterodímero alfa, beta DQ2 presente na maioria dos celíacos.

Fonte: Louka & Sollid, 2003

De acordo com Sollid (2000), muitos genes predisponentes à DC ainda não foram identificados, porém já foi reconhecido que diferentes genes de susceptibilidade podem contribuir para os diferentes estágios patológicos da doença. Apesar de 25% a 30% da população geral europeia ser portadora de alelos que codificam o heterodímero DQ2 (Sollid *et al*, 1989), sabe-se que apenas uma pequena proporção desses indivíduos desenvolve a DC, como exemplificado no diagrama de Venn (Kagnoff, 2005) (Figura 7).

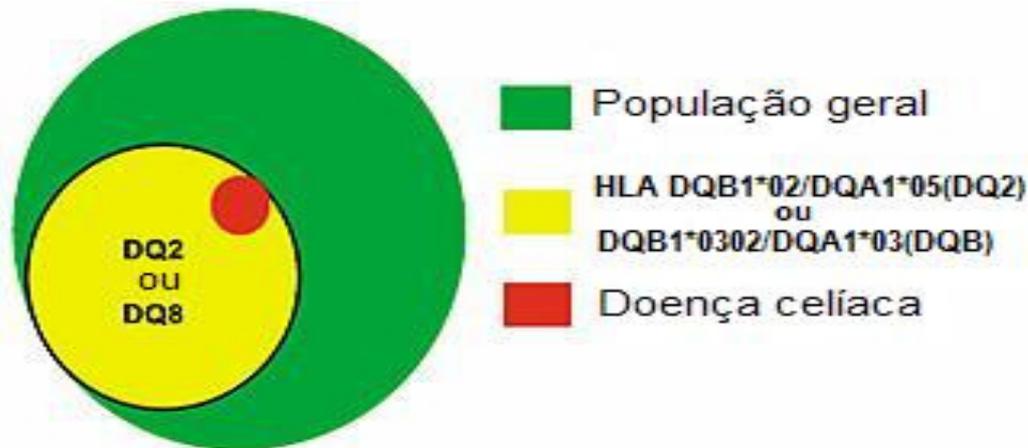


Figura 7. Diagrama de Venn: representação da distribuição do DQ2 e DQ8 na população geral e na doença celíaca. Fonte: Kagnoff, 2005.

Outro segmento cromossômico relacionado à DC e não ligado ao HLA é o 5q31-33, localizado no braço longo do cromossomo cinco (Greco *et al*, 1998). Da mesma forma que em outras doenças auto-imunes, na DC foi encontrada uma associação fraca com polimorfismos do gene CTLA-4, que codifica uma molécula envolvida na inibição da célula T (Naluai *et al*, 2000).

3.5.3. Fatores imunológicos

A resposta do sistema imune ao glúten na DC é marcada por reação inflamatória no epitélio intestinal e na lâmina própria com infiltração de células inflamatórias e progressivas mudanças na arquitetura da mucosa.

A enteropatia celíaca representa um modelo único onde tanto o fator desencadeante (glúten), quanto o auto-antígeno (transglutaminase), já foram identificados. Apesar dos avanços, várias questões ainda não foram totalmente esclarecidas, sobretudo a respeito do reconhecimento e da resposta imunológica

ao glúten. Todavia, este processo complexo parece ser iniciado e mantido por duas vias do sistema imune: a adaptativa e a inata (Ciccocioppo *et al*, 2005).

O primeiro passo na cascata de eventos fisiopatológicos da DC parece ser a entrada da gliadina na mucosa intestinal de indivíduos geneticamente predispostos. O epitélio intestinal age como uma barreira que impede a passagem de macromoléculas (por exemplo, o glúten) para a lâmina própria da mucosa e somente traços dessas macromoléculas conseguem atravessá-la sob condições fisiológicas. Normalmente, a maioria destes oligopeptídeos sofre degradação enzimática e são convertidos em aminoácidos de dois ou três peptídeos não imunogênicos. Porém, por terem alto conteúdo de prolina e glutamina, os peptídeos da gliadina não são completamente degradados pelas endopeptidases do intestino delgado e podem atravessar a barreira epitelial pela via paracelular, desencadeando então, uma resposta imune antígeno-específica (Guandalini e Gokhale, 2002).

A rota paracelular é a via principal para a passagem passiva de solutos através da barreira epitelial e endotelial e essa regulação depende das junções oclusivas intercelulares (JO). As JO são estruturas dinâmicas sujeitas a mudanças estruturais, porém não existe ainda conhecimento suficiente sobre sua regulação fisiopatológica após estímulo extracelular. Em 1998, Schulzke *et al* descreveram alterações estruturais nas junções oclusivas do epitélio intestinal de pacientes celíacos com sintomas agudos da doença. Fasano *et al* (2000) descreveram o aumento da expressão da zonulina em estudos com pacientes celíacos não tratados. A zonulina é um peptídeo intestinal análogo à toxina

“ocludente” do *Vibrio cholerae*, que está envolvida na regulação das JO e parece ser responsável, pelo menos em parte, pelo aumento subsequente na permeabilidade intestinal à gliadina. No intestino de ratos, a administração da gliadina levou à liberação da zonulina que, através da polimerização dos filamentos de actina intracelulares promoveu a desconecção das proteínas das JO (Clemente *et al*, 2003). Recentemente, Drago *et al* (2006) avaliando células intestinais humanas e de ratos confirmaram que a gliadina é a responsável por eventos precoces na mucosa intestinal: liberação da zonulina e sua ligação aos receptores celulares, reorganização dos filamentos de actina e abertura da JO. O resultado é a abertura imediata da barreira intestinal paracelular e consequente passagem da gliadina para a região subepitelial. Esse processo depende da presença do receptor para a zonulina, mas independe da predisposição genética individual, sugerindo que a permeabilidade induzida pela gliadina e mediada pela zonulina poderia ser necessária, mas não suficiente para desenvolver o processo auto-imune típico da DC (Drago *et al*, 2006). Os processos inflamatórios oriundos das infecções podem desencadear alterações na barreira intestinal e assim aumentar o influxo de peptídeos do glúten para dentro da lâmina própria (Sollid, 2002).

3.5.3.1 Resposta adaptativa

Após ultrapassarem a barreira da mucosa, os fragmentos peptídeos do glúten são encaixados nas moléculas do HLA-DQ2 e HLA-DQ8 que são expressas na superfície das células apresentadoras de antígenos (CAA). Esses

complexos formados são então reconhecidos por uma população específica de células: os linfócitos T CD4.

A resposta específica da célula T da lâmina própria foi observada em celíacos, mas não nos controles saudáveis, e foi atribuída à capacidade seletiva das moléculas HLA-DQ2/DQ8 de se ligarem aos peptídeos do glúten (Lundin, 1994). Contudo, para que esta ligação aconteça com alto grau de afinidade, é necessário que os peptídeos do glúten sejam primeiramente modificados pela transglutaminase (tTG) (Molberg *et al*, 1998; van de Wal *et al*, 1998).

A tTG é uma enzima que foi identificada como o principal alvo de auto-anticorpos sendo detectada em todas as camadas da parede do intestino delgado, com predomínio na submucosa (Molberg *et al*, 1998). Durante a inflamação ou injúria é liberada do meio intracelular para promover a ligação cruzada de certas proteínas da matriz extracelular e a estabilização do tecido conjuntivo (Schuppan, 2000). A sua expressão está aumentada nas amostras das biópsias intestinais de pacientes com DC (Esposito *et al*, 2003). A tTG tem uma alta afinidade pela prolamina e possui, em pH baixo, a atividade de desaminação dos peptídeos do glúten tanto na borda em escova quanto durante o seu processo de endocitose (Sollid, 2002). A desaminação transforma resíduos neutros da glutamina em ácido glutâmico, carregados negativamente. A introdução de cargas negativas nos peptídeos do glúten favorece a sua ligação com aminoácidos básicos localizados nas moléculas do HLA-DQ2 ou DQ8 das CAA e promovem uma forte estimulação de clones de linfócitos T gliadina-específicos (Schuppan, 2000).

A cascata de eventos que ocorre na lâmina própria após a ativação dos linfócitos TCD4+ não está completamente elucidada, mas parece que tais células produzem citocinas das quais o interferon- γ é a principal. Duas espécies de linfócitos T CD4+ exercem funções diferentes: os linfócitos T helper 1 (Th1) produzem interferon γ , linfotoxinas e fator de necrose tumoral (TNF); os linfócitos T helper 2 (Th2) produzem interleucinas (IL), além de dar suporte a imunidade humoral e diminuir a resposta Th1 (Sollid, 2002). As citocinas da resposta Th1 induzem os fibroblastos intestinais à liberação de enzimas tais como as metaloproteinases da matriz que podem danificar a mucosa intestinal levando a perda das vilosidades e hiperplasia compensatória das criptas (Kagnoff, 2005) . A resposta do tipo Th2 promove maturação e expansão de plasmócitos que vão produzir anticorpos da classe das imunoglobulinas A (IgA) contra gliadina, tTG e contra complexos gliadina-tTG). Os anticorpos anti-tTG ao se ligarem à enzima, inibem sua atuação na ativação do fator de transformação do crescimento β (TGF- β), que são fundamentais para a diferenciação dos enterócitos (Schuppan, 2000). Esse processo leva à inflamação tecidual com conseqüente aumento da permeabilidade e crescente expressão de moléculas de adesão e de antígenos HLA classe II em um ciclo vicioso (Farrell & Kelly, 2002) (Figura 8).

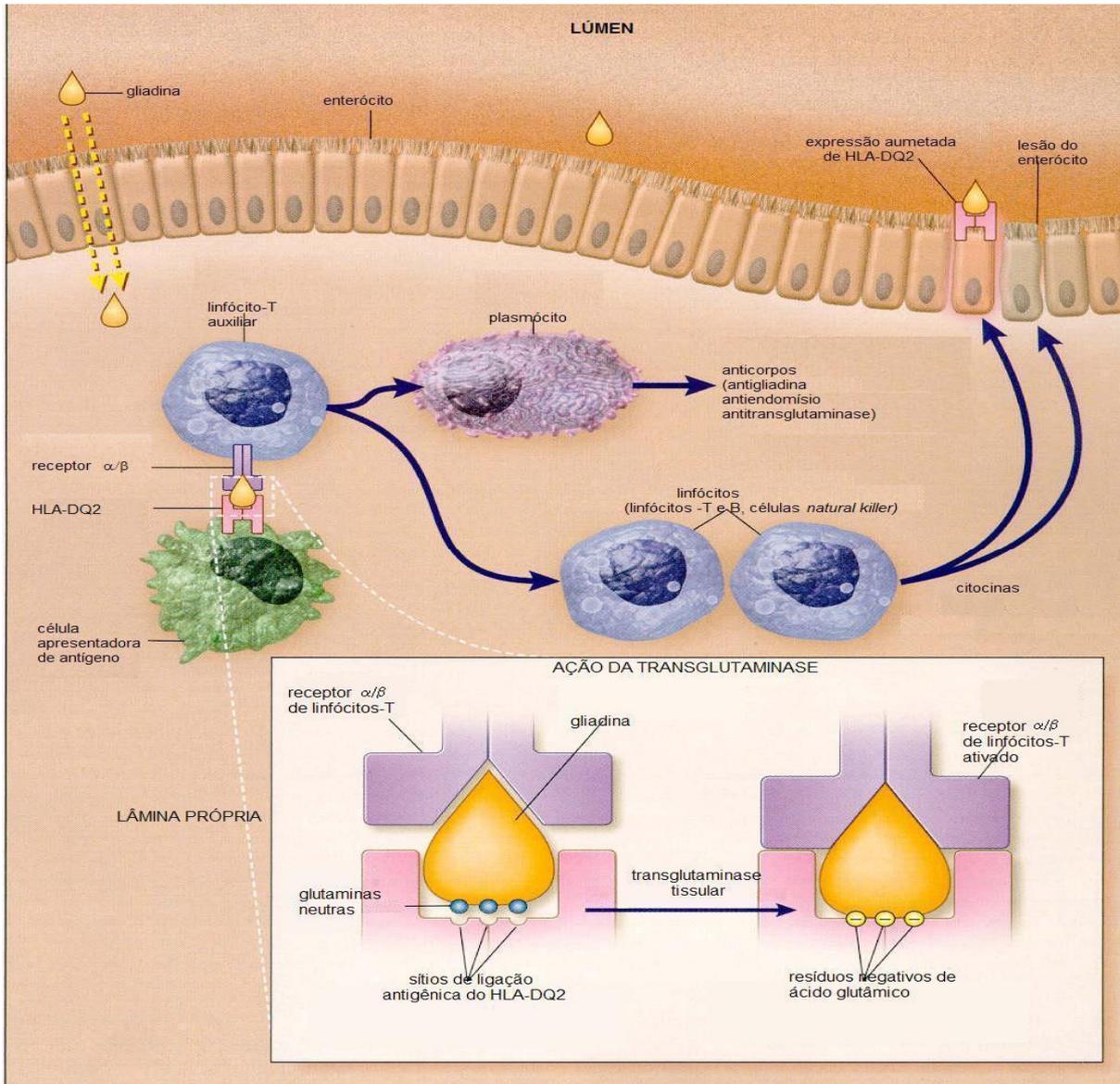


Figura 8: Patogênese da Doença Celíaca. A gliadina é absorvida, chegando à lâmina própria onde é apresentada conjuntamente com os antígenos de superfície celular, aos linfócitos T CD4 sensíveis, provavelmente por células dendríticas. A transglutaminase tissular realiza a deamidação dos peptídeos da gliadina gerando resíduos de ácido glutâmico carregados negativamente. Essas modificações aumentam a afinidade desses peptídeos pelas posições 4,6 e 7 do receptor de ligação de antígeno do HLA-DQ2, desencadeando uma agressiva resposta imune das células T. Esses linfócitos estimulam outros linfócitos a produzirem citocinas como interferon-gama, interleucina-4/6 e fator de necrose tumoral, resultando finalmente em uma enterite. A indução da expressão de antígenos de superfície celular HLA da classe II aberrantes em enterócitos permite que essas células apresentem antígenos adicionais aos linfócitos.

Fonte: Farrell & Kelly, 2002.

3.5.3.2 Resposta inata

Este tipo de resposta dado aos peptídeos do glúten pelo sistema imunológico é imediata e inespecífica, com muito ainda a ser esclarecido e compreendido (Kagnoff, 2005). Muito se tem estudado a respeito do efeito direto de certos peptídeos do glúten sobre as células do epitélio intestinal. As alterações induzidas pela gliadina foram vistas dentro de quatro horas, um tempo considerado muito rápido para ser apenas uma resposta mediada pelas células T (Maiuri *et al*, 1996). Recentemente, Mairui *et al* (2003) mostraram que a adição do peptídeo 31-43 em amostras de biópsias de pacientes celíacos ativou os macrófagos intestinais que passaram a produzir IL-15 e outras citocinas. A IL-15 aumentou a capacidade das células dendríticas em apresentar antígenos, com subsequente intensificação da resposta adaptativa. Esta citocina estimula as propriedades citotóxicas dos linfócitos intra-epiteliais (LIE) (Maiuri *et al*, 2001) que expressam uma variedade de receptores NK (célula exterminadora natural) em sua superfície. Meresse *et al* (2004) observaram que a IL-15 aumenta a expressão do receptor NKG2D (“C-type lectin-like activating immunoreceptor”) nos LIE. Hue *et al* (2004) demonstraram *in vitro* que a gliadina e a IL-15 aumentaram a expressão de moléculas MICA (“moléculas da classe I do CPH relacionadas ao gene A”) nos enterócitos. Tais moléculas ligam-se aos receptores NKG2D que são expressos na maioria das células NK e nos LIE com consequente dano tissular (Figura 9). Quando foi adicionado o anticorpo anti-IL-15, observou-se bloqueio nos efeitos do glúten, sugerindo o papel central desta citocina na regulação das moléculas MICA. Assim, a atrofia vilositária pode ser atribuída à

lesão do enterócito mediada pelos LIE, envolvendo a interação NKG2D /MICA, após a ação da gliadina (Hue *et al*, 2004).

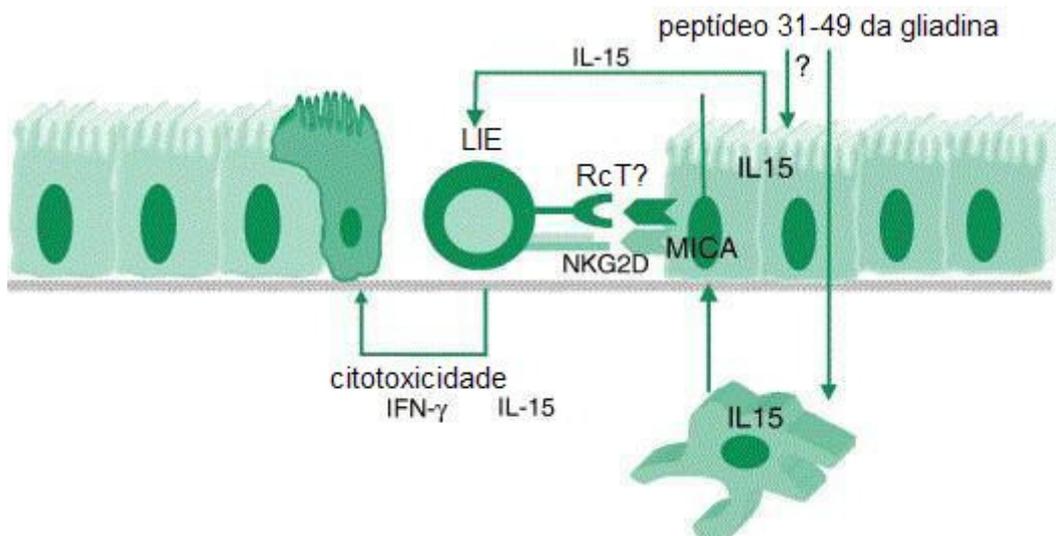


Figura 9: Mecanismo de ativação dos LIE pela IL-15 em pacientes celíacos. O peptídeo 31-49 induz a produção da IL-15 nas células epiteliais e macrófagos por uma via ainda desconhecida. Por sua vez, a IL-15 ativa os LIE ao estimular suas propriedades citotóxicas e a expressão dos receptores imunes inatos NKG2D. Além disso, a IL-15 induz a expressão de MICA, o ligante epitelial do NKG2D. A ligação do NKG2D ao MICA pode então desencadear a citotoxicidade dos LIE contra as células epiteliais. Nos LIE estimulados pela IL-15, como nos casos da DC ativa e na DC refratária, a citotoxicidade dos LIE pelo MICA-NKG2D, pode então ocorrer independentemente de um sinal específico dado via receptor da célula T.

Fonte: Koning *et al*, 2005.

Este grupo especial de linfócitos T, os LIE, difere fenotipicamente e funcionalmente daqueles da lâmina própria e está fortemente envolvido na patogênese da DC (Kutlu *et al*, 1993). O aumento dos LIE ou linfocitose intra-epitelial é considerado uma forma de sensibilidade ao glúten por ser uma alteração precoce na DC e a primeira anormalidade que acontece após o desafio com glúten (Marsh *et al*, 1992). A presença dos LIE foi considerada um dos principais marcadores da doença não sendo visto em outros processos patológicos intestinais (Cerf-Bensussan *et al*, 2003). A expansão anormal dos LIE,

induzida pela IL-15, pode ser considerada uma lesão pré-cancerosa que precede a instalação do linfoma epitelial. Mention *et al* (2003) observaram que, a expressão epitelial da IL-15 diminuiu em pacientes com dieta sem glúten mas permaneceu mais alta que nos controles. Tal fato poderia explicar o porquê da permanência dos LIE após a exclusão do glúten e sugerir um possível defeito na regulação desta citocina nos celíacos (Meresse *et al*, 2004). Sob perspectivas futuras, a neutralização dessa citocina pode ter um valor específico na terapêutica da DC com benefícios evidentes aos portadores da doença (Cellier *et al*, 2000).

3.6 Quadro Clínico

As manifestações clínicas da DC variam com a idade do paciente, a duração e extensão da doença e com a presença de problemas extra-intestinais (Tabela 4). As razões pelas quais a expressão clínica da DC é tão variável, podendo ocorrer em qualquer época da vida ainda não está totalmente esclarecida (Holmes e Catassi, 2000).

Tabela 4: Possíveis manifestações clínicas da DC

Manifestações secundárias à DC não tratada	Doenças associadas	Doenças genéticas associadas
Com sintomas clássicos	Doenças autoimunes	Síndrome de Down
<i>Distensão abdominal</i>	<i>Diabetes tipo 1</i>	Síndrome de Turner
<i>Anorexia</i>	<i>Tireoidite</i>	Síndrome de Williams
<i>Diarréia crônica ou recorrente</i>	<i>Síndrome de Sjogren</i>	Deficiência de IgA
<i>Atraso no desenvolvimento ou perda de peso</i>	Alterações neurológicas ou psicológicas	
<i>Irritabilidade</i>	<i>Ataxia</i>	
<i>Fraqueza muscular</i>	<i>Autismo</i>	
<i>Crise celíaca (rara)</i>	<i>Depressão</i>	
	<i>Epilepsia com calcificações intracranianas</i>	
Sem sintomas clássicos		
<i>Artrite</i>	Nefropatia por IgA	
<i>Aftas</i>	Osteopenia / osteoporose	
<i>Constipação</i>		
<i>Defeito no esmalte dentário</i>		
<i>Dermatite herpetiforme</i>		
<i>Hepatite</i>		
<i>Anemia ferropriva</i>		
<i>Atraso puberal</i>		
<i>Dor abdominal recorrente</i>		
<i>Baixa estatura</i>		
<i>Vômito</i>		

Fonte: Fasano e Catassi, 2005.

Dependendo das características de apresentação juntamente com as anormalidades histológicas e imunológicas à época do diagnóstico, a DC pode ser

classificada em forma típica ou clássica, atípica, silenciosa e potencial (Fasano e Catassi, 2001) (Tabela 5).

Tabela 5: Quadro clínico e histológico da DC em crianças.

Forma clínica	Alteração histológica	Manifestação clínica
Típica	Enteropatia	Sintomas intestinais
Atípica	Enteropatia	Sintomas extraintestinais
Silenciosa	Enteropatia	Ausente/ mínimas queixas Identificação através de testes de rastreamento sorológico
Potencial	Intestino normal/ alterações mínimas	Ocasionalmente sintomático Testes sorológicos positivos e perfil de HLA predisponente (DQ2 ou DQ8)

Fonte: Catassi *et al*, 2002.(a)

Na *forma típica ou clássica* há o predomínio de manifestações gastrointestinais com início dos sintomas entre 6 e 24 meses de idade, após a introdução do glúten na dieta. Lactentes e crianças pequenas podem apresentar diarreia crônica, distensão abdominal, vômitos, ganho pondero-estatural insuficiente, anorexia, irritabilidade, edema e fraqueza muscular. Dentro de algumas semanas ou meses do início da ingestão de glúten a velocidade do ganho de peso diminui culminando com desnutrição grave. A má absorção intestinal pode levar a anemia por deficiência de ferro, hipoalbuminemia, hipocalcemia e hipovitaminoses. (Fasano e Catassi, 2001). Apesar da ampla variação entre os países, a forma clássica da DC ainda é a apresentação mais comum no grupo pediátrico (Fasano e Catassi, 2005) (Figura 10) e nesta faixa etária, o início dos sintomas pode sofrer interferências devido à quantidade de glúten na dieta e a duração do aleitamento materno (Hill *et al*, 2005; Ivarsson *et al*, 2000).

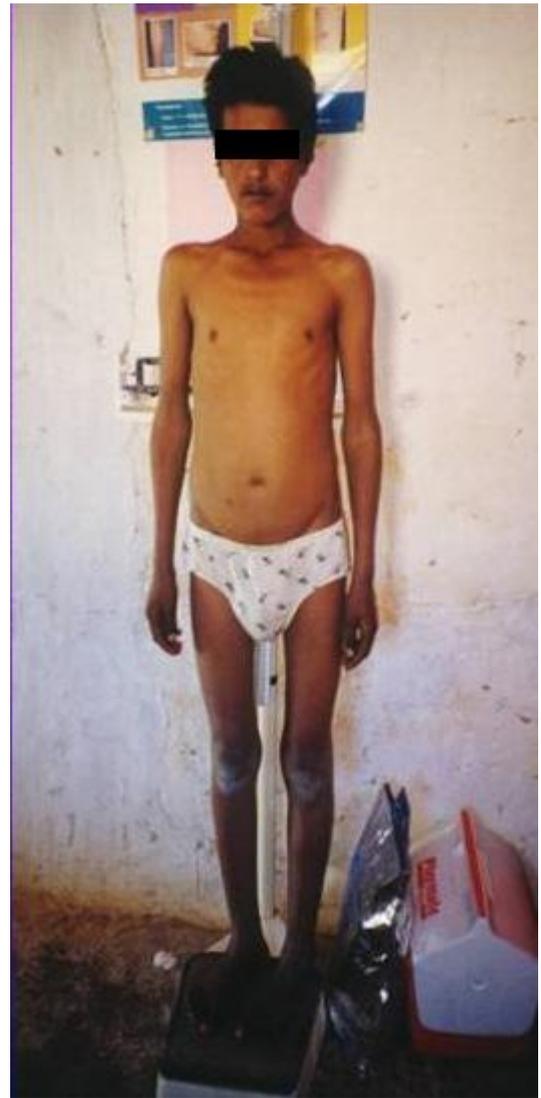


Figura 10. Crianças Saharawi com doença celíaca

Fonte: Fotografias cedidas pelo Prof. Dr. Carlo Catassi – Università degli Studi di Ancona, Itália.

Na *forma atípica* geralmente os sintomas se manifestam mais tardiamente. São acometidas crianças maiores (5-7 anos), adolescentes e adultos, e os sintomas gastrointestinais são menos acentuados ou estão ausentes (Fasano e Catassi, 2005). Estes pacientes podem apresentar queixas intestinais como dor abdominal recorrente, náuseas, vômitos, empachamento e constipação. Porém, os sintomas extra-intestinais são os mais frequentes destacando-se a anemia ferropriva, a baixa estatura, a hipoplasia do esmalte dentário, a artrite ou artralgia,

a hepatite crônica, a osteoporose, problemas neurológicos, o atraso puberal, a infertilidade e maior risco para abortamentos (Carroccio *et al*, 1988; Groll *et al*, 1980, Aine L, 1990; George *et al*, 1996; Vajro *et al*, 1993; Kemppainen *et al*, 1999; Chin *et al*, 2003; Mäki *et al*, 1998; Collin *et al*, 1996; Ciacci *et al*, 1996).

Na *forma silenciosa ou assintomática* ocorre a presença de alterações histológicas na biópsia intestinal em pessoas aparentemente assintomáticas (Ferguson *et al*, 1993). Catassi *et al* (1996) estudaram 17.201 crianças italianas escolares saudáveis e encontraram que a frequência de DC silenciosa é cinco vezes mais alta do que a DC sintomática. A maioria dos casos nesta classificação foi identificada através de estudos de rastreamento populacional envolvendo indivíduos aparentemente saudáveis e em rastreamento em grupos de risco como os portadores de diabetes melitus, os parentes de celíacos, os portadores de síndrome de Down e síndrome de Turner, como no presente estudo. Entretanto, uma anamnese detalhada e cuidadosa pode revelar a presença de sintomas discretos como irritabilidade, baixo rendimento escolar, tendência à depressão, fadiga durante o exercício, redução da densidade óssea e diminuição do bem-estar físico e psíquico (Mäki *et al*, 1998). Em um grupo de adolescentes com a forma silenciosa da DC, houve o relato de grande melhora física e psíquica após o início da dieta sem glúten (Fabiani *et al*, 1996).

Na *forma potencial* ocorre a presença dos anticorpos antiendomíseo e anti-transglutaminase, em indivíduos com genótipo HLA predisponente (DQ2 ou DQ8), porém com biópsia intestinal normal ou apenas aumento de linfócitos intra-

epiteliais. Tais pacientes correm o risco de desenvolver a forma clássica posteriormente (Fasano e Catassi, 2005).

A dermatite herpetiforme é freqüentemente vista como uma variante da DC afetando entre 10% a 20% dos pacientes celíacos (Reunala, 2001) embora raramente afete a população pediátrica (Hill *et al*, 2002). Caracteriza-se por uma dermatite bolhosa, crônica e pruriginosa que acomete preferencialmente cotovelos, joelhos e nádegas. A biópsia da pele revela depósitos granulares de imunoglobulina A na transição entre a derme e epiderme. O perfil sorológico é semelhante ao encontrado na DC e embora a associação com sintomas intestinais não seja comum, as alterações na mucosa intestinal podem ser encontradas em graus variados e em quase na totalidade dos casos (Fry, 1995).

Nos adultos, a anemia por deficiência de ferro, tipicamente refratária ao tratamento, pode ser a única manifestação da doença (Carroccio *et al*, 1988). Em alguns pacientes, a doença pode ser detectada pelas alterações encontradas em um procedimento de endoscopia digestiva (Lo *et al*, 2003).

A grande variabilidade na apresentação levou à descrição de um “*iceberg celíaco*” (Figura 11) em que a parte ainda não identificada de pacientes celíacos é maior que a parte emergente, formada pelos pacientes já diagnosticados e tratados (Catassi *et al*, 1996). O reconhecimento da parte submersa do iceberg demonstra o grande nível de sensibilidade individual ao glúten e transformou o conceito de doença rara em um problema de saúde ainda não completamente reconhecido (Cerf-Bensunssan *et al*, 2003).

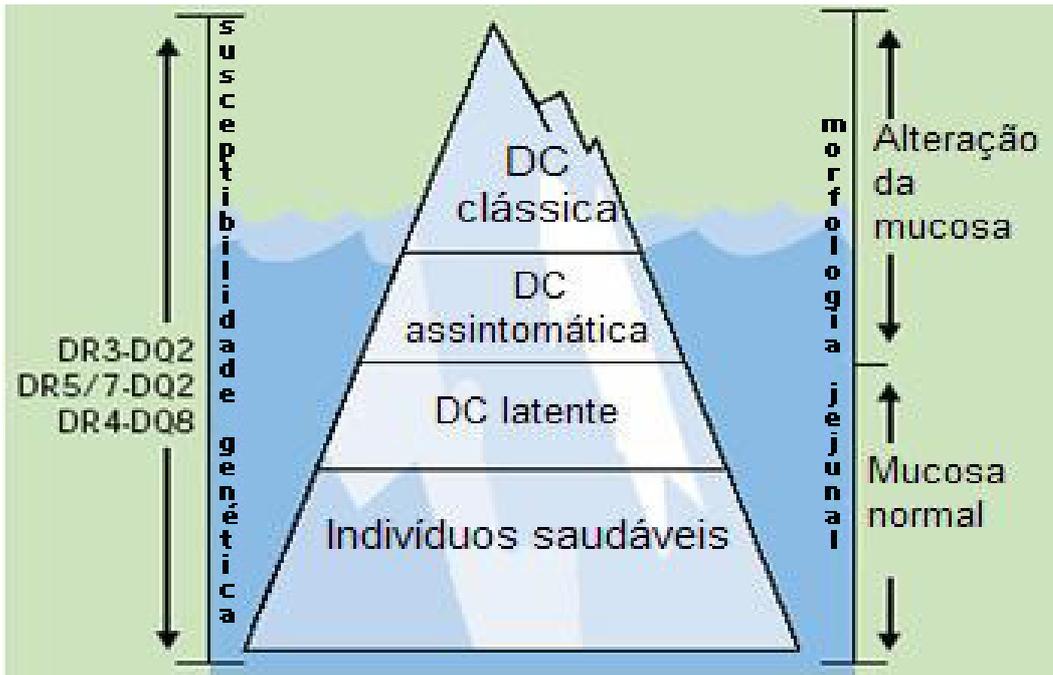


Figura 11. O iceberg na doença celíaca e o espectro de sensibilidade ao glúten.

Fonte: Maki, 1997

3.7 Diagnóstico

Os parâmetros para o diagnóstico da DC foram substancialmente alterados nos últimos 50 anos graças à melhor compreensão da apresentação clínica da afecção e ao advento dos testes sorológicos cada vez mais sensíveis e específicos. A identificação dos casos de DC era baseada na pesquisa dos sintomas clássicos da doença e para a confirmação de uma suspeita clínica de DC, usavam-se testes inespecíficos que estabeleciam apenas as alterações nas funções da digestão e absorção do intestino proximal: teste de tolerância à glicose, teste da D-xilose e dosagem da gordura fecal (Fasano e Catassi, 2001).

Em 1970, a Sociedade Europeia de Gastroenterologia Pediátrica Hepatologia e Nutrição (ESPGHAN) propuseram critérios para o diagnóstico da

DC em crianças, baseados em três biópsias intestinais: a primeira mostrando a mucosa do intestino delgado plana no momento do diagnóstico; a segunda, a normalização da mucosa intestinal em vigência de dieta isenta de glúten e a terceira mostrando a deterioração mucosa intestinal após um período de dieta com glúten (Meeuwise, 1970).

Vinte anos após, a ESPGHAN revisou tais critérios e propôs que para crianças maiores de dois anos, o diagnóstico da DC seria feito com apenas dois critérios: uma biópsia intestinal mostrando alterações típicas da doença em vigência de dieta com glúten e uma resposta clínica e sorológica favorável após dieta sem glúten (Walker-Smith *et al*, 1990).

Atualmente a biópsia intestinal permanece como o padrão-ouro no diagnóstico da DC e os testes sorológicos são considerados úteis para: a) identificar quais indivíduos deverão ser submetidos à biópsia; b) apoiar o diagnóstico daqueles que têm biópsia característica; c) monitorar a resposta ao tratamento. Os testes disponíveis incluem IgA e IgG anti-gliadina (IgA-AGA; IgG-AGA), IgA anti-reticulina (IgA-ARA), IgA anti-endomísio (IgA-EMA) e anticorpos IgA anti-transglutaminase (IgA-tTG). Uma série de estudos foi publicada com a avaliação da especificidade e da sensibilidade desses testes tanto em adultos quanto em crianças com a finalidade de determinar a prevalência da DC em grupos populacionais (Hill, 2005) (Tabela 6).

Tabela 6: Variações da sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos em adultos e crianças.

Teste	Sensibilidade	Especificidade
IgA-AGA	57-100%	47-94%
IgG-AGA	52-100%	71-100%
IgA-EMA	86-100%	90-100%
IgA-tTG	77-100%	91-100%

Fonte: Hill, 2005.

3.7.1. Anticorpos anti-reticulina (AAR):

Estes anticorpos podem ser tanto da classe IgA quanto IgG e são detectados por imunofluorescência indireta tendo como substrato o fígado e rim de ratos. Foram descritos em 1971, mas por ter baixa sensibilidade para detectar a DC não têm sido usados (Ciclitira *et al*, 2001).

3.7.2. Anticorpos antigliadina (AGA):

Os anticorpos antigliadina foram os primeiros marcadores sorológicos para DC a serem largamente utilizados na prática clínica no início dos anos 80. Duas classes são habitualmente medidas: IgA e IgG. Apesar de serem de fácil execução e terem baixo custo, possuem sensibilidade e especificidade um pouco baixas (Troncone e Fergusson, 1991). Observou-se que algumas condições como esofagite, colite ulcerativa, fibrose cística, Síndrome de Down, gastrite, alergia a proteína ao leite de vaca, doença de Crohn, também causam níveis elevados de anticorpos AGA e podem levar a resultados falso-positivos (Hill *et al*, 2005).

Os anticorpos AGA têm valor em duas condições específicas: nos pacientes com imunodeficiência primária de IgA e em crianças menores de 2 anos de idade. A deficiência seletiva de IgA ocorre em 1,7% a 2,6% dos portadores de DC, uma associação com frequência 10 a 16 vezes maior que na população geral (Cataldo *et al*,1998). Desse modo, o valor dos testes sorológicos que utilizam estes anticorpos ficam comprometidos e nesse caso, recomenda-se a dosagem IgG-AGA. As crianças sintomáticas menores de dois anos apresentam baixa positividade para os outros testes sorológicos (EMA e tTG) e por isso, foi recomendado que se utilizasse a dosagem dos anticorpos IgA-AGA e IgG-AGA (Burgin-Wolff *et al*, 1991). Por desaparecerem rapidamente após o início da dieta sem glúten são também utilizados para verificar a adesão à dieta ou a ingestão inadvertida de glúten (Troncone e Fergusson, 1991).

3.7.3. Anticorpos anti-endomísio (EMA)

Nos anos 80, Chorzelski *et al* (1984) descreveram pela primeira vez a presença de anticorpos antiendomísio em pacientes com DC e dermatite herpetiforme. Esses anticorpos são dirigidos contra proteínas do tecido conjuntivo de humanos e de primatas. Ao se utilizar o método de imunofluorescência indireta e o esôfago de macaco como substrato antigênico, observa-se a presença do EMA na lâmina como um rendilhado em favo de mel de coloração verde brilhante (Figura 12). Por razões econômicas e éticas, sugeriu-se a substituição do esôfago de primata pelo cordão umbilical humano como substrato para o EMA, embora neste caso, o modelo da imunofluorescência não seja tão fácil de interpretar (Volta *et al*, 1995).

Apesar de ser um bom marcador para a DC, algumas desvantagens foram apontadas: a disponibilidade limitada de substratos antigênicos e a dependência da habilidade do observador. Como o teste se baseia na pesquisa de uma imunoglobulina da classe A, os resultados podem ser falsamente negativos nos pacientes com deficiência de IgA. (Catassi *et al*, 2002).

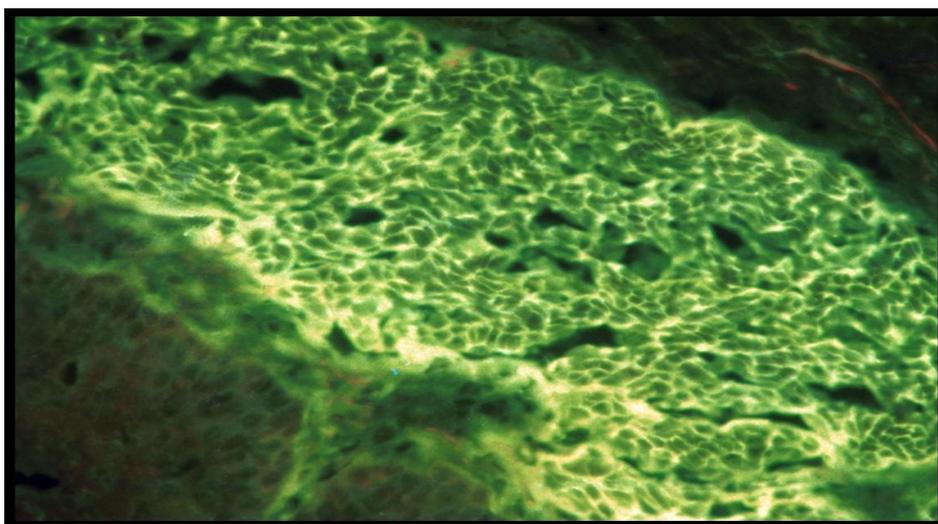


Figura 12. : EMA positivo, com padrão fluorescente característico em favo de mel ao longo da camada muscular do esôfago de macaco

Fonte: Laboratório de Pesquisa em Pediatria da Faculdade de Medicina da UNB

3.7.4. Anticorpos anti-transglutaminase (anti-tTG)

A transglutaminase tecidual (tTG) é uma enzima largamente distribuída no organismo, cálcio dependente, e que catalisa a ligação cruzada da gliadina, resultando na formação de complexos gliadina-gliadina ou gliadina-tTG, que agem como neoepítomos antigênicos. Tais epítomos poderiam desencadear um mecanismo que levaria a quebra da tolerância oral dando início à doença auto-imune (Molberg *et al*, 1998).

Em 1997, Dieterich *et al* identificaram que a transglutaminase (tTG) era o principal auto-antígeno contra o endomísio desencadeando uma resposta humoral com a produção de anticorpos da classe das imunoglobulinas A (IgA). A técnica para a detecção do anti-tTG é o ensaio imuno-enzimático (ELISA) e identifica anticorpos da classe IgA. Esta técnica permite o rastreamento populacional para DC por ser simples, rápida e econômica, além de eliminar o viés do observador como acontece nas técnicas que usam imunofluorescência (Fasano e Catassi, 2001). A sensibilidade e especificidade do teste variaram de 77%-100% e 91%-100% e a comparação entre os testes que usaram o anti-tTG de cobaia e os que usaram o anti-tTG recombinante humano, mostraram que o último é mais sensível e específico (Hill *et al*, 2005). Em 2003, na Finlândia, Maki *et al* estudaram 3654 estudantes com idade de 7 a 16 anos e relataram que o anti-tTG foi tão confiável e sensível na detecção da DC quanto o EMA. Um estudo recente de revisão sistemática mostrou que os testes EMA e anti-tTG recombinante humano são os mais sensíveis e específicos para identificar os indivíduos que necessitam ser submetidos à biópsia intestinal comprobatória (Hill *et al*, 2005). As modernizações na técnica para medir o anti-tTG permitem a quantificação simultânea da IgA sérica na mesma técnica (Hill *et al*, 2004).

A busca pela agilidade no diagnóstico da DC tem levado os pesquisadores a desenvolver testes realizados no próprio consultório médico como um primeiro passo diagnóstico. Nemeč *et al* (2006) avaliaram dois kits de testes comerciais baseados respectivamente na detecção de anticorpos IgA e IgG-tTG recombinante humano no soro (Stick CD1) e anticorpos IgA-tTG recombinante humano em uma gota de sangue (Biocard™). O primeiro apresentou uma

sensibilidade de 100% e especificidade de 94%; o segundo, uma sensibilidade de 96% e especificidade de 100%, o que levou os autores a indicarem estes testes para que pacientes portadores de DC fossem identificados com rapidez, de forma não dispendiosa e sem atraso no diagnóstico, especialmente naqueles com a forma atípica da doença.

Apesar dos exames sorológicos serem muito sensíveis para detectar pessoas com DC, alguns casos de soronegatividade podem ocorrer, mesmo em presença de IgA sérica normal. Segundo Green *et al* (2005), uma das explicações para o fato seria a baixa expressão dos anticorpos em casos de lesão leve da mucosa intestinal.

3.7.5. Pesquisa de antígenos leucocitários humanos (HLA)

Sabe-se hoje que há uma forte associação entre DC e os tipos específicos de HLA da classe II, porque mais de 95% dos celíacos têm o haplótipo DQ2 e 5% restante, DQ8 (Sollid *et al*, 1989). Com a observação de que aproximadamente 30% da população também têm o haplótipo DQ2 verificou-se que, apesar de muito sensível, a tipagem do HLA poderia ser pouco específica para identificar aqueles indivíduos que necessitariam da biópsia intestinal. Entretanto, a pesquisa dos perfis específicos do HLA poderia ser indicada para excluir os casos duvidosos e os indivíduos assintomáticos pertencentes a grupos de risco para DC tais como os parentes em primeiro grau de celíacos, os portadores de *diabetes melitus* tipo I, os pacientes com síndrome de Down, síndrome de Williams ou síndrome de Turner (Hill *et al*, 2005). Podem ser indicados também para avaliar os pacientes que já estão em dieta sem glúten, mas que não tiveram um

diagnóstico prévio (Guandaline e Gupta, 2002). Um resultado negativo para HLA DQ2/DQ8 significa pouca probabilidade para DC, não havendo necessidade de submeter o paciente a testes sorológicos subsequentes. (Hill *et al*, 2005)

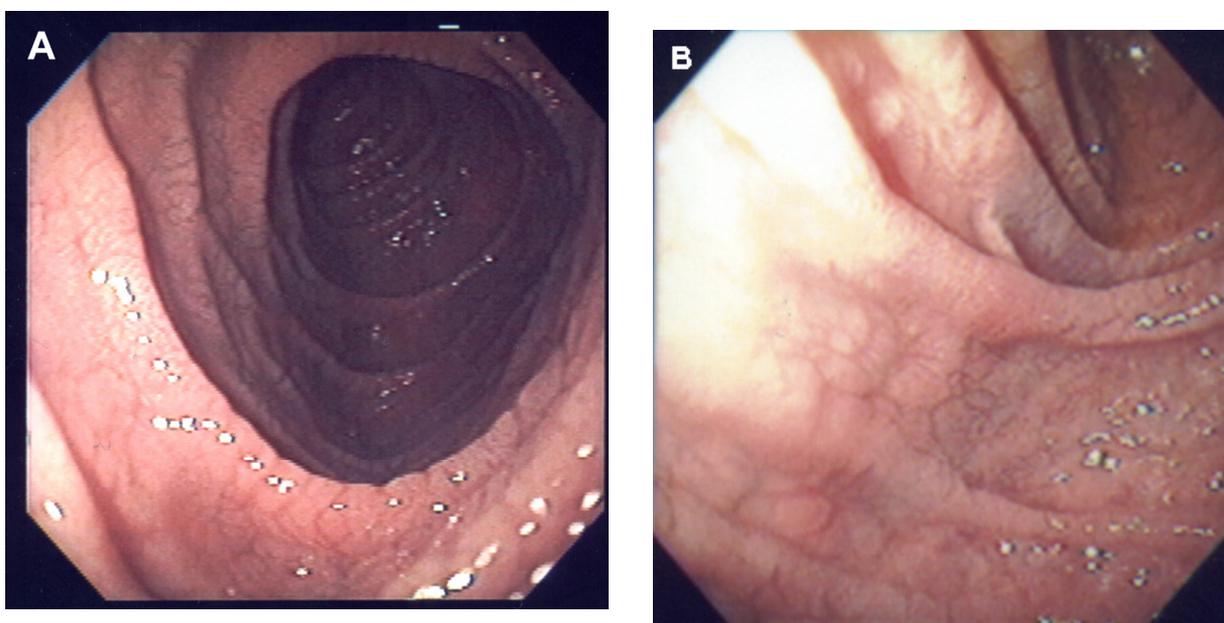
3.7.6. Biópsia intestinal e histopatologia

A recomendação atual é a de que o diagnóstico seja confirmado por biópsia intestinal em todos os casos. A avaliação histológica de uma amostra de biópsia do intestino delgado é considerada o “padrão-ouro” para o diagnóstico da doença celíaca. Os fragmentos podem ser retirados tanto por via endoscópica quanto pelo mecanismo de sucção e guilhotina com a cápsula de Crosby-Kugler ou Watson e ambos os procedimentos têm sido considerados seguros (Hogberg *et al*, 2001). A via endoscópica permite tanto a retirada de vários fragmentos da mucosa quanto a avaliação do seu aspecto, o que proporciona uma menor chance de erro diagnóstico (Achkar *et al*, 1986). Os melhores locais para a extração do fragmento são as porções distais do duodeno (segunda e terceira porção). Esse cuidado evita a distorção da arquitetura e a interferência na avaliação da relação vilosidade/cripta que são produzidas pelas glândulas de Brunner ou por uma eventual duodenite (Dandalides *et al*, 1989).

Assim como a apresentação clínica, a lesão histopatológica também apresenta um espectro de severidade no qual as anormalidades discretas constituem um grande número. As alterações histológicas mais severas são encontradas nos segmentos proximais do intestino delgado e diminuem de intensidade até as porções mais distais. Quando há atrofia vilositária, o procedimento endoscópico pode revelar a ausência de pregas duodenais, vasos

venosos visíveis na submucosa e um padrão em mosaico entre as pregas mucosas (Marsh, 2002). Tais alterações foram demonstradas em um estudo que determinou a prevalência de DC em pacientes dispépticos submetidos à endoscopia digestiva alta de rotina em um hospital geral de Brasília. A prevalência de DC encontrada neste estudo foi de 1.4% (Lima *et al*, 2005) (Figura 13)

Figura 13: A e B, imagens endoscópicas do duodeno de pacientes celíacos revelando irregularidade das pregas e um aspecto em mosaico, caracterizado por sulcos na superfície mucosa.



Fonte: Cortesia do Dr. Vinícius Machado de Lima, Serviço de Endoscopia, Hospital Universitário de Brasília.

As alterações celulares características descritas na DC incluem: número aumentado de LIE (mais de 30 linfócitos por 100 enterócitos), índice mitótico de LIE maior do que 0,2 %, diminuição na altura das células epiteliais (substituição do epitélio colunar por cubóide), perda da polaridade nuclear com pseudo-estratificação das células epiteliais, diminuição do número das células calciformes e anormalidades na borda em escova. As alterações estruturais

observadas foram o alongamento das criptas, a atrofia das vilosidades (total ou subtotal) e uma diminuição da relação vilosidade/cripta (Hill *et al*, 2005).

A classificação histológica inclui o sistema convencional e o proposto por Marsh *et al*, em 1992. No sistema convencional a mucosa recebe a classificação de normal, atrofia vilositária parcial leve, atrofia vilositária parcial moderada e atrofia vilositária subtotal e total. A magnitude da má absorção e dos sintomas freqüentemente se correlacionam com a extensão da lesão da mucosa (Figura 14).

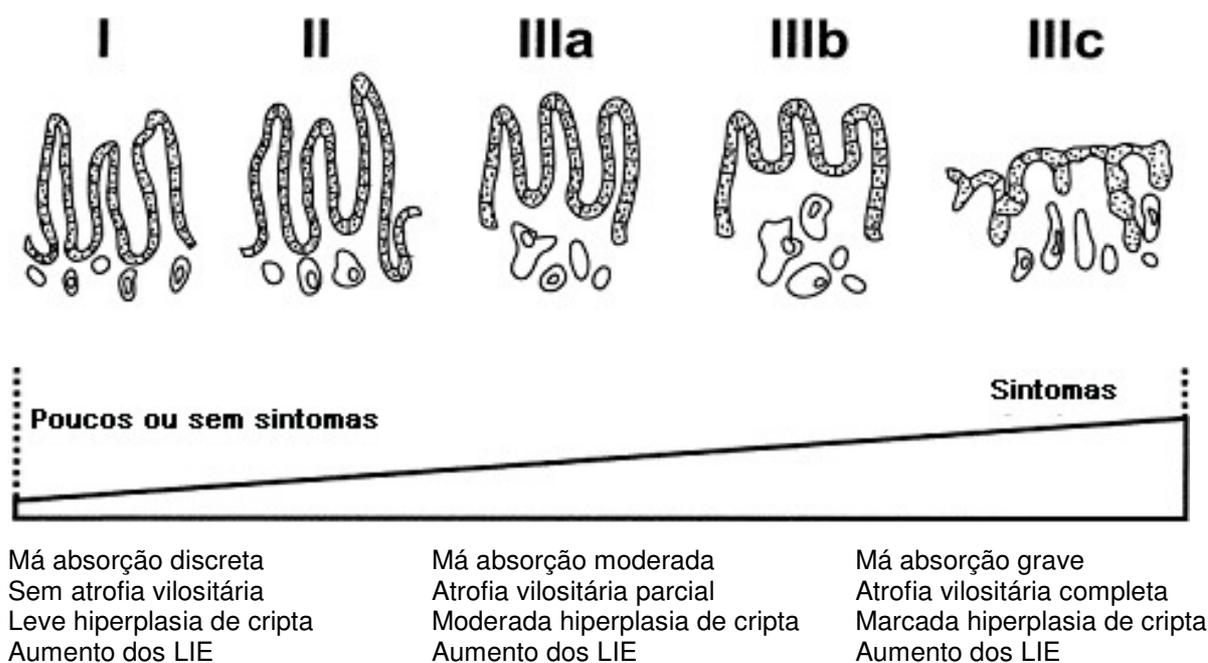


Figura 14. Espectro da má absorção e dos sintomas na DC. A magnitude da má absorção e dos sintomas nos pacientes com DC freqüentemente se correlacionam com a extensão da lesão da mucosa intestinal como descrito de I a IIIc, de acordo com o escore de Marsh para a lesão histológica.

Fonte: Rostom *et al*, 2006

Marsh classifica as lesões em cinco estágios conforme descrito na Tabela 7. Em 1999, Oberhuber *et al*, propuseram que o estágio 3 de Marsh poderia ser

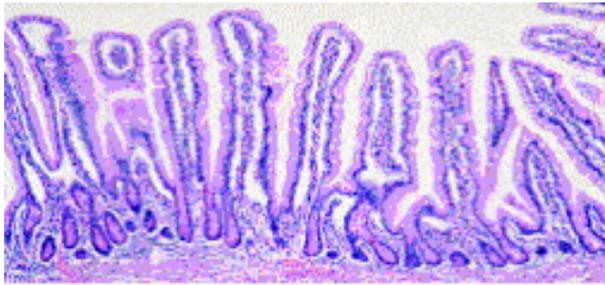
subdividido em 3a, 3b e 3c: atrofia vilositária parcial, atrofia vilositária subtotal e atrofia vilositária total, respectivamente. Tal classificação, apesar de bem aceita, pode levar a controvérsias na interpretação e grande variação inter-observadores (Corazza *et al*, 1982).

Tabela 7: Classificação histológica de Marsh

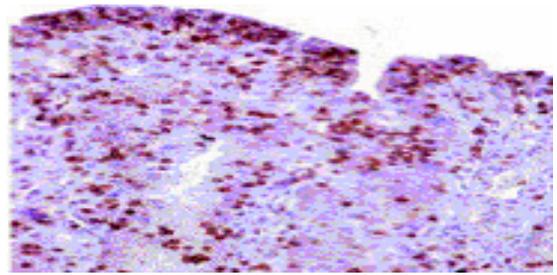
Classe	Denominação	Descrição
Marsh 0	Pré-infiltrativa / mucosa normal	Vilosidades e criptas sem alterações. LIE em quantidade normal
Marsh 1	Lesão infiltrativa	Aumento dos LIE. Arquitetura mucosa e superfície absorptiva normal
Marsh 2	Lesão hiperplástica	Aumento dos LIE e hiperplasia das criptas, com vilosidades preservadas
Marsh 3	Lesão destrutiva	Aumento dos LIE e hiperplasia das criptas e redução da altura das vilosidades
Marsh 4	Lesão hipoplástica	Atrofia vilositária total com hipoplasia das criptas

Fonte: Marsh, 1992

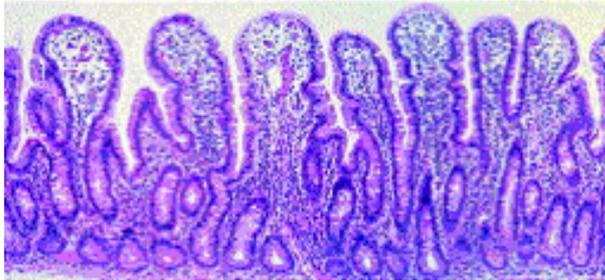
Há boa evidência científica para apoiar que biópsias com atrofia vilositária (Marsh tipo 3) são características da DC. As alterações correspondentes ao Marsh tipo 2 são sugestivas da doença sendo o diagnóstico fortalecido pelos testes sorológicos positivos. A presença de lesões infiltrativas (Marsh tipo 1) é inespecífica na infância e mais uma vez, os testes sorológico (anti-tTG ou EMA) aumentam a probabilidade individual para a doença (Hill *et al*, 2005). A lesão tipo Marsh 4 descreve um tipo histológico mais raro que parece estar associado à DC refratária ao tratamento e ao desenvolvimento da enteropatia associada ao linfoma de células T (Cellier *et al*, 2000) (Figura 15).



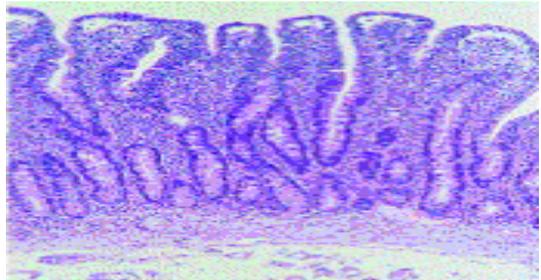
Marsh I: enterite linfocítica



Linfocitose intraepitelial



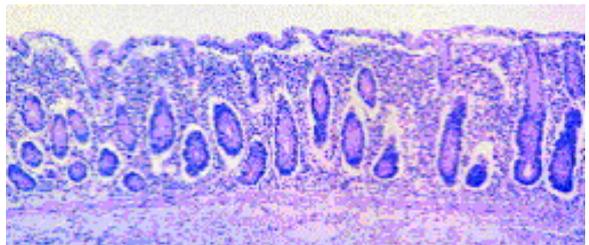
Marsh II: Enterite linfocítica com hiperplasia de cripta



Marsh III A: Atrófia vilositária parcial



Marsh III B: Atrófia vilositária subtotal



Marsh III C Atrófia vilositária total:

Figura 15. Padrão histológico segundo a classificação de Marsh

Fonte: Green *et al*, 2005

Segundo Shidraw *et al* (1994) a maior cilada no diagnóstico da DC é a interpretação exagerada da morfologia das vilosidades levando aos erros relacionados ao achatamento da mucosa em biópsias mal orientadas. Por outro lado, os achados histopatológicos podem ser mais leves que o esperado devido ao uso de imunossupressores, ou pela redução da ingestão de glúten, como freqüentemente pode ser observado em membros da família de um paciente celíaco (Green *et al*, 2005).

De grande importância para a DC é a demonstração de que as anormalidades histopatológicas e sorológicas melhoram com a dieta sem glúten e que podem recorrer com a sua reintrodução. Assim, para aqueles pacientes que relatam melhora dos sintomas clínicos e têm negatização dos marcadores sorológicos após um ano de tratamento, uma nova biópsia não se faz necessária (Dewar e Ciclitira, 2005). O teste sorológico inicial negativo não exclui totalmente a possibilidade de que este indivíduo desenvolva a doença posteriormente, principalmente se tiver o genótipo HLA DQ2 ou DQ8. Por esse motivo os pacientes que fazem parte do chamado grupo de risco para DC, ou seja, os parentes de celíacos, os portadores de tireoidite, de *diabetes melitus*, de síndrome de Down, de síndrome de Williams e de síndrome de Turner, deverão ser periodicamente reavaliados. Para os pacientes que apresentam anti-tTG positivo, mas a avaliação histológica não mostra as alterações características da DC, sugere-se a realização da determinação do genótipo HLA e a revisão da biópsia por patologistas experientes ou até mesmo a retirada de outros fragmentos que descartariam a possibilidade de lesões descontínuas da mucosa. Caso o paciente não apresente o HLA DQ2 ou DQ8 positivo, a probabilidade de ter doença celíaca torna-se muito pequena (Hill *et al*, 2005).

3.7.7. Anormalidades laboratoriais e de imagem

Por ser a DC uma enteropatia que leva a uma má absorção intestinal, uma série de anormalidades hematológicas e bioquímicas podem ser encontradas (Tabela 8). Embora de muita relevância para avaliação e tratamento do paciente,

nenhum destes testes são suficientemente sensíveis ou específicos (Farrel e Kelly, 2002).

Tabela 8: Anormalidades laboratoriais relacionadas à DC

Deficiência de folato
Deficiência de ferro
Hipovitaminose D
Distúrbios eletrolíticos
Hipertransaminasemia
Gordura fecal positiva
Teste da D-xilose anormal

Fonte: Farrel e Kelly, 2002

Os exames radiológicos contrastados com bário são desnecessários na maioria dos pacientes exceto na investigação das complicações como linfoma, carcinoma, jejunoileíte ulcerativa ou estenoses (Rubesin *et al*, 1989). A tomografia abdominal ou a ressonância magnética podem indicar a presença de alterações celíacas por revelarem hipoesplenismo, ascite ou linfadenopatias, incluindo cavitações em gânglios mesentéricos (Jones *et al*, 1984). O diagnóstico da osteopenia e da osteoporose pode ser feito através do RX simples ou da densitometria óssea (Scott *et al*, 2000).

3.8 Tratamento

O tratamento disponível atualmente para os celíacos é a dieta isenta de glúten e requer do paciente a adesão para toda a vida já que a DC não tratada está associada a significativo aumento na morbidade e mortalidade. A aderência prolongada à dieta sem glúten pode reduzir tais riscos aos mesmos encontrados na população geral, daí a necessidade de diagnosticar e tratar com rapidez. A dieta sem glúten tem implicações financeiras e no estilo de vida do celíaco. Por

isso, recomenda-se que a retirada do glúten da dieta seja iniciada somente após o diagnóstico ser confirmado por biópsia intestinal. Do contrário, corre-se o risco de o diagnóstico não ser confirmado naquele momento, mas após uma nova exposição prolongada ao glúten, uma vez que a dieta sem glúten pode normalizar os testes sorológicos e restaurar a mucosa (Hill *et al*, 2005).

O glúten é um ingrediente muito comum na dieta humana e sua restrição total torna-se um verdadeiro desafio. A adesão à dieta requer educação continuada dos pacientes e familiares por médicos e nutricionistas, principalmente porque o paciente deve retirar da sua alimentação não só o trigo, mas também o centeio e a cevada. A toxicidade das aveias ainda não foi totalmente esclarecida. Estudos prospectivos de cinco anos em pacientes celíacos adultos que ingeriam aveia, não mostraram efeitos deletérios desta sobre a mucosa intestinal (Janatuinen *et al*, 2002). Um estudo randomizado e duplo-cego realizado em crianças celíacas recém diagnosticadas mostrou que a presença de moderadas quantidades de aveia na dieta sem glúten não impediu a normalização sorológica e histológica. Tal observação levou os pesquisadores à conclusão de que a aveia pode ser usada com segurança (Hogberg *et al*, 2004). De modo geral, tanto a aveia quanto as outras farinhas comercializadas podem sofrer contaminação com glúten durante os processos de colheita, armazenamento e moagem. Assim sendo, alguns autores recomendam a retirada da aveia da dieta pelo menos até a remissão da doença (Farrel e Kelly, 2002).

Uma das maiores controvérsias no tratamento dos celíacos está relacionada com a quantidade mínima de glúten que é permitida na dieta.

Existem evidências que demonstram que pequenas quantidades de glúten ingeridas regularmente podem levar a alteração na mucosa intestinal. Medicamentos, suplementos vitamínicos e minerais assim como gomas de mascar e amidos podem conter glúten como um ingrediente inativo (Fasano e Catassi, 2001). As controvérsias a respeito do que constitui uma dieta livre de glúten são em parte o resultado da falta de acurácia das técnicas que detectam o glúten e na falta de evidências científicas sólidas sobre o limite para o consumo seguro do glúten (Hill *et al*, 2005).

A qualidade de vida dos celíacos poderia melhorar se houvesse um tratamento que permitisse o consumo de alguma quantidade de glúten por um curto período de tempo, por exemplo, em uma viagem ou em um evento social ou ainda, que promovesse a normalidade da função intestinal naqueles pacientes que, apesar da dieta rigorosa, não tivessem uma completa recuperação (Sollid e Khosla, 2005).

Pesquisas recentes têm ampliado a compreensão das bases moleculares desta doença e apontam novas estratégias para o tratamento. Uma delas é a suplementação oral com enzimas que aceleram a degradação gastrointestinal da prolina contida no glúten. As prolyl-endopeptidases (PEPs) expressas em microorganismos são capazes de quebrar os peptídeos tóxicos tornando-os disponíveis para a ação das enzimas da borda em escova e, assim, reduzir as mínimas quantidades de peptídeos da gliadina que escapam do processamento epitelial (Shan *et al*, 2002). As PEPs, administradas em fórmulas terapêuticas,

podem minimizar os efeitos tóxicos da ingestão de moderada quantidade de glúten (Hausch *et al*, 2002).

A modificação genética do trigo com o desaparecimento dos peptídeos imunogênicos é uma estratégia complicada devido ao grande número de epítomos estimuladores da célula T e à complexidade genética do trigo. Uma das alternativas parece ser o desenvolvimento de peptídeos análogos que interfiram com a ligação ao HLA-DQ e com a ativação das células T, a fim de redirecionar a resposta imune para a tolerância (Cerf-Bensussan *et al*, 2003).

A tolerância da mucosa é um fenômeno imunológico natural que ocorre para prevenir as respostas inflamatórias nocivas às proteínas que fazem parte dos alimentos (Maurano *et al*, 2001). As vias oral e nasal são efetivas em modular as respostas do sistema imune, mas o maior obstáculo é o reconhecimento dos antígenos patogênicos. As tentativas para induzir tolerância oral têm sido realizadas em outras doenças como, por exemplo, no diabetes tipo I com tratamento com anticorpos anti CD-3 (Keymeulen *et al*, 2005).

A lesão da mucosa presente na DC é uma injúria imunomediada e desencadeada pela gliadina e este fato ensejou estudos para uma abordagem imuno-moduladora através de vacinas, que poderiam induzir tolerância a este antígeno. Maurano *et al* (2001) demonstraram que as frações purificadas da gliadina, especificamente a alfa-gliadina, quando administradas via intra-nasal em ratos, produziram uma diminuição da resposta proliferativa das células T e uma diminuição da produção de interferon γ após o enfrentamento com glúten. Recentemente, ratos transgênicos com genes HLA-DQ8 e em dieta sem glúten

foram imunizados intra-gastricamente com α -gliadina recombinante. Foram identificados dois epítomos imuno-dominantes correspondendo aos peptídeos p13 e ao p23 (Senger *et al*, 2005). O mapeamento dos epítomos com propriedades tolerogênicas representa um marcante passo para o tratamento da DC com vacinas (van Heel e West, 2006).

Estratégias complementares objetivam interferir na ativação das células T reativas ao glúten, incluindo a inibição da atividade da transglutaminase e o bloqueio da ligação dos peptídeos do glúten deaminados às moléculas HLA DQ2 ou DQ8. Estudos em biópsia de pacientes celíacos mostraram que a capacidade reativa das células T poderia ser bloqueada pela cistamina, um inibidor da tTG. (Molberg *et al*, 2001).

Outros tratamentos são indicados em especial para os pacientes refratários ao tratamento dietético e incluem terapia com citocinas e inibidores das moléculas de adesão, os quais interferem nas reações inflamatórias intestinais. O bloqueio da IL-15 pode representar uma abordagem terapêutica atraente uma vez que esta citocina regula a ativação e expansão dos LIE, envolvidos diretamente na DC refratária ao tratamento (Sollid e Khosla, 2005).

Quando as crianças sintomáticas aderem à dieta sem glúten, observa-se a melhora dos sintomas gastrointestinais, a retomada do crescimento e a normalização dos parâmetros hematológicos e bioquímicos (Rea *et al*, 1996).

Cuidados terapêuticos adicionais poderão ser necessários aos pacientes recém diagnosticados e com sintomas de má absorção, tais como a

suplementação com cálcio oral, ferro, vitamina D, K, A, C, E, tiamina, riboflavina, niacina e piridoxina (Farrel e Kelly, 2002). Os pacientes poderão ser também encaminhados aos grupos de apoio ao paciente celíaco que, além do apoio emocional e psicológico, fornecerão informações sobre produtos sem glúten disponíveis localmente (Hill *et al*, 2005).

Esforços da comunidade científica têm sido feitos na tentativa de buscar as melhores estratégias terapêuticas que culminem em melhor qualidade de vida e diminuição da morbi-mortalidade do paciente com doença celíaca (Fasano e Catassi, 2001). Entretanto, até o momento, o único tratamento que contempla os critérios de segurança e eficiência é a exclusão do glúten da alimentação (Hill *et al*, 2005).

3.9 Prognóstico

Numerosos estudos retrospectivos e prospectivos (Howdle *et al*, 2003; Catassi *et al*, 2002) ^(b) mostraram diferentes prognósticos para pacientes com doença celíaca e relataram diferentes riscos elevados de malignidade e mortalidade (Corrao *et al*, 2001; Schweizer *et al*, 2001). A doença celíaca está associada com linfoma intestinal e outras formas de câncer, especialmente adenocarcinoma do intestino delgado, da faringe e do esôfago (Howdle *et al*, 2003).

O termo “enteropatia–associada ao linfoma das células T”, é largamente usado para descrever uma forma rara de linfoma não–Hodgkin do intestino delgado especificamente associado à doença celíaca e que pode ocorrer em adultos, com pico na sexta década de vida. O fato de não ser encontrado em

crianças (Schweizer *et al*, 2001) pode indicar a necessidade de muitos anos de latência entre o início da doença celíaca e a ocorrência deste tipo de tumor (Catassi *et al*, 2005) ^(b). O diagnóstico da doença celíaca precede o início dos sintomas atribuídos à malignidade e está associado a um pior prognóstico (Howdle *et al*, 2003) . Estes pacientes apresentam inicialmente boa resposta à dieta sem glúten e então voltam a ter perda de peso, diarreia, dor abdominal, linfadenopatia e febre, que sugerem início do linfoma. Na maioria dos pacientes a manifestação pode ser insidiosa, mas pode ocorrer perfuração, obstrução e sangramentos intestinais (Egan *et al*, 1995).

Pacientes que não são diagnosticados ou que não aderem à dieta totalmente restrita em glúten estão propensos a desenvolver muitas complicações como osteoporose, infertilidade e doenças auto-imunes (Fasano e Catassi, 2001).

De modo geral, a doença celíaca tem bom prognóstico e muitos estudos de seguimento sugerem que a dieta sem glúten protege o indivíduo contra o surgimento do câncer, especialmente se iniciada durante os primeiros anos de vida (Catassi *et al*, 2005). Portanto, até o momento, é a prevenção, ou seja, a dieta rigorosamente sem glúten, que pode evitar ou diminuir os riscos das complicações (Holmes e Catassi, 2000).

OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo principal

Determinar a prevalência da DC em pacientes com diagnóstico prévio de Síndrome de Turner, utilizando o anti-tTG humano como método de rastreamento sorológico.

4.2 Objetivo secundário

Identificar os alelos HLA predisponentes das pacientes soropositivas.

PACIENTES E MÉTODOS

5. PACIENTES E MÉTODOS

Trata-se de um estudo epidemiológico descritivo, de prevalência de DC em pacientes com ST. Foi realizado no período de dezembro de 2005 a dezembro de 2006, no serviço de Gastroenterologia Pediátrica do Hospital Universitário de Brasília. A amostra foi obtida por conveniência segundo a demanda ambulatorial da Unidade de Genética Clínica do Hospital Universitário de Brasília (HUB). As pacientes tiveram o diagnóstico sindrômico previamente confirmado por exame clínico e exame do cariótipo. No período de 1987 a 2006, um universo de cento e setenta e cinco pacientes foi identificado na Unidade de Genética Clínica do HUB e das pacientes que foram contactadas por carta ou por telefone, sessenta pacientes atenderam ao convite para participar do estudo. Quatro pacientes foram excluídas por não poderem comparecer para a realização dos exames. A amostra foi então constituída por 56 pacientes.

Todas as pacientes ou seus responsáveis receberam informações verbais e escritas relativas aos objetivos da pesquisa e autorizaram sua participação no estudo após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO I). De cada participante obteve-se uma única amostra de 2 mililitros de sangue, através de punção de veia do antebraço, com uso de seringa descartável e estéril em tubo de vidro previamente identificado. Após centrifugação, o soro resultante foi mantido à -20°C até a análise no Laboratório de Pesquisa em Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (UNB). O soro em questão foi utilizado para determinação de dosagem de anticorpos anti-tTG e dosagem dos anticorpos EMA.

O soro das pacientes foi submetido à pesquisa do anticorpo anti-tTG de forma quantitativa pelo método de ELISA (QUANTA Lite TM tTG- ELISA-INOVA Diagnostic, San Diego, CA, USA). Nesse teste, o antígeno transglutaminase é aderido às paredes da placa de poliestireno utilizada para a realização do exame. Os soros das pacientes previamente diluídos são adicionados, permitindo que qualquer anticorpo anti-tTG, porventura presente, possa se aderir ao antígeno. A seguir é adicionado um anticorpo anti-IgA humano, conjugado a cromógeno, o qual se liga aos anticorpos que haviam se aderido às paredes da placa. A atividade da enzima é medida por meio de aparelho leitor de ELISA e os resultados foram tabulados utilizando-se o valor de corte fornecido pelo fabricante. Os soros das pacientes que foram positivos à pesquisa do anticorpo anti-tTG foram testados para anticorpos EMA. Para a realização deste teste foi utilizado o método de imunofluorescência indireta (INOVA Diagnostics, San Diego, CA, USA) (Chorzelsky et al, 1984). Nesse teste foram utilizadas como substrato antigênico, secções criostáticas de 4 mm da porção distal do esôfago do primata *Cebus apella* fixadas em lâminas. Após ser diluído em solução tampão 1:5, o soro das pacientes foi incubado no substrato antigênico. Em seguida a reação era detectada através de emprego de um anticorpo antimunoglobulina humana marcada com isotocianato de fluoresceína (FICT). As lâminas foram examinadas em microscópio de fluorescência (Zeiss) por dois observadores independentes que utilizaram filtro verde em objetiva 250-400x. A reação era considerada positiva caso houvesse a presença de um rendilhado verde brilhante, em forma de “favo de mel” (Figura 12)

Das amostras de sangue total colhidas em tubo com anticoagulante, foi extraído o DNA para realização da reação em cadeia da polimerase (polymerase chain reaction) para amplificação dos alelos do HLA-DQ2 e DRβ1*04. A técnica utilizada foi baseada no trabalho de Sacchetti et al (2001). Os primers usados foram elaborados com base à seqüência conhecida dos três loci:

- DQα1*0501 forward: 5'AGCAGTTCTACGTGGACCTGGGG3' e reverse: 5'GGTAGAGTTGGAGCGTTTAATCAGAC3';
- DQβ1*0201 forward: 5'CGCGTGCGTCTTGTGAGCAGAAG3' e reverse: 5'GGCGGCAGGCAGCCCCAGCA3';
- DRβ1*04 forward: 5'GGTTAAACATGAGTGTCATTTCTTAAAC3' e reverse: 5'GTTGTGTCTGCAGTAGGTGTCCAC 3'.

Os controles positivos foram obtidos de amostras de DNA comprovadamente positivas para os alelos em questão, advindas do laboratório de transplantes do Hospital Regional da Asa Norte, Brasília – HRAN. Os pacientes com resultados duvidosos foram retestados com o uso de Kit Eu–DQ (Eurospital), próprio para a detecção de alelos DQ2 e DQ8.

A biópsia intestinal comprobatória de duodeno ou jejuno foi indicada a todas as pacientes com marcadores sorológicos positivos. Conforme protocolo utilizado nos Serviços de Gastroenterologia do HUB, em crianças menores de três anos a biópsia foi peroral, utilizando-se o modelo pediátrico da cápsula de Watson. Em maiores de três anos e adultas, o procedimento foi por endoscopia digestiva alta com aparelho Olympus GIF-100 (Olympus, UK). Uma vez extraído, o fragmento foi enviado ao Centro de Anatomia Patológica do HUB, onde foi processado de forma padrão, utilizando hematoxilina-eosina como corante. O material foi examinado por um único patologista experiente, que desconhecia o resultado da avaliação clínica e endoscópica das pacientes. As biópsias foram avaliadas segundo os critérios da classificação proposta por Marsh (1992).

Os prontuários das pacientes celíacas foram avaliados para a busca da presença dos sintomas clássicos ou não clássicos da DC.

A prevalência foi calculada considerando-se o total de pacientes com sorologia anti-tTG positivo, EMA positivo e biópsia comprobatória. Outros parâmetros estatísticos (intervalo de confiança de 95%, média, mediana, moda e desvio padrão) foram calculados por formas convencionais, utilizando a planilha eletrônica Microsoft Windows Excell 2003.

O estudo foi previamente avaliado e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Medicina (CEP/FM) da UNB (ANEXO II).

RESULTADOS

6. RESULTADOS

No presente estudo foram avaliadas 56 pacientes com ST. A idade das pacientes variou de 10 meses à idade máxima de 52 anos (média: 5.5; DP: 4.4; mediana: 6; moda: 11).

Foram realizadas as dosagens dos anticorpos anti-tTG em todas as pacientes e nos casos positivos, foi realizada a pesquisa dos anticorpos EMA. Das 56 pacientes estudadas, duas apresentaram positividade para anticorpos anti-tTG e EMA (2/56). A determinação dos alelos HLA predisponentes revelou a presença de DQ2+ em ambas as pacientes (Tabela 9).

Tabela 9: Anticorpo anti-endomísio (EMA), anticorpos anti-transglutaminase (anti-tTG), cariótipo, HLA e aspectos histológicos em pacientes com Síndrome de Turner.

Pacientes	Idade	IgA -EMA	Anti tTG*(U/ml)	Cariótipo	HLA	Histologia
LFD	10 meses	Positivo	41,86	45,X/46,XX	DQ2+DRB4-	Marsh II
LRR	7anos	Positivo	86,38	45,X	DQ2+DRB4-	Marsh II

Valores de referência < 20U/ml = negativo; 20-30 = fracamente positivo; >30 = moderada a fortemente positivo

Após assinatura de novo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, as duas pacientes que foram positivas para anti-tTG e EMA, submeteram-se à biópsia intestinal, que mostrou alterações histológicas compatíveis com a classificação Marsh II (Figura 16), demonstrando assim, total concordância com as sorologias. Este estudo demonstrou que a prevalência encontrada de DC nas pacientes com ST foi de 3. 6%, IC 95% (0,8%-6.4%).

O cariótipo de todas as pacientes do estudo mostrou a seguinte distribuição apresentada na Tabela 10.

Tabela 10: Tipo e freqüência de cariótipos em 56 casos de síndrome de Turner.

Monossomia X		Mosaico		Aberrações estruturais		Cromossomo marcador	
45,X	24	45,X/46,XX	6	45,X/46,X,r(X)	5	45,X/46,X,+mar	6
		45,X/47,XXX	4	45,X/46,X,i(X)(q10)	4		
		45,X/46,XY	1	45,X/46,X,i(Y)(q10)	1		
		45,X/47XXX/46,XX	1	45,X/46,Xr(Y)	1		
				46,XX,del(X)	1		
				45,X/46,X,inv(X)(q13;q27)	1		
				44,X,der(13;14)(q10;q10)/45,X,i(X)(q10),der(13;14)(q10;q10)	1		
Total	24		12		14		6

A revisão do prontuário das pacientes confirmadamente celíacas mostrou que paciente LRR, de sete anos, apresentava à época do diagnóstico alguns sintomas clássicos da DC: diarreia prolongada, flatulência, distensão abdominal, dor abdominal recorrente, apatia e cansaço exagerado. A paciente LFD, 10 meses, apresentava à época do diagnóstico baixo peso, irritabilidade exagerada e flatulência. A dosagem da IgA sérica desta paciente foi normal. Ambas as pacientes apresentavam baixa estatura.

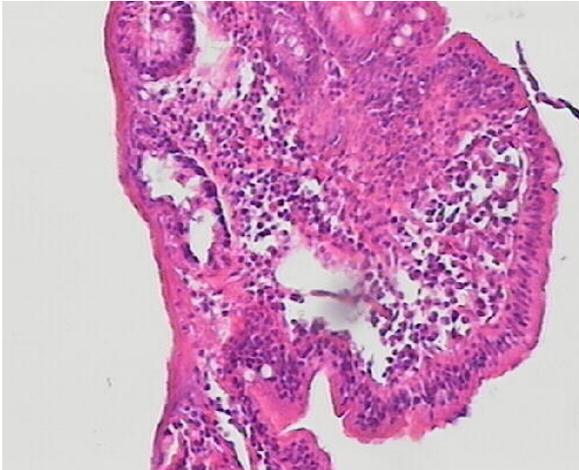
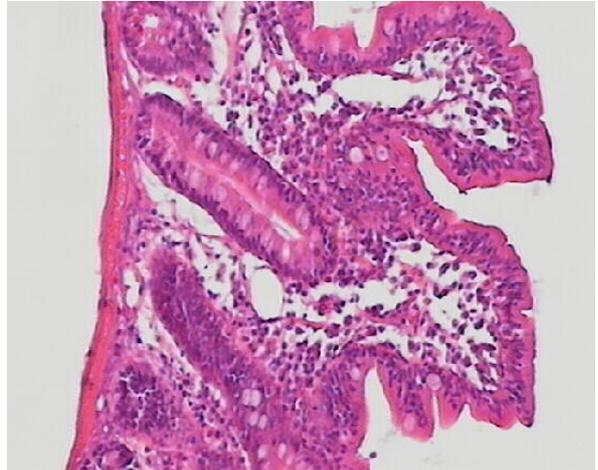
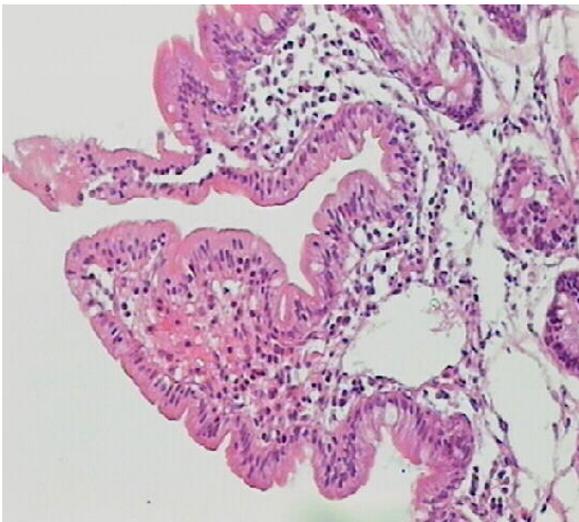
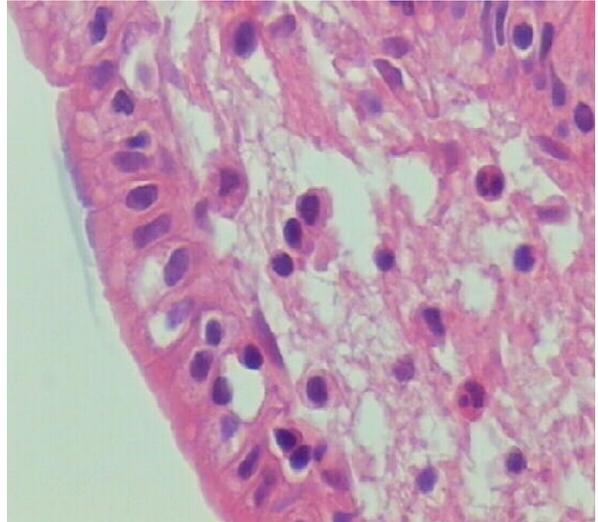
A**B****C****D**

Figura 16. Biópsia intestinal das pacientes LRR e LFD com doença celíaca compatível com a classificação de Marsh II. Em A, observa-se vilosidade achatada revestida por enterócitos cilíndricos exibindo aumento de celularidade na lâmina própria (100 X). Em B, observa-se vilosidade discretamente achatada, com relação vilosidade/cripta 1:1 e aumento de LIE (100 X). Em C, as vilosidades estão alongadas, revestidas por epitélio cilíndrico, com discreto aumento dos LIE (100 X) e em D, detalhe dos LIE (400 X) (coloração: hematoxilina-eosina).

Fonte: Laboratório de Anatomia Patológica do HUB

DISCUSSÃO

7. DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo indicaram que as pacientes com ST têm elevada prevalência de DC, corroborando os dados de outros países cujas prevalências variaram entre 2.2% a 8.1% (Bonamico *et al*, 1998; Ivarsson *et al*, 1999; Gillet *et al*, 1999; Schweizer *et al*, 2000; Rujner *et al*, 2001; Bonamico *et al*, 2002; Sagodi *et al*, 2006). Estas diferenças se relacionam possivelmente tanto ao número de pacientes estudados quanto às diferentes prevalências da DC nas várias populações (Bonamico *et al*, 2002).

A prevalência da DC nas pacientes com ST (1:28) excedeu em muito a prevalência da DC encontrada na população da mesma região. O estudo de Pratesi *et al* (2003) avaliou 4405 pacientes externos de um hospital geral que compareceram ao laboratório de análises clínicas para a realização de exames. A prevalência total encontrada foi de 1:275, sendo que a prevalência em crianças menores de quinze anos foi 2.6 vezes maior que nos adultos, compreendendo taxas de 1:184 e 1:474 respectivamente. Tal pesquisa é comparável a este estudo por incluir pacientes do sexo feminino, crianças e adultos e ter sido realizado no mesmo hospital geral. Assim sendo, a prevalência encontrada neste estudo foi aproximadamente 10 vezes maior que a identificada naquele grupo. Considerando que a prevalência da DC na população geral varia entre 1:100 a 1:300 em países europeus e norte-americanos (Fasano *et al*, 2003; Maki *et al*, 2003; Tommasini *et al*, 2004; Bingley *et al*, 2004), os resultados deste estudo reforçam a proposição mundial de que pacientes com ST são um grupo de risco para a intolerância ao glúten.

O rastreamento para DC nas pacientes com ST foi baseado na determinação de anticorpos associados à DC e seguido da biópsia intestinal nas pacientes que tiveram as sorologias positivas, conforme orientação dos critérios revisados da ESPGHAN (Walter-Smith *et al*, 1990). A elevada sensibilidade do EMA e do anti-tTG (Bürgin-Wolff *et al*, 1991; Chan *et al*, 2001) emerge também no presente estudo, com correspondência de 100% entre elas. Ambos os testes são considerados os mais sensíveis e específicos na identificação de pacientes que necessitarão fazer a biópsia intestinal para a confirmação da doença ou mesmo para o controle da adesão à dieta (Volta *et al*, 1995; Hill, 2005). Por se tratarem de métodos muito confiáveis e não invasivos têm sido indicados no rastreamento de casos novos, especialmente entre as populações de risco como as pacientes com ST, com a ressalva de apresentarem maior índice de resultados falso-negativos em menores de três anos (Bürgin-Wolff *et al*, 1991; Hill *et al*, 2005). Na atualidade, é indiscutível o papel da biópsia intestinal na confirmação da DC, posto que tão somente o diagnóstico clínico pode ser errôneo em mais que 50% dos casos (Paerregaard *et al*, 1988) e os testes sorológicos ainda não são considerados pela maioria dos autores, como elementos de diagnóstico definitivo da DC (Hill *et al*, 2002).

As duas pacientes com DC deste estudo tiveram o alelo DQ2+. Atualmente, há uma forte evidência da associação majoritária da DC com os alelos DQ2 e em menor grau, com os DQ8 (Louka e Sollid, 2003). A presença desses alelos nas pacientes confere alta sensibilidade para a doença, porém, baixa especificidade. Esse fato indica que possuir esses alelos não é condição absoluta para desenvolver a intolerância ao glúten já que aproximadamente 30% da população

geral saudável também o possui (Sollid *et al*, 1989). Entretanto, não ser possuidor dos alelos DQ2/DQ8 indica baixa probabilidade para a DC observando-se, portanto, um baixo valor preditivo positivo e um valor preditivo negativo muito alto. A susceptibilidade genética para desenvolver a DC ficou evidente a partir da elevada prevalência (10%) entre parentes de primeiro grau (Bevan *et al*, 1999) e da alta taxa de concordância em gêmeos monozigóticos (75%) (Greco *et al*, 2002). Um estudo europeu avaliou 48 mulheres com ST e 14 delas foram associadas com o heterodímero HLA-DQ2 e destas, apenas 2 tinham DC. Contudo, a frequência deste heterodímero não foi maior que o encontrado na população geral local (Rujner *et al*, 2001). Assim, alguns autores sugerem que são desnecessárias novas avaliações sorológicas para pesquisa de anticorpos para DC em pacientes que não possuam os antígenos HLA-DQ2 ou DQ8 (Hill *et al*, 2005).

As doenças autoimunes são muito mais frequentes em celíacos que na população geral. Ventura *et al* (1999) encontraram maior prevalência de doenças auto-imunes em celíacos que nos controles (14% vs 2.8%) e foram os primeiros a relacionar este achado com a duração da exposição ao glúten (5.1% em < 2 anos vs 23.6% em > 10 anos). Outros autores não encontraram a relação da duração da exposição ao glúten com o desenvolvimento das doenças auto-imunes (Sategna-Guidetti *et al*, 2001; Viljamaa *et al*, 2005).

A auto-imunidade é uma condição na qual o organismo desenvolve uma resposta imune contra constituintes próprios (Serrano *et al*, 2006). A tentativa de se compreender como surgem as doenças auto-imunes e porque elas se

associam, reportam os pesquisadores ao estudo do genoma humano. A contribuição do mapeamento genético foi apontar para a possibilidade de que exista compartilhamento de “genes de auto-imunidade” entre as diversas doenças auto-imunes (Encinas e Kuchroo, 2000).

A maioria das doenças auto-imunes são multigênicas, com vários genes de susceptibilidade trabalhando em conjunto na produção de um fenótipo anormal. A susceptibilidade para doenças auto-imunes, entre elas a DC, a artrite reumatóide, a esclerose múltipla e o diabetes tipo 1, está associada com alelos dos genes HLA-DQ/DR, mostrando uma forte evidência do papel da classe II do CPH na apresentação de antígenos nessas afecções (Wucherpfenning e Strominger, 1995; Hammer *et al*, 1995; Lee *et al*, 2001; Sollid *et al*, 1989; Martin *et al*, 1994). Tal associação é devida aos aminoácidos polimórficos destas moléculas, que estão localizados no sítio de ligação dos peptídeos antigênicos e que definem a afinidade da ligação destes peptídeos. As modificações estruturais nos peptídeos podem afetar tanto a sua ligação às moléculas do CPH quanto o seu reconhecimento pelos clones específicos de células T. No caso da doença celíaca, é a deamidação dos resíduos da glutamina em ácido glutâmico, feita pela transglutaminase, que favorece sobremaneira esse processo (Molberg *et al*, 1998). Outros três genes não pertencentes ao HLA foram associados às doenças auto-imunes: CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4), LYP (lymphoid tyrosine phosphatase) e TNF (tumor necrosis factor) (Naluai *et al*, 2000; Criswell *et al*, 2005; Correa *et al*, 2005).

Estudos demonstraram que entre as pacientes com ST há uma elevada prevalência de auto-anticorpos. (Larizza *et al*, 1999). Do mesmo modo que na DC, observou-se uma forte associação com doenças auto-imunes tais como tireoidite, diabetes melitus, colangite, doença inflamatória intestinal e doença de Crohn (Radetti *et al*, 1995; Elsheikh *et al*, 2001; Gluck *et al*, 1992; Larizza *et al*, 1994; Lacaille *et al*, 1995; Gravholt *et al*, 1998; Manzione *et al*, 1988; Durusu *et al*, 2005; Sigurs *et al*, 1993; Ventura *et al*, 1999; Toscano *et al*, 2000).

A análise prévia do cariótipo das pacientes celíacas deste estudo mostrou que uma delas tinha monossomia do cromossomo X (45,X) e a outra, mosaicismos (45,X/46,XX). Em nossa série tivemos cinco pacientes com isocromossomo de braço longo do X, porém nenhuma destas pacientes apresentou anticorpos para DC até o presente momento. A associação de doenças auto-imunes umas com as outras e a relação entre anormalidades cromossômicas (numéricas, estruturais ou mosaicismos) e desordens imunológicas aumenta a possibilidade de uma relação causal entre essas entidades. A busca por uma explicação para esta associação tem levado os pesquisadores a analisar a influência do cariótipo na auto-imunidade da ST, mas os resultados ainda são conflitantes. Larizza *et al* (1999) encontraram mais de 50% de cromossomo X monossômico entre as pacientes estudadas (57/95) sendo o restante mosaicismos e/ou anormalidades estruturais (38/95). Alguns estudos encontraram uma associação do isocromossomo X com tireoidite auto-imune, com doença inflamatória intestinal e doença de Crohn (Price, 1979; Ivarsson *et al*, 1995; Elsheikh *et al*, 2001; Durusu *et al*, 2005), mas isso não foi confirmado em outras séries (Chiovato *et al*, 1996; Ahlmann e Brämswig, 2002). Recentemente, Bettendorf *et al* (2006) encontraram anticorpos

anti-tireoideanos e anti-transglutaminase em pacientes com ST, mas não observaram relação com um cariótipo específico.

O isocromossomo Xq é a anormalidade estrutural mais comum associada a ST e resulta da deleção do braço curto de um dos cromossomos X e duplicação do braço longo do mesmo cromossomo. Apesar da patogênese do isocromossomo Xq não ser conhecida, parece que um gene no seu braço longo pode desempenhar um importante papel no desenvolvimento das doenças auto-imunes (Elsheikh *et al*, 2001). Uma das explicações é que proteínas sintetizadas pela linhagem celular em mosaico sejam reconhecidas como “novos antígenos” desencadeando, então, a resposta auto-imune (Durusu *et al*, 2005). À luz dos conhecimentos atuais, o cromossomo X participa em diferentes vias envolvidas na resposta imune: as mutações, que podem afetar tanto as células B quanto as células T; a inativação, que silencia aleatoriamente 70% dos genes codificados pelo cromossomo X inativado; as alterações numéricas, sejam herdadas ou adquiridas. Tais mecanismos oferecem hipóteses para explicar a relação entre genética e auto-imunidade (Molina *et al*, 2007).

Apesar de não ser objeto desta pesquisa, a revisão de prontuário mostrou que ambas as pacientes apresentavam alguns sintomas clássicos da DC. A proporção de pacientes com sintomas típicos (100%) foi semelhante ao encontrado por alguns autores (Bonamico *et al*, 2002) cuja proporção de forma sintomática e assintomática foi de 2.7:1 e, assim como neste estudo, observou-se o inverso em comparação com a população geral, cuja proporção é de 1:8 (Catassi *et al*, 1996). Tal modelo de apresentação clínica foi também observado

em pacientes celíacos com Síndrome de Down (Bonamico *et al*, 2001). Para explicar este fato, uma vez que por um longo período de tempo a enteropatia pode existir sem sintomas, os autores sugeriram a hipótese de que nestes pacientes houvesse mecanismos compensatórios menos eficientes.

Uma das pacientes identificadas neste estudo tinha apenas 10 meses de idade. A DC não se manifesta com testes sorológicos positivos, antes da introdução do glúten na dieta, sendo considerada infreqüente antes dos 2 anos (Castano *et al*, 2004). A revisão do prontuário desta paciente revelou que a introdução de alimentos com glúten se deu aos 6 meses de idade e provavelmente este fator ambiental, associado ao genético e ao fato de pertencer ao grupo de risco, provocaram a manifestação da DC em idade tão precoce.

Ambas as pacientes deste estudo tinham estatura abaixo do percentil 3 para a idade. A baixa estatura pode ser uma manifestação primária da DC monossintomática (Cacciari *et al*, 1983; Bonamico *et al*, 1992) podendo ocorrer em 98% das mulheres com ST (Elsheikh *et al*, 2002). Na DC observa-se diminuição no conteúdo mineral ósseo em adultos (Bode *et al*, 1991 ; Meyer *et al*, 2001) e crianças (Mora *et al*, 2001). Os mecanismos pelos quais a massa óssea é perdida parecem estar relacionados com a má absorção do cálcio e conseqüente hiperparatireoidismo secundário (Selby *et al*, 1999). Estudos são concordantes que a grande maioria da massa óssea é conseguida ao final da adolescência (Lu *et al*, 1994), porém, segundo Kavak *et al* (2003) a correção da perda da massa óssea e a prevenção de danos adicionais é mais efetiva se iniciada na infância.

Na ST, a baixa estatura foi atribuída à haploinsuficiência do gene SHOX (short stature homeobox containing gene), localizado na região pseudo-autossômica do braço curto do cromossomo X (Xp22.3) e do cromossomo Y (Yp11.3) (Rao *et al*, 1997). Pesquisas recentes demonstraram que a haploinsuficiência dos genes SHOX está associada à etiopatogenia das alterações esqueléticas descritas na ST, como pálato ogival, quarto metacarpo curto, cúbito valgo e a deformidade de Madelung (Ogata, 2002). Contribuindo para a baixa estatura, o conteúdo mineral ósseo também se encontra diminuído (Gravholt *et al*, 2002). O tratamento com hormônio do crescimento (GH) foi proposto em vários protocolos (Pasquino *et al*, 1996; Rosenfeld *et al*, 1998, Van Pareren *et al*, 2003), porém o resultado na estatura final pode sofrer variações devendo ser considerado principalmente a idade do seu início e a otimização da dose (Sas *et al*, 1999).

No início dos anos 90, sugeriu-se que na ST a presença da DC poderia levar a uma falha de resposta ao hormônio de crescimento, com manutenção da baixa estatura sem que a altura final fosse alcançada (Passeri *et al*, 1993; Caruso-Nicoletti *et al*, 1994). Em 2006, Bettendorf *et al* avaliaram pacientes com ST para a presença de anticorpo antitireoideano e anti-tTG e o impacto do fenômeno auto-imune na estatura após o tratamento com GH. Observaram que no grupo que não desenvolveu auto-anticorpos o crescimento e o ganho na estatura final, foram significativamente maiores. Assim como preconizado anteriormente por Bonamico *et al* (2002), esses autores concluíram que os exames de rastreamento para alterações auto-imunes deveriam ser realizados rotineiramente, como parte da avaliação médica de toda paciente com ST, e que a fim de assegurar a detecção precoce e o tratamento apropriado.

Do ponto de vista citogenético, as crianças que apresentam mosaicismo celular com baixa contagem da linhagem 45,X e/ou anomalias estruturais dos cromossomos sexuais, podem ser diagnosticadas simplesmente como baixa estatura e também ter pouca expressão fenotípica, não exibindo os sinais clássicos da ST (Lyon *et al*, 1985). Tal apresentação clínica leva a atraso no diagnóstico da ST com muitas pacientes sendo diagnosticadas apenas na adolescência ou na vida adulta (Stocholm *et al*, 2006). Na DC, pelo fato da maioria dos pacientes serem assintomáticos ou terem sintomas atípicos, não são diagnosticados ou são diagnosticados com muito atraso (Lankisch *et al*, 1996). Assim, associação de ambas as doenças e o seu não reconhecimento pode levar a sérias conseqüências como atraso no diagnóstico da baixa estatura, comprometimento da massa óssea, falha de resposta ao tratamento instituído, além do não reconhecimento da presença de doenças auto-imunes e neoplásicas associadas (Bonamico *et al*, 2002; Mulder e Bartelsman, 2005).

Uma limitação do estudo foi o fato de que a amostra poderia ter sido enviesada por aquelas pacientes que eventualmente tivessem queixas digestivas e por isso maior interesse em participar do estudo. Nesse caso a prevalência encontrada poderia estar superestimada.

A DC parece preencher todos os critérios para as investigações populacionais e é uma condição potencialmente séria e que produz significativa morbidade. Não é mais possível para a DC e ST serem vistas como afecções pertinentes a uma ou duas especialidades médicas. Cada vez mais devem ser avaliadas sob a óptica da multi-disciplinaridade.

A contribuição apresentada por este estudo foi mostrar que a elevada prevalência de DC em pacientes com ST vista em outros países também se confirmou no Brasil. Ter consciência de que as pacientes com ST têm maior risco para desenvolver a DC, implica em que a pesquisa da DC deve ser imprescindivelmente incluída na avaliação de rotina de todas as pacientes com ST.

CONCLUSÕES

8. CONCLUSÕES

A prevalência de doença celíaca entre pacientes com síndrome de Turner acompanhadas no HUB foi de 1:28 ou 3.6%. Esta prevalência é similar a encontrada em estudos internacionais prévios e reforça que a presença da ST é fator de risco para a DC.

As duas pacientes que tiveram o diagnóstico confirmado de doença celíaca apresentaram os alelos HLA-DQ2 predisponentes, confirmando a associação desses alelos com a susceptibilidade da doença.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- Achkar E, Carey WD, Petras R, Sivak MV, Revta R. Comparison of suction capsule and endoscopic biopsy of small bowel mucosa. *Gastrointest Endosc* 1986;32:278-81.
- Ahlmann M, Brämsswig JH. Thyroid autoimmunity in 111 children with Turner's syndrome: association with karyotype, age at diagnosis and course of disease. *Horm Res* 2002; 58(Supp 2):166-7.
- Aine L, Maki M, Collin P, Keyrilainen O. Dental enamel defects in celiac disease. *J Oral Pathol Med* 1990;19:241-5.
- Al-Bayatti SM. Etiology of chronic diarrhea. *Saudi Med J* 2002; 23:675-9.
- Altuntas B, Kansu A, Ensari A, Girgin N. Celiac disease in Turkish short-stature children and the value of antigliadina antibody in diagnosis. *Acta Paediatr Jpn* 1998;40:457-60.
- Antunes H. First study on the prevalence of celiac disease in a Portuguese population. *Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002;34:240.
- Arentz-Hansen H, Fleckenstein B, Molberg O, Scott H, Koning F, Jung G, Lundin KE, Sollid LM. The molecular basis for oat intolerance in patients with celiac disease. *PLoS Med* 2004; 1:84-92.
- Arentz-Hansen H, Korner R, Molberg O, Quarsten H, Vader W, Kooy YM *et al*. The intestinal T cell response to alpha-gliadin in adult celiac disease is focused on a single deamidated glutamine targeted by tissue transglutaminase. *J Exp Med* 2000; 191:603-12.
- Arslan D, Kuyuku T, Kendirei M, Kurtuglu S. Celiac disease and Turner's syndrome: Patient Report. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000;13: 1629–31.
- Auricchio S, Troncone R. History of coeliac disease. *Eur J Pediatr* 1996;155:427-8.
- Balestrazzi P, Ferruccioli GF, Ambanelli U, Giovanelli G. Juvenile rheumatoid arthritis in Turner Syndrome. *Clin Exp Rheumatol*.1986; 4:61-2

Baptista ML. Doença celíaca: uma visão contemporânea. *Pediatria (São Paulo)* 2006; 28: 262-71.

Berge-Henegouwen GP, Mulder CJ. Pioneer in the gluten free diet: Willem- Karel Dicke 1905-1962, over 50 years of gluten free diet. *Gut* 1993; 34:1473-5.

Bettendorf M, Doerr HG, Hauffa BP, Lindberg A, Mehls O, Partsch CJ *et al.* Prevalence of autoantibodies associated with thyroid and celiac disease in Ullrich-Turner syndrome in relation to adult height after growth hormone treatment. *J Pediatric Endocrinol* 2006;19:149-54.

Bevan S, Popat S, Braegger CP, Busch A, O'Donoghue D, Falth-Magnusson K, *et al.* Contribution of the MHC region to the familial risk of coeliac disease. *J Med Genet.* 1999;36:687-90.

Bingley PJ, Williams AJ, Norcross AJ, Unsworth DJ, Lock RJ, Ness Ar, *et al.* Undiagnosed coeliac disease at age seven: population based prospective birth cohort study. *BJM* 2004; 328:322-3.

Bode S, Gudmand-Hoyer E. Incidence and prevalence of adult celiac disease within a defined geographic area in Denmark. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31(7):694-9.

Bodmer JG, Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B *et al.* Nomenclature for factors of the HLA system, 1998. *Tissue Antigens* 1999;53:407-46.

Bonamico M, Bottaro G, Pasquino AM, Caruso-Nicoletti M, Mariani P, Gemme G, Paradiso E, Ragusa MC, Spina M. Celiac disease and Turner syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 26:496–9.

Bonamico M, Mariani P, Danesi HM, Crisogianni M, Failla P, Gemme G, *et al.* SIGEP, Medical Genetic Group Prevalence and clinical picture of celiac disease in Italian Down syndrome patients: a multicentre study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001 33:139–4316.

Bonamico M, Scirè G, Mariani P, Pasquino AM, Triglione P, Scaccia S, *et al.* Short stature as the primary manifestation of monosymptomatic celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1992;14:12-6.

Bonamico M.; Pasquino AM, Mariani P, Danesi H, Culasso F, Mazzanti L *et al.* Italian Society of Pediatric Gastroenterology Hepatology (SIGEP); Italian Study Group for Turner Syndrome (ISGTS). Prevalence and clinical picture of celiac disease in Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:5495-8.

Bondy CA. Care of girls and women with Turner Syndrome: A Guideline of the Turner Syndrome Study Group. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:10-25.

Book L, Zone JJ, Neuhausen SL. Prevalence of celiac disease among relatives of sib pairs with celiac disease in U.S families. *AM J Gastroenterol* 2003;98:377-81.

Burgin-Wolff A, Gaze H, Hadziselimovic F, Huber H, Lentze Mj, Nussle D, Reymond-Berthet C. Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease. *Arch Dis Child.* 1991;66:941-7.

Cacciari E, Salardi S, Lazzari R, Cicognani A, Coliina A, Pirazzoli P *et al.* Short stature and celiac disease: a relationship to consider even in patients with no gastrointestinal symptoms. *J Pediatr* 1983;103:708-11.

Calvet JF, Tomás M, Galmes J, Prieto F. Diarrea crónica com déficit de IgA asociada a síndrome de Turner. *An Esp Pediatr* 1982; 16:459-63.

Carlsson AK, Axelsson IE, Borulf SK, Bredberg AC, Ivarsson SA. Serological screening for celiac disease in healthy 2.5-year old children in Sweden. *Pediatrics* 2001;107: 42-5.

Carroccio A, Iannitto E, Cavataio F, Montalto G, Tumminello M, Campagna P *et al.* Sideropenic anemia and celiac disease: one study, two point of view. *Dig Dis Sci* 1998;43;673-8.

Caruso-Nicoletti M, Ragusa MC, Mancuso M *et al.* Coeliac disease in Turner syndrome: immunological characterization. *Horm Res* 1994;41:86.

Castano L, Blarduni E, Ortiz L, Nunez J, Bilbao JR, Rica I *et al.* Prospective population screening for celiac disease: high prevalence in the first 3 years of life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 39:80-4.

Castro M, Crinò A, Papadatou B, Purpura M, Giannoti A, Ferretti F, *et al.* Down's syndrome and celiac disease: the prevalence of high IgA-antigliadin antibodies and

HLA-DR and DQ antigens in trisomy 21. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993; 16: 265-8.

Cataldo F, Marino V, Ventura A, Bottaro G, Corazza GR. Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in coeliac disease: an Italian multicentre study. *Gut* 1998;42:362-5.

Catassi C, Bearzi I, Holmes GK. Association of coeliac disease and intestinal lymphomas and other cancers. *Gastroenterology* 2005. 128:S79-86.(b)

Catassi C, Doloretta Macis M, Rättsch IM, De Virgilis S, Cucca F. The distribution of DQ genes in the Saharawi population provides only a partial explanation for the high coeliac disease prevalence. *Tissue Antigens* 2001;58:402-5

Catassi C, Fabiani E, Corrao G, Barbato M, De Renzo A, Carella AM *et al.* Risk of non-Hodgkin lymphoma in coeliac disease. *JAMA* 2002;287:1413-9.(b)

Catassi C, Fabiani E, Ratsch IM, Coppa GV, Giorgi PL, Pierdomenico R, *et al.* The coeliac iceberg in Italy. A multicentre antigliadin antibodies screening for coeliac disease in school-age subjects. *Acta Paediatr Suppl* 1996: 412:29-35.

Catassi C, Fornaroli F, Fasano A. Coeliac disease: from basic immunology to bedside practice. *Clin Applied Immunol Rev* 2002;3:61-71.(a)

Catassi C, Ratsch IM, Fabiani E, Rossini M, Bordicchia F, Candela F *et al.* Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. *Lancet* 1994;343:200-3.

Catassi C, Ratsch IM, Fabiani E, Rossini M, Bordicchia F, Candela F *et al.* Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. *Lancet* 1994;343:200-3.

Catassi C, Ratsch IM, Gandolfi L, Pratesi R, Fabiani E, El Asmar R *et al.* Why is coeliac disease endemic in the people of Sahara? *Lancet* 1999;354:647-8.(a)

Catassi C. Where is coeliac coming from and why? *J Pediatr Gastroenterol Nut* 2005;40:279-82.(a)

Cellier C, Delabesse E, Helmer C, Patey N, Matuchausky C, Jabri B *et al.* Refractory sprue, coeliac disease, and enteropathy-associated T-cell lymphoma. French Coeliac Disease Study Group. *Lancet* 2000; 356,203-8.

- Cerf-Bensussan N, Cellier C, Heyman M, Brousse N, Schimitz J. Coeliac disease: an update on facts and questions based on 10th International Symposium on Coeliac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;37:412-21.
- Chan A-W, Butzner JD, McKenna R, Fritzier MJ. Tissue transglutaminase enzyme-linked immunosorbent assay as a screening test for celiac disease in pediatrics patients. *Pediatrics* 2001;107:E8.
- Chin RL, Sander HW, Brannagan TH, Green PH, Hays AP, Aleadini A *et al.* Celiac neuropathy. *Neurology* 2003;60:1581-5.
- Chiovato L, Larizza D, Bendinelli G, Tonacchera M, Marino M, Mammoli C, *et al.* Autoimmune hypothyroidism and hyperthyroidism in patients with Turner's syndrome. *European Journal of Endocrinology* 1996;134:568-75.
- Chorzelski TP, Beutner EH, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonda S, Kurmar V, Kapuscinska A. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol* 1984; 111:395-402.
- Ciacci C, Cirillo M, Auriemma G, Di Dato G, Sabbatini F, Mazzacca G. Celiac disease and pregnancy outcome. *Am J Gastroenterol* 1996;91:718-22.
- Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Corazza GR. The immune recognition of gluten in coeliac disease. *Clin Exp Immunol* 2005;140:408-16.
- Ciclitira PJ, King Dewar DH AL, Fraser JS. AGA Technical Review on Celiac Sprue. American Gastroenterological Association. *Gastroenterology* 2001; 120:1526-40.
- Clemente M, De Virgilis S, Kang JS, Macatagney R, Musu MP, Di Pierro MR *et al.* Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function. *Gut* 2003;52:218-23.
- Collin P, Reunala M, Rasmussen M, Kyronpalo S, Penkonen E, Laippala P *et al.* High incidence and prevalence of adult coeliac disease. Augmented diagnostic approach. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32:1129-33.
- Collin P, Vilks S, Heinonen PK, Hallstrom O, Pikkarainen P. Infertility and coeliac disease. *Gut* 1996; 39:382-4.

Corazza GR, Andreani MI, Biagi F, Corrao G, Pretolani S, Giulianelli G, *et al.* The smaller size of the “coeliac iceberg” in adults. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32:917-9.

Corazza GR, Bonvicini F, Franzzoni M, Gatto M, Gasbarrinni G, *et al.* Observer variation in assessment of jejunal biopsy specimens. A comparison between subjective criteria and morphometric measurement. *Gastroenterology* 1982;83:1217-22.

Corrao G, Corazza GR, Bagnardi V. Mortality in patients with coeliac disease and their relatives: a cohort study. *Lancet* 2001;358:356-61.

Correa PA, Gomez LM, Cadena J, Anaya JM. Autoimmunity and tuberculosis. Opposite association with TNF polymorphism. *J Rheumatol* 2005;32:219-24.

Criswell LA, Pfeiffer KA, Gonzales B, Lum RF, Novitzke J, Kern M, *et al.* Analysis of families in the multiple autoimmune disease genetics consortium (MADGC) collection: the PTPN22 allele associates with multiple autoimmune phenotypes. *Am J Hum Genet* 2005;76:561-71.

Crosby WH, Kugler HW. Intraluminal biopsy of the small intestine. *American Journal of Digestive Disease* 1957;2:236-41.

D’Amico MA, Holmes J, Stavropoulos SN, Frederick M, Levy J, DeFelice AR, *et al.* Presentation of pediatric celiac disease in United States: prominent effect of breastfeeding. *Clin Pediatr* 2005; 44:249-58.

Dandalides SM, Carey WD, Petras R, Achkar E. 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* 1989; 35:197-200.

de Ritis G, Auricchio S, Jones HW, Lew EJ, Bernardin JE, Kasarda DD. In vitro (organ culture) studies of the toxicity of specific A-gliadin peptides in celiac disease. *Gastroenterology* 1998;94:41-9.

Dewar DH, Ciclitira PJ. Clinical Features and diagnosis of celiac disease. *Gastroenterology* 2005;128:S19-S24.

Dicke WK. Coeliac disease. Investigation of the harmful effects of certain types of cereal on patients with coeliac disease (Thesis). University of Utrecht, The Netherlands, 1950. Cited by: Berge-Henegouwen GP, Mulder CJ. Pioneer in the gluten free diet: Willem- Karel Dicke 1905-1962, over 50 years of gluten free diet. *Gut* 1993; 34:1473-5.

Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997; 3:797-801.

Donaldson MDC, Gault EJ, Tan KW, Dunger DB. Optimising management in Turner syndrome: from infancy to adult transfer. *Arch Dis Child* 2006;91:513-20.

Drago S, El Asmar R, Di Pierro M, Clemente MG, Tripathi A, Sapone A, Thakar M *et al*. Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scand J Gastroenterol* 2006; 41:408-19

Durusu M, Gurlek A, Simsek H, Balaban Y, Tatar G. Coincidence or causality: celiac and Crohn diseases in a case of Turner syndrome. *Am J Med Sci*. 2005; 329:214-16.

Egan LJ, Wals SV, Stevens FM, Connolly CG, Egan EL, Mac Carthy CF *et al*. Celiac-associated lymphoma. A single institution experience of 30 cases in the combination chemotherapy era. *J Clin Gastroenterol* 1995; 21:123-29.

Elsheikh M, Dunger DB, Conway GS, Wass JAH. Turner's syndrome in adulthood. *Endocrine Reviews* 2002; 23:120-40.

Elsheikh M, Wass JAH, Conway GS. Autoimmune thyroid syndrome in women with Turner's syndrome- the association with karyotype. *Clin Endocrinol* 2001; 55:223-6.

Encinas JÁ, Kuchroo VK. Mapping and identification of autoimmunity genes. *Current Opinion in Immunology* 2000;12:691-7.

Esposito C, Paparo F, Caputto I, Porta R, Salvati VM, Mazzarella G, *et al*. Expression and enzymatic activity of small intestinal tissue transglutaminase in celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2003;98:1813-20.

Fabiani E, Catassi C, Villari A, Gismondi R, Pierdomenico R, Ratsch IM *et al.* Dietary compliance in screening-detected coeliac disease adolescents. *Acta Paediatr Suppl* 1996; 412:65-7.

Farrel RJ, Kelly CP. Current concepts: celiac sprue. *N Engl J Med* 2002; 346: 180-8.

Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S *et al.* Prevalence of celiac disease in at-risk and no-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Arch Intern Med* 2003;163:286-92.

Fasano A, Catassi C, Kryszak D, Abou-Zekri ME. Prevalence of celiac disease among school age children in Egypt. Preliminary results of a pilot study (abstract). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 40 Supp 1.

Fasano A, Catassi C. Coeliac disease in children. *Best Practice Res Clin Gastroenterol* 2005;19:467-78.

Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology* 2001;120:636-51.

Fasano A, Not T, Wang W, Uzzau S, Berti I, Tommasini A *et al.* Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *Lancet* 2000; 355:1518-9.

Fasano A. Genetics and Epidemiology of Celiac Disease. <http://www.ddw.org/userassets/documents/PDF/session_handouts/2004/books/Tuesday/Tues0830Fasano.pdf>. Acesso em: 27 jan. 2007.

Fasano A. Where have all American celiacs gone? *Acta Paediatr* 1996;412: 20-4.

Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S. Clinical and pathological spectrum of celiac disease – active, silent, latent, potencial. *Gut* 1993;34:150-1.

Fraser JS, Engel W, Ellis HJ, Moodie SJ, Pollock EL, Wieser H, Ciclitira PJ. Coeliac disease: in vivo toxicity of the putative immunodominant epitope. *Gut* 2003; 52:1698-702.

Frazer AC, Fletcher RF, Ross CAS, Shaw B, Sammos HG, Schneider R. Gluten-induced enteropathy. The effect of partially digested gluten. *Lancet* 1959;2:252-5.

Fry L. Dermatitis herpetiformis. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1995;9:371-93.

Gandolfi L, Pratesi R, Cordoba JC, Tauil PL, Gasparian M, Catassi C. Prevalence of celiac disease among blood donors in Brazil. *Am J Gastroenterol* 2000; 95:689-92.

Gee SJ. On the coeliac affection. *St Bartolomew's Hospital Report* 1888;24:17-20. Cited by: Paveley WF. From Arateus to Crosby: a history of celiac disease. *BMJ* 1988; 297:1646-9.

George EK, Hertzberger-ten CR, Van Suijlekom- Smit LW, von Blomberg BM, Stapel SO, van \elburg RM *et al.* Juvenile chronic arthritis and coeliac disease in the Netherlands. *Clin Exp Rheumatol* 1996; 14: 571-5.

Gillet PM, Gillet HR, Israel DM, Metzger DL, Stewart L, Chanoine JP, Freeman HJ. Increased prevalence of coeliac disease in girls with Turner syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999;29:497.

Gluck M, Attanasio A, Speer U, Butenandt O, Tietze HU, Scherbaum WA. Prevalence of autoantibodies to endocrine organs in girls with Ullrich-Turner syndrome aged 5-14 years. *Horm Res.* 1992;38:114-19.

Gomez JC, Sevaggio GS, Viola M, Pizarro B, la Motta G, Barrio S *et al.* Prevalence of celiac disease in Argentina: Screening of an adult population in the la Plata area. *Am J Gastroenterol* 2001;96:2700-4.

Gravholt CH, Juul S, Naaera RW, Hansen J. Morbidity in Turner syndrome. *J Clin Epidemiol* 1998; 51:147-58.

Gravholt CH, Juul S, Naaera RW, Hansen J. Prenatal and postnatal prevalence of Turner's syndrome: a registry study. *Br Med J* 1996; 321:16-21.

Gravholt CH, Naaera RW, Brixen K, Kastrup KW, Mosekild L, Jorgensen JO, *et al.* Short term hormone treatment in girls with Turner syndrome decreases fat mass and insulin sensitivity. A randomized double-blind, placebo-controlled cross-over study. *Pediatrics* 2002;110:889-96.

Greco L, Corazza G, Babron MC *et al.* Genome search in celiac disease. *Am J Hum Genet* 1998;62:669-75.

Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, Maglio M *et al.* The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut* 2002;50:624-8.

Green PH, Rostami K, Marsh MN. Diagnosis of coeliac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005; 19:389-400.

Groll A, Candy DC, Preece MA, Tanner JM, Harries JT *et al.* Short stature as the primary manifestation of coeliac disease. *Lancet* 1980;2:1097-9.

Guandalini S, Gokhale R. Update on immunologic basis of celiac disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2002;18:95-100.

Guandalini S, Gupta P. Celiac disease. A diagnostic challenge with many facets. *Clin Applied Immunol Rev* 2002;3:293-305.

Hall JG, Gilchrist DM. Turner syndrome and its variants. *Pediatr Clin North Am* 1990;37:1421-36.

Hammer J, Gallazzi F, Bono E, Karr RW, Guenot J, Valsasnini P *et al.* Peptide binding specificity of HLA-DR4 molecules: correlation with rheumatoid arthritis association. *J Exp Med* 1995,181:1847-55.

Hass SV. The value of the banana in the treatment of coeliac disease. *Am J Dis Child* 1924;24:421-37.

Hausch F, Shan L, Santiago NA, Gray GM, Khosla C *et al.* Intestinal digestive resistance of immunodominant gliadin peptides. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283:G996-G1003.

Hekkens WT. The relation between gliadin structure and its toxicity to glutensensitive patients. *Minervam Pediatr* 1977; 29:2191-6.

Hill I, Bhatnagar S, Cameron DJ, de Rosa S, Maki M, Russel JG, Troncone R. Celiac disease: Working Group Report of the First World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35 (Suppl 2): S78-88.

Hill I, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S *et al.* Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the

North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;40:1-19.

Hill PG, Forsyth JM, Semeraro D, Homes GK. IgA antibodies to human tissue transglutaminase: audit of routine practice confirms high diagnostic accuracy. *Scand J Gastroenterol* 2004;39:1078-82.

Hill, Ivor D. What are the sensitivity and specificity of serologic tests for celiac disease? Do sensitivity and specificity vary in different populations? *Gastroenterology* 2005;128:S25-S32.

Hogberg L, Laurin P, Falth-Magnusson K, Grant C, Grodzinsky E, Jansson G, Ascher H *et al.* Oats to children with newly diagnosed coeliac disease: a randomised double blind study. *Gut* 2004;53:649-54.

Hogberg L, Nordwall M, Stenhammar L. One thousand smallbowel biopsies in children: a single-port versus a double-port capsule. *Scand J Gastroenterol* 2001;36:1230-2.

Holmes GKT, Catassi. C. *Coeliac Disease*. Oxford, England. Health Press-Fast Facts, 2000.

Hook EB, Warburton D. The distribution of chromosomal genotypes associated with Turner's syndrome: livebirth prevalence rates and evidence for diminished fetal mortality and severity in genotypes associated with structural X abnormalities or mosaicism. *Human Genet* 1983;64:24-7.

Hovell CJ, Collett JA, Vautier G, Cheng AJ, Sutanto E, Mallon DF, *et al.* High prevalence of coeliac disease in a population-based study from Western Australia: a case for screening ? *Med J Aust* 2001;175:247-50.

Howdle PD, Jalal PK, Holmes GK, Houston RS. Primary small bowel malignancy in the UK and its association with celiac disease. *QJM* 2003; 96:345-53.

Howell MD, Austin RK, Kelleher D, Nepom GT, Kagnoff MF. An HLA-D region restriction fragment length polymorphism associated with celiac disease. *J Exp Med* 1986; 164:333-8.

Hue S, Mention JJ, Monteiro RC, *et al.* A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease. *Immunity* 2004;21:367-77.

Imanzadeh F, Sayyari AA, Yaghoobi M, Akbari Mr, Shafagh H, Farsar Ar. Celiac disease in children with diarrhea is more frequent than previously suspected. *J Pediatr Gastroenterol* 2005; 40:309-11.

Ivarsson A, Hernell O, Stenlund H, Persson LA. Breast-feeding protects against celiac disease. *Am J Clin Nutr.* 2002; 75:914-21.

Ivarsson A, Person LA, Nystrom L, Arscher H, Cavell B, Danielsson L *et al.* Epidemic of coeliac disease in Swedish children. *Acta Paediatr* 2000;89:165-71.

Ivarsson A. The Swedish coeliac disease epidemic with a prevailing twofold higher risk in girls compared to boys may reflect gender specific risk factor. *Eur J Epidemiol* 2003; 18:677-84.

Ivarsson SA, Ericsson UB,, Nilsson KO, Gustafsson J Hagenas L, Hager A, *et al.* Thyroid autoantibodies, Turner's syndrome and growth hormone therapy. *Acta Paediatrica* 1995;84:63-5.

Ivarsson SA.; Carlsson A Bredberg A, Alm J, Aronson F, Gustafsson J, *et al.* Prevalence of celiac disease in Turner syndrome. *Acta Paediatr* 1999; 88:933–6.

Jacobs P, Dalton P, James R, Mosse K, Power M, Robison D, Skuse D. Turner syndrome: a cytogenetic and molecular study. *Ann Hum Genet* 1997; 61:471-83

Janatuinen EK, Kemppainen TA, Julkunen RJ, Kosma VW, Maki M, Heikkinen M, Uusitupa MI *et al.* No harm from five-year ingestion of oats in coeliac disease. *Gut* 2002;50:332-5.

Jones B, Baylless TM, Fishman EK, Siegelman SS. Lymphadenopathy in celiac disease: Comput tomographic observations. *Am J Roentgenol* 1984;142:1127-32.

Kagnoff MF, Paterson NY, Kumar PJ, Kasarda DD, Carbone FR, UNsworth DJ, Austin RK. Evidence for the role of a human intestinal adenovirus in the pathogenesis of celiac disease. *Gut* 1987; 28:995-1001.

Kagnoff MF. Overview and pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology* 2005; 128: S10-8.

Kavak US, Yüce AI, Kocak N, Demir H, Saltik IN, Gürakan F, Özen H. Bone mineral density in children with untreated and treated celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;37:434-6.

Kemppainen T, Kroger H, Janatuinen E, Amala I, Kosma VW, Pikkarainen P *et al.* Osteoporosis in adult patients with celiac disease. *Bone* 1999;24:249-55

Keymeulen B, Vandemeulebroucke E, Ziegler AG, Mathieu C, Kaufman L, Hale G *et al.* Insulin needs after CD3-antibody therapy in new-onset type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2005;352:2598-608.

Koning F, Schuppan D, Cerf-Bensussan N, Sollid L. Pathomechanisms in celiac disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2005;19:373-87.

Korponay-Szabo IR, Kovacs JB, Czinner A, Goracz A. High prevalence of silent celiac disease in pré-school children screened with IgA/IgG antiendomysium antibodies. *Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999;28:26-30.

Kutlu t, Brousse N, Rambaud C, Le Deist F, Schimtz J, Cerf-Bensunssan N. Numbers of T cells receptor (TCR) alpha beta+ but not TcR gamma delta+ intraepithelial lymphocytes correlate with the grade of villous atrophy in coeliac patients on a long term normal diet. *Gut* 2003;34:208-14.

Lacaille F, Canioni D Bernard O, Fabre M, Brousse N, Scmitz J. Celiac disease, inflammatory colitis, and primary sclerosing cholangitis in a girl with Turner's syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995;21:463-7.

Lankisch PG, Martinez Schamm A, Petersen F, Droge M, Lehnick D, Lembeck B. Diagnostic intervals for recognizing celiac disease. *Z Gastroenterol* 1996;34:473-7.

Larizza D, Martinetti M, Lorini R, Dugoujon JM, Tinelli C, Vitali L, *et al.* Parental segregation of autoimmunity in patients with Turner's syndrome: preferncial paternal transmission? *Journal of Autoimmunity* 1999;12:65-72.

Larizza D, Zelaschi F, Vitali L, Lorini R. Autoantibodies in children and adolescents with Turner syndrome. *Horm Res* 1994;41:236.

- Lee KH, Wucherpfennig KW, Wiley DC. Structure of a human insuline peptide-HLA-DQ8 complex and susceptibility to tipe 1 diabetes. *Nat Immunol* 2001;2:501-7.
- Lima VM, Gandolfi L, Pires JA, Pratesi R. Prevalence of celiac disease in dyspeptic patients. *Arq Gastroenterol* 2005;42:153-6.
- Lippe B. Turner syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1991; 20: 121–52.
- Lo W, Sano K, Lebwohl B, Diamond B, Green PH. Changing presentation of adult celiac disease. *Dig Dis Sci* 2003;48:395-38.
- Louka AS, Sollid LM. HLA in celiac disease: Unravelling the complex genetics of a complex disorder. *Tissue Antigens* 2003;61:105-17.
- Lu PW, Briody JN, Ogle GD, Morley K, Humphries IR, Allen J, *et al.* Bone mineral density of total body, spine, and femoral neck in children and young adults. A cross-sectional and longitudinal study. *J Bone Miner Res* 1994; 1451-8.
- Lundin K, Scott H, Fausa O, Thorsby E, Sollid LM. T cells from the small intestinal mucosa of a DR4, DQ7/DQ4, DQ8 celiac disease patient preferentially recognize gliadina when presented by DQ8. *Hum Immunol* 1994;41;285-91.
- Lyon AJ, Preece MA, Grant DB. Growth curve for girls with Turner syndrome. *Arch Dis Child* 1985; 60:932-5.
- Maiuri L, Ciacci C, Ricciardelli I, Vacca L, Raia V, Auricchio S *et al.* Association between innate response to gliadin and activation of phatogenic T cells in coeliac disease. *Lancet* 2003;362:30-7.
- Maiuri L, Ciacci C, Vacca L, Ricciardelli I, *et al.* IL-15 drives especific migration of CD94+and TCR-gammadelta+ intraepithelial lymphocytes in organ cultures of treated celiac patients. *Am J. Gastroenterol* 2001;96,150-6.
- Maiuri L, Picarelli A, Boirivant M, *et al.* Definition of the inicial immunologic modifications upon in vitro gliadin challenge in small intestine of celiac patients. *Gastroenterology* 1996, 110;1368-78.
- Maki M, Collin P. Coeliac disease. *Lancet* 1997;349:1755-9.

Maki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T et al. Prevalence of celiac disease among children in Finland. *N Eng J Med* 2003; 348:2517-24.

Manzione NC, Kram M, Kram E, Das KM. Turner's syndrome and inflammatory bowel disease: A case report with immunologic studies. *Am J Gastroenterol* 1988; 83:1294-7.

Marsh MN, Morgan S, Ensari A, Wardle T, Lobley R, Mills C, Auricchio S. In vivo activity of peptides 31-43, 44-55, 56-68 of α gliadin in gluten sensitive enteropathy (GSE). *Gastroenterology* 1995;108:A871.

Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology* 1992;102:330-54.

Martin R, Whitaker JN, Rhame L, Goodin RR, McFarland HF: Citrulline-containing myelin basic protein is recognized by T-cell lines derived from multiple sclerosis patients and healthy individuals. *Neurology* 1994;44:123-19.

Maurano F, Siciliano RA, De Giulio B, Luongo D, Mazzeo MF, Troncone R *et al.* Intranasal administration of one alpha gliadina can downregulate the immune response to whole gliadina in mice. *Scand J Immunol* 2001; 53:290-5.

Meeuwse GW. Diagnostic criteria in coeliac disease. *Acta Paediatr Scand* 1970;59:461-3.

Mention JJ, Ben Ahmed M, Begue B, Barbe U, Verkarre V, Asnafi V *et al.* Interleukin 15: a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in celiac disease. *Gastroenterology* 2003;125:730-45.

Meresse B, Chen Z, Ciszewski, Tretiakova M, Bhagat G, Krausz TN *et al.* Coordinated induction by IL-15 of a TCR-Independent NKG2D signaling pathway converts CTL into Lymphokine-activated killer cells in celiac disease. *Immunity* 2004;21:357-66.

Meyer D, Stavropoulos S, Diamond B, Shane E, Green PH. Osteoporosis in north American adult population with celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:112-9.

Mohindra S, Yachha SK, Srivastava A, Krishnani N, Aggarwal R, Goshal UC *et al.* Coeliac disease in Indian children: assessment of clinical, nutritional and pathological characteristics. *J Health Popul Nutr.* 2001;19:204-8.

Molberg O, McAdam SN, Lundin KE, Kristiansen C, Arentz-Hansen H, Kett K, Sollid LM. T cells from celiac disease lesions recognize gliadin epitopes deamidated in situ by endogenous tissue transglutaminase. *Eur J Immunol* 2001; 31;1317-23.

Molberg O, McAdam SN, Korner R, Quarsten H, Kristiansen C, Madsen L *et al.* Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *Nat Med* 1998;4:713-7.

Molina GH, Svryd Y, Guerrero-Sánchez J, Mutchinick MO. The role of the X chromosome in immunity and autoimmunity. *Autoimmunity Reviews* 2007; 6:218-22.

Mora S, Barera G, Beccio S, *et al.* A prospective, longitudinal study of long term effect of treatment on bone density in children with celiac disease. *J Pediatr* 2001;139:516-21.

Mulder C, Bartelsman J. Case-finding in coeliac disease should be intensified. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2005;19:479-86.

Mustalahti K, Bravi E, Caradonna M, Fabiani E, Catassi C, Reunanen A *et al.* Coeliac disease in Finland – even more common than thought before. *J Pediatr Gastroenterol Nut* 2004; 39:S56.

Nalvai AT, Nilsson S, Samuelsson L, Gudjonsdottir AH, Ascher H, EK J *et al.* The CTLA-4/ CD8 gene region on chromosome 2q33 confers susceptibility to celiac disease in a way possibly distinct from that of type 1 diabetes and other chronic inflammatory disorders. *Tissue antigens* 2000;56:350-5

Nemec G, Ventura A, Stefano M, Di Leo G, Baldas V, Tommasini A *et al.* Looking for celiac disease: Diagnostic accuracy of two rapid commercial assays. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1597-1600.

Nielsen J, Wohler M. Chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark. *Hum Genet* 1991;87:81-3.

Not T, Horvath K, Hill ID, Partanen J, Hammed A, Magazzu G *et al.* Celiac disease risk in the USA: High prevalence of antiendomysium antibodies in healthy blood donors. *Scand J Gastroenterol* 1998;33:494-8.

Ogata T. SHOX haploinsufficiency and its modifying factors. *J Pediatric Endocrinol Metab* 2002;15:1289-94.

Paerregaard A, Vilien M, Krasilnikoff PA, Gudmand-Hoyer E. Supposed coeliac disease during childhood and its presentation 14-38 years later. *Scand J Gastroenterol* 1998; 23:65-70.

Pasquino AM, Passeri F, Municchi G, Segni M, Pucarelli I, Larizza D, Bossi G, Severi F, Galasso C. Final height in Turner syndrome patients treated with growth hormone. *Horm Res* 1996; 46:269-72.

Passeri F, Paradiso E, Pucarelli I, *et al.* Può la malattia celiaca non trattata annullare la risposta al trattamento con ormone della crescita nella sindrome di Turner? Descrizione di un caso. *Riv Ital Pediatr* 1993;19(S2):168-9.

Paulley JW. Observations on the aetiology of idiopathic steatorrhoea. *Br Med J* 1954;ii:1318-21.

Paveley WF. From Arateus to Crosby: a history of celiac disease. *BMJ* 1988; 297:1646-9.

Pratesi R, Gandolfi L, Garcia SG, Modelli IC, Lopes de Almeida P, Bocca L *et al.* Prevalence of coeliac disease: unexplained age-related variation in same population. *Scand J Gastroenterol* 2003;38:747-50.

Price WH. A high incidence of chronic inflammatory disease in patients with Turner's syndrome. *Journal of Medical Genetics* 1979;16: 263-6.

Radetti G, Mazzanti L, Paganini C, Bernasconi S, Russo G, Rigoni F, Cacciari E. Frequency, clinical and laboratory features of thyroiditis in girls with Turner's syndrome. *Acta Paediatr* 1995; 84:909-12.

Rao E, Weiss B, Fukami M, Niesler B, Merts A, Muroya K, *et al.* Pseudoautosomal deletions encompassing a novel homeobox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner Syndrome. *Nat Genet* 1997;16:54-63.

Rastogi A, Malhotra V, Uppal B, Aggarwal V, Kalra KK, Mittal SK. Aetiology of chronic diarrhea in tropical children. *Trop Gastroenterol* 1999; 20: 45-9.

Rawashedeh MO, Khalil B, Raweily E. Celiac disease in Arabs. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996; 23: 415-8.

Rea F, Polito C, Marotta A, Di Toro A, Iovene A, Collini R, *et al.* Restoration of body composition in celiac children after one year of glute-free diet. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996;23:408-12.

Reunala TL. Dermatitis herpetiformis. *Clin Dermatol.* 2001;19:728-36.

Rosenfeld RG, Attie KM, Frane J, Brasel JA, Burnstein S, Cara JF, Chernausek S, Gotlin RW, Kuntze J, Lippe BM, Mahoney CP, Moore WV, Saenger P, Johanson AJ. Growth hormone therapy of Turner's syndrome: beneficial effect on adult height. *J Pediatr* 1998; 132:319-24.

Rubesin SE, Herlinger H, Saul SH, Grumbach K, Laufer I, Levine MS *et al.* Adult celiac disease and its complications. *Radiographics* 1989; 9:1045-66.

Rubin CE, Brandborg LI, Flick AL, Phelps P, Parmentier C, Van Niel S. Studies of Celiac sprue. III. The effect of repeated wheat instillation into the proximal ileum of patients on a gluten free diet. *Gastroenterology* 1962;43:621-41. Citado por: Auricchio S, Troncone R. History of coeliac disease. *Eur J Pediatr* 1996;155:427-8.

Ruiz C, Lamm F, Hart PS. Turner syndrome and multiple-marker screening. *Clin Chem* 1999; 45:2259-61.

Rujner J, Wisniewski A, Gregorek H, Wozniewicz B, Mlynarski W, Witas HW Celiac disease and HLA-DQ2 (DQA1*0501 and DQB1*0201) in patients with Turner syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nut* 2001; 32: 114-5

Sacchetti *et al.*, 2001. Sacchetti L, Tinto N, Calcagno G, Improta P, Salvatore F. Multiplex PCR typing of the three most frequent HLA alleles in celiac disease. *Clin Chem Acta* 2001;310:205-7.

Sagodi L, Solyom E, Tamasi K, Minik K. Prevalence of coeliac disease in Turner syndrome. *Orv Hetil.* 2006; 25; 147:1185-8.

Sas TCJ, De Muinck Keizer-Schrama SMPF, Stijnen T, Jansen M, Otten BJ, Hoorweg-Nijman JJG, Vulsma T *et al.* Normalization of height in girls with Turner syndrome after long-term growth hormone treatment: results of a randomized dose-response trial. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4607-12.

Sategna-Guidetti C, Solerio E, Scaglione N, Aimo G, Mengozzi G. Duration of gluten exposure in adult coeliac disease does not correlate with the risk for autoimmune disorders. *Gut* 2001;49:502-5.

Savendahl L, Davenport ML. Delayed diagnoses of Turner's syndrome: proposed guideline for change. *J Pediatr* 2000; 137:455-9.

Schulzke JD, Bentzel CJ, Schulzke I, Riecken EO, Fromm M. Epithelial tight junction structure in the jejunum of children with acute and treated coeliac sprue. *Pediatr Res* 1998; 43:435-41.

Schuppan D. Current concepts of coeliac disease pathogenesis. *Gastroenterology* 2000;119:234-42.

Schweizer J, Mearin MI, Brand R, Wit JM. Increased frequency of coeliac disease in Turner syndrome in the Netherlands. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000.31:S144-S145

Schweizer J, Oren A & Mearin LM. Cancer in children with coeliac disease: a survey of the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001;33:97-100.

Scobie BA. Co-existing Coeliac and Inflammatory Bowel Disease in a patient with Turner's syndrome. *Aust N Z J Med.* 1979 Jun;9:316-7

Scott EM, Gaywood I, Scott BB. Guidelines for osteoporosis in coeliac disease and inflammatory bowel disease. *Gut* 2000;46 Suppl 1:i1-8.

Sdepanian VL, Morais MB, Fagundes-Neto U. Doença celíaca: a evolução dos conhecimentos desde sua centenária descrição original até os dias de hoje. *Arq Gastroenterol* 1999;36:244-57.

Selby PL, Davies M, Adams JE, *et al.* Bone loss in coeliac disease is related to secondary hyperparathyroidism. *J Bone Miner Res* 1999;14:652-7.

Senger S, Maurano F, Mazzeo MF, Gaita M, Fierro O, David CS *et al.* Identification of immunodominant epitopes of alpha-gliadin in HLA-DQ8 transgenic mice following oral immunization. *J Immunol* 2005; 175:8087-95.

Serrano NC, Millan P, Páez MC. Non-HLA associations with autoimmune disease. *Autoimmune Reviews* 2006;5:209-14.

Shabazkhani B, Malekzadeh R, Sotoudeh M, Fayaz Moghadam K, Farhadi M, Akbari R, *et al.* High prevalence of celiac disease in apparently healthy Iranian blood donors. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:475-8

Shaltout AA, Khuffash FA, Hilal AA, el Ghanem MM. Pattern of protracted diarrhoea among children in Kuwait. *Ann Trop Pediatr* 1989;9:30-2.

Shamir R, Lerner A, Shinar E, Lahat N, Sobel E, Bar-or 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* 2002; 97: 2589-94.

Shamir R. Advances in celiac disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2003;32:931-47.

Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM *et al.* Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science* 2002;297:2218-20.

Sigurs N, Johansson C, Elfstrand PO, Viander M, Lanner A. Prevalence of coeliac disease in diabetic children and adolescents in Sweden. *Acta Paediatr* 1993;82:748-51

Sjöberg K, Alm R, Ivarsson SA, Lindström C, Eriksson S. Prevalence and clinical significance of gliadin antibodies in healthy children and adults. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 248-54.

Sollid LM, Khosla C. Future therapeutic options for celiac disease. *Nat Clin Practice Gastroenterology & Hepatology* 2005;2;3:140-7.

Sollid LM, Markussen G, Ek J *et al.* Evidence for a primary association of celiac disease to a particular HLA-DQ alpha/beta heterodimer. *J Exp Med* 1989;169:345-50.

Sollid LM. Celiac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nature Rev Immunol* 2002; 2:647-55.

- Sollid LM. Molecular basis of celiac disease. *Annu Rev Immunol* 2000; 18:53-81.
- Still CF. The Lumleian lectures on celiac disease. *Lancet* 1918;ii:163-6, 193-7,227-9.
- Stocholm K, Juul S, Juel K, Naeraa RW, Gravholt GH. Prevalence, incidence, diagnosis delay and mortality in Turner syndrome. *Clin Endocrinol Metabol* 2006; 91: 3897-902.
- Stratakis CA, Rennert OM. Turner syndrome: molecular and cytogenetics, dysmorphology, endocrine, and other clinical manifestations and their management. *Endocrinologist* 1994; 4:442-53
- Swerdlow AJ, Hermon C, Jacobs PA, Alberman E, Beral V, Daker M, *et al.* Mortality and cancer incidence in persons with numerical sex chromosome abnormalities: a cohort study. *Ann Hum Genet* 2001;65:177-88.
- Thatcher N, Besser GM, Stephens AD. Turner's syndrome with celiac disease. *Postgrad Med J* 1973;49:738-40.
- Tommasini A, Not T, Kiren V, Baldas V, Santon D, Trevisiol C, *et al.* Mass screening for coeliac disease using antihuman transglutaminase antibody assay. *Arch Dis Child.* 2004;89:512-5.
- Toscano V, Conti FG, Anastasi E, Mariani P, Tiberti C, Poggi M *et al.* Importance of the diet in the induction of endocrine autoimmunity and endocrine dysfunction in adolescent celiac patients. *Am J Gastroenterol* 2000;35:1742-8.
- Troncone R, Ferguson A. Anti-gliadin antibodies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991;12:150-8.
- Vajro P, Fontanella A, Mayer M, de Vaicenzo A, Terraciano LM, D'Armiento M *et al.* Elevated serum aminotransferase activity as an early manifestation of glute-sensitivity enteropathy. *J Pediatr* 1993;122:416-9.
- van Berge-Henegouwen GP, Mulder CJJ. Pioneer in the gluten free diet: Willem-Karel Dicke 1905-1962, over 50 years of gluten free diet. *Gut* 1993;34:1473-5.

van de Wal Y, Kooy YMC, van Veelen PA *et al.* Selective deamidation by tissue transglutaminase strongly enhances gliadin-specific T cell reactivity. *J Immunol* 1998;161:1585-8.

van Heel DA, West J. Recent advances in coeliac disease. *Gut* 2006;55:1037-46.

van Pareren YK, de Muinck Keiser-Schrama SM, Stijnen T, Sas TC, Jansen M, Otten BJ, *et al.* Final height in girls with Turner syndrome after long-term growth hormone treatment in three dosages and low dose estrogens. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:1119-25.

Ventura A, Magazzù G, Greco L for the SIGEP Study Group for Autoimmune Disorders in Celiac Disease. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. *Gastroenterology* 1999;117:297-303.

Viljamaa M, Kaukinen K, Kuhtala H, Kyronpää S, Rasmussen M, Collin P. Coeliac disease, autoimmune diseases and gluten exposure. *Scand J Gastroenterol* 2005;40:437-43.

Volta U, Molinaro N, de Franceschi L, Fratangelo D, Bianchi FB. IgA anti-endomysial antibodies on umbilical cord tissue for celiac disease screening. Save both money and monkeys. *Dig Dis Sci* 1995;40:1902-5.

Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling DH, Visakorpi JK. Revised criteria for the diagnosis of coeliac disease. Report of a Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch Dis Child* 1990; 65:909-11.

Wieser H. Chemistry of gliadins. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1991; 3:102-7.

Wucherpfenning KW, Strominger JL: Selective binding of self peptides to disease-associated major histocompatibility complex (MHC) molecules: a mechanism for MHC-linked susceptibility to human autoimmune diseases. *J Exp Med* 1995;181:1597-601.

ANEXOS

ANEXOS

Anexo I: Termo de consentimento livre e esclarecido

Termo de consentimento livre e esclarecido, pós-informação: o abaixo assinado _____ ou o responsável pelo paciente, _____ declara ter lido e ouvido o presente termo de responsabilidade e estar informado do seguinte:

Que pelo presente instrumento concorda em participar de pesquisa visando a determinar a possível presença de uma doença, chamada de doença celíaca, que aparece em pessoas que não toleram o trigo ou os seus derivados, em sua dieta.

Que esta participação implicará na retirada de aproximadamente 2 ml de sangue de uma das veias do antebraço sendo que este material será utilizado para fazer o diagnóstico, procurando pela presença ou não de elementos no sangue que indicam se a pessoa tem a doença.

Que este procedimento é de uso comum em medicina, implicando em risco mínimo para a saúde podendo, porém, provocar passageiro desconforto.

Que, resultando o teste positivo, seja nele ou em paciente sob sua responsabilidade, lhes será garantida assistência continuada, no Serviço de Gastroenterologia Pediátrica do HUB, ficando, porém, a seu critério, a eventual procura de outro serviço ou outro profissional para seu tratamento.

Que a recusa em participar ou recusa em deixar que paciente sob sua responsabilidade participe da presente pesquisa não resultará em qualquer

prejuízo presente ou futuro na prestação de assistência profissional pela equipe do Serviço de Gastroenterologia do HUB, ficando também ressaltado

que, mesmo após a assinatura do presente termo de consentimento ficará livre para abandonar a pesquisa a qualquer momento.

Brasília, de 2005.

Assinatura do Paciente (ou responsável pelo paciente)

Médico responsável

Anexo II: Análise de Projeto de Pesquisa



Universidade de Brasília
Faculdade de Medicina
Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

Campus Universitário, Asa Norte – CEP 70910-9000 – Brasília, DF - Tel.: (061) 3307-2520 / 3273-4069

ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro de projeto: CEP-FM 065/2005

Título: “Prevalência sorológica da doença celíaca em pacientes com Síndrome de Turner acompanhados no Hospital Universitário de Brasília”

Pesquisador responsável: Maria do Carmo Sorci Dias

Documentos analisados: Folha de rosto, carta de encaminhamento, declaração de Responsabilidade, protocolo de pesquisa, termo de consentimento livre e esclarecido, cronograma, bibliografia pertinente e currículo(s) de pesquisador(es)

Data de entrada: 30/08/2005

Proposição do(a) relator(a)

Aprovação

Aprovação com recomendação

Não aprovação

Data da primeira análise pelo CEP-FM/UnB: 27/09/2005

Data do parecer final do projeto pelo CEP-FM/UnB: 08/12/2005

PARECER

Com base na Resolução CNS/MS N° 196/96, que regulamenta a matéria, a Coordenação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília decidiu **APROVAR *ad referendum***, de acordo com o parecer do(a) relator(a), o projeto de pesquisa acima especificado, quanto aos seus aspectos éticos.

Observações:

- 1 – Modificações no protocolo devem ser submetidas ao CEP, assim como a notificação imediata de eventos adversos graves;
- 2 – O(s) pesquisador(es) deve(m) apresentar relatórios periódicos do andamento da pesquisa ao CEP-FM.

Brasília, 20 de dezembro de 2005.

Prof. Elaine Maria de Oliveira Alve
Coord. do Comitê de Ética em Pesquisa
Faculdade de Medicina - UnB