

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

PETRA MIRELLA THEISS

**PAINEL DE AUTOANTICORPOS EM PACIENTES
PORTADORES DE DOENÇA CELÍACA E DE DOENÇA DE
CROHN**

**CURITIBA
2009**

PETRA MIRELLA THEISS

**PAINEL DE AUTOANTICORPOS EM PACIENTES
PORTADORES DE DOENÇA CELÍACA E DE DOENÇA DE
CROHN**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Lorete Maria da Silva Kotze

CURITIBA

2009

PETRA MIRELLA THEISS

**PAINEL DE AUTOANTICORPOS EM PACIENTES
PORTADORES DE DOENÇA CELÍACA E DE DOENÇA DE
CROHN**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Lorete Maria da Silva Kotze
Pontifícia Universidade Católica do Paraná PUCPR

Prof. Dr. Roberto Pecoits Filho
Pontifícia Universidade Católica do Paraná PUCPR

Profa. Dra. Shirley Ramos da Rosa Utiyama
Universidade Federal do Paraná UFPR

Curitiba, 20 de Agosto de 2009.

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central

T377p 2009	Theiss, Petra Mirella Painel de autoanticorpos em pacientes portadores de doença celíaca e de doença de Crohn / Petra Mirella Theiss ; orientadora, Lorete Maria da Silva Kotze. -- 2009. 132 f. ; il. ; 30 cm Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2009 Bibliografia: f. 105-120 1. Gastroenterologia. 2. Imunoglobulinas. 3. Doença celíaca. 4. Crohn, Doença de. I. Kotze, Lorete Maria da Silva. II. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título. CDD 20. ed. – 616.33
---------------	---

À MINHA MÃE, pelos primeiros passos na vida, pela dedicação
extraordinária e pelo amor e carinho incondicionais...

AO MEU ESPOSO SÉRGIO, meu porto seguro, companheiro
das horas mais difíceis, meu amor e coração...

AO FELIPE, meu filho querido...

Com imenso amor e gratidão...

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos devem iniciar todos os trabalhos, pois não iríamos realizá-lo sem a ajuda de diversas pessoas que participaram, de forma direta ou indireta, em cada etapa da sua execução. São inúmeros os agradecimentos, por isso, gostaria de citar aqui o nome de todas as pessoas que fizeram parte da elaboração desta dissertação e, mesmo sabendo ser isto impossível, agradecerei muitas pessoas em nome de algumas.

Primeiramente, a todos os pacientes que participaram e acreditaram em nosso trabalho e sem os quais este seria inviável.

À professora Dra. Lorete Maria da Silva Kotze, pelo brilhantismo, profissionalismo, perfeccionismo, dedicação, paciência, determinação e compreensão na orientação, condução e correção dessa dissertação. Agradeço imensamente todas as palavras de apoio e incentivo, e pelo exemplo de pessoa. Toda minha admiração.

À professora Dra. Shirley Ramos da Rosa Utiyama, pela serenidade e sabedoria na correção desse trabalho. Toda minha admiração.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, na pessoa do Professor Dr. Roberto Flávio Pecoits Filho.

À Alcione Slugovieski, secretária do programa, sempre atenciosa e solícita.

Aos Farmacêuticos e Bioquímicos Renato Mitsunori Nisihara, Walmir Mocelim e Flávia Raphaela Naas, e à estagiária Isabela Goeldner Silva, pela compreensão, contribuição e imensa ajuda na realização das análises sorológicas.

Aos funcionários do Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelo auxílio durante a realização de todas as análises sorológicas.

À Professora Márcia Olandoski, pela contribuição paciente na realização das análises estatísticas.

Aos colegas de mestrado, pela força constante.

As amigas Simone Silveira Castelar (*in memoriam*) e Carmen Luciane Sanson Abourihan pelos conselhos e auxílio nesta caminhada.

Agradeço de forma especial à minha mãe Liane Theiss e à minha irmã Jovanca Luana Theiss, pela enorme ajuda e compreensão nos mais diversos momentos e necessidades no decorrer desse tempo, sempre cuidando do meu filho Felipe na minha ausência.

Agradeço, da mesma forma, ao meu esposo Sérgio e ao nosso filho Felipe, pelo apoio, paciência e compreensão que somente pessoas especiais podem ter.

E acima de tudo, e por tudo, agradeço a Deus que, juntamente com seus anjos, sempre olharam por mim e minha família.

A mente que se abre a uma nova idéia
jamais voltará ao seu tamanho original.

Albert Einstein

RESUMO

Dentre as afecções gastrointestinais com implicações imunogenéticas destacam-se a doença celíaca (Dc) e a doença de Crohn (DC). **Objetivos:** Identificar e comparar o painel de autoanticorpos em portadores de Dc e DC e associá-los com doenças autoimunes (DAI's). **Pacientes:** 45 pacientes com Dc, 77.8% (feminino), 22.2% (masculino), idade média de 39.2 anos; e 36 pacientes com DC, 63.9% (feminino), 36.1% (masculino), média de idade de 42.9 anos. Os celíacos foram subdivididos em 2 grupos, celíacos ao diagnóstico (celíacos DX n=30) e celíacos com dieta isenta de glúten (celíacos DIG n=15). **Métodos:** Foram investigados os seguintes autoanticorpos: anti-mitocondrial (AMIT), anti-músculo liso (AML), anti-célula gástrica parietal (ACGP), anti-microsomal de fígado e rim (ALKM), fator anti-nuclear (FAN), anti-endomísio (EmA) e anti-citoplasma de neutrófilo (ANCA), por imunofluorescência indireta (IFI); anti-transglutaminase tecidual (anti-tTG) e anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) por ensaio imunoenzimático (ELISA); e anti-tireoperoxidase (anti-TPO) por método imunométrico. Para análise estatística, utilizou-se teste exato de Fisher, considerando nível de significância $p < 0,05$, corrigido por Bonferroni ($p < 0,017$). **Resultados:** EmA positivou em 100% dos celíacos DX e em 33.3% dos celíacos DIG. Na DC, 100% negativaram, demonstrando resultados significativos ($p < 0,001$) quando comparados os três grupos. O anti-tTG foi positivo em 90% dos celíacos DX e 26.7% nos celíacos DIG; na DC 88.9% e 11.1% foram negativos e positivos, respectivamente, resultando um nível de significância $p < 0,001$ quando comparados os celíacos DX com DIG e com DC. Quanto ao ASCA IgA e IgG, nos celíacos DX ocorreu maior positividade, 66.7% e 86.7% respectivamente; enquanto que na DC observou-se 36.1% ASCA IgA e 44.4% para ASCA IgG; os valores de p foram significativos para ASCA IgA ($p < 0,004$), quando comparados celíacos DX e DIG, e ASCA IgG ($p = 0,001$), quando comparados celíacos DX e DC. Cem por cento (100%) dos celíacos (DX e DIG) foram negativos para ANCA e 5.6% dos pacientes com DC positivaram para ANCA. Encontrou-se positividade para anti-TPO em 17.6% celíacos DX e 50% nos celíacos DIG, sugerindo associação com doenças tireoidianas. AML positivou em 3.3% e 13.3% dos celíacos DX e DIG respectivamente, e 100% de negatividade na DC. AMIT e ALKM foram negativos em 100% de todas as amostras. Quanto ao FAN, 6.7% dos celíacos DX e DIG, e 8.3% dos indivíduos com DC foram positivos, demonstrando correlação com queixas articulares. ACGP foi positivo em 6.7% dos celíacos DIG, sugerindo, assim, gastrite autoimune. Dentre as associações clínicas na Dc evidenciou-se 8.9% com dermatite herpetiforme; 4.4% com diabetes melitus e 28.9% com doenças da tireóide; na DC 2.8% apresentaram psoríase e 8.3% doenças da tireóide. **Conclusões:** A determinação de um amplo painel de autoanticorpos pode se mostrar útil no diagnóstico diferencial de várias afecções, além de permitir suspeição diagnóstica antes do aparecimento de manifestações clínicas, seja da doença básica (Dc e DC), seja nas doenças autoimunes associadas, reforçando a aplicabilidade clínica da presente pesquisa.

Palavras-chave: Autoanticorpos. Doença celíaca. Doença de Crohn. Doenças autoimunes.

ABSTRACT

Celiac disease (Ced) and Crohn's disease (CD) and are good examples of diseases with genetic and immunological implications. There is a link between these diseases and other autoimmune disorders. Thus, it is interesting to determine a panel of autoantibodies in the serum of the patients, even before clinical manifestation of the disorders. **Objectives:** To determine, compare and correlate the panel of autoantibodies in adult patients with Ced and CD with the clinical characteristics of these affections. **Patients and methods:** 45 patients with Ced were subdivided in 30 Ced at diagnostic (Ced DX) and 15 Ced in treatment with a gluten free diet (Ced GFD), 77.78% women and 22.22% men, mean age 39.18; 36 patients with CD, 63.89% women and 36.11% men, mean age 42.89 were studied. The following autoantibodies were assays: mitochondrial (MIT), smooth-muscle (SMA), liver-kidney microsome (LKM), nuclear (ANA), gastric parietal cell (GPCA), neutrophil cytoplasmic (ANCA), anti-endomysial (EmA) by indirect immunofluorescence; anti-thyroperoxidase (anti-TPO) by immunometric method; anti-transglutaminase (anti-tTG) and anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) by immunoenzymatic assay. For statistical analysis the Fisher's exact test was used to compare the categorical variables ($P < 0.05$), using Bonferroni correction ($P < 0.017$). **Results:** EmA were detected in 100% of celiac patients ingesting gluten and in 33.3% celiac patients on a GFD. In CD, 100% were negative for this autoantibody (statistical significance). Anti-tTG was positive in 90% of the celiac patients at diagnosis and in 26.7% of treated patients; in CD, 88.9% were negative and 11.1% positive, both autoantibodies showing statistical significance. ASCA IgA/IgG was positive in CD e Ced, but statistical significance was found only in ASCA IgA. For ANCA, all celiac patients were negative, and 5.6% of CD was positive. In relation to anti-TPO, 17.6% and 50% of the Ced DX and in a GFD were positive, suggesting association with thyroid disease. SMA was positive only in celiac disease. MIT and LKM were negative in all the samples. ANA was positive in both diseases in patients with articular complaints. GPCA was positive in one celiac patient on a GFD. The clinical association in Ced were dermatitis herpetiformis, diabetes mellitus and thyroid disease; in CD psoriasis and thyroid disease. **Conclusions:** The determination of a large panel of autoantibodies can be useful for the differential of several gastrointestinal diseases and for suspicion of these disorders before clinical manifestations, or for diagnosis of associated autoimmunity diseases.

Keywords: Autoantibodies. Celiac disease. Crohn's disease. Autoimmunity disease.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Samuel Jones Gee	22
Figura 2 – Willen Karel Dicke	22
Figura 3 – Patogênese da doença celíaca	24
Figura 4 – Imunopatogenia da doença celíaca.....	27
Figura 5 – Dermatite herpetiforme ou doença celíaca da pele.....	31
Figura 6 – Doença celíaca clássica na criança	31
Figura 7 – Doença celíaca clássica no adulto	32
Figura 8 – Burril Bernard Crohn	44
Figura 9 – Gordon Oppenheimer, Burril Crohn e Leon Ginzburg	44
Figura 10 – Patogênese da doença de Crohn.....	46
Figura 11 – Imunopatogenia da doença de Crohn	51
Figura 12 – MEI na pele em paciente com DC.....	54
Figura 13 – MEI ocular (episclerite) na DC	54
Figura 14 – Anticorpo anti-músculo liso (AML).....	75
Figura 15 – Anticorpo anti-mitocondrial (AMIT)	75
Figura 16 – Anticorpo anti-microsoma de fígado e rim (ALKM).....	76
Figura 17 – Anticorpo anti-célula gástrica parietal (ACGP)	76
Figura 18 – Anticorpo anti-endomísio (anti-EmA).....	76
Figura 19 – Anticorpo anti-transglutaminase tecidual (anti-tTG)	77
Figura 20 – Associações clínicas nos pacientes com Dc	88
Figura 21 – Associações clínicas nos pacientes com DC	89
Gráfico 1 – Total de autoanticorpos positivos nos grupos estudados	80
Gráfico 2 – Positividade dos auto anticorpos EmA e anti-tTG nos pacientes portadores de Dc e DC.....	84
Gráfico 3 – Positividade dos autoanticorpos ASCA e ANCA nos pacientes portadores de Dc e DC.....	85
Gráfico 4 – Positividade dos demais autoanticorpos nos pacientes portadores de Dc e DC	87

Quadro 1 – Autoanticorpos e seus substratos antigênicos empregados nas reações de IFI	73
Tabela 1 – Dados demográficos da população em estudo	71
Tabela 2 - Número total de autoanticorpos positivos nos grupos estudados	80
Tabela 3 – Valores de p dos grupos sob comparação	81
Tabela 4 – Positividade total dos autoanticorpos em pacientes com Dc e DC.....	82

LISTA DE ABREVIATURAS

ACELPAR	- Associação dos Celíacos do Paraná
ACGP	- Anticorpo anti-célula gástrica parietal
ALKM	- Anticorpo anti-microsomal de fígado e rim
AMIT	- Anticorpo anti-mitocondrial
AML	- Anticorpo anti-músculo liso
ANCA	- Anticorpo anti-citoplasma de neutrófilo
ANTI-tTG	- Anticorpo anti-transglutaminase tecidual
ANTI-TPO	- Anticorpo anti-tireoperoxidase
ASCA	- Anticorpo anti- <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
CEP	- Comitê de Ética em Pesquisa
DAÍ	- Doença autoimune
DAI's	- Doenças autoimunes
Dc	- Doença celíaca
DC	- Doença de Crohn
DH	- Dermatite herpetiforme
DIG	- Dieta isenta de glúten
DII	- Doença inflamatória intestinal
DM I	- Diabetes mellitus tipo I
DM II	- Diabetes mellitus tipo II
DX	- Diagnóstico
ELISA	- Ensaio Imunoenzimático
EmA	- Anticorpo anti-endomísio
FAN	- Fator anti-nuclear
HC-UFPR	- Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná
HLA	- Antígeno leucocitário humano
IFI	- Imunofluorescência indireta
IgA	- Imunoglobulina classe A
IgG	- Imunoglobulina classe G

LES	- Lúpus eritematoso sistêmico
LIE	- Linfócitos intra-epiteliais
MEI	- Manifestações extra-intestinais
PBS	- Tampão fosfato salino
PUCPR	- Pontifícia Universidade Católica do Paraná
SI	- Sistema Imunológico
TCLE	- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGI	- Trato Gastrointestinal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 HIPÓTESE	20
3 OBJETIVOS	20
3.1 OBJETIVO GERAL	20
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
4 REVISÃO DE LITERATURA	21
4.1 DOENÇA CELÍACA.....	21
4.1.1 Glúten	22
4.1.2 Patogênese	23
4.1.2.1 Fatores ambientais.....	24
4.1.2.2 Fatores genéticos	25
4.1.2.3 Fatores imunológicos	26
4.1.3 Aspectos epidemiológicos	27
4.1.4 Fisiopatologia	28
4.1.5 Quadro clínico	29
4.1.6 Doenças associadas	32
4.1.7 Diagnóstico	33
4.1.7.1 Diagnóstico sorológico	34
4.1.7.1.1 Anticorpos anti-gliadina e anti-reticulina	34
4.1.7.1.2 Anticorpos anti-endomísio	35
4.1.7.1.3 Anticorpos anti-transglutaminase tecidual	36
4.1.7.2 Endoscopia digestiva.....	38
4.1.7.3 Anatomia patológica.....	38
4.1.7.4 Diagnóstico diferencial	39
4.1.8 Tratamento	40
4.1.8.1 Tratamento nutricional.....	40
4.1.8.2 Outras formas de tratamento.....	42
4.1.9 Evolução e prognóstico	42

4.1.10 Complicações da Dc	43
4.2 DOENÇA DE CROHN	43
4.2.1 Aspectos epidemiológicos	45
4.2.2 Etiopatogênese.....	46
4.2.2.1 Fatores ambientais.....	46
4.2.2.2 Fatores genéticos	47
4.2.2.3 Fatores imunológicos	49
4.2.3 Fisiopatologia	50
4.2.4 Quadro clínico	52
4.2.4.1 Manifestações extra-intestinais (MEI).....	53
4.2.4.2 Complicações da DC.....	54
4.2.4.3 Doenças associadas	55
4.2.5 Diagnóstico	55
4.2.5.1 Diagnóstico sorológico	57
4.2.5.1.1 Determinação de ASCA	59
4.2.5.1.2 Determinação de ANCA	60
4.2.6 Tratamento.....	61
4.2.7 Evolução e prognóstico	62
4.3 DOENÇAS AUTOIMUNES ASSOCIADAS À Dc E DC	62
4.4 AUTOANTICORPOS NA Dc E NA DC.....	63
4.4.1 Anticorpo anti-tireoperoxidase (anti-TPO).....	64
4.4.2 Fator anti-nuclear (FAN) ou anticorpo anti-nuclear (ANA).....	65
4.4.3 Anticorpo anti-célula gástrica parietal (ACGP).....	66
4.4.4 Anticorpo anti-mitocondrial (AMIT)	67
4.4.5 Anticorpo anti-microsomal de fígado e rim (ALKM).....	67
4.4.6 Anticorpo anti-músculo liso (AML)	68
5 MATERIAIS E MÉTODOS	70
5.1 PACIENTES	70
5.2 AMOSTRAS SOROLÓGICAS.....	71
5.3 METODOLOGIA SOROLÓGICA.....	72

5.3.1 Pesquisa de autoanticorpos por imunofluorescência indireta (IFI).....	72
5.3.1.1 Preparo de substatos antigênicos	72
5.3.1.2 Reação de imunofluorescência (IFI).....	73
5.3.2 Pesquisa de autoanticorpos por ELISA	77
5.3.3 Pesquisa de autoanticorpos por outros métodos	78
5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	78
6 RESULTADOS.....	79
6.1 POSITIVIDADE TOTAL DE AUTOANTICORPOS	79
6.2 POSITIVIDADE DOS AUTOANTICORPOS EmA e tTG	83
6.3 POSITIVIDADE DOS AUTOANTICORPOS ASCA IgA / IgG E ANCA.....	84
6.4 POSITIVIDADE DOS DEMAIS AUTOANTICORPOS EM PACIENTES COM Dc E DC	86
6.5 ASSOCIAÇÕES CLÍNICAS NOS PACIENTES COM Dc E DC.....	87
6.6 POSITIVIDADE DE AUTOANTICORPOS E ASSOCIAÇÕES CLÍNICAS EM PACIENTES COM Dc E DC.....	89
7 DISCUSSÃO	90
7.1 DADOS DEMOGRÁFICOS	90
7.2 DETERMINAÇÃO DE EmA E ANTI-tTG	91
7.3 DETERMINAÇÃO DE ASCA E ANCA.....	93
7.4 DETERMINAÇÃO DOS DEMAIS AUTOANTICORPOS EM PACIENTES COM Dc E DC	95
7.5 ASSOCIAÇÕES CLÍNICAS NOS PACIENTES COM Dc E DC.....	97
8 CONCLUSÕES	102
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS	104
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	105
APÊNDICES	121
APÊNDICE A - Protocolo de coleta de dados 1	122
APÊNDICE B - Protocolo de coleta de dados 2.....	123
APÊNDICE C - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)	124
APÊNDICE D - Dados referentes aos pacientes com Dc	125
APÊNDICE E - Dados referentes aos pacientes com DC.....	126

ANEXOS	127
ANEXO A – Parecer do CEP	128
ANEXO B – Resumos de Congressos Nacionais e Internacionais	129
ANEXO C – Prêmio de Congresso Nacional.....	130
ANEXO D – Submissão do Artigo	131
ANEXO E - Published Ahead of Print do Artigo	132

1 INTRODUÇÃO

São relevantes os conhecimentos advindos da Imunologia em relação às doenças do trato gastrointestinal (TGI), uma vez que o sistema imunológico (SI) participa das funções do TGI e das interações entre hospedeiro e ambiente, o que ocorre na luz intestinal. Além disso, o SI se torna importante para identificar a etiologia e a patogenia de várias doenças e distúrbios com base nos conhecimentos adquiridos sobre a função e regulação da resposta imune. Como consequência, a capacidade de se compreender a resposta imune do intestino abre novos rumos para o futuro da ciência (KAGNOFF, 2005).

Várias são as doenças com implicações imunogenéticas que acometem o TGI destacando-se as que acarretam maior comprometimento físico, social e emocional ao indivíduo. Como exemplos citam-se a doença celíaca (Dc), considerada hoje problema de saúde pública mundial, e a doença de Crohn (DC). Ambas possuem inúmeros fatores envolvidos em sua etiopatogenia – ambientais, genéticos e imunológicos – tornando difícil o diagnóstico em muitos casos e até o diagnóstico diferencial entre ambas, principalmente quando se apresentam com diarreia crônica (KOTZE, 2009; KOTZE; KOTZE, 2009; KAGNOFF, 2005; FRANCO LOIDA; DANI, 2005; WGO, 2005).

Evidências relativas à importância dos mecanismos imunes na patogenia da lesão tecidual nas doenças referidas derivam de características histológicas e clínicas dessas afecções, além de estudos laboratoriais da imunidade humoral e celular dos pacientes acometidos. Observa-se com frequência, no TGI destes pacientes, aumento dos números de células mononucleares, incluindo linfócitos, plasmócitos e/ou mastócitos. Do ponto de vista clínico, estas enfermidades podem ocorrer em associação a outras afecções em que os mecanismos imunes também desempenham papel importante, muitas vezes se apresentando com manifestações extra-intestinais (MOTA et al, 2007; KAGNOFF, 2005; FRANCO LOIDA; DANI, 2005; WGO, 2005).

A associação de mecanismos imunológicos e genéticos com afecções gastrointestinais indica forte relação entre estes sistemas, tanto na fisiopatologia destas

doenças como na manutenção do estado de saúde dos indivíduos, indicando, assim, uma área de pesquisa promissora (ALVES et al, 2006).

O diagnóstico das afecções que comprometem o TGI, como a Dc e a DC, envolve uma associação de dados clínicos, físicos, laboratoriais, radiográficos, endoscópicos, histológicos, entre outros, sendo muitas vezes fundamental a investigação de autoanticorpos para sua elucidação. Esses podem representar marcadores precoces da doença ou indicadores de prognóstico, bem como permitir seu monitoramento ou a resposta ao tratamento proposto, além de auxiliar na investigação de manifestações extra-intestinais que as mesmas podem desenvolver (KOTZE, 2009; KOTZE; KOTZE, 2009; FRANCO LOIDA; DANI, 2005; WGO, 2005).

O diagnóstico acurado da Dc e da DC é desafiador devido a grande variedade de expressão clínica destas afecções. Desta forma, nenhum sinal ou sintoma clínico, avaliado de maneira isolada, será indicador absoluto para seu diagnóstico (ROMALDINI; BARBIERI, 1999).

A determinação sorológica de autoanticorpos em doenças auto-imunes (DAI's) como a Dc, e a DC, caracteriza-se por testes não invasivos que, juntamente com demais critérios, auxiliam no diagnóstico acurado. A utilização de testes sorológicos como o anticorpo anti-endomísio (EmA) e anticorpo anti-transglutaminase tecidual (tTG), contribuem para o diagnóstico de Dc, além de se tornarem importantes como marcadores da doença antes da realização de biópsia intestinal para confirmação diagnóstica (KOTZE, 2009; WGO, 2005; ROMALDINI; BARBIERI, 1999). Já a determinação de autoanticorpos como o anti-citoplasma de neutrófilo (ANCA) e o anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), auxiliam na diferenciação do diagnóstico de doenças inflamatórias intestinais (DII), sendo o ASCA mais positivo para a DC e o ANCA melhor marcador para retocolite ulcerativa (RCU) (KOTZE; KOTZE, 2009; STEINWURZ; SCHEINBERG, 2001; PRESENT; BANKS, 1999).

A concomitância de Dc e DC com outras DAI's como doenças da tireóide, psoríase, diabetes melitus, entre outras, tem sido demonstrada por diversos autores. A presença de comprometimento da barreira intestinal que facilita a ação de antígenos, mostra a estreita relação existente entre sistema imunológico (SI) e suas respostas nas doenças do TGI, como a doença celíaca e a doença de Crohn, podendo preceder uma

resposta imune gerando manifestações extraintestinais, incluindo comprometimento de vários órgãos como sistema esquelético (espondilite anquilosante), pâncreas (diabetes melitus tipo I), rins (nefropatia por IgA), fígado (esteatose hepática) e cérebro (esclerose múltipla) (FASANO; SHEA-DONOHUE, 2005). No que se refere ainda à Dc, salienta-se a importância de se investigar a presença de autoanticorpos, bem como de doenças autoimunes associadas, uma vez que a presença destas afecções depende do tempo de exposição ao glúten (VENTURA et al, 1999): sua retirada da dieta promove recuperação da função da barreira intestinal, normaliza os títulos de autoanticorpos, interrompe os processos autoimunes e o dano intestinal pode ser revertido completamente (FASANO; SHEA-DONOHUE, 2005).

A determinação de um painel de autoanticorpos, bem como a comparação dos achados com as associações clínicas observadas nos pacientes poderão, enriquecer dados de literatura quanto à relação existente entre Dc, DC e doenças autoimunes. Portanto, neste contexto, justifica-se de forma clara e objetiva a realização da presente pesquisa frente aos poucos trabalhos relacionados ao assunto na população brasileira.

2 HIPÓTESE

A detecção sorológica de autoanticorpos, como biomarcadores, contribui para o entendimento da doença celíaca e da doença de Crohn?

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar um amplo painel de autoanticorpos em pacientes portadores de doença celíaca e de doença de Crohn.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Comparar os achados do painel de autoanticorpos entre os pacientes portadores de doença celíaca e de doença de Crohn.

Relacionar os autoanticorpos detectados com doenças auto-imunes associadas em ambas às afecções.

Comparar o painel de autoanticorpos em pacientes portadores de doença celíaca ao diagnóstico e em tratamento.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 DOENÇA CELÍACA

A primeira alusão à doença celíaca (Dc) remonta ao ano 200 da era cristã quando Arateus da Capadócia descreveu esta afecção, com suas características próprias, mais em mulheres que em homens, sendo as crianças também afetadas. Porém, sua clássica descrição foi feita há mais de 100 anos, em 1888, pelo médico Samuel Jones Gee (figura 1), que publicou um artigo clássico denominado “On the Coeliac Affection”. Nesta breve publicação relatou que a provável cura desta doença estaria relacionada à dieta. Em meados do século XX (1950), no período da Segunda Guerra Mundial, Willen Karel Dicke (figura 2), um pediatra holandês, identificou o glúten como agente causal da Dc. Associou os efeitos deletérios de alguns tipos de cereais em pacientes portadores de Dc, pois durante o período de racionamento de alimentos à base de trigo (principalmente o pão), a incidência do “espru celíaco” havia diminuído muito. Quando o pão (principal alimento) e outros alimentos à base de trigo, voltaram a ser consumidos pela população holandesa, as crianças com Dc começaram rapidamente a apresentar os sintomas característicos da afecção. Confirmou-se, assim, a importância do trigo (glúten) na gênese da doença e a descoberta do tratamento efetivo da Dc, pois, a dieta isenta de glúten, até os dias atuais permanece como a única forma de terapia (RITO NOBRE; SILVA; PINA CABRAL, 2007; SDEPANIAN; MORAIS; FAGUNDES-NETO, 1999; van BERGE-HENEGOUWEN; MULDER, 1993; DOWD; WALKER-SMITH, 1974).



Figura 1 - Samuel Jones Gee



Figura 2 - Willen Karel Dicke

4.1.1 Glúten

A definição correta de glúten inclui um conjunto de proteínas individuais encontradas nos cereais e que se dividem em prolaminas e glutelinas. Cada cereal apresenta uma prolamina diferente: no trigo é denominada de gliadina, no centeio (secalina), na cevada (hordeína), na aveia (avenina), no milho (zeína), no arroz (orzeína) e no sorgo (katirina). Desta forma, todos os cereais possuem prolaminas e, portanto, não se pode dizer que há cereais isentos de glúten. Porém, como apenas algumas prolaminas são tóxicas para os celíacos, generalizou-se a idéia de que os cereais sem estas prolaminas tóxicas seriam também sem glúten. Assim, as prolaminas tóxicas para portadores de Dc são a gliadina, secalina, hordeína e avenina. A característica de toxicidade destes cereais se deve a seqüência de aminoácidos que os mesmos apresentam. O glúten é uma substância albuminóide, insolúvel em água, que, junto com o amido e outros compostos, constitui a massa coesiva que permanece

quando a pasta de farinha dos cereais é lavada para remoção dos grânulos de amido (KOTZE, 2009).

A doença por sensibilidade ao glúten pode ser definida como um estado de resposta imunológica, tanto celular como humoral, frente à ingestão do glúten do trigo, aveia, centeio e cevada. A intolerância ao glúten é permanente. Atualmente seu conceito ampliou-se, onde se inclui pacientes nos quais a interação entre seu sistema imunológico e o glúten pode se expressar em diferentes níveis. A forma mais conhecida e comum é a enteropatia ou lesão intestinal (doença celíaca), mas o dano também pode surgir na pele (dermatite herpetiforme), na mucosa oral (estomatite aftosa de repetição), nas articulações (algumas artrites) ou no rim (nefropatia por IgA) (KOTZE, 2009; GREEN; CELLIER, 2007; WGO, 2005).

A doença celíaca (Dc) é, portanto, uma doença auto-imune precipitada em indivíduos geneticamente predispostos, pela ingestão de glúten (tóxico). Esta entidade também pode ser encontrada sob várias outras denominações como enteropatia glúten-sensível ou glúten-induzida, espru celíaco, espru não-tropical, esteatorréia idiopática ou espru idiopático (KOTZE, 2009; SILVA et al, 2006; CAMPOS; KOTZE, 1980).

4.1.2 Patogênese

A expressão da doença celíaca resulta da interação do glúten na dieta associado a fatores ambientais, genéticos e imunológicos (figura 3) (KOTZE, 2009; GREEN; CELLIER, 2007; RITO NOBRE; SILVA; PINA CABRAL, 2007).

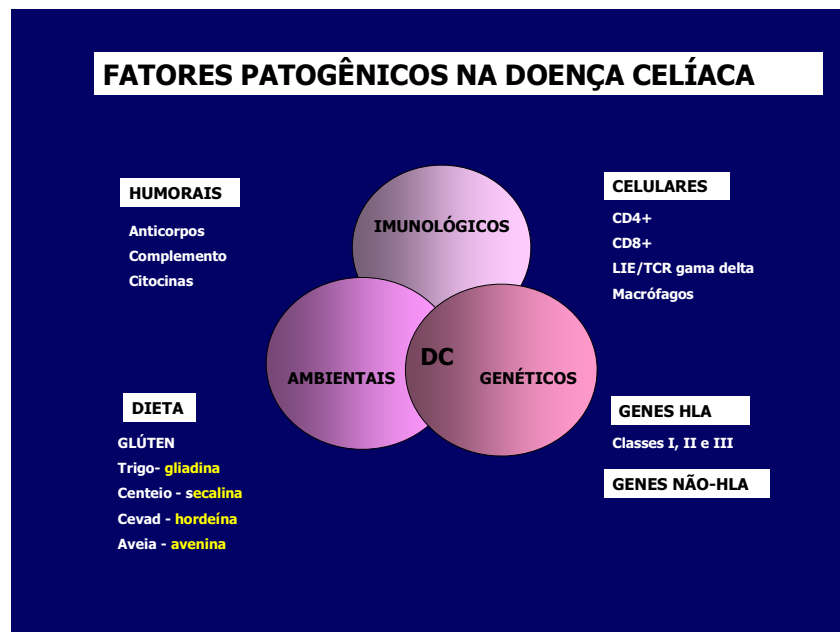


Figura 3 – Patogênese da doença celíaca (KOTZE, 2007)

4.1.2.1 Fatores ambientais

Dentre as prolaminas, as gliadinas, mais especificamente as alfa-gliadinas, seriam tóxicas aos pacientes celíacos. Os peptídios do glúten são resistentes à digestão pelas enzimas gástricas e pancreáticas e alcançam a lâmina própria do intestino delgado, possivelmente em consequência do aumento da permeabilidade intestinal, interagindo assim, com as células apresentadoras de antígeno (GREEN; CELLIER, 2007; RITO NOBRE; SILVA; PINA CABRAL, 2007; SHAN et al, 2002).

Estudos epidemiológicos sugerem que os fatores ambientais têm apresentado papel relevante no desenvolvimento da Dc. Incluem o efeito protetor do aleitamento materno e a introdução do glúten na dieta em relação ao desmame – maior se antes dos quatro meses de idade e um pouco menor após os sete meses de vida (IVARSSON et al, 2002). Certas infecções, como por rotavírus, também aumentam o risco de desenvolvimento da Dc na infância (STENE et al, 2006).

4.1.2.2 Fatores genéticos

A Dc representa uma forte condição hereditária sendo oligogênica e geneticamente complexa (KING; CICLITIRA, 2000). A associação desta afecção com os antígenos do sistema HLA (antígeno leucocitário humano), bem como a função destas moléculas como fator genético de susceptibilidade à doença, estão bem estabelecidos. Além disso, a Dc é familiar, é pouco freqüente em determinados grupos étnicos, como orientais e negros, e apresenta concordância de aproximadamente 70% entre gêmeos homozigóticos (WGO, 2005).

Em torno de 90-95% dos casos de Dc expressam-se moléculas do sistema HLA, destacando-se as de classe II. A maioria expressa o heterodímero HLA-DQ2, enquanto que a minoria expressa o HLA-DQ8. Entretanto, a molécula DQ2 apresenta alta prevalência na população em geral, de forma que apenas uma pequena proporção virá a desenvolver a Dc, demonstrando que a expressão das moléculas DQ2 e DQ8 são necessárias, mas não suficientes para desenvolver a doença (WOLTERS; WIJMENGA, 2008; GREEN; CELLIER, 2007; RITO NOBRE; SILVA; PINA CABRAL, 2007; ALVES et al, 2006; WGO, 2005).

A influência genética na etiopatogenia da Dc é corroborada pela ocorrência familiar da afecção. A mesma não se desenvolve a não ser que o indivíduo tenha alelos que codificam proteínas HLA – DQ2 ou DQ8. Vários genes não – HLA, que podem influenciar na susceptibilidade da Dc, já foram identificados, contudo sua influência não tem sido confirmada. Em suma, a tipagem HLA serve de marcador genético, sendo importante em situações especiais e para detectar familiares de alto risco para Dc, mas não é determinada de forma rotineira (WOLTERS; WIJMENGA, 2008; SOLLID; LIE, 2005).

4.1.2.3 Fatores imunológicos

Os fatores imunológicos são cada vez mais conhecidos na Dc, pois a mesma se caracteriza por uma resposta imunológica anormal frente aos peptídeos derivados da gliadina. Na lâmina própria da mucosa do intestino delgado (ID) são encontradas células T CD4+ glúten-específicas que reconhecem os peptídeos derivados desta fração protéica, principalmente quando apresentados por heterodímeros associados à Dc como o DQ2, demonstrando assim, a estreita associação com antígenos de histocompatibilidade do sistema HLA (figura 4) (KOTZE, 2009; RITO NOBRE; SILVA; PINA CABRAL, 2007; SDEPANIAN; MORAIS; FAGUNDES-NETO, 1999).

Considera-se que a Dc esteja associada a uma resposta auto-imune altamente específica ao endomísio, estrutura presente na matriz extracelular. O antígeno endomisial foi identificado recentemente como a enzima transglutaminase tecidual (tTG), responsável pela deaminação da gliadina. A gliadina presente na dieta atravessa a barreira epitelial do ID e é exposta a esta enzima. Desta forma, os peptídeos derivados da gliadina e os complexos gliadina-tTG são levadas às células apresentadoras de antígenos que carregam o gene HLA-DQ2. Por sua vez, as células CD4+ reconhecem estes peptídeos, tornando possível uma resposta Th1 ou Th2, deflagrando a liberação de citocinas e iniciando o processo de lesão intestinal (SHUPPAN; DIETERICH; RIECKEN, 1998) (figura 4).

A resposta imune à gliadina, tanto inata como adaptativa, promove nos pacientes celíacos, uma reação inflamatória na porção proximal do ID. Caracteriza-se por infiltração na lâmina própria e no epitélio intestinal com aumento importante de linfócitos intra-epiteliais (LIE), assim como atrofia das vilosidades, demonstrando a importância do SI no desenvolvimento da doença, uma vez que células T produtoras de citocinas estão presentes na lesão intestinal de celíacos (GREEN; CELLIER, 2007; SHUPPAN; DIETERICH; RIECKEN, 1998).

Frente ao papel inquestionável da gliadina em desencadear a inflamação e a autoimunidade da Dc, a mesma pode ser usada como modelo de doença com características autoimunes: o gatilho (representado pela gliadina), a associação

genética (HLA-DQ2 ou HLA-DQ8) e a resposta humoral específica (auto-anticorpos anti-tTG) interagem desencadeando esta resposta (UTIYAMA; MESSIAS-REASON; KOTZE, 2004) (figura 3).

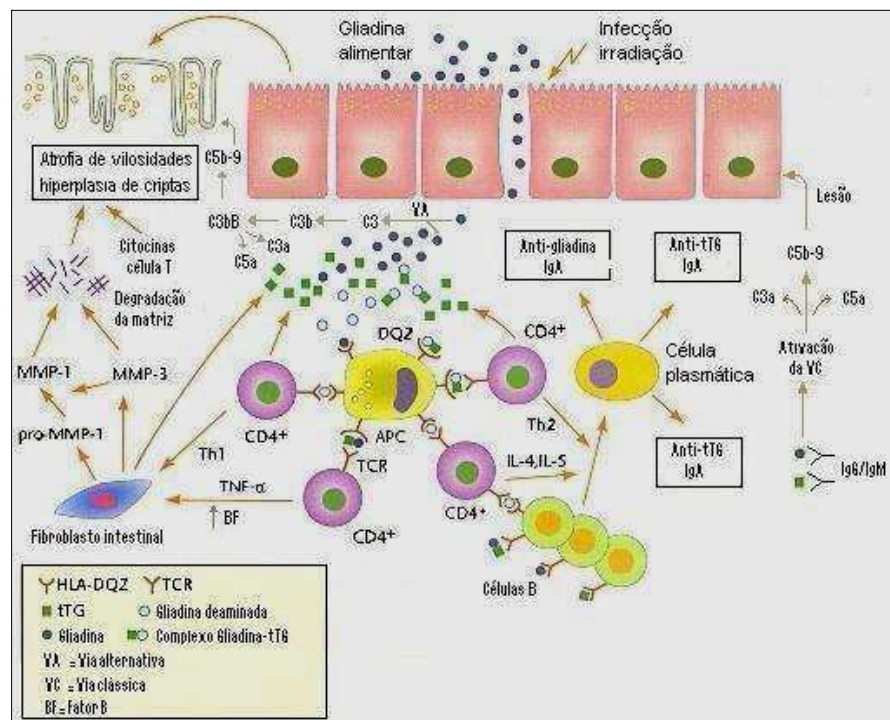


Figura 4 – Imunopatogénia da doença celíaca, adaptado de SCHUPPAN, 2000

4.1.3 Aspectos epidemiológicos

A Dc deixou de ser uma condição rara, a qual ocorreria apenas em caucasianos, e principalmente em crianças com características típicas de perda ponderal e diarreia (WGO, 2005). Atualmente apresenta distribuição mundial, pois tem sido relatada em nativos de diversos países, podendo ocorrer em adultos e crianças em aproximadamente 1% de toda a população (GREEN; CELLIER, 2007).

Acomete indivíduos em qualquer idade e de ambos os sexos, sendo a proporção entre sexo feminino e masculino de 2:1 a 3:1. É classicamente descrita em indivíduos

de raça branca ocorrendo com maior frequência em países anglo-saxônicos e nórdicos. Frequentemente ocorre sem sintomas gastrintestinais, apresentando características semelhantes a um iceberg, isto é, existindo mais casos não diagnosticados do que diagnosticados (KOTZE, 2009; WGO, 2005; REWERS, 2005; CATASSI, 1994).

O risco de doença celíaca aumenta em determinados grupos como pessoas portadoras de DAI (diabetes melitus e tireoidopatias) (KOTZE et al, 2006); doenças com características genéticas (síndrome de Down) (NISHIHARA et al, 2005); familiares de primeiro grau (13,7%) e segundo grau (6,35%), como demonstraram os estudos brasileiros de Kotze et al (2004) e Nass et al (2008).

O espectro epidemiológico da Dc vem crescendo substancialmente nos últimos anos. Isto se deve ao reconhecimento da ampla variedade de manifestações clínicas e histológicas, bem como o advento de marcadores sorológicos altamente sensíveis e específicos, e a identificação da susceptibilidade genética (RITO NOBRE; SILVA; PINA CABRAL, 2007).

No Brasil, estudo realizado em Brasília por Gandolfi et al (2000), com doadores de sangue, assinalou prevalência de 1/681, utilizando-se anticorpos anti-endomísio IgA; em Curitiba, Pereira et al (2006) detectaram prevalência de 1/417; em Ribeirão Preto, Melo et al (2006) encontraram 1/273 através de anti – tTG e EmA; e em São Paulo, Oliveira et al (2007) detectaram alta prevalência (1/240) com teste de anti-transglutaminase (anti-tTG).

Frente ao exposto, conclui-se que a doença celíaca é um problema de saúde pública mundial, necessitando, portanto, atenção por parte de autoridades competentes e programas de rastreamento como se faz para fenilcetonúria e outras disfunções metabólicas (KOTZE, 2009).

4.1.4 Fisiopatologia

A Dc compromete o intestino delgado proximal, afetando as áreas nobres de absorção de nutrientes. A área intestinal lesionada varia de indivíduo para indivíduo e

correlaciona-se com a gravidade dos sintomas clínicos apresentados. Quanto mais grave a lesão e maior o segmento comprometido, mais intensa será a má absorção e mais comprometida ficará a saúde da pessoa. Contudo, existem pacientes celíacos com alterações discretas no intestino proximal (CAMPOS; KOTZE, 1980).

Na Dc o comprometimento da absorção se dá na fase epitelial, gerando redução da área absorptiva e alterações nos mecanismos de digestão e transporte, ocorrendo, desta forma, espoliação de vários nutrientes, exsudação de proteínas e oligoelementos para a luz intestinal e aumento de secreção pelas células das criptas. Alterações na função da barreira intestinal têm sido descritas, favorecendo a penetração de peptídeos por ausência de especificidade, ou simplesmente por dano mucoso, resultando em má absorção (KOTZE, 2006).

Outros comprometimentos são descritos nos pacientes celíacos, como gastrite em maior proporção quando comparada à população geral, bem como alterações discretas e não específicas na mucosa retal (KOTZE, 2006).

É na mucosa do intestino delgado que as alterações são mais importantes, sendo que as demais camadas geralmente se apresentam normais à histologia. Desta forma, a Dc pode ser classificada de acordo com o espectro de sensibilidade ao glúten caracterizando, assim, quatro padrões distintos, inter-relacionados e seqüenciais de alterações – tipo infiltrativo, tipo hiperplásico, tipo destrutivo e tipo hipoplásico (MARSH, 1992).

4.1.5 Quadro clínico

O quadro clínico da Dc é bastante variado, dependendo da gravidade e extensão das lesões, bem como da idade do paciente e o tempo de exposição ao glúten. São descritos sinais e sintomas clássicos como diarreia crônica, emagrecimento, desnutrição, fraqueza e fadiga, dor e distensão abdominal, náuseas e vômitos, além de distúrbios psicoafetivos, anorexia, irritabilidade e até constipação (KOTZE, 2009; GREEN; CELLIER, 2007).

Entretanto, ressalta-se que a presença de sintomas não gastrintestinais, conseqüentes à Dc, como deficiência de ferro e anemia, baixa estatura em crianças (GREEN, 2005); deficiência de ácido fólico; neuropatia periférica; redução da densidade óssea (GREEN, 2005); dermatite herpetiforme (ZONE, 2005) (figura 5) e problemas gineco-obstétricos (KOTZE, 2004) poderão estar presentes em adultos e crianças (MURRAY, 2005).

Atualmente, a Dc apresenta-se sob várias formas durante seu curso clínico (KOTZE, 2009):

- forma clássica: decorrente da má-absorção de nutrientes, ocasionado diarreia crônica e desnutrição (figura 6); presente em crianças e adultos. Na criança, a intensa distensão abdominal e a perda de massa glútea são sinais que chamam a atenção (figura 7).
- forma não-clássica ou atípica: divide-se em 2 subtipos. Atípico digestivo, com discretos sintomas digestivos; e atípico extradigestivo, com presença de sintomas como baixa estatura, anemia refratária, tetania.
- forma latente: apresenta-se em indivíduos com biópsia intestinal normal frente ao consumo habitual de glúten e que, anterior ou posteriormente, podem desenvolver atrofia parcial ou total das vilosidades, que retornam ao normal após utilização de dieta isenta de glúten (DIG).
- forma silenciosa: ocorre em familiares de pacientes celíacos com positividade de anticorpos no soro, com alterações histológicas mais ou menos graves, com número aumentado de linfócitos intra-epiteliais (LIE), revertendo este quadro com DIG.

O modo de apresentação da Dc difere com a idade, sendo mais exuberante na criança e mais discreta nos adultos. Raramente se apresenta por complicações como linfomas ou perfurações (KOTZE, 2009).

Devido às várias formas de apresentação clínica da Dc, Catassi et al (1994), relatam que a mesma poderia se assemelhar a um “iceberg”, onde a porção visível deste representaria somente as formas sintomáticas, enquanto que a parte submersa representaria as formas assintomáticas da Dc.



Figura 5 – Dermatite herpetiforme (Dc da pele)



Figura 6 – Forma clássica de Dc em criança



Figura 7 – Forma clássica de Dc em adultos

4.1.6 Doenças associadas

Várias condições clínicas têm sido relatadas com a Dc, tanto em crianças como em adultos. Em geral são afecções que envolvem mecanismos auto-imunes e/ ou ligadas a antígenos do sistema HLA. O quadro clínico apresentado pelo paciente pode ser um mosaico entre sinais e sintomas da própria Dc e da entidade associada (KOTZE, 2009; GREEN; CELLIER, 2007).

Inúmeras doenças auto-imunes como doenças tireoidianas, doença de Addison, trombocitopenia auto-imune, sarcoidose, diabetes mellitus tipo I, nefropatia por IgA e deficiência seletiva de IgA, entre outras, estão intimamente associadas com a Dc (KOTZE et al, 2006) e justificam a investigação de diferentes autoanticorpos nas afecções, conforme será detalhado no item 4.3.

Por ordem alfabética seguem descritas as principais doenças associadas a Dc: acidose tubular renal, alveolite fibrosante, artrite reumatóide, asma e atopia, câncer de intestino delgado, câncer de esôfago e faringe, cirrose biliar primária, coarctação da aorta, deficiência de IgA, diabetes mellitus, doença de Addison, doenças da tireóide, epilepsia com calcificações cerebrais, fibrose cística, hemossiderose pulmonar, alergia alimentar, linfomas, lúpus eritematoso disseminado, pancreatite crônica, poliomiosite, psoríase, síndrome de Down, síndrome do intestino irritável e síndrome de Sjögren (KOTZE, 2009; NISHIHARA et al 2007; KOTZE et al, 2006; NISHIHARA et al 2005; FASANO, 2005; UTIYAMA et al 2001).

4.1.7 Diagnóstico

O diagnóstico clínico da Dc está embasado na associação de diferentes dados de história e exame clínicos, mas confirmado por determinação sorológica de anticorpos e alterações na biópsia intestinal (KOTZE, 2006; WGO, 2005).

A anamnese detalhada associada a um cuidadoso exame físico e exames laboratoriais permitem estabelecer um diagnóstico definitivo nos casos em que a Dc cursa com em sua forma clássica. Contudo, o conhecimento atual das várias formas clínicas de apresentação desta afecção, torna o diagnóstico puramente clínico como pressuposto, requerendo melhor investigação (KOTZE, 2006).

Atualmente o WGO (2005) preconiza que o padrão ouro para diagnóstico da Dc é a associação de dados da biópsia de intestino delgado, juntamente à sorologia positiva para Dc (GREEN; CELLIER, 2007; DEWAR; CICLITIRA, 2005).

4.1.7.1 Diagnóstico sorológico

A determinação sorológica de autoanticorpos constitui-se de testes não invasivos que auxiliam: a) na detecção de todas as formas clínicas da Dc, tanto em indivíduos adultos como pediátricos; b) na monitoração do tratamento proposto, pois após 3 meses de dieta isenta de glúten (DIG) os anticorpos devem diminuir e até mesmo negativar, sendo sua elevação resultado da não aderência à dieta; c) os pacientes com dúvida diagnóstica; d) no rastreamento da Dc na população em geral; e) rastreamento da Dc nos grupos de risco como familiares e portadores de afecções auto-imunes. Dentre eles destacam-se: anticorpos antigliadina; anticorpos anti-reticulina; anticorpos antiendomísio e anticorpos antitransglutaminase tecidual. Os testes sorológicos mais sensíveis para diagnóstico de Dc são os de classe IgA. Como a deficiência seletiva de IgA é comum nos celíacos quando comparados à população geral, se há suspeita clínica e os testes forem negativos, deve-se dosar IgA e, se comprovada a deficiência, repeti-los com IgG (KOTZE, 2009).

A determinação de outros testes sorológicos para DAI como anti-tireoperoxidase, anti-célula gástrica parietal entre outros, poderá ser requisitada para diagnóstico, quando da suspeita clínica de doenças associadas (KOTZE, 2006; UTIYAMA et al, 2001).

4.1.7.1.1 Anticorpos anti-gliadina e anti-reticulina

Anticorpos antigliadina foram inicialmente utilizados para diagnóstico da Dc a partir das décadas de 70 e 80. Estes anticorpos são predominantemente das classes IgA e IgG e detectados no soro da maioria dos celíacos (ROMALDINI; BARBIERI, 1999). Os anticorpos antigliadina são determinados por ensaio imunoenzimático (ELISA) e atualmente não são mais recomendados como rotina, pois são identificados em indivíduos normais, em doenças auto-imunes (síndrome de Sjögren e artrite

reumatóide), na alergia à proteína do leite de vaca, na doença de Crohn, entre outras, caracterizando alta variabilidade no que diz respeito à sensibilidade e especificidade do teste (HILL, 2005). O consenso atual é de que este anticorpo seja mais indicado apenas para crianças até 18 meses de idade, enfatizando que níveis normais do mesmo não excluem a possibilidade de Dc, pois não é mais considerado sensível e específico o suficiente para confirmação diagnóstica da Dc (KOTZE, 2009; GREEN; CELLIER, 2007).

Ainda com relação ao anticorpo antigliadina, Niveloni et al (2007) e Sugai et al (2005) demonstraram acurácia e eficácia na prática clínica, quando da utilização deste marcador, a partir do uso de um *kit* desenvolvido com anticorpo sintético para peptídeos desaminados da gliadina.

O anticorpo anti-reticulina, investigado na década de 70, representa provavelmente a formação de anticorpos contra componentes do tecido conjuntivo. É detectado por ELISA e pode ser tanto da classe IgA como da classe IgG. Quando comparado ao anticorpo antigliadina, apresenta baixa sensibilidade, mas alta especificidade, apresentando, assim, valor diagnóstico limitado para a Dc, uma vez que também poderá estar presente na doença de Crohn e em outras disfunções gastrintestinais (KOTZE et al, 1999; ROMALDINI; BARBIERI, 1999).

4.1.7.1.2 Anticorpos anti-endomísio

Os anticorpos antiendomísio (EmA) são anticorpos da classe IgA, que reagem contra a substância que envolve a camada linear da musculatura lisa (endomísio) dos primatas e correlacionam-se de forma positiva com a gravidade da lesão na mucosa intestinal. São adsorvidos no componente amorfo adjacente as fibrilas finas de colágeno no tecido conectivo endomisial. Estas fibrilas conectam células musculares lisas, feixes de músculo liso e tecidos elásticos vizinhos (KOTZE, 2006; KOTZE et al, 2001; ROMALDINI; BARBIERI, 1999).

São anticorpos detectados por imunofluorescência indireta (IFI) em esôfago de macaco e cordão umbilical humano. Estudos atuais demonstram que a utilização do cordão umbilical humano é recomendada por ser comumente disponível, rico em fibrilas de reticulina, endomísio em torno das fibrilas musculares lisas na parede das veias e artérias e não contém IgA, possuindo qualidade semelhantes às aquelas do esôfago de macaco (KOTZE, 2006; KOTZE et al 1999; VOLTA et al, 1995).

A identificação do EmA, é considerada por alguns autores como bastante trabalhosa e de custo relativamente alto, limitando seu uso para programas de triagem. Além disso, apresenta limites no que diz respeito a qualquer teste cujo resultado depende da avaliação subjetiva do examinador (ROMALDINI; BARBIERI, 1999).

O anticorpo antiendomísio (EmA) constitui-se num poderoso exame específico para a Dc, sendo útil não só na detecção da doença ativa como na sua forma silenciosa ou potencial (KOTZE, 2009; GREEN; CELLIER, 2007; KOTZE et al, 1999). Tem demonstrado alto grau de especificidade (99,3%) e sensibilidade (100%) nas várias fases da Dc (KOTZE et al, 2001). Atualmente, é considerado o melhor teste e de mais alta acurácia diagnóstica, tanto no rastreamento de familiares (NASS, 2008; UTIYAMA, 2007), como na monitoração da dieta e na detecção de Dc em outras doenças auto-imunes (DAI's), como comorbidades (KOTZE et al, 2006; HILL, 2005; ROSTOM et al, 2005).

4.1.7.1.3 Anticorpos anti-transglutaminase tecidual

A transglutaminase tecidual (tTG) é uma enzima multifuncional amplamente presente em órgãos humanos. É secretada por vários tipos de células e, embora seja primariamente uma enzima do meio intracelular, pode ser secretada pelas células e se acumular em meio extracelular. Sua função ainda não está bem definida, mas existem evidências de que a tTG possa ter um papel importante na gênese e estabilização da matriz extracelular, estando envolvida também em vários processos como fibrogênese, ligação de proteína da matriz extra-celular e na apoptose. Pertence à família de

enzimas dependentes de cálcio e que catalisam a reação cruzada entre os resíduos de glutamina e lisina em substratos protéicos (ROMALDINI; BARBIERI, 1999; DIETERICH et al, 1998).

Dieterich et al (1998) identificaram a tTG como sendo o auto-antígeno da Dc reconhecido pelo anticorpo antiendomísio, pois a gliadina, fração tóxica do glúten, é rica em resíduos de glutamina possuindo pouco resíduo de lisina, sendo então excelente substrato para a tTG. Assim, os mesmos autores propõem que a tTG extracelular catalisa a ligação cruzada da gliadina, resultando na formação de complexos entre gliadina e tTG, os quais agem como novos epítomos antigênicos que poderiam iniciar uma resposta imune nos indivíduos geneticamente predispostos.

A determinação dos autoanticorpos da classe IgA contra o tTG é feita pelo método ELISA, sendo que a detecção destes anticorpos é apropriada na triagem de doença celíaca e no seguimento dos pacientes em relação a adesão da DIG, uma vez que apresenta alta sensibilidade (95-98%) e especificidade (94-95%) (HILL, 2005; ROSTOM et al, 2005; DIETERICH et al, 1998).

Mesmo sendo o tTG o principal, senão único, auto-antígeno endomisial alvo, que reconhece as gliadinas ricas em glutamina como um de seus substratos, o aumento dos seus níveis, caracterizando positividade para este autoanticorpo, poderá acontecer em tecidos lesados, não só pela Dc, mas por outras doenças sistêmicas e gastrintestinais, sendo esta a principal desvantagem deste marcador sorológico (GREEN; CELLIER, 2007; KOTZE, 2006).

O teste anti-tTG vêm sendo considerado como confiável marcador sorológico para Dc, estando envolvido no diagnóstico e rastreamento desta afecção gastrintestinal. Contudo, estudos recentes vêm mostrando sua positividade em pacientes afetados por outras afecções, como as doenças inflamatórias intestinais, dentre elas a doença de Crohn, sugerindo uma diminuição da especificidade deste autoanticorpo para a Dc (DI TOLA et al, 2004; BIZARRO et al, 2003).

Correlacionado-se os anticorpos EmA e anti-tTG, observa-se que a mesma não é total, preferindo-se o primeiro como teste sorológico de escolha (KOTZE, 2009; KOTZE et al, 2003; KOTZE et al, 1999).

Frente ao exposto, torna-se claro que a realização simultânea de vários testes sempre será o ideal para o rastreamento dos casos que deverão ser submetidos à biópsia intestinal (NASS, 2008; UTIYAMA, 2007; KOTZE, 2003).

4.1.7.2 Endoscopia digestiva

Achados à endoscopia digestiva alta podem indicar biópsia intestinal, porém não é suficientemente sensível para diagnosticar a Dc. Os achados característicos incluem pregas escalonadas, fissuras e padrão mosaico; achatamento das pregas; pregas pequenas ou desaparecimento das mesmas pela insuflação máxima. Certos pacientes, tanto adultos como pediátricos, podem apresentar lesões duodenais de distribuição focal; lesões com atrofia total podem estar adjacentes ou coexistir com atrofia leve ou parcial e, possivelmente, com áreas normais (KOTZE 2009; BROCCHI; CORAZZA; CALLETTI, 1988).

Outros métodos endoscópicos incluem a cromoendoscopia com magnificação de imagens e o uso da cápsula endoscópica. Esta determina melhor a extensão da atrofia das vilosidades intestinais, além de auxiliar no reconhecimento de complicações como ulcerações e excluir a possibilidade de tumores nos casos de Dc refratária (KOTZE, 2009; PETRONIENE, 2002). Quanto ao primeiro método, permite predizer áreas de atrofia vilositária, auxiliando no direcionamento das biópsias, principalmente quando existem áreas de alterações focais, além de revelar Dc persistente (KOTZE, 2009).

4.1.7.3 Anatomia patológica

Nos celíacos não tratados percebe-se, à estereoscopia, mucosa lisa e com orifícios que correspondem à abertura das criptas; ou aspecto cerebriforme ou em mosaico. A mucosa do ID é que apresenta alterações mais importantes, sendo as

demais camadas habitualmente normais à histologia. O desenvolvimento da Dc por sensibilidade ao glúten caracteriza-se por processo dinâmico em que o dano na mucosa se desenvolve em três fases subseqüentes: a) fase infiltrativa, onde há aumento dos LIE; b) fase hiperplástica, presença de hipertrofia das criptas; c) fase destrutiva, com presença de atrofia progressivas das vilosidades promovendo o achatamento da mucosa (MARSH, 1992).

Diversos autores assinalam o aumento importante do número de LIE na mucosa dos celíacos não tratados. Segundo Kotze (1988), para cada 100 células epiteliais encontrou-se em média 45 LIE (45%), e nos controles, 24 (24%).

Arranz; Fergunson (1993) salientam a existência de doença celíaca em pessoas com mucosa intestinal normal à histologia e que apresentam positividade para alguns anticorpos, bem como aumento de LIE. Kotze et al (2001) também demonstraram este em fato em familiares de pacientes com Dc.

Percebe-se que com a suspensão do glúten na dieta, a recuperação inicia-se de forma rápida, porém as vilosidades digitiformes podem demorar alguns meses para reaparecer. O retorno da mucosa intestinal normal ou quase normal, com dietas rigorosamente isentas de glúten, é possível, contudo o tempo necessário para que isto ocorra tem sido descrito como bastante variável, diferente e longo, dependendo de cada indivíduo (KOTZE, 2009).

4.1.7.4 Diagnóstico diferencial

Do ponto de vista histológico, o diagnóstico diferencial se faz com entidades que apresentam encurtamento e achatamento das vilosidades como algumas alergias alimentares, enterite aguda (viral, bacteriana), enterite crônica (espru tropical, síndrome da imunodeficiência adquirida, linfomas, doença de Crohn, entre outras) e desnutrição energético-protéica. Embora estas entidades possam apresentar-se com vilosidades diminuídas em altura e mais alargadas, a hiperplasia das criptas é observada

marcadamente na Dc. Além disso, o número de LIE não se eleva a níveis tão altos como os normalmente encontrados na Dc (KOTZE, 1988).

4.1.8 Tratamento

4.1.8.1 Tratamento nutricional

Confirmando-se o diagnóstico de Dc, o tratamento proposto será a terapia nutricional com dieta isenta de glúten (DIG), que deverá ser mantida ao longo de toda a vida do paciente. Ressalta-se que alguns fatores deverão ser levados em consideração: situação fisiopatológica, necessidades nutricionais, etapa evolutiva da Dc e gravidade do caso (KUPPER, 2005).

A dieta prescrita sempre deverá ser progressiva e individualizada, levando-se em consideração a exclusão do glúten do trigo, aveia, centeio e cevada permanentemente, porém mantendo equilíbrio com relação aos nutrientes necessários. O consumo de aveia é questionado por alguns autores, pois em estudo realizado por Hardman et al (1997) mostrou que em mais de 95% dos seus pacientes celíacos a aveia não se mostrou tóxica. Contudo, há divergências, pois em muitos países, como no Brasil, não há como garantir a não contaminação de aveia por outros cereais, não sendo, portanto, recomendado seu consumo por pacientes celíacos (KOTZE, 2009; GREEN; CELLIER, 2007; KUPPER, 2005). Somente no Canadá há disponibilidade da aveia sem contaminação (RASHID et al, 2007).

Desta forma, a terapia nutricional visa eliminar qualquer alteração fisiopatológica intestinal; facilitar e favorecer absorção dos nutrientes; normalizar trânsito intestinal; recuperar o estado nutricional do paciente e, por fim, promover melhora da qualidade de vida do mesmo. Levando-se em consideração a progressão da dieta, a primeira fase caracteriza-se por dieta isenta de glúten (DIG) e lactose; pobre em sacarose; uso preferencial de triglicerídios de cadeia média; proteínas de alto e baixo valor biológico,

frutas e verduras com baixo teor de resíduos. A segunda fase caracteriza-se por uma alimentação mais abrangente, adequando-se a uma dieta habitual, com restrição apenas ao glúten. Na terceira fase ou fase final, preconiza-se a manutenção da DIG, além de acompanhar periodicamente o paciente para verificar o seguimento correto da dieta estabelecida e identificar possíveis fatores que poderão contribuir para a transgressão da mesma: cultura alimentar, monotonia da dieta, pouca oferta de alimentos industrializados isentos de glúten, alto custo de alguns alimentos (KOTZE, 2009; CASE, 2005; KUPPER, 2005).

Todavia, cuidados nutricionais serão necessários frente a qualquer alteração do estado nutricional do paciente como desnutrição, desidratação, carências de vitaminas e minerais, sendo necessário, assim, readequação e remanejamento da dieta proposta (KOTZE, 2009; CASE, 2005; KUPPER, 2005).

Em situações de maior gravidade da Dc, como diarreia incontrolável, desequilíbrio hidroeletrólítico e ácido-básico, faz-se necessário à utilização de nutrição parenteral total e/ou nutrição parenteral associada à nutrição enteral, para recuperação do indivíduo (GREEN; CELLIER, 2007; KOTZE, 2006; KUPPER, 2005).

A obediência à DIG para crianças menores é mais fácil, pois os familiares conseguem controlar a ingestão de alimentos. Já na adolescência, a porcentagem de seguidores da dieta varia de 43 a 81% conforme descritos em diversos estudos (FABIANI, 1996; ANSALDI, 1994; BARDELLA, 1994), confirmando a necessidade de grande esforço para mantê-los com a dieta apropriada. Por outro lado, hábitos alimentares e ingestão dietética inadequados podem promover alterações nutricionais como subnutrição e sobrepeso, ressaltando a importância de acompanhamento nutricional por profissional capacitado (POLITO, 1992).

Para o monitoramento da DIG, vários comitês envolvidos no estudo da Dc recomendam a realização de teste sorológico anti-tTG ou EmA após 6 meses de tratamento (KOTZE, 2009).

4.1.8.2 Outras formas de tratamento

Tratamento medicamentoso e cirúrgico poderá ser recomendado aos pacientes celíacos, sendo este último indicado na presença de complicações raras, como perfuração, ou no caso de neoplasias e linfomas.

Quanto ao tratamento medicamentoso, o mesmo baseia-se na utilização de drogas para correção das carências nutricionais como ácido fólico, vitamina K, B₁₂, compostos polivitamínicos e minerais; ou que auxilie no processo de digestão e absorção dos nutrientes, como enzimas pancreáticas. Antibióticos e corticosteróides serão utilizados apenas em situações de infecções intestinais e complicações da Dc respectivamente (KOTZE, 2009).

Novas terapias potenciais estão sendo pesquisadas com o intuito de um futuro sem dieta isenta de glúten. As principais são a administração de suplemento enzimático (com o intuito de promover a completa digestão das proteínas dos cereais) (MITEA et al, 2008), correção dos defeitos da barreira intestinal (inibição da zonulina que é modulador da barreira intestinal) (PATERSON et al 2007) e imunomodulação através de uso de IL-15 (BENAHMED et al, 2007).

4.1.9 Evolução e prognóstico

Após a retirada do glúten da dieta, a resposta clínica com o desaparecimento dos sintomas acontece de forma rápida, na qual observa-se uma evolução positiva e muito gratificante tanto para o paciente como para o médico. A presença de complicações características dos celíacos também desaparece contribuindo de forma muito importante para qualidade de vida dos mesmos e proporcionando ótimo prognóstico (KOTZE, 2009; RITO NOBRE; SILVA; PINA CABRAL, 2007).

Contudo, atenção deverá ser dada àqueles pacientes que transgridem a DIG, pelo risco muito aumentado para desenvolvimento de malignidade, como linfomas,

neoplasias de esôfago e laringe e adenocarcinoma de ID, demonstrando a importância de se enfatizar o seguimento da DIG, bem como monitorar mais frequentemente estes celíacos (KOTZE, 2009; RITO NOBRE; SILVA; PINA CABRAL, 2007; CATASSI et al, 2005). Destaca-se, ainda, que mesmo com DIG as DAI's poderão se manifestar com o passar da idade (KOTZE, 200b).

4.1.10 Complicações da Dc

Na Dc poderá haver, em longo prazo, inúmeras complicações decorrentes da má-absorção dos nutrientes. Dentre elas identifica-se a anemia por deficiência de ferro (KALAYCI et al, 2005; KOTZE, 2004); distúrbios no metabolismo ósseo e diminuição da massa óssea; alterações gineco-obstétricas como oligo ou amenorréia, atraso na menarca, infertilidade e abortos de repetição; jejunites ulcerativas; doença celíaca refratária e doenças malignas como carcinomas e linfomas (KOTZE, 2009; KOTZE, 2006; CATASSI, 2005).

4.2 DOENÇA DE CROHN

A primeira publicação científica da doença de Crohn (DC) (anteriormente denominada de enterite regional) ocorreu em 1913 pelo escocês Dazliel, porém somente em 1932 a doença foi amplamente descrita e reconhecida, após a discussão de vários casos, pelos médicos Burrill Bernard Crohn (figura 8), Gordon Oppenheimer e Leon Ginzburg (JANOWITZ, 2000) (figura 9).

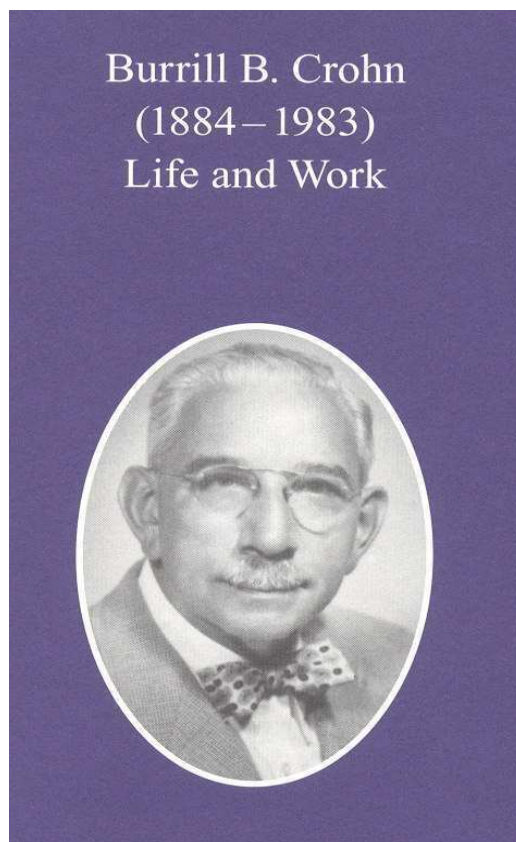
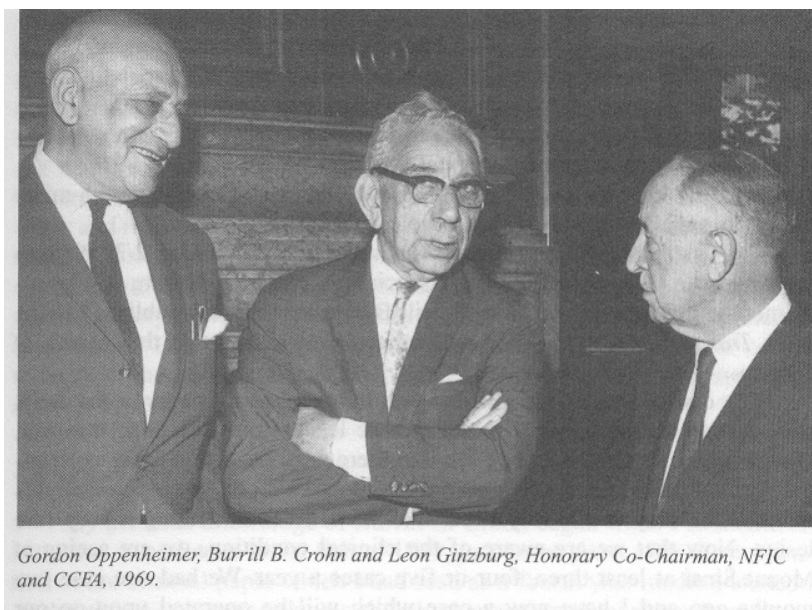


Figura 8 – Burril B Crohn



Gordon Oppenheimer, Burrill B. Crohn and Leon Ginzburg, Honorary Co-Chairman, NFIC and CCFA, 1969.

Figura 9 – Médicos Gordon Oppenheimer, Burril Crohn e Leon Ginzburg

É classificada como uma doença inflamatória intestinal (DII), que se caracteriza por uma inflamação crônica do trato gastrointestinal (TGI), de natureza transmural, persistente e recidivante, que compromete não só a mucosa como também a parede intestinal, o mesentério e os gânglios linfáticos, podendo ocorrer ao longo de todo o TGI, desde a boca até o ânus, de forma descontínua (KOTZE; KOTZE, 2009; LIU; CRAWFORD, 2005).

4.2.1 Aspectos epidemiológicos

A DC é heterogênea e de origem idiopática, comum em crianças e adolescentes, sendo responsável juntamente com a retocolite ulcerativa (RCU), por 25% dos casos de DII. Diversos estudos epidemiológicos vêm demonstrando aumento da incidência da DC nos últimos anos, fato este explicado em parte, pela tendência geral do médico pediatra em apresentar alto índice de suspeição em pacientes com dor abdominal crônica ou história familiar positiva para as DII (CUFFARI, 2006). Nos adultos, a DC apresenta distribuição bimodal em relação à idade – maior pico na faixa etária entre 20-40 anos e menor na de 60-80 anos (BARBIERI; KOTZE; RODRIGUES, 2003).

A maioria dos estudos revela que a DC afeta mais comumente os brancos, apresentando acometimento semelhante em ambos os sexos. Pacientes de grandes centros urbanos são mais acometidos que os da área rural, não existindo associação com classe social. Além disso, a predisposição familiar é, sem dúvida, um importante fator de risco para o desenvolvimento desta afecção (KOTZE et al, 1994; KOTZE, 1991).

4.2.2 Etiopatogênese

A doença de Crohn é considerada idiopática, isto é, de etiologia desconhecida, pois até o momento não foi identificado seu agente patológico específico. Contudo, estudos epidemiológicos vêm demonstrando a importância dos fatores genéticos, ambientais, imunológicos envolvidos na gênese da doença (ACOSTA; PEÑA, 2007; ALVES et al, 2006; FRANCO LOIDA; DANI, 2005) (figura 10).

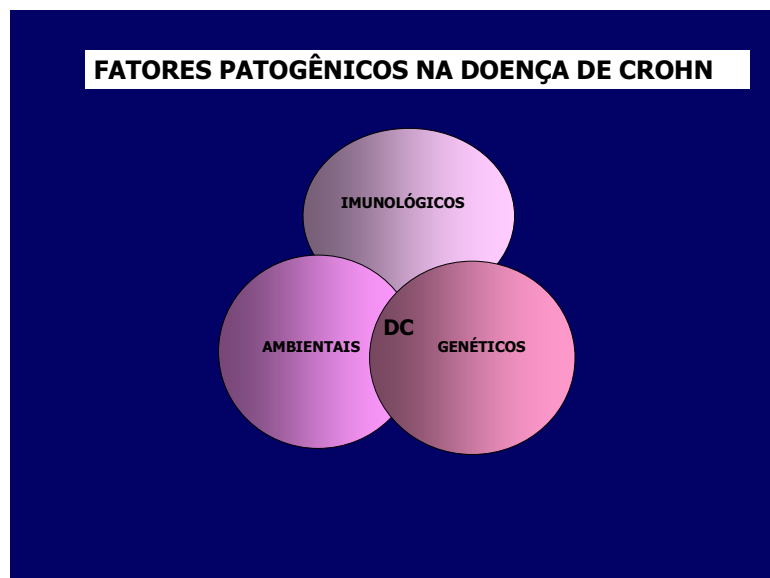


Figura 10 – Patogênese da doença de Crohn (KOTZE, 2009)

4.2.2.1 Fatores ambientais

Quanto aos fatores ambientais, a amamentação, infecções intestinais, dieta, tabagismo, higiene, agentes microbianos, poluição e estresse são os mais citados como envolvidos no aparecimento da DC (FIOCCHI, 1998). Acredita-se que um ou vários fatores são necessários para desencadear a doença, ou que a mesma seja resultado

de uma interação entre estes fatores ambientais em indivíduos geneticamente predispostos (HALFVARSON et al, 2006).

Além disso, alguns estudos epidemiológicos sugerem que a DC possa ser encontrada com mais frequência nos países industrializados, onde o consumo de alimentos refinados e de gorduras polinsaturadas é maior, contudo ainda não há provas quanto a este fato. Em contrapartida, condições higiênico-sanitárias precárias, poderiam comprometer a imunidade intestinal e aumentar a susceptibilidade em indivíduos geneticamente predispostos. Outro fator ambiental relacionado, diz respeito ao papel das bactérias endógenas e patogênicas envolvidas na gênese da resposta inflamatória (HALFVARSON et al, 2006).

Ultimamente, o papel das bactérias endógenas e patogênicas no desencadeamento da resposta inflamatória tem sido ressaltado. Vários modelos animais têm sido desenvolvidos. A microbiota intestinal é diferente conforme a cultura do país: nas que dependem menos de alimentos refinados os indivíduos armazenam uma flora rica em bifidobactérias e lactobacilos; nos que adotam dieta mais ocidentalizada, predominam os bacterióides. Tais fatos deram idéia do uso de terapias pré e probióticas para os pacientes com DII. Os probióticos modificariam favoravelmente a flora bacteriana colônica, o estado imunológico e a inflamação. Mas estudos randomizados ainda estão em andamento (KOTZE; KOTZE, 2009).

4.2.2.2 Fatores genéticos

História familiar positiva para RCU ou DC é o fator mais importante. O risco de descendente ter DII é de 1,6% e 5,2%, respectivamente, nas duas doenças. Em descendentes de judeus Askenazi chega a 10-12,6%. A alta concordância em gêmeos monozigóticos enfatiza este ponto. Além disto, a associação da DC com outras doenças de caráter genético (espondilite anquilosante, síndrome de Turner, etc) evidencia o caráter genético. Estudos familiares evidenciam famílias em que há casos de RCU e

DC, sugerindo que estas duas entidades podem ter um ou mais genes em comum ou que representem pleiomorfismo (CUFFARI, 2006).

Fatores genéticos e familiares são mais óbvios em casos que se iniciam antes dos 20 anos de idade. Presumivelmente, em pacientes mais velhos, fatores ambientais desempenham papel importante na patogênese da DC (OGURA et al, 2001).

Aspectos genéticos podem antecipar dados epidemiológicos, por exemplo, filhos de pacientes com DC terem início da doença em idade mais precoce. Isto também está associado com doença mais extensa e estenótica do íleo, com necessidade de cirurgia. O início precoce da DC e sua gravidade podem ser geneticamente determinados e ligados à suscetibilidade em *locus* do cromosoma 16. Em 2001, mutações no domínio de oligomerização de nucleotídeo (NOD) 2 e recrutamento 15 (CARD) no cromosoma 16 foram os primeiros genes de suscetibilidade para a DC a ser identificados (OGURA et al, 2001).

Ahmad et al (2002) foram os primeiros a estabelecer correlação genótipo-fenótipo para a DC. Os autores demonstraram que a predisposição para doença do intestino delgado estava associada com alelos variantes NOD2, enquanto que pacientes homozigóticos para NOD2 tinham alto risco relativo para doença isolada no íleo terminal. Embora nenhuma correlação fosse encontrada entre NOD2 e o desenvolvimento de fístulas, correlação significativa foi encontrada na incidência de cirurgia para doença estenosante nos pacientes que eram também positivos para NOD2. Até o presente momento os polimorfismos associados à DC estão no gene NOD2/CARD15. Mutações no NOD2 resultam em diminuição na resposta de ativação de células imunes ao lipopolissacarídeo, corroborando o papel da responsividade bacteriana aberrante em pacientes com DC. NOD2 está associada ao fenótipo clínico específico no qual os pacientes são mais jovens no início da enfermidade e apresentam a doença no intestino delgado, além de predisposição ao desenvolvimento de fibroestenose. O NOD2 não é apenas um gene de susceptibilidade: é também gene modificador de doença, com efeitos fenotípicos “dose-dependentes” (VANDER CRUYSSSEN et al, 2005).

Alguns genes específicos podem interagir com os fatores ambientais, incluindo, provavelmente, patógenos bacterianos ou seus produtos, componentes da dieta,

infecções na infância, bem como uma variedade de possibilidades. O problema básico parece ser um estímulo na mucosa intestinal, em um indivíduo geneticamente predisposto, seguido de uma resposta do sistema imune isenta de autocontrole (CUFFARI, 2006).

Estudos familiares e epidemiológicos demonstram o envolvimento genético no desenvolvimento da doença com algumas moléculas do HLA estando associadas à maior susceptibilidade. Acredita-se que o HLA de classe II esteja envolvido na determinação da susceptibilidade genética para as DII (ALVES et al, 2006).

4.2.2.3 Fatores imunológicos

No que se refere aos aspectos imunológicos, avanços estão sendo obtidos através de estudos com novos anticorpos e técnicas sofisticadas envolvendo elementos celulares e mediadores inflamatórios, os quais participam da resposta imune da mucosa intestinal (FIOCCHI, 1998).

A inflamação crônica da mucosa intestinal, característica da DC, resulta de uma cascata de eventos iniciados pelo antígeno. Frente a esta inflamação, ocorre o aumento da permeabilidade intestinal, com conseqüente aumento da carga de antígenos pelo sistema imune na mucosa iniciando e perpetuando a inflamação. Desta forma, o epitélio intestinal pode participar da resposta imune inicial sob três formas – (1) aumentando a permeabilidade e a absorção do antígeno, intensificando assim o estímulo imune; (2) liberando citocinas, quimiocitocinas e outras substâncias inflamatórias; (3) atuando como célula apresentadora de antígenos (SNINSKY, 2001).

O macrófago é a primeira célula a receber o antígeno e o apresenta no contexto do complexo maior de histocompatibilidade (MHC), para a célula CD4+. Os macrófagos ativados liberam as citocinas pró-inflamatórias: fator de necrose tumoral alfa (TNF alfa) e interleucina 2, induzindo assim a uma resposta Th1. As células CD4+ ativadas podem se diferenciar em células Th1 e Th2, que diferem no tipo de citocinas liberadas e em sua função. As células Th1 produzem grande quantidade de citocinas IL-2 e

interferon (IFN-gama) enquanto as células Th2 produzem IL-4, IL5 e IL10 (SNINSKY, 2001).

Com a cronicidade do processo inflamatório da mucosa intestinal há progressão em direção ao perfil Th1, caracterizado por aumento significativo de IL-2, de IFN- λ e de citocinas inflamatórias (IL-1, IL-8, TNF α). Nas lesões crônicas, IFN- γ desempenha papel importante ao estimular o macrófago que irá produzir TNF- α , daí a importância dos anticorpos anti-TNF- α , que não somente neutraliza o TNF- α , mas, sobretudo provocam a lise das células que têm o TNF- α em sua superfície (KOTZE; KOTZE, 2009) (figura 11).

Em suma, a hipótese atualmente aceita sugere que indivíduos geneticamente predispostos apresentam resposta imunológica inadequada na mucosa intestinal frente a diferentes estímulos ambientais. Infecções entéricas bacterianas ou virais, toxinas ambientais e drogas antiinflamatórias não-esteróides (AINES) induzem habitualmente à injúria transitória na mucosa intestinal. Em indivíduos normais, com supressão eficiente da cascata imunológica, opera-se rápida resolução do processo inflamatório com reparação completa do dano tecidual. Já no hospedeiro geneticamente suscetível, falha na imunorregulação leva à amplificação da resposta inflamatória, resultando em inflamação crônica, destruição tecidual fibrose e, conseqüentemente, ocorrência de danos irreversíveis (SARTOR, 1997).

4.2.3 Fisiopatologia

A DC pode afetar qualquer área do intestino, porém, geralmente, as regiões do intestino são afetadas de forma descontínua, caracterizando lesões em salto. A primeira anormalidade visível denomina-se sinal do anel vermelho, que promove ulcerações aftóides, que conseqüentemente progridem para ulcerações profundas, gerando aspecto semelhante a “pedra de calçamento”, fibrose, estenose e fístulas. A estenose intestinal gera sintomas obstrutivos e perfuração local da parede intestinal, levando à formação de abscessos (BARBIERI; KOTZE; RODRIGUES, 2003; ALEXANDER-WILLIAMS, 1996).

subclínico da enfermidade, com inflamação intestinal assintomática (HOLLANDER, 1993).

Todo este processo fisiopatológico pode provocar inúmeros fenômenos disabsortivos, onde a extensão e a localização da lesão inflamatória determinam o grau de má-absorção, bem como a especificidade do nutriente envolvido. Sendo assim, vários são os comprometimentos presentes na DC como depleção de potássio e conseqüente hipocalemia; hipomagnesemia; hipoalbuminemia e anemia. A associação destes fenômenos disabsortivos com ingestão calórica deficiente leva a um importante déficit de crescimento, principalmente em pacientes pediátricos e que apresentam comprometimento de jejuno e íleo (BARBIERI; KOTZE; RODRIGUES, 2003; ALEXANDER-WILLIAMS, 1996).

4.2.4 Quadro clínico

O quadro clínico na DC é bastante variado, pois depende da duração, extensão, atividade da doença e presença ou não de complicações. Na fase inicial a lesão inflamatória é pequena e o paciente se apresenta assintomático, sendo a doença descoberta acidentalmente. Quando as lesões são extensas, provocam manifestações clínicas intensas, podendo gerar situações de comprometimento extra-intestinal (GASCHE et al, 2000; KOTZE; KOTZE, 1999; KOTZE, 1991).

O sintoma mais comum da DC é a dor abdominal, geralmente em caráter de cólica, a qual muitas vezes pode vir acompanhada de diarreia. Quando da presença de comprometimento de TGI superior, a dor abdominal pode ser epigástrica, mimetizando doença péptica, onde odinofagia, disfagia, pirose e anorexia estão presentes. A febre se apresenta em 20% a 50% dos casos, em decorrência do processo inflamatório ou pela presença de fístulas. Outro sintoma inicial da doença é a perda de peso, ocasionado por redução da ingestão alimentar, estado de catabolismo e perda de proteínas para a luz intestinal. Como conseqüência, a perda ponderal pode gerar déficit

de crescimento e de maturação sexual, ocorrendo em cerca de 6% a 50% das crianças (BARBIERI; KOTZE; RODRIGUES, 2003; GASCHÉ et al, 2000).

A presença de doença perianal é observada em 15% a 40% dos pacientes (KOTZE; KOTZE, 2009; KOTZE; KOTZE, 2002), podendo se destacar como a primeira manifestação da doença, conforme descrito por Buchmann; Alexander-Williams, 1980.

4.2.4.1 Manifestações extra-intestinais (MEI)

As MEI são freqüentes na DC. Sabe-se que as DII não se limitam apenas a manifestações no sistema digestório, podendo causar sintomas em vários outros órgãos. Estas alterações podem surgir antes dos sintomas intestinais, concomitante ou posteriormente, podendo ou não ter relação com a atividade da doença intestinal (MOTA et al, 2007; DASS, 1999). Muitas delas relacionam-se com a piora da afecção, podendo ser minimizada quando a doença de base se torna inativa; por outro lado, algumas associações quando estabelecidas seguem um curso independente, tornando-se bastante grave e podendo levar o paciente a óbito (KOTZE; KOTZE, 2009; KOTZE; KOTZE, 1999).

Dentre as MEI, os sintomas articulares constituem a manifestação mais comum em pacientes com DC (LANNA et al, 2006). Além disso, outros órgãos-alvo são acometidos, como pele (figura 12) e mucosas, olhos (figura 13), fígado e rins (DAS, 1999; KOTZE; KOTZE, 1999).

CANBAY et al, 2001, descreveu a presença de psoríase pustulosa em uma paciente com DC, como um das novas manifestações extra-intestinal da DC, além disso, relatou que estas duas entidades patológicas revelam alterações imunológicas semelhantes.



Figura 12 – MEI na pele em paciente com doença de Crohn



Figura 13 – MEI ocular (episclerite) na doença de Crohn

4.2.4.2 Complicações da DC

As complicações mais frequentes na DC são a suboclusão e a obstrução intestinais. A hemorragia maciça é considerada rara na DC. Além disso, a presença de megacólon tóxico e a dilatação aguda dos cólons, associam-se ao grave estado de toxemia dos pacientes (KOTZE; KOTZE, 2009).

4.2.4.3 Doenças associadas

A presença de doenças associadas à DC podem ser decorrentes dos diferentes tipos de tratamento medicamentoso e drogas empregadas na terapia desta afecção. Entretanto, a literatura não demonstra associações clínicas com a DC, porém pelos aspectos imunogenéticos que a mesma apresenta a investigação de doenças autoimunes associadas à DC tem sido sugerida (KOTZE; KOTZE, 2009; INOKUCHI et al 2005; CANBAY et al, 2001; LEE; BELLARY; FRANCIS, 1999; SHAH et al, 1998; MONSEN et al 1990; SNOOK; SILVA; JEWELL, 1989; JARNEROT; AZAD KHAN; TRUELOVE, 1975). Trabalho realizado por COHEN et al, 2008, revelou que há um aumento no risco de desenvolvimento de outras doenças autoimunes como esclerose múltipla, artrite reumatóide, artrite psoriática em portadores de doenças inflamatórias intestinais quando comparado ao grupo controle. Neste contexto, justifica-se a investigação de vários autoanticorpos em pacientes com DC, conforme detalhado no item 4.3 deste trabalho.

4.2.5 Diagnóstico

O diagnóstico da DC ainda permanece clínico, mesmo com os avanços tecnológicos. O aumento da suspeita clínica do médico frente a sintomas intestinais e MEI tem reduzido o intervalo entre os sintomas e o diagnóstico da doença. Porém, vários autores afirmam unanimemente, que o diagnóstico da DC é feito após extenso intervalo desde o aparecimento dos primeiros sinais e sintomas da afecção. No Brasil, estes dados são semelhantes, Kotze; Kotze (2009) demonstraram intervalo de 1 a 6 anos, e Barbieri; Kotze; Rodrigues (2003), demonstraram intervalo de 1 a 11 anos.

O diagnóstico da DC ainda depende da experiência clínica do profissional. Exames laboratoriais habituais são realizados com o objetivo de avaliar a atividade, o prognóstico, as manifestações extra-intestinais, fenômenos disabsortivos, o estado

nutricional dos pacientes; ou ainda para afastar outras doenças concomitantes. Para determinar a atividade da doença de Crohn a realização de exames como hemograma, exame de hemossedimentação, proteína C reativa; dosagem de alfa-1-tripsina; sobrecarga de lactose (KOTZE; KOTZE, 2009); a determinação de calprotectina fecal (BUNN et al, 1980) e determinação fecal de lactoferrina (WALKER et al, 2007) são necessários.

Quanto aos exames radiológicos, estes apresentam muita importância para a determinação da idade óssea (RX de punhos) e para a densitometria óssea (DEXA) em todas as idades (BARBIERI; KOTZE; RODRIGUES, 2003).

A rotina de raio X simples de abdômen (em pé, deitado e decúbito lateral com raios horizontais) é essencial se houver suspeita de obstrução intestinal. O exame contrastado do esôfago, estômago e duodeno pode revelar algum sinal de espessamento da mucosa ou estreitamento da luz nos casos suspeitos de DC. O trânsito intestinal, com estudo detalhado do íleo terminal sob fluoroscopia, é de importância central no diagnóstico da DC do intestino proximal ao íleo terminal, mostrando estenoses, ulcerações e fistulizações. O comprometimento do intestino delgado está presente em mais de 90% dos pacientes com DC (KOTZE; KOTZE, 2009).

O estudo radiológico através do enema opaco, convencional ou de duplo contraste, está contra-indicado na fase aguda, pelo risco de perfuração ou dilatação (megacólon tóxico). Pode ser totalmente normal em casos leves ou apresentar redução das haustrações, contraste disposto como vidro fosco ao longo do cólon, em espículas e irregularidade no contorno do colo, na presença de micro-ulcerações. Algumas vezes, encontram-se imagens de aspectos bastante irregulares pela presença simultânea de ulcerações e de formações de pseudopólipos, sinais de espessamento da mucosa, e estreitamento da luz intestinal e outras vezes, dilatações de alças e trajetos fistulosos. As lesões são descontínuas na DC, descritas como lesões em salto (KOTZE; KOTZE, 2009).

Outros exames de imagem são muito úteis não só para avaliação, mas também para drenagem percutânea de coleções localizadas, como a ultrassonografia, tomografia computadorizada de abdômen e ressonância magnética (KOTZE; KOTZE, 2009).

Os exames endoscópicos como endoscopia digestiva alta, enteroscopia, colonoscopia e uso de cápsula endoscópica (BLOOM et al, 2003) são de suma importância no diagnóstico e acompanhamento evolutivo da DC, inclusive com obtenção de fragmentos de mucosa para realização de exames histopatológicos (KOTZE; KOTZE, 2009; BARBIERI; KOTZE; RODRIGUES, 2003).

O comprometimento histológico gastroduodenal ocorre em mais de um terço dos pacientes, exclusivamente no intestino delgado em 30 a 35%, no íleo terminal e alguns segmentos do cólon, principalmente o ascendente, em 50 a 60% e a doença limitada ao cólon em 10 a 15% das crianças e adolescentes, fazendo-se necessário à realização de exames anátomo-patológicos (BARBIERI; KOTZE; RODRIGUES, 2003).

Devido às inúmeras manifestações clínicas da DC, muitas afecções podem ser aventadas no diagnóstico diferencial como: afecções ileocecais (ileíte aguda); doenças como RCU, disenteria bacteriana ou parasitária e síndrome do intestino irritável; transtornos alimentares como anorexia nervosa; doenças febris; doenças endócrinas; distúrbios do trato digestório superior como doença celíaca; afecções gênito-urinárias; obstrução intestinal de diferentes etiologias; e outras enfermidades como doença de Behçet e púrpura de Henoch-Schölein. Quando a DC é de comprometimento colônico, o diagnóstico diferencial com a RCU nem sempre é fácil (KOTZE; KOTZE, 2009).

4.2.5.1 Diagnóstico sorológico

O diagnóstico sorológico das DII tem sido sugerido, por diversos autores, como uma alternativa para diferenciar a RCU da DC, uma vez que ambas são caracterizadas por etiologia desconhecida e apresentarem curso clínico variável com presença de remissões e recidivas. Tanto a DC como a RCU apresentam sintomas comuns e a diferenciação entre elas pode ser realizada por meio de parâmetros clínicos e colonoscópicos. Em função das limitações destes métodos diagnósticos, há uma contínua procura por métodos adicionais que permitam realizar a diferenciação entre

estas duas afecções (MONTANELLI et al, 2005; STEINWURZ; SCHEINBERG, 2001; PRESENT; BANKS, 1999).

A determinação pareada dos testes de ASCA e ANCA tem sido utilizada para diferenciar respectivamente DC de RCU, contudo sua utilização ainda é fracamente definida quanto a sua significância clínica e importância diagnóstica (DESPLAT-JEGO et al, 2007; SAIBENI et al, 2003; QUINTON et al, 1998).

Dendrinos et al (2006) relatam ainda, que a determinação sorológica destes (auto) anticorpos poderá ser útil também na identificação de pacientes com risco elevado de desenvolvimento de fístulas pós-operatórias, bem como auxiliar de forma melhor no correto diagnóstico da DC, principalmente quando da positividade de ASCA e negatividade de ANCA.

Baseado em estudos e observações, pode-se concluir que o ASCA e o ANCA provavelmente não são marcadores para o diagnóstico da DII. Além disso, a prevalência de ASCA na população saudável estudada está ao redor de 10%, podendo estar presente em outras doenças auto-imunes. Na doença celíaca o ASCA pode ser detectado em porcentagem elevada, pois surge em afecções com alterações da permeabilidade intestinal, e não só na DC (DESPLAT-JEGO et al, 2007).

Desta forma, estes testes sorológicos poderão oferecer suporte clínico para diagnóstico e categorização de pacientes com DII, além de ser valioso na tomada de decisões terapêuticas. Novos estudos são necessários com o objetivo de alcançar novos marcadores diagnósticos sensíveis e específicos para cada uma das doenças, além de relacioná-los com a atividade e extensão da enfermidade e predição de manifestações extra-intestinais ou complicações (WAHBEH; WYLLIE; KAY, 2001).

Salienta-se ainda, que a positividade destes marcadores não implica na não realização de exames como a colonoscopia ou outros estudos radiológicos pelo paciente. Deve-se considerar, também, que a positividade dos anticorpos é baixa em crianças abaixo dos 5 anos (CUFFARI, 2006).

4.2.5.1.1 Determinação de ASCA

Anticorpos contra epítomos da membrana celular do *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) foram descobertos como elemento adjuvante de utilidade para diferenciar DC de RCU, tornando-se marcadores para DC, uma vez que a maioria destes pacientes apresenta ASCA positivo (DESPLAT-JEGO et al, 2007; STEINWURZ; SCHEINBERG, 2001).

A presença de ASCA em pacientes com DC está associada ao comprometimento do intestino delgado, sugerindo que sua expressão seja um reflexo da resposta específica imunomediada pela mucosa (KOTZE; KOTZE, 2009). A presença de anticorpos anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) tem sido também proposta como marcador sensível e específico para DC, principalmente quando da combinação com outro anticorpo, o ANCA (CUFFARI, 2006).

O ASCA é considerado marcador específico para DC e é mais freqüentemente expresso em pacientes com DC de início precoce (até 70%) do que com início tardio (25% dos pacientes com DC iniciada após os 40 anos de idade). Pelo fato dos antígenos *self* não reagirem com o ASCA, este marcador imune sérico não é considerado um auto-anticorpo (SENDID et al, 1998).

O teste ASCA positivo em familiares de pacientes com DC sugere que seja um marcador subclínico da afecção, mas se reflete fatores ambientais ou genéticos, ou a combinação de ambos, ainda não se sabe (SENDID et al, 1998).

O relato de Vasilias et al (2000) torna-se interessante, uma vez que, semelhante a NOD2, a presença de ASCA está associada a início precoce da DC. Também, altos títulos de ASCA IgG e IgA estão associados à DC com complicações, principalmente ressecções intestinais.

Dubinsky et al (2006) demonstraram a alta probabilidade de doença estenosante em pacientes com NOD2 e ASCA. Tais estudos permanecem em caráter de investigação e ainda não são totalmente empregados na rotina.

4.2.5.1.2 Determinação de ANCA

Os anticorpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA) são autoanticorpos contra a proteinase 3 (uma serina protease), mieloperoxidase e elastase. Os anticorpos ANCA estão associados primariamente a granulomatose de Wegener, sendo muitas vezes o único anticorpo presente nessa patologia. São encontrados também, em doenças como vasculite, poliarterite nodosa microangiopática, poliangeíte microscópica, glomerulonefrite necrotizante microscópica (glomerulonefrite pauciimune) e síndrome de Churg-Strauss, além de estarem presentes em diversas patologias gastrintestinais e reumáticas. Quando esses anticorpos são incubados com neutrófilos normais fixados em etanol, podem ser observados dois padrões de imunofluorescência, o citoplasmático (c-ANCA) e o perinuclear (p-ANCA).

A determinação de anticorpos antineutrofílicos citoplasmáticos (p-ANCA) mostra 82% de sensibilidade e 90% de especificidade para pacientes com RCU (CUFFARI, 2006). O padrão c-ANCA é encontrado em cerca de 85% dos casos de granulomatose de Wegener, e seus títulos correlacionam-se com a atividade da doença. Em pacientes com vasculite, esses anticorpos são geralmente dirigidos contra a mieloperoxidase, o que leva à visualização do padrão perinuclear (p-ANCA). Esse padrão também pode ser observado na poliarterite nodosa microangiopática, na poliangeíte microscópica, na glomerulonefrite necrotizante microscópica (glomerulonefrite pauciimune) e na síndrome de Churg-Strauss. O padrão p-ANCA é encontrado nas doenças intestinais e na artrite reumatóide. Ainda com relação ao ANCA, o mesmo tem sido reconhecido como um bom marcador para RCU, para diferenciação desta com a DC (PRESENT; BANKS, 1999); segundo Vasiliauskas et al (2000) o mesmo não se associou à extensão e agressão da doença como o ASCA.

4.2.6 Tratamento

A DC necessita de terapêutica específica, uma vez que sua etiologia permanece desconhecida. As medidas preconizadas para esta afecção não são curativas e não alteram a história natural da doença, sendo que na maior parte dos casos estas servem apenas para aliviar os sintomas e prevenir complicações. Os objetivos do tratamento são: induzir e manter a remissão clínica; promover cicatrização da mucosa intestinal; recuperar estado nutricional; evitar e prevenir complicações; diminuir as intervenções cirúrgicas; promover qualidade de vida e, minimizar o impacto emocional da doença sobre o paciente e sua família (BAERT; CAPRILLI; ANGELUCCI, 2007).

As principais medidas terapêuticas que englobam o tratamento clínico são mudanças no estilo e hábito de vida, como parar de fumar, bem como cuidados nutricionais, para recuperação e manutenção do estado nutricional dos pacientes e tratamento de problemas psicoemocionais, uma vez que os aspectos psicológicos representam componente importante na DC (BAERT; CAPRILLI; ANGELUCCI, 2007). Além disso, a associação daqueles ao tratamento medicamentoso faz-se necessário, com a utilização combinada ou não de algumas drogas como os corticosteróides (prednisona, deflazacort, budesonida, hidrocortisona), aminossalicilatos (sulfasalazina, mesalazina), imunomoduladores (azatioprina, 6-mercaptopurina, ciclosporina, metotrexate), antimicrobianos (metronidazol, ciprofloxacina), agentes bioterapêuticos (probióticos) e terapia biológica com novos agentes como anticorpos monoclonais quiméricos (anti-fator de necrose tumoral alfa) (BORRELLI et al, 2004) e adalimumabe (SANDBORN et al, 2004).

O tratamento cirúrgico na DC caracteriza-se por ressecção intestinal, sendo a maior complicação e a maior fonte de morbidade nesta afecção (GUPTA et al, 2006; KOTZE; KOTZE, 1999). Em torno de 70% dos pacientes portadores de DC serão submetidos à pelo menos uma cirurgia no decorrer de suas vidas, como forma de tratamento (KOTZE; KOTZE, 1999).

4.2.7 Evolução e prognóstico

A doença de Crohn apresenta um curso clínico bastante imprevisível, com episódios de exacerbações e remissões. Quanto ao seu prognóstico, conclui-se que quanto mais jovem o paciente no momento do diagnóstico, maiores serão as chances de uma evolução clínica tumultuada por complicações, principalmente cirúrgicas.

A presença da doença nos cólons e de longa duração aumenta o risco de câncer de 3 a 20 vezes, quando comparado à população geral. Contudo, a utilização de drogas imunossupressoras e cirurgias conservadoras vêm demonstrando diminuição importante da incidência de complicações em longo prazo da DC. (KOTZE; KOTZE, 2009).

4.3 DOENÇAS AUTOIMUNES ASSOCIADAS À Dc E DC

As doenças autoimunes (DAI's) são um grupo de moléstias heterogêneas que surgem quando a resposta imunitária é efetuada contra alvos existentes no próprio indivíduo. Afetam 5-8% da população dos Estados Unidos da América. As respostas auto-imunes são freqüentes, contudo transitórias e reguladas. Entretanto, a auto-imunidade como causadora de doenças não, uma vez que existem inúmeros mecanismos que mantêm um estado de tolerância frente a epítomos do próprio organismo. A auto-imunidade consiste em uma falha na divisão funcional do sistema imunológico denominada de auto-tolerância, resultando em respostas imunes contras as células e tecidos do próprio organismo e, desta forma, desencadeando o aparecimento das doenças auto-imunes (DAI's) (SELMÍ, 2007; COOPER; STROEHLA, 2003).

As DAI's apresentam etiopatogênese complexa e multifatorial, envolvendo fatores genéticos, ambientais, hormonais e imunológicos para seu desenvolvimento, apontando também a implicação do estresse físico e psicológico. Doença celíaca,

diabetes mellitus tipo I, tireoidite de Hashimoto, doença de Graves, artrite reumatóide, psoríase, lúpus eritematoso sistêmico (LES), entre outras, são exemplos clássicos desta entidade patológica (STOJANOVICH; MARISAVLJEVICH, 2008; SELMI, 2007).

De acordo com Fasano (2006), as associações de DAI's com a doença celíaca podem ser órgão-específicas (DM tipo I e tireoidites) ou não órgão-específicas (artrite reumatóide, LES), sugerindo como fator desencadeante da autoimunidade a exposição ao glúten, bem como a perda da função da barreira intestinal. Em outra investigação Ventura et al (1999) detectaram alta prevalência de afecções autoimunes nos celíacos, quando comparado ao grupo controle. Resultados similares também foram encontrados em pacientes com doença de Crohn, sugerindo, assim, associações entre Dc e DC com outras doenças autoimunes.

4.4 AUTOANTICORPOS NA Dc E DC

Os autoanticorpos são produzidos pelo sistema imunológico e atuam contra uma ou mais proteínas do próprio organismo, apresentando propriedades bioquímicas e físico-químicas semelhantes aos demais anticorpos. Sua diferença relaciona-se com suas propriedades imunológicas e, por isso, apresentando forte associação com doenças autoimunes (DAI's) (STITES et al, 2000).

A maioria dos anticorpos produzidos reage contra antígenos estranhos. Os autoanticorpos reagem contra componentes do próprio organismo, relacionada com frequência a uma situação patológica que envolve a diminuição da tolerância imunológica e, conseqüentemente, leva ao aparecimento de DAI. Estas, por sua vez, não apresentam etiologia definida, sugerindo que este fenômeno esteja associado a outros fatores como predisposição genética e condições ambientais (STITES et al, 2000).

Uma vez que a presença ou suspeita clínica de co-morbidades associadas à Dc e à DC é significativa, podem ser necessárias determinações de outros autoanticorpos, como anticorpo anti-tireoperoxidase (anti-TPO), fator anti-nuclear (FAN), anticorpo anti-

célula gástrica parietal (ACGP), anticorpo anti-mitocondrial (AMIT), anticorpo anti-microsoma de fígado e rim (ALKM) e anticorpo anti-músculo liso (AML). A detecção de outros autoanticorpos independe do tempo da sintomatologia, do diagnóstico da doença básica e da forma de tratamento prescrita, pois é elevada a prevalência de associações clínicas com estas entidades, como demonstrado por diversos autores (LUDVIGSSON et al 2007; INOKUCHI et al, 2005; ISRAELI et al, 2005; DI TOLA et al, 2004; BARTA et al, 2003; BIZARRO et al, 2003; KETTANEH et al, 2003; DAMOISEAUX et al, 2002; SUTTON et al, 2000; SHAH; PEPPERCORN; PALLOTA, 1998; CORAZZA et al, 1997). No sul do Brasil, destacam-se os achados de KOTZE et al (2006) e UTIYAMA et al (2001).

4.4.1 Anticorpo anti-tireoperoxidase (anti-TPO)

As doenças tireoidianas de etiologia auto-imune são acompanhadas da presença de autoanticorpos como o anti-TPO. Sua determinação está indicada na investigação diagnóstica das tireoidites auto-imunes, principalmente doença de Hashimoto, doença de Graves, tireoidite pós-parto e mixedema idiopático (GHORAISHIAN; HEKMATI MOGHADDAM; AFKHAMI-ARDEKANI; 2006).

A tireoperoxidase (TPO) é uma enzima envolvida no processo de síntese de hormônios da tireóide, é uma glicoproteína expressa apenas em células foliculares da tireóide, sendo o principal antígeno na partícula microssomal da glândula. Para diagnóstico, recomenda-se a associação de mais de um anticorpo para avaliar, dessa forma, a presença de anticorpos contra os diferentes antígenos. Os anticorpos mais pesquisados são antitireoperoxidase (anti-TPO), antitireoglobulina (anti-TIREO), os anticorpos anti-receptores de TSH e o anticorpo antimicrossomal (AAM). Os anticorpos antimicrossomais foram, por muito tempo, em associação com as dosagens dos hormônios tireoidianos, considerados o padrão para o diagnóstico das tireoidites auto-imunes. Contudo, atualmente, podem ser substituídos pela determinação dos anticorpos antiperoxidase (TPO).

A destruição autoimune da tireóide está associada à formação de autoanticorpos contra a tireóide-peroxidase, e muitos estudos demonstram a associação entre a tireoidite autoimune e doenças do TGI, como a doença celíaca (KOTZE et al, 2006; SATEGNA-GUIDETTI et al, 1998) e a doença de Crohn (INOKUCHI et al, 2005; KETTANEH et al, 2003; SHAH; PEPPERCORN; PALLOTTA, 1998).

4.4.2 Fator anti-nuclear (FAN) ou anticorpos anti-nucleares (ANA)

O fator anti-nuclear (FAN) é um autoanticorpo dirigido contra diferentes constituintes do núcleo das células como ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA) sendo comumente encontrado em uma variedade de doenças reumáticas autoimunes. É considerado um marcador útil na investigação de inúmeras doenças, contribuindo para o diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico, doenças do tecido conjuntivo, síndrome de Sjögren entre outras (DELLAVANCE et al, 2001; CALICH, 1979). Quando da presença de hepatite auto-imune, este anticorpo é encontrado em altos títulos, porém sua presença não tem correlação com a fase, a atividade ou com o prognóstico da doença (FIGUEIREDO, 2008).

Na população sadia, este anticorpo pode estar presente em um pequeno percentual, sendo sua frequência maior no sexo feminino e se elevando com a idade. A pesquisa de FAN é realizada preferencialmente por imunofluorescência indireta (IFI), devido a sua sensibilidade, reprodutibilidade e facilidade de execução. Sua sensibilidade aumenta de forma significativa, quando da utilização de substrato diferenciado como as células Hep 2 (células de carcinoma de laringe humana), quando comparadas à expressão de antígenos em células de fígado e rim de ratos (DELLAVANCE et al, 2001).

A presença de FAN também está associada com a hepatite autoimune do tipo I, com aproximadamente 50% dos casos apresentando positividade para este autoanticorpo (KRAWITT, 2006). De acordo com Figueiredo (2008), pacientes portadores de hepatite auto-imune apresentam este autoanticorpo em até 67% dos

casos, podendo o mesmo se apresentar de forma isolada (13%) ou associada com o anticorpo AML (54%). A presença de FAN também vem sendo detectada em doenças infecciosas como malária, esquistossomose, tuberculose e hanseníase (DACAS et al, 2000).

No Brasil, UTIYAMA et al (2001) encontraram positividade deste autoanticorpo em pacientes com doenças inflamatórias intestinais (DII), bem como em celíacos e seus familiares.

4.4.3 Anticorpo anti-célula gástrica parietal (ACGP)

A pesquisa de anticorpos anti-célula gástrica parietal é importante para auxiliar no diagnóstico diferencial da anemia perniciosa (90%) e da gastrite atrófica (60%), mesmo estando presente também na população saudável. Entretanto, sua presença não se correlaciona com a má absorção de vitamina B₁₂, mas sim com o nível de destruição das células parietais, pois quando ocorre diminuição do número de células parietais, pode ocorrer um decréscimo nos níveis deste anticorpo (CALICH, 1979).

Além disso, este autoanticorpo pode estar presente também, freqüentemente em baixos títulos, nas doenças hepáticas autoimunes, como cirrose biliar primária, hepatites autoimunes e doença hepática crônica, bem como em pacientes assintomáticos com mais de 60 anos e pacientes com úlcera ou câncer gástrico. A relação deste autoanticorpo com as gastrites tipo A (caracterizadas por atrofia da mucosa do fundo gástrico, acloridria, tendência a evoluir para anemia perniciosa e associação com doença endócrina auto-imune) é bem conhecida (CALICH, 1979).

O ACGP não é um anticorpo específico, sendo encontrado em pacientes com diversas doenças auto-imunes como a doença celíaca, corroborando com dados de UTIYAMA et al (2001) e CORAZZA et al (1997), e doenças da tireóide como demonstrado por NESS-ABRAMOF et al (2006). Quanto à presença de positividade deste autoanticorpo na doença de Crohn, até o momento não foram encontrados relatos na literatura.

4.4.4 Anticorpo anti-mitochondrial (AMIT)

A avaliação dos anticorpos anti-mitochondriais (AMIT) é importante na investigação diagnóstica das doenças hepáticas crônicas, estando presente na maioria dos casos de cirrose biliar primária, especialmente no diagnóstico diferencial com outras colangites. Os anticorpos AMIT podem também estar presente nos casos de hepatite crônica ativa e, mais raramente em outras doenças hepáticas, como obstrução biliar extra-hepática, hepatite viral, cirrose de diferentes etiologias, hepatite induzida por drogas e neoplasia hepática. São encontrados em baixos títulos em adultos saudáveis e em pessoas portadoras de doenças auto-imunes (CALICH, 1979).

Os níveis de anticorpos não se correlacionam com a gravidade e o tempo de evolução da doença, nem definem prognóstico. Os AMIT desaparecem após o transplante hepático e diminuem com o uso de ciclosporina como tratamento. Diferentes antígenos são encontrados na membrana mitocondrial, existindo assim, diferentes tipos de anticorpos AMIT. A identificação dos diferentes tipos (M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8 e M9) é possível com o uso de antígenos recombinantes em ensaio imunoenzimático e permite um diagnóstico específico. A cirrose biliar primária está relacionada a M2, e o tipo M9 pode ser encontrado em familiares saudáveis. Os diferentes tipos restantes correlacionam-se com outras patologias, como doenças do colágeno (M5) e hepatite induzida por droga (M6) (CALICH, 1979).

Quanto à presença deste autoanticorpo em pacientes com Dc e DC, não se encontrou literatura a respeito.

4.4.5 Anticorpo anti-microsomal de fígado e rim (ALKM)

Anticorpos ALKM-1 são anticorpos dirigidos contra a fração microsomal do fígado e do rim. A identificação deste anticorpo torna-se importante para diagnóstico da hepatite autoimune do tipo 2, doença esta predominante em mulheres e geralmente

associada a outras doenças autoimunes, a qual apresenta o ALKM como o principal autoanticorpo. Esse é voltado contra a proteína CYP-450 2D6, do sistema citocromo-oxidase, que se caracteriza por uma área de importante metabolização enzimática. O ALKM é detectado de modo característico em pacientes com hepatite auto-imune que não apresentam outros anticorpos como FAN e AML. Alguns pacientes possuem apenas o anticorpo anticitosol hepático, embora ele usualmente coexista com o ALKM-1 (FIGUEIREDO, 2008; MIYAKAWA et al, 1999; CALICH, 1979).

Com relação à presença deste autoanticorpo na Dc, LUDVIGSSON et al (2007) sugere que indivíduos positivos para este autoanticorpo apresentam risco aumentado para desenvolvimento de doenças hepáticas; quanto à DC também não foram encontradas literaturas associando este autoanticorpo e a afecção.

4.4.6 Anticorpo anti-músculo liso (AML)

O anticorpo AML foi descrito como autoanticorpo que reage diretamente contra estruturas do citoesqueleto, como a actina, a troponina, a vimenina e a tropomiosina presentes no músculo liso da mucosa gástrica e da camada média vascular de fígado e rim de rato (FIGUEIREDO, 2008). Através da técnica da IFI, o anticorpo antimúsculo liso, cujo antígeno-alvo é a actina F, auxilia no diagnóstico da hepatite autoimune do tipo 1, apresentando alta prevalência e sendo considerado específico quando da presença de títulos elevados. FIGUEIREDO (2008) relata que a presença deste autoanticorpo é de 87% nos pacientes com hepatite auto-imune, podendo estar presente de forma isolada (33%) ou em conjunto com o FAN (54%). O soro deve ser ensaiado em diluições maiores de 1:10, pois em diluições menores poderá ocorrer positividade em 12% da população normal. A detecção desses autoanticorpos é de valor no diagnóstico diferencial das doenças hepáticas, pois a positividade é encontrada quase que exclusivamente na hepatite crônica ativa. Em baixos títulos ($<1/80$), porém, possui significado clínico incerto (CALICH, 1979).

A presença deste autoanticorpo na Dc foi demonstrado também por trabalho brasileiro de UTIYAMA et al (2001), embora com baixa frequência. Dados na literatura não o correlacionam ainda, com a doença de Crohn.

Sendo assim, considerando-se a escassez de estudos mais amplos investigando a concomitância de outras DAI's na Dc e na DC na população brasileira, torna-se plenamente pertinente à realização de um painel de autoanticorpos.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo faz parte de uma investigação ampla de caráter clínico e imunológico, sendo caracterizado por estudo transversal, envolvendo 81 indivíduos, o qual foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) da PUC/PR, sob parecer n° 542/07 (anexo A).

5.1 PACIENTES

Foram estudadas amostras de soro de quarenta e cinco (45) pacientes com doença celíaca e trinta e seis (36) pacientes com diagnóstico de doença de Crohn, todos da mesma região geográfica, durante o período de setembro a dezembro de 2007, para identificação dos autoanticorpos (apêndice A).

Os pacientes portadores de doença celíaca foram diagnosticados pela presença de anticorpos antiendomísio IgA e/ou antitransglutaminase IgA e critérios histológicos de acordo com WGO Practice Guidelines - Doença Celíaca, considerado padrão ouro (WGO, 2005). Os pacientes com doença de Crohn foram diagnosticados pelos achados clínicos, laboratoriais, de imagem e histológicos (KOTZE; KOTZE, 2009).

As informações referentes aos sujeitos de pesquisa como idade, sexo, doenças associadas e formas de tratamento foram coletadas através de protocolo previamente estabelecido (apêndice B).

Os 45 pacientes portadores de Dc foram distribuídos em dois grupos, visando análise mais detalhada:

- Grupo 1 (celíacos DX): pacientes celíacos ao diagnóstico.
- Grupo 2 (celíacos DIG): pacientes celíacos com dieta isenta de glúten.

Com relação aos dados demográficos da população estudada, a Tabela 1 mostra que dentre todos os celíacos, 77.8% (35) eram do sexo feminino e 22.2% (10) masculino, com faixa etária entre 18 a 66 anos e média de idade de 39.2. Nos

indivíduos com DC, observa-se que 23 pacientes, isto é, 63.9% eram do sexo feminino e 36.1% (13) masculino, sendo a média de idade de 42.9, com faixa etária variando de 16 a 83 anos.

TABELA 1 – DADOS DEMOGRÁFICOS DA POPULAÇÃO EM ESTUDO

PACIENTES	NÚMERO (N)	SEXO	IDADE MÉDIA (FAIXA ETÁRIA)	MEDIANA	DESVIO PADRÃO
Celíacos	45	77.8% F 22.2% M	39.2 (18-66)	39	13,73
Crohn	36	63.9% F 36.1% M	42.9 (16-83)	39.5	18,78

NOTA: F: Feminino; M: Masculino
DP: desvio padrão

Crítérios de exclusão: crianças e adolescentes até 16 anos e portadores de doenças intestinais não identificadas como doença celíaca e doença de Crohn.

5.2 AMOSTRAS SOROLÓGICAS

Para a coleta das amostras sorológicas realizou-se chamada às instalações da Associação dos Celíacos do Paraná (ACELPAR) para os indivíduos portadores das duas afecções (Dc e DC), onde os mesmos foram convidados a participar da pesquisa e informados quanto à necessidade de consentimento para participação, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (apêndice C).

Procedeu-se à coleta de 10 (dez) ml de sangue periférico de todos os pacientes, por punção venosa, sem anticoagulante. As amostras foram devidamente acondicionadas e transportadas ao Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas da UFPR, Curitiba, Paraná, sendo o soro separado, aliquotado, identificado e armazenado a menos 20° C até a sua utilização.

5.3 METODOLOGIA SOROLÓGICA

Todas as amostras de soro foram analisadas no Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Os seguintes autoanticorpos foram identificados: anti-mitocondrial (AMIT), anti-músculo liso (AML), anti-célula gástrica parietal (ACGP), anti-microsomal de fígado e rim (ALKM), fator anti-nuclear (FAN), anti-endomísio (EmA), anti-transglutaminase tecidual (anti-tTG), anti-tireoperoxidase (anti-TPO), anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) e anti-citoplasma de neutrófilo (ANCA).

5.3.1 Pesquisa de autoanticorpos por imunofluorescência indireta (IFI)

5.3.1.1 Preparo dos substratos antigênicos

Para determinação dos vários (auto) anticorpos por IFI, foram utilizados os substratos antigênicos adequados, tendo como fonte cortes criostáticos de tecidos murino e humano, bem como preparações celulares, conforme descrito no Quadro 1.

Para obtenção dos órgãos de rato, foi necessária a aquisição de um animal de aproximadamente quatro meses, fêmea, fornecido pelo biotério da UFPR.

O animal foi mantido em jejum por 2 dias e após sacrifício, realizou-se a dissecação dos órgãos como estômago, fígado e rim, seguida por lavagem exaustiva dos mesmos com soro fisiológico. Os fragmentos foram clivados, imersos em meio de congelamento (OCT – Tissue Freezing Medium, Nussloch, Alemanha). Os blocos de tecidos foram mantidos em freezer à -80°C; cortes de 3µm de espessura foram realizados em criostato (Reichert Histostat, USA), e posteriormente foram fixados em lâmina de microscopia e mantidos a -20°C até o momento de uso nas reações de IFI.

O cordão umbilical humano, utilizado como substrato para pesquisa do EmA, foi obtido de gestantes saudáveis, no momento do parto, no Centro Obstétrico do Hospital de Clínicas da UFPR. Após a excisão do mesmo, um pequeno fragmento foi mergulhado em solução salina a 0,9%. Esse foi seccionado transversalmente em pequenos blocos, os quais foram mergulhados em OCT, sendo rapidamente congelados em nitrogênio líquido. Os blocos foram mantidos em freezer à -80°C e cortes criostáticos de 3µm de espessura foram fixados em lâminas de microscopia e mantidos à -20°C até o momento de uso.

Para pesquisa de ANCA, o substrato utilizado foi obtido a partir do sangue de indivíduos saudáveis, por separação de neutrófilos em gradiente de Ficoll Hipaque. As células saudáveis foram lavadas em meio de cultura, sua concentração foi ajustada e as mesmas foram posteriormente distribuídas em lâminas, e mantidas em freezer à -20°C até o seu uso.

AUTOANTICORPOS	SUBSTRATOS
Anti-músculo liso (AML)	Estômago de rato
Anti-mitochondrial (AMIT)	Rim de rato
Anti-microsomal de fígado e rim (ALKM)	Rim e fígado de rato
Fator anti-nuclear (FAN)	Fígado de rato
Anti-célula gástrica parietal (ACGP)	Estômago de rato
Anti-citoplasma de neutrófilo (ANCA)	Neutrófilo humano
Anti-endomísio (EmA)	Cordão umbilical humano

Quadro 1 – Autoanticorpos e seus substratos antigênicos empregados nas reações de IFI

5.3.1.2 Reação de Imunofluorescência

Para a pesquisa dos auto-anticorpos AML, AMIT, ALKM, FAN e ACGP realizou-se diluição inicial de triagem de todas as amostras de soro do estudo, a 1:10, 1:20 e 1:40; enquanto para pesquisa de ANCA as diluições foram 1:5, 1:10 e 1:20. Os soros-teste e os controles positivos e negativos foram aplicados nas lâminas contendo cortes

criostáticos dos substratos específicos para cada autoanticorpo, em seguida foram incubadas por 30 minutos à temperatura ambiente.

Após incubação as lâminas foram lavadas com solução salina fosfato (PBS) pH 7,2, onde foram novamente incubadas agora com conjugado fluorescente anti-imunoglobulina humana (Sanofi-Pasteur) durante 30 minutos. Em seguida, as lâminas foram montadas com glicerina alcalina, onde então se realizou a leitura em microscópio de fluorescência Olympus®, sendo realizada por pesquisadores treinados do Laboratório de Imunopatologia do Departamento de Patologia Médica do Hospital de Clínicas (HC), da UFPR. Consideraram-se positivas as reações com títulos iguais ou superiores a 1:40 para os anticorpos AML e iguais ou superiores a 1:20 para os demais autoanticorpos analisados.

A pesquisa do autoanticorpo anti-endomísio (EmA-IgA) foi realizada conforme descrito por Volta et al (1995), utilizando-se como substrato cortes de cordão umbilical humano. Para reação de imunofluorescência, os soros foram diluídos à 1:2,5, 1:5 e 1:10 em tampão PBS pH 7,2, seguindo a mesma técnica relatada anteriormente, com exceção do conjugado fluorescente utilizado, anti-IgA humana. As amostras positivas na triagem inicial foram retestadas para definição do título final de cada anticorpo. Em cada bateria de reação foram incluídos controles positivos e negativos. Foram consideradas positivas para o EmA IgA as amostras que caracterizaram fluorescência em diluição de 1:2,5 ou mais.

Para a leitura da IFI, Rose; Mackay (1998), definiram e consideraram alguns critérios. O AML (figura 14) cora as células da musculatura lisa de maneira uniforme e granular. O AMIT (figura 15), cora mais intensamente o citoplasma de células epiteliais de túbulos distais (granular fino) e das alças de Henle, e de forma menos intensa os túbulos proximais. O AMIT cora também as células parietais da mucosa gástrica.

O anticorpo ALKM (figura 16), cora o citoplasma do hepatócito (granular fino difuso) e cora o epitélio renal tubular proximal. O fato de não corar células da mucosa gástrica parietal, permite diferenciar o ALKM do anticorpo AMIT. Ressalta-se que ambos anticorpos reagem com igual intensidade com o fígado de rato.

O anticorpo ACGP (figura 17), cora o citoplasma das células parietais da mucosa gástrica. O padrão de fluorescência assemelha-se ao obtido com os anticorpos AMIT,

devendo ser diferenciado com a realização de um controle, utilizando-se como substrato rim de rato. O verdadeiro anticorpo ACGP não reage com o rim do rato, enquanto que o AMA reage com ambos os tecidos.

Quanto ao EmA (figura 18), o mesmo cora a substância intermiofibrilar no tecido de endomísio, cuja localização se dá no contorno das fibras de músculo liso na parede dos vasos e artérias do cordão umbilical (VOLTA et al, 1995).

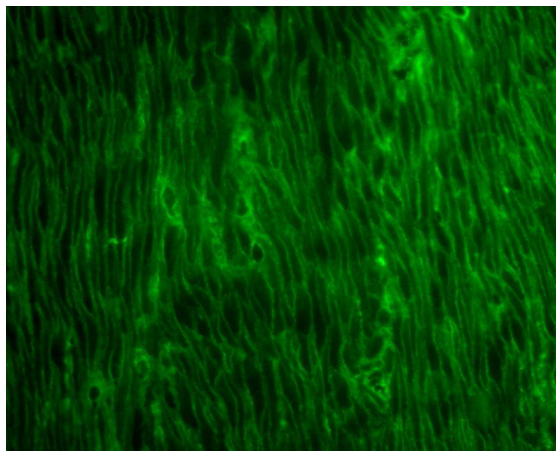


Figura 14 – Anticorpo AML

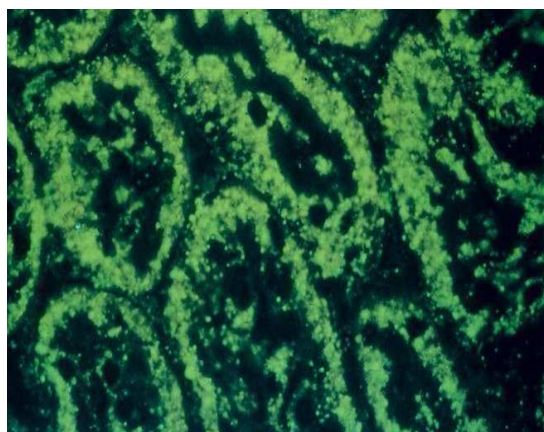


Figura 15 – Anticorpo AMIT

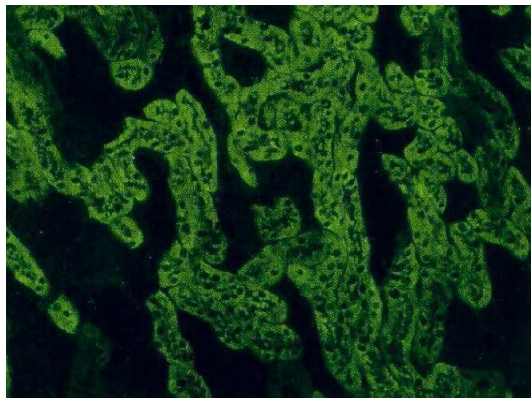


Figura 16 – Anticorpo ALKM

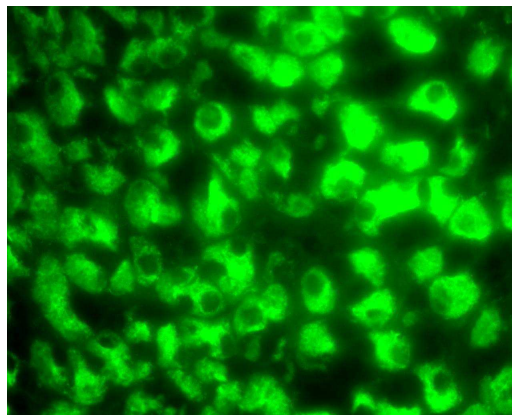


Figura 17 – Anticorpo ACGP

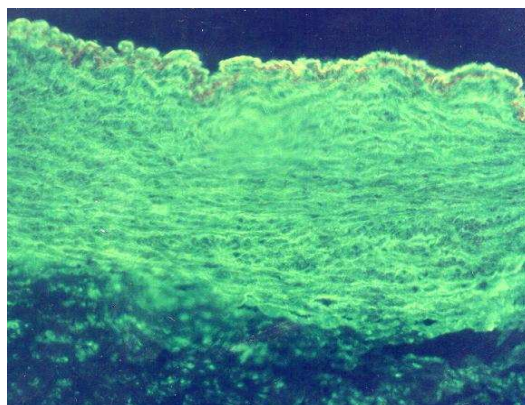


Figura 18 – Anticorpo EmA

5.3.2 Pesquisa de autoanticorpos por ELISA

A pesquisa de autoanticorpos anti-transglutaminase tecidual (figura 19) foi realizada através do método de ELISA. Basicamente a reação ocorre com o antígeno purificado de transglutaminase tecidual humanizada, fixado as escavações da placa de poliestireno. Os soros controles e os soros diluídos dos pacientes foram adicionados a cada escavação da placa, que após correta incubação possibilitou que os anticorpos anti-transglutaminase presentes se ligassem ao antígeno imobilizado. A placa foi lavada e após este processo ocorreu o descarte do material não ligado, as amostras foram novamente incubadas na presença do conjugado de anticorpo anti-IgA ligado a uma enzima. As placas foram novamente lavadas e a atividade da enzima remanescente foi medida pela adição de um substrato cromogênico, que levou ao desenvolvimento de cor diretamente proporcional a concentração de anticorpos anti-tTG presentes nas amostras analisadas. Realizou-se o cálculo desta concentração por comparação da cor que se desenvolve nas amostras dos pacientes em relação à cor obtida nos controles da reação (DIETERICH et al, 1998).

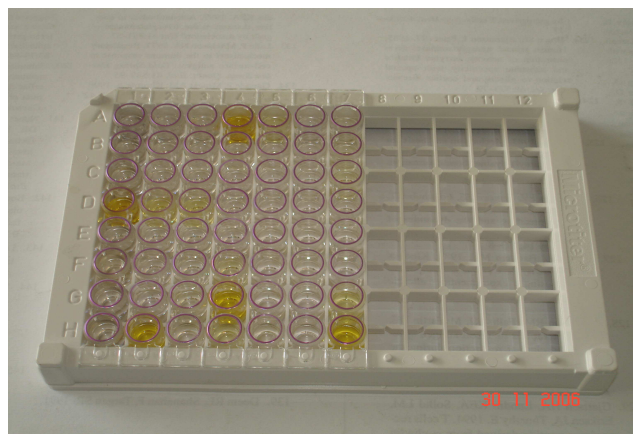


Figura 19 – ELISA anti-tTG

A pesquisa de anticorpos anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) IgA e IgG foi realizada através de método ELISA, conforme preconizada pelos fabricantes do *kit* INOVA®, utilizado, sendo considerado positivos valores acima de 25 UI/ml.

5.3.3 Pesquisa de autoanticorpos por outros métodos

A pesquisa de anticorpos anti-tireoperoxidase (anti-TPO) foi realizada por método imunométrico, conforme descrito pelo fabricante do *kit* IMMULITE®, DPC, Medlab, sendo considerado positivo valores acima de 30 UI/ml.

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a comparação de dois grupos em relação a variáveis quantitativas foi usado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Para a comparação dos grupos em relação a variáveis nominais dicotômicas utilizou-se o teste exato de Fisher. Para avaliar a qualidade dos anticorpos ao diagnóstico, foram estimados valores de sensibilidade e especificidade. O nível de significância considerado foi de $p < 0,05$ (5%), sendo corrigido por Bonferroni para as comparações múltiplas ($p < 0,017$). Recorreu-se, também, à análise descritiva dos dados através de tabelas, gráficos e figuras.

6 RESULTADOS

Os resultados obtidos na pesquisa quanto ao painel de autoanticorpos e à identificação de doenças associadas nos portadores de Dc e DC encontram-se relacionados nos apêndices D e E.

6.1 POSITIVIDADE TOTAL DOS AUTOANTICORPOS ENTRE Dc E DC

Entre os grupos estudados, observou-se que nos celíacos DX (n=30), a positividade foi de 60%, isto é, pelo menos 6 diferentes autoanticorpos (EmA, anti-tTG, ASCA IgA/IgG, AML, FAN e anti-TPO); no grupo celíacos DIG (n=15), a positividade foi de 70% para os autoanticorpos EmA, anti-tTG, ASCA IgA/IgG, AML, CGP, FAN e anti-TPO; enquanto que no total de pacientes com DC (n=36), a positividade foi de 50% para os autoanticorpos tTG, ASCA IgA/IgG, ANCA, FAN e anti-TPO (tabela 4).

Considerando-se como variável a positividade de todos os autoanticorpos nos grupos em estudo, testou-se a hipótese nula de que o número total de autoanticorpos positivos seria igual para os três grupos estudados, contra a hipótese alternativa de que pelo menos um dos grupos teria número total de autoanticorpos diferente dos demais.

A tabela 2 e o gráfico 1, demonstram a existência de diferença significativa ($p < 0,001$) entre os grupos em relação ao número total de autoanticorpos positivos detectados nos pacientes celíacos Dx, celíacos DIG e pacientes com DC.

Tabela 2 – Número total de autoanticorpos positivos nos grupos estudados

Grupo	N	Média	Mediana	Mín.	Máx.	DP	Valor de p
Celíacos DX	30	3,53	4	1	5	0,90	<0,001
Celíacos DIG	15	1,73	1	0	5	1,53	
Crohn	36	1,06	1	0	4	1,17	

Nota: DP = desvio padrão; DX= diagnóstico; DIG= dieta isenta de glúten; N= número

Em negrito resultado com significância estatística

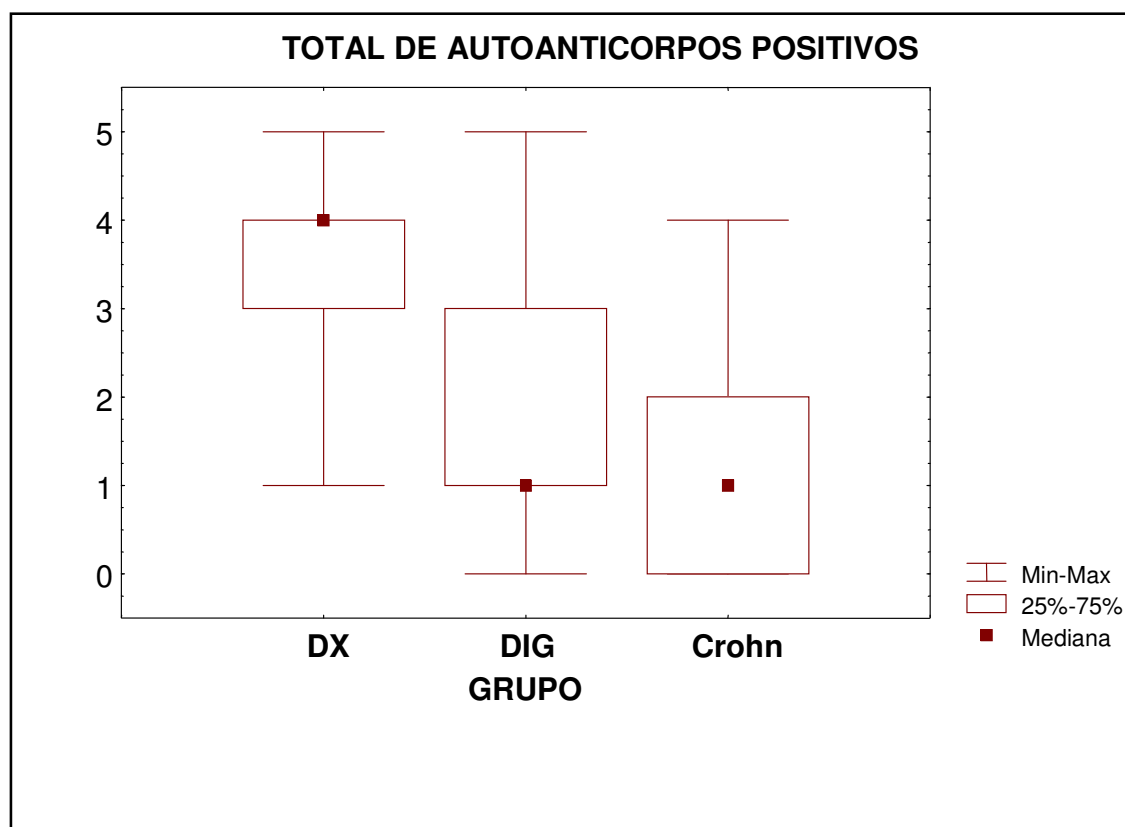


Gráfico 1 – Total de anticorpos positivos nos grupos estudados

Frente a esta diferença significativa, os grupos foram comparados dois a dois; assim, a comparação dos grupos celíacos DX com os celíacos DIG, bem como, a comparação dos celíacos DX com os indivíduos com doença de Crohn, também

mostraram significado estatístico para o total de autoanticorpos positivos destas amostras. Os valores de p destas comparações são apresentados na tabela 3. Ressalta-se ainda, que para esta análise o autoanticorpo anti-TPO não foi considerado, pelo fato de não ter sido determinado em todas as amostras dos três grupos.

Tabela 3 – Valores de p dos grupos sob comparação

Grupos sob comparação	Valor de p
Celíacos DX x Celíacos DIG	<0,001
Celíacos DX x Crohn	<0,001
Celíacos DIG x Crohn	0,052

Nota: DX= diagnóstico; DIG= dieta isenta de glúten

Ainda com relação à positividade total, a tabela 4 mostra significado estatístico quanto ao EmA nos três grupos: 100% de positividade nos celíacos DX quando comparados com celíacos DIG e Crohn (30/30 X 5/15; 30/30 X 0/36; $p < 0,001$). Nos celíacos DIG 33.3% (5/15) foram positivos ($p < 0,001$ e $p = 0,01$) em relação aos celíacos DX (30/30) e Crohn (0/36), respectivamente. No grupo de Crohn, 100% da amostra foi negativa para este autoanticorpo.

Em 90% dos celíacos DX o anti-tTG foi positivo (27/30; $p < 0,001$) em comparação aos outros dois grupos. Nos celíacos DIG, 26.7% da amostra foi positiva (4/15; $p < 0,001$) quando comparado com os celíacos DX, não apresentando valores significativos quando relacionado com o grupo de Crohn, conforme tabela 4.

Relacionando-se o ASCA IgA e IgG, observou-se positividade dos mesmos nos três grupos. Quanto ao ASCA IgA, os resultados foram significativos quando comparados os celíacos DX com os celíacos DIG, onde os DX apresentaram 66.7% de positividade (20/30; $p = 0,004$). O ASCA IgG também mostrou resultado significativo quando se comparou os grupos celíacos DX e Crohn (86.7%; 26/30 X 44.4%; 16/36; $p = 0,001$) (tabela 4).

No que se refere aos demais autoanticorpos (ANCA, AML, AMIT, ACGP, ALKM, FAN e anti-TPO), os mesmos não apresentaram diferença significativa quando comparou-se a positividade nos três grupos (tabela 4).

Tabela 4 – Positividade total de autoanticorpos em pacientes com Dc e DC

AUTO ANTICORPOS	CELÍACOS DX (N=30)	CELÍACOS DIG (N=15)	CROHN (N=36)	DX x DIG	DX x Crohn	DIG x Crohn
	N (%)	N (%)	N (%)	Valor de p*		
EmA	30 (100)	5 (33.3)	0	<0,001	<0,001	0,001
Anti-tTG	27 (90)	4 (26.7)	4 (11.1)	<0,001	<0,001	NS
ASCA IgA	20 (66.7)	3 (20)	13 (36.1)	0,004	NS	NS
ASCA IgG	26 (86.7)	10 (66.7)	16 (44.4)	NS	0,001	NS
ANCA	0	0	2 (5.6)	-	NS	NS
AML	1 (3.3)	2 (13.3)	0	NS	NS	NS
AMIT	0	0	0	-	-	-
ALKM	0	0	0	-	-	-
ACGP	0	1 (6.7)	0	NS	-	NS
FAN	2 (6.7)	1 (6.7)	3 (8.3)	NS	NS	NS
Anti-TPO	3 (17.6)	2 (50)	6 (75)	NS	-	-

Nota: NS = não significativo; DX= diagnóstico; DIG= dieta isenta de glúten; N= número

Em negrito os resultados com significância estatística.

(*) Teste exato de Fisher, $p < 0,017$ (correção de Bonferroni)

6.2 POSITIVIDADE DO EmA E ANTI-tTG EM PACIENTES COM Dc E DC

Os resultados obtidos em relação ao EmA - IgA nos indivíduos celíacos podem ser observados no gráfico 2 e tabela 4, nos quais destaca-se 100% de positividade para o EmA no grupo de pacientes celíacos DX (n=30), corroborando, assim, dados de literatura que demonstram que este autoanticorpo poderá ser utilizado como diagnóstico para doença celíaca. Nos pacientes celíacos em tratamento (DIG) 66.7% estavam negativos para este autoanticorpo, indicando estrita aderência à dieta. Já em 33.3% houve positividade, sugerindo transgressões à DIG. Tais dados apontam para a utilidade deste autoanticorpo para monitoramento do tratamento. Quanto aos indivíduos com doença de Crohn (n=36), os mesmos apresentaram 100% de negatividade para o EmA (tabela 4; gráfico 2).

Quanto ao anti-tTG - IgA, os pacientes celíacos DX (n=30), revelaram 90% de positividade para o mesmo. Nos celíacos DIG (n=15) notou-se que 73.3% apresentaram negatividade, contra 26.7% que se apresentaram positivos.

Na DC 88.9% apresentaram negatividade, sendo que 11.1% (4/36) indivíduos foram positivos para anti-tTG, demonstrando, também, a presença de lesão tecidual nesta afecção (tabela 4; gráfico 2).

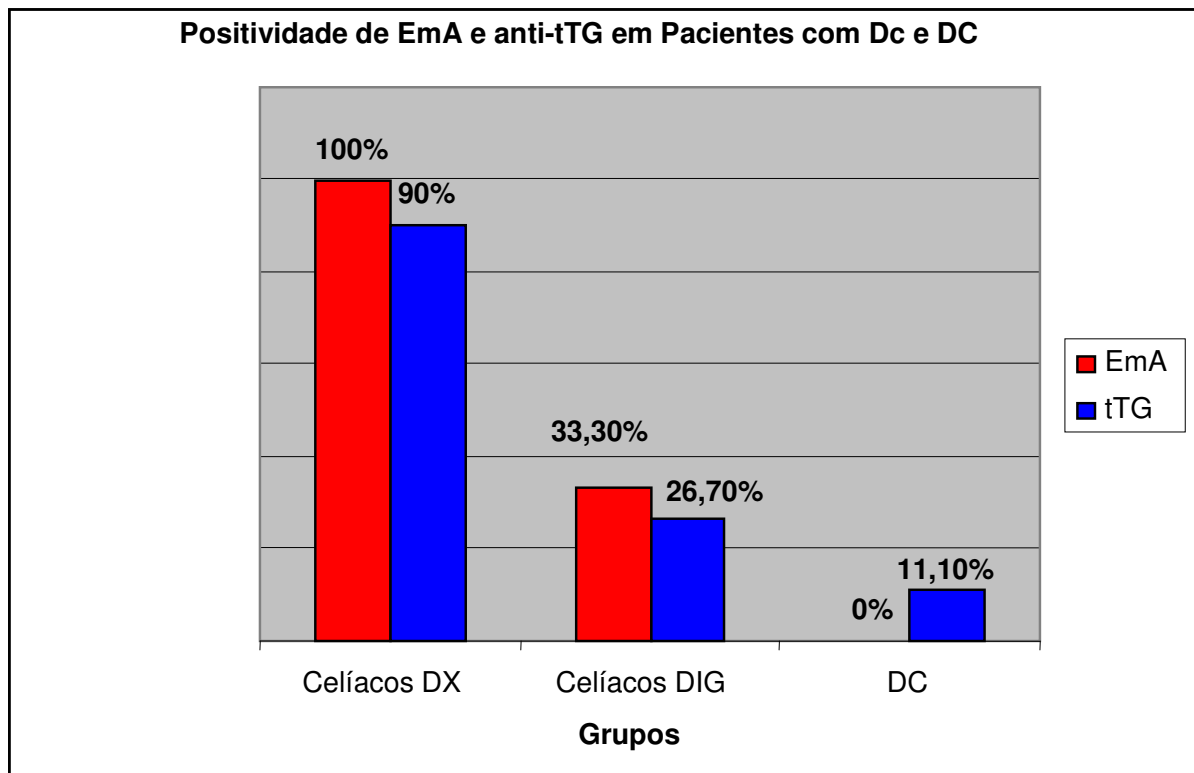


Gráfico 2 – Positividade do EmA e anti-tTG nos pacientes portadores de Dc e DC.

6.3 POSITIVIDADE DE ASCA IgA / IgG E ANCA NOS PACIENTES COM Dc E DC

Analisando os resultados obtidos quanto para o ASCA IgA / IgG, observou-se que o ASCA IgA possui maior positividade nos celíacos DX (66.7%), seguido por 36.1% nos pacientes com Crohn e 20% nos celíacos DIG. Com relação ao ASCA IgG, nos três grupos estudados (celíacos Dx, celíacos DIG, Crohn), observou-se positividade com porcentagens elevadas deste autoanticorpo, 86.7%, 66.7% e 44.4% respectivamente, conforme descrito na tabela 4 e gráfico 3. Estes resultados sugerem que ocorra alteração da integridade e da permeabilidade da mucosa intestinal, permitindo a passagem de antígenos como o fungo *Saccharomyces cerevisiae*, tanto em indivíduos com doença de Crohn, como também nos celíacos.

O anti-citoplasma de neutrófilo (ANCA) mostrou-se negativo para todas as amostras dos pacientes celíacos (DX e DIG), enquanto nos pacientes com doença de Crohn observou-se positividade para este autoanticorpo em 5.6% (2/36) da amostra, conforme demonstrado na tabela 4 e gráfico 3. Estes resultados confirmam dados da literatura, em que o ANCA é considerado bom marcador sorológico para a retocolite ulcerativa, utilizado para diferenciá-la da DC.

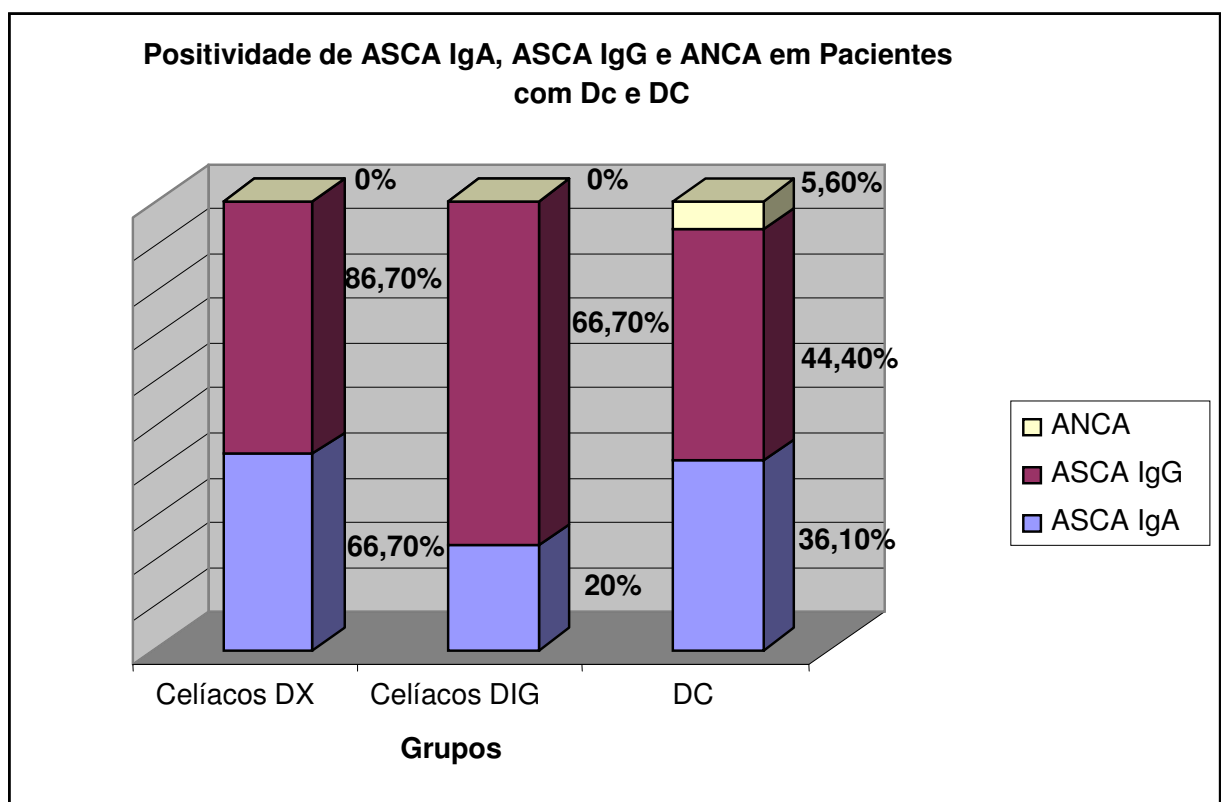


Gráfico 3 – Positividade do ANCA, ASCA IgA e ASCA IgG nos pacientes portadores de Dc e DC.

6.4 POSITIVIDADE DOS DEMAIS AUTOANTICORPOS EM PACIENTES COM Dc E DC

Os anticorpos anti-mitocondrial (AMIT) e anti-microsomal de fígado e rim (ALKM) foram negativos para todas as amostras de celíacos (DX e DIG). A porcentagem de positividade para os anticorpos anti-músculo liso (AML), anti-nuclear (FAN) e anti-célula gástrica parietal (ACGP) foi respectivamente de 3.3%, 6.7% e 0% nos celíacos DX, e 13.3%, 6.7% e 6.7% nos celíacos DIG (tabela 4; gráfico 4), não caracterizando diferenças significativas.

Quanto aos pacientes com doença de Crohn, observou-se negatividade em 100% das amostras (n= 36) em relação aos anticorpos AML, AMIT, ALKM e ACGP, sendo que 8.3% destes apresentaram positividade para FAN (tabela 4; gráfico 4).

A determinação de anti-TPO foi realizada em 21 dos 45 pacientes celíacos, nos portadores de DC apenas 8 dos 36 foram testados, impossibilitando conclusões.

Desta forma, os resultados em números aquém do desejado demonstraram positividade para este autoanticorpo em 17.6% dos celíacos DX e em 50% dos celíacos DIG; nos indivíduos com DC, a presença de positividade ocorreu em 75% (6/36) pacientes, valor este que merece atenção devido à relação da positividade deste auto anticorpo com disfunções tireoidianas autoimunes (gráfico 4).

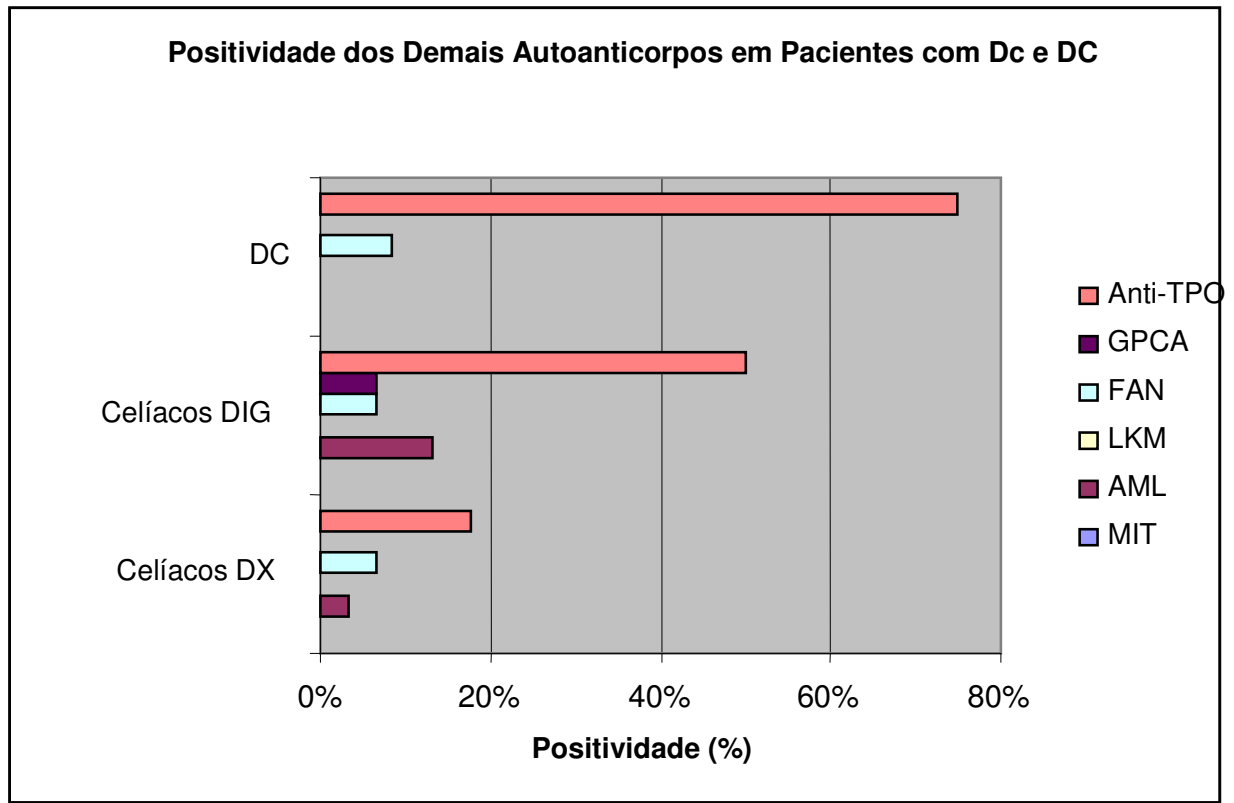


Gráfico 4 – Positividade dos demais autoanticorpos nos pacientes portadores de Dc e DC.

6.5 ASSOCIAÇÕES CLÍNICAS NOS PACIENTES COM Dc E DC

Com relação às co-morbidades na doença celíaca, evidenciou-se 35.6% (16/45) pacientes com manifestações clínicas, destacando-se dermatite herpetiforme (DH) (8.9%; 4/45), diabetes melitus (DM) (4.4%; 2/45) e doenças da tireóide (DT) (28.9%; 13/45). Ressalta-se, ainda, que 6.7% (3/45) apresentaram mais que uma doença associada, sendo um indivíduo com DM e DT, e os demais com DH associado à DT (figura 20; apêndice 4).

Destaca-se, também, que dos 4 pacientes celíacos com DH, que caracteriza a doença celíaca da pele, 50% apresentavam anticorpos EmA e anti-tTG positivos, identificados no grupo de celíacos DX, e 50% destes com anticorpos negativos, identificados como grupo de celíacos DIG.

Mesmo apresentando percentual positivo para alguns dos demais autoanticorpos (AML, FAN e ACGP), outras doenças associadas nos pacientes celíacos não foram identificadas.

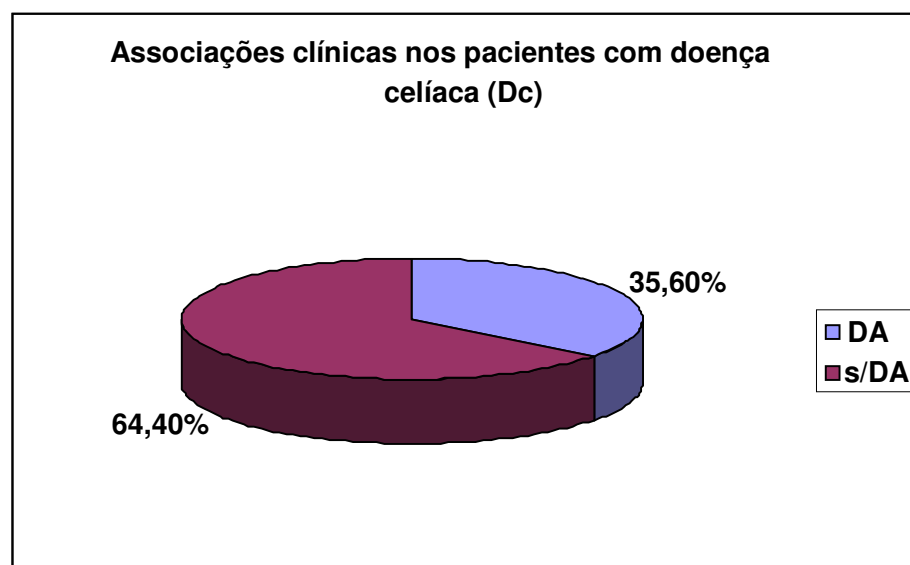


Figura 20 – Associações clínicas nos pacientes com Dc
Nota: DA = doença associada; s/ DA = sem doença associada

No que se refere à presença de associações clínicas na DC, 11.1% dos pacientes as apresentaram: psoríase em 2.8% (1/36) e doenças da tireóide em 8.3% (3/36) (figura 21). Outras doenças autoimunes não foram evidenciadas. A positividade para FAN foi observada em pacientes com queixas articulares (apêndice 5).

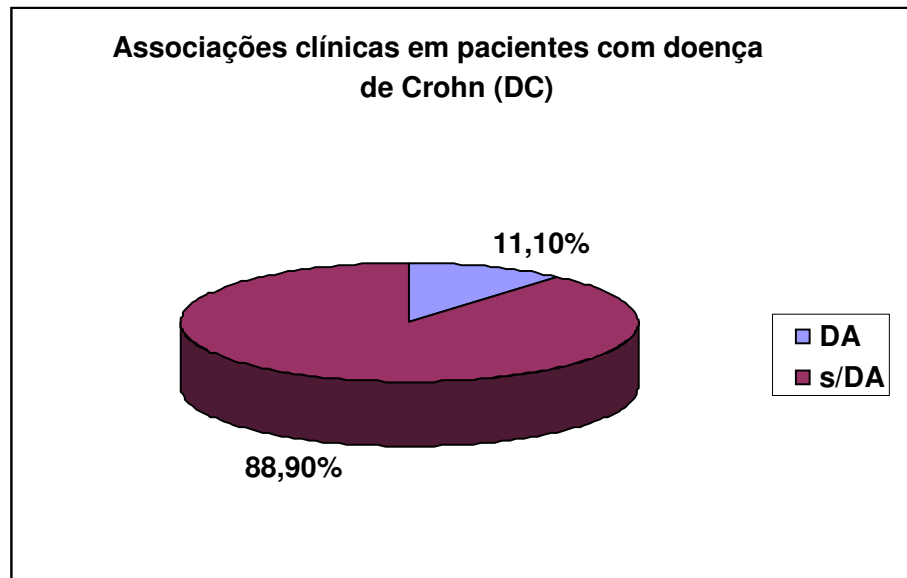


Figura 21 – Associações clínicas nos pacientes com DC

Nota: DA = doença associada; s/ DA = sem doença associada

6.6 POSITIVIDADE DE AUTOANTICORPOS E ASSOCIAÇÕES CLÍNICAS EM PACIENTES COM Dc E DC

Quanto à positividade dos autoanticorpos com as associações clínicas observadas, destaca-se a positividade do anti-tireoperoxidase (anti-TPO) nos pacientes celíacos (DX e DIG). Nos pacientes com doença de Crohn, sugere-se também possíveis associações como doenças da tireóide, apesar do pequeno número de amostras avaliadas.

Entre os pacientes celíacos DX e DIG, a positividade do anti-TPO na presença de doenças da tireóide, foi de 25% e 50% respectivamente. Nos pacientes com doença de Crohn, identificou-se que 100% (4/36) dos pacientes testados para o anticorpo positivo apresentaram doença da tireóide associada.

Salienta-se a nula correlação de positividade dos demais autoanticorpos com suas possíveis associações clínicas neste estudo.

7 DISCUSSÃO

A compreensão dos intrigantes aspectos da Dc e da DC sugere estreita relação entre os mecanismos imunogenéticos e vem crescendo substancialmente nas últimas décadas, indicando tema de pesquisa científica atual e promissor. Alguns fatores tornaram-se fundamentais para o avanço científico, dentre eles destacando-se a utilização de testes sorológicos no auxílio de diagnóstico, como o EmA e anti-tTG na Dc, e o ASCA e ANCA na DC.

A identificação de outros autoanticorpos nestas afecções vem sendo válida para auxiliar no monitoramento do tratamento proposto, bem como no diagnóstico de outras doenças associadas, como as DAI's (doenças tireoidianas, dermatite herpetiforme, diabetes melitus, psoríase, hepatites auto-imune, entre outras).

Neste contexto, a determinação de um amplo painel de autoanticorpos em pacientes com Dc e DC pode demonstrar características próprias, permitindo identificar além destas afecções, DAI's a elas associadas. A positividade de autoanticorpos pode acontecer antes das manifestações clínicas tanto da doença básica como das associações. No Brasil há apenas um relato na Dc (UTIYAMA et al, 2001) e nenhum na DC.

7.1 DADOS DEMOGRÁFICOS

No presente estudo a média de idade foi de 39.2 anos para os celíacos e de 42.9 anos para os portadores de DC, caracterizando população de adultos jovens. Quanto ao sexo, 77.8% dos celíacos eram do sexo feminino e 22.2% masculino; e dentre os indivíduos com DC, 63.9% do sexo feminino e 36.1% do masculino (tabela 1).

Nas duas afecções pode-se notar maior prevalência no sexo feminino como descrito por outros autores (GREEN; CELLIER, 2007; UTIYAMA et al, 2005; FARIA et

al, 2004; UTIYAMA et al, 2001; SDEPANIAN; MORAIS; FAGUNDES-NETO, 1999; KOTZE et al, 1999).

Ressalta-se, ainda, que na Dc as mulheres são mais afetadas, podendo esta afecção ser desencadeada também na infância, na adolescência e na senilidade; enquanto que na DC, homens e mulheres são acometidos por esta afecção em igual proporção, sendo seu pico de aparecimento na adolescência e em adultos jovens (FRANCO LOIDA; DANI, 2005). Em estudo brasileiro realizado por Faria et al (2004) para identificar características clínicas e epidemiológicas da DC, demonstrou-se predominância do sexo feminino (59%) e idade média de $29,87 \pm 11,75$ anos, indicando o aparecimento da doença em adultos jovens. Os dados acima referidos corroboram os achados do presente trabalho (tabela 1). Em estudo realizado por Wang; Zhang; Ouyang (2007), houve maior incidência de DC em homens na Ásia, enquanto que nos países desenvolvidos a incidência é maior entre as mulheres.

7.2 DETERMINAÇÃO DE EmA IgA E ANTI-tTG

Em relação ao autoanticorpo anti-endomísio (EmA), a positividade e sensibilidade de 100% nos celíacos recém diagnosticados, bem com ausência do mesmo em todos do indivíduos com DC, demonstra a importância deste exame como marcador sorológico altamente específico para diagnóstico da Dc (tabela 4; tabela 5; gráfico 2) (HILL; HOLMES, 2007; KOTZE et al, 2003; KOTZE et al, 2001; UTIYAMA et al, 2001; KOTZE et al, 1999).

Contudo, a partir do momento da aderência do paciente à dieta isenta de glúten (DIG), forma de tratamento proposto para Dc, observou-se negatividade para este autoanticorpo em 66.7%, indicando seguimento da dieta. Já a positividade em 33.3% destes pacientes, sugere a não aderência ao tratamento, demonstrando, assim, que o autoanticorpo EmA, poderá ser utilizado também como forma de monitoramento da dieta (tabela 4; gráfico 2) (KOTZE et al, 2001; UTIYAMA et al, 2001; KOTZE et al, 1999).

Burgin-Wolff et al (1991) relatam que quase todos os indivíduos com intolerância permanente ao glúten produzem autoanticorpos em algum momento. O presente estudo reforça tal afirmação, uma vez que 100% dos celíacos recém diagnosticados apresentaram positividade para EmA, demonstrando 100% de sensibilidade (tabela 5).

Autores de diversos países já demonstraram a positividade e sensibilidade (100%) no uso do EmA em pacientes celíacos, tais como Ferreira et al (1992) na Inglaterra; Mascart-Lemone et al (1992) na Bélgica; Korponay-Szabo et al (1996) na Hungria e Kotze et al (1999) no Brasil.

Os resultados obtidos quanto ao autoanticorpo anti-transglutaminase (anti-tTG) revelou 90% de positividade e sensibilidade nos celíacos DX. Nos celíacos DIG notou-se que 73.3% dos pacientes foram negativos e 26.7% foram positivos para este autoanticorpo, sugerindo que a dieta isenta de glúten possa proteger a mucosa intestinal, diminuindo a lesão tecidual e que, frente à sua transgressão, possa ocorrer aumento desta lesão (tabela 4; tabela 5; gráfico 2).

A transglutaminase tecidual é uma enzima multifuncional amplamente presente em órgãos humanos. Assim, se houver algum tipo de injúria aos tecidos, pode se elevar no sangue periférico, portanto, o anti-tTG pode ser positivo em outras afecções que não apenas a doença celíaca.

Neste estudo, 11.1% dos pacientes com doença de Crohn foram positivos para anti-tTG (tabela 4; tabela 5; gráfico 2), demonstrando, assim, presença de lesão tecidual nesta afecção, conforme descrito por Di Tola et al (2004) e Bizarro et al (2003).

Para Leon et al (2001), a determinação de anti-tTG pode ser uma alternativa principalmente nos casos em que não há possibilidade de se determinar o EmA. No Brasil, Utiyama et al (2002), demonstraram que o EmA e anti-tTG se correlacionam muito bem, porém nos pacientes celíacos com baixos níveis de anticorpos o EmA torna-se superior (KOTZE et al, 2003). Polanco; Martin Esteban; Larrauri (2001), também confirmam que o anti-tTG é o antígeno majoritário na Dc e que sua detecção tem importante valor diagnóstico, em especial para grupos de risco (familiares, portadores de DAI).

Comparando-se o EmA e anti-tTG para diagnóstico e monitoramento de pacientes celíacos, notou-se que o primeiro anticorpo foi melhor (UTIYAMA et al, 2007;

KOTZE et al, 2003), uma vez que na presente investigação todos e os transgressores ao tratamento foram positivos para o EmA (tabela 4).

7.3 DETERMINAÇÃO DE ASCA E ANCA

Vários são os autoanticorpos detectados no soro de pacientes com doenças inflamatórias intestinais. A descrição do ASCA na DC, tanto em pacientes como em familiares, está presente em vários relatos, sugerindo que o mesmo possa ser considerado marcador para esta afecção, além de estar relacionado com alterações de permeabilidade da mucosa intestinal (VERMEIRE et al, 2008; ISRAELI et al, 2004), justificando complicações da doença, confirmando, assim, dados descritos por Sutton et al (2000); Reese et al (2006); Kaila et al (2005).

No presente estudo, a positividade do ASCA IgA/IgG esteve presente nos indivíduos com DC, porém os pacientes celíacos também apresentaram positividade (tabela 4; gráfico 3).

Amre et al (2006), relatam que a positividade de ASCA em pacientes com DC torna-se útil para identificar complicações precoces e indicação de cirurgia na população pediátrica. Além disso, este marcador sorológico pode direcionar tratamento preventivo em pacientes susceptíveis a complicações, e desta forma modificar o curso da doença.

Contudo, a positividade de ASCA, tanto IgA como IgG, nos dois grupos de celíacos (tabela 4; gráfico 3), demonstra também alteração de permeabilidade em nível de mucosa intestinal. Alguns autores (GRANITO et al, 2005; DAMOISEAUX et al, 2002; BARTA et al, 2003) referem que este anticorpo poderia ser utilizado no diagnóstico e monitoramento da dieta na Dc.

Mallant-Hent et al (2006) e Granito et al (2005), relatam a importância da detecção de ASCA em indivíduos com Dc, uma vez que durante a realização de dieta isenta de glúten, a positividade para este anticorpo desapareceu, sugerindo a

possibilidade da realização de ASCA como outra forma de monitoração da dieta proposta.

Este é o primeiro relato no Brasil desta condição, demonstrando ser um aspecto importante, todavia sua utilização, com estes objetivos é questionável.

A determinação do anticorpo anti-citoplasma de neutrófilo (ANCA) é realizada para auxiliar no diagnóstico diferencial das doenças inflamatórias intestinais (DII), entre elas DC e retocolite ulcerativa (RCU), pois a presença de anormalidades imunes têm sido descritas nas mesmas, sendo o ANCA considerado marcador sorológico para diagnóstico da RCU. Israeli et al, 2005; Granito et al, 2005 recomendam a identificação deste anticorpo também para pacientes com Dc. Acredita-se que a positividade de ANCA resulte de inflamação crônica, extensa infiltração de neutrófilos e liberação de conteúdo granular (DAMOISEAUX et al, 2002). Entretanto, neste experimento não se detectou positividade deste anticorpo nos celíacos (tabela 4; gráfico 3), corroborando dados de Utiyama et al, 2001.

Na presente pesquisa, pode-se observar a positividade de ANCA somente nos indivíduos com DC (baixa porcentagem 5.6%) (tabela 4), demonstrando, assim, que o mesmo está presente naqueles com inflamação crônica intestinal e extensa infiltração de neutrófilos, o que não foi observado nos grupos de Dc. O mesmo fato foi relatado por Gisbert et al (2004), que demonstraram positividade de ANCA em somente 1 dos 117 pacientes com DC estudados, sugerindo baixa sensibilidade deste anticorpo para diagnóstico de RCU nos pacientes com DII, todavia alta especificidade do mesmo. Em estudo brasileiro realizado por Utiyama et al (2001), os mesmos autores também referem ausência deste anticorpo nos pacientes celíacos. Dados semelhantes a este estudo também foram apontados por Vecchi et al (1994), que encontraram ANCA positivo em 4.8% dos pacientes com doença de Crohn e 0% nos celíacos.

Através de estudo prospectivo comparando-se ASCA e ANCA, Lawrance et al (2004), demonstraram que a determinação de ANCA é mais sensível na população caucasóide quando comparada à população chinesa com RCU; e a determinação de ASCA IgA é bem menor nos chineses. Contudo, tanto ASCA como ANCA tornam-se úteis para diferenciação destas afecções em ambas populações, além de que altos títulos de ASCA IgA e ASCA IgG serem potencialmente importantes para auxiliar na

determinação do risco em desenvolver complicações da DC, mesmo não sendo esta condição identificada no presente estudo.

7.4 DETERMINAÇÃO DOS DEMAIS AUTOANTICORPOS NOS PACIENTES COM Dc E DC

Bagnasco et al (2007), descrevem que a identificação de diferentes autoanticorpos, como anti-transglutaminase tecidual, fator anti-nuclear e anti-tireóide, são mais freqüentes nas doenças autoimunes (DAI), e sua positividade em outras afecções demonstra serem fatores de risco para as DAI's.

Tanto na Dc como na DC, manifestações articulares são referidas pelos pacientes, e possivelmente relacionadas a complexos imunes, sem diagnóstico de afecção do tecido conjuntivo. O presente estudo identificou positividade em pequena porcentagem do FAN entre os grupos estudados: celíacos DX 6.7%, celíacos DIG 6.7% e DC 8.3%, com baixos títulos detectados (tabela 4; gráfico 4). Dados da literatura referem que a coexistência entre Dc e LES é rara, entretanto alguns casos já foram relatados, como os descritos por Mukamel et al (1994) e Komatireddy et al (1996). Quanto à correlação entre DC e alterações reumatológicas e LES, não existem dados na literatura até o momento. Ressalta-se que não houve associação com colagenoses neste trabalho.

Com relação ao autoanticorpo anti-célula gástrica parietal (ACGP), a presente pesquisa demonstrou positividade em apenas 1 paciente do grupo de celíacos DIG, sugerindo a presença de gastrite autoimune. Postula-se que a dieta isenta de glúten não caracterize fator protetor para esta situação (CORAZZA et al, 1997).

Destaca-se que nenhum dos pacientes estudados apresentou, até o momento, clínica de gastrite autoimune associada (tabela 4; gráfico 4). A coexistência de Dc com anemia perniciosa e/ou gastrite atrófica também é rara, conforme demonstrado por Sheehan; Stanton-King (1993), sugerindo que mais estudos clínicos deverão ser realizados para elucidar sua importância frente à positividade deste autoanticorpo.

Quanto à correlação entre ACGP e suas manifestações clínicas e a DC, também não há relatos na literatura. Sendo assim, a determinação do ACGP, é sugerida, especialmente para os celíacos, para acompanhamento e investigação destas entidades.

O autoanticorpo anti-músculo liso (AML) se apresentou positivo em uma pequena amostra dos celíacos (DX e DIG) estudados (tabela 4; gráfico 4). De acordo com Hodges et al (1991) e Sjoberg; Lindgren; Eriksson (1997), estes sugerem programas de triagem para hepatite autoimune em pacientes celíacos, uma vez que este autoanticorpo associado ao FAN é freqüentemente observado nas hepatites autoimunes. Embora haja possível presença de alterações hepáticas frente à positividade deste autoanticorpo, tal fato não foi observado nem nos celíacos e nem nos com DC nesta investigação.

Os anticorpos ALKM e AMIT não apresentaram positividade na população estudada, e nem se observou associações clínicas relacionadas a estes anticorpos, como hepatite crônica ativa e cirrose biliar primária (tabela 4).

Quanto ao anti-TPO, sua positividade esteve presente em todos os grupos estudados (tabela 4; gráfico 4). No que diz respeito à presença deste anticorpo nos pacientes com Dc, sugere-se que o mesmo possa estar relacionado ao aparecimento de doenças da tireóide, uma das DAI's mais freqüentes nesta população (ANSALDI et al, 2003b; SATEGNA-GUIDETTI et al, 1998). Em trabalho brasileiro Kotze et al (2006), demonstraram coexistência de disfunções tireoidianas em 43.3% dos celíacos estudados com positividade para anti-TPO. Nisihara et al (2005), também encontraram associação de Dc e disfunções da tireóide em indivíduos com síndrome de Down. No presente trabalho, observou-se esta associação clínica nos grupos de celíacos em alta porcentagem (17.6% DX e 50% DIG) e mais em idosos.

A correlação entre a presença de anti-TPO na DC constitui-se em investigação recente. Todavia, o presente estudo demonstrou que dentre os 8 pacientes em que se determinaram estes autoanticorpos, 75% (6) foram positivos (tabela 4; gráfico 4). Estudos epidemiológicos vêm demonstrando aumento da prevalência entre hipertireoidismo e doenças inflamatórias intestinais (DII) como RCU, mas não com DC (MONSEN et al, 1990; SNOOK; SILVA; JEWELL, 1989; JARNEROT; AZAD KHAN; TRUELOVE, 1975).

Shah et al (1998) relataram a ocorrência de tireoidite autoimune em três pacientes com doença de Crohn, enquanto Inokuchi et al (2005) relataram doença autoimune da tireóide em 2 pacientes, um com doença de Graves e outro com tireoidite de Hashimoto. Destaca-se que, no presente estudo, três pacientes com DC e manifestações clínicas de doença da tireóide, apresentaram positividade para este autoanticorpo.

7.5 ASSOCIAÇÕES CLÍNICAS NOS PACIENTES COM Dc E DC

Os relatos de associações clínicas autoimunes com a Dc e com a DC vem crescendo substancialmente. A presença de doenças autoimunes muitas vezes é a primeira manifestação clínica antes do diagnóstico da doença básica.

Quanto aos pacientes celíacos (DX e DIG), observou-se que 35.6% destes apresentaram doenças autoimunes associadas e manifestadas clinicamente (figura 20), sendo relatados dermatite herpetiforme, diabetes mellitus e doenças da tireóide.

A prevalência de DAI's não se relaciona com a idade do paciente quando do diagnóstico da Dc e nem com seu diagnóstico tardio; porém, o risco de desenvolvimento de DAI's é maior para aqueles que apresentam diagnóstico em idade avançada ou para aqueles com longa história da doença (BAGNASCO et al, 2007; VENTURA et al 1999).

A dermatite herpetiforme (DH) não é considerada uma associação, mas sim a manifestação dermatológica da Dc, podendo preceder a sintomatologia da Dc ou surgir muito tempo depois do diagnóstico da afecção intestinal. No presente trabalho, 8.9% dos pacientes celíacos apresentaram clínica de DH, corroborando assim dados da literatura (KOTZE et al 2009). A maioria dos pacientes com DH apresenta lesões intestinais indistinguíveis das encontradas na Dc. Cerca de 60% dos pacientes com DH mostram atrofia subtotal e 30% mostram atrofia vilositária parcial à biópsia. Após início da DIG estas alterações histológicas desaparecem, recomendando-se, assim, a determinação dos autoanticorpos para acompanhamento dos pacientes. Com relação

aos achados do presente trabalho, dos pacientes com Dc (n=45) e que apresentaram DH (n=4), 2 eram positivos tanto para os autoanticorpos EmA e como para anti-tTG.

Démoullins-Giacco et al (1996) relataram que pacientes apresentaram DH de 3 a 22 anos após o diagnóstico inicial da Dc. Além disto, os mesmos identificaram que alguns pacientes não apresentavam sintomas gastrintestinais, outros tiveram a DH manifestada após ingestão de glúten e somente um indivíduo apresentou lesão da pele em tratamento com DIG. Tal relato corrobora os resultados deste trabalho, pois 2 pacientes celíacos e com DH eram identificados como celíacos DIG, isto é, em tratamento com dieta isenta de glúten, sugerindo, desta forma, que o acompanhamento por meio da determinação de autoanticorpos é fundamental para monitoramento da Dc e das suas associações clínicas.

Vários estudos correlacionam as endocrinopatias como o diabetes mellitus tipo I (DM tipo I) com a Dc, demonstrando 0,97 a 16,4% de Dc em pacientes diabéticos tipo I. Em estudos brasileiros Tanure et al (2005) relataram prevalência de 2,6% de DM tipo I em crianças e adolescentes celíacos; Baptista et al (2005) referiram prevalência de 4,8%. A predisposição genética comum a ambas pode ser uma possível explicação para esta associação clínica. No presente trabalho, observou-se que 4,4%, isto é, 2 pacientes celíacos DX apresentaram esta associação, sendo um paciente jovem do sexo feminino com DM tipo I e outro paciente adulto do sexo masculino com DM tipo II. Frente ao exposto, a determinação sorológica torna-se fundamental e recomendada aos pacientes diabéticos, uma vez que a Dc pode ser silenciosa, evitando assim o desenvolvimento de processos associados e demais comorbidades. Ressalta-se ainda, que no presente estudo a determinação de autoanticorpos para DM não foi realizada.

As DAI's da tireóide englobam um conjunto de alterações tireoideanas com características imunológicas comuns e origem etiopatogênica semelhantes, apresentando-se nas formas de hipotireoidismo (tireoidite de Hashimoto) ou hipertireoidismo (doença de Graves). Aproximadamente 5% dos celíacos podem apresentar disfunções tireoideanas, sendo que em 14% há a DAI na idade infantil.

Cuoco et al (1999), demonstraram a coexistência entre Dc e DAI da tireóide, sendo as disfunções tireoideanas a DAI mais comum associada à Dc. O presente estudo, demonstrou 28,9% dos celíacos com doença da tireóide. No Brasil, Kotze et al

(2006) encontraram doenças da tireóide em 43,3% dos pacientes celíacos adultos. Estes dados correspondem a outros da literatura, como Ansaldi et al (2003) que demonstraram DAI da tireóide em 26.2% de crianças celíacas, e Sategna-Guidetti et al (2001), que detectaram 16.2% de celíacos adultos com DAI da tireóide.

Tanto a Dc como as DT são preponderantes em mulheres (KOTZE, 2004). Confirmando esta assertiva, a presente pesquisa demonstrou que no grupo de celíacos com DT associada (n=13), 84.6% eram do sexo feminino, com idade superior a 45 anos, resultados semelhantes aos de Kotze et al (2006), (82.7% de celíacos com DT do sexo feminino, com idade média de 41.1 anos). Conclui-se que é importante a investigação sorológica destas doenças, tanto para diagnóstico como para monitoramento, especialmente nos casos de Dc silenciosa, onde a determinação de autoanticorpos poderá ajudar em seu diagnóstico em indivíduos com DAI da tireóide, e vice-versa.

As associações clínicas nos pacientes com doença de Crohn representaram 11.1% da amostra estudada (figura 21), destacando-se a psoríase (25%) e as doenças da tireóide (75%).

A associação entre DC e psoríase vem sendo descrita por alguns autores, postulando que a mesma possa ser um das associações clínicas observadas (LEE; BELLARY; FRANCIS, 1999). Dentre 136 pacientes com DC, 9.6% (n=13) apresentaram psoríase como doença associada, sendo que a idade e a localização da DC não influenciou tais resultados. Além disso, este mesmo estudo demonstrou possível relação genética entre as duas entidades, uma vez que dos 14 pacientes com DC, 3 com psoríase, relataram psoríase em seus familiares de primeiro grau (LEE; BELLARY; FRANCIS, 1999).

Canbay et al (2001) relataram psoríase em uma paciente de 66 anos com DC, descrevendo, ainda, que quando da interrupção do tratamento, houve exacerbação das duas afecções. Cohen et al (2008), acompanharam pacientes com doenças inflamatórias intestinais (DII), mais especificamente RCU e DC, nos Estados Unidos da América (EUA), sugerindo estreita relação entre DII e doenças auto-imunes. Neste mesmo trabalho, demonstrou-se também risco aumentado em desenvolver DAI's, como artrite psoriática nesses pacientes, quando comparado ao grupo controle, sugerindo,

desta forma, que mais estudos epidemiológicos são necessários para confirmação destes achados.

As doenças autoimunes da tireóide são conhecidas como complicações das DII. Um aumento da prevalência da associação entre doenças autoimunes da tireóide e retocolite ulcerativa vem sendo sugerido. Entretanto com a DC esta relação torna-se bastante rara (JARNEROT; AZAD KHAN; TRUELOVE, 1975; SNOOK; SILVA; JEWELL, 1989; MONSEN et al, 1990). Inokuchi et al (2005) relatam dois casos em pacientes do sexo feminino e adultos, com DC e DAI da tireóide (tireoidite de Hashimoto e doença de Graves), considerando que prováveis fatores etiológicos, ambientais e genéticos, possam contribuir para a coexistência destas doenças. Anteriormente aos autores citados, Shah et al (1998) descreveram a ocorrência de tireoidite de Hashimoto em três pacientes com DC, dois do sexo feminino (43 e 55 anos de idade) e um masculino (44 anos), postulando também que fatores genéticos e ambientais estejam envolvidos nesta associação, e que o conceito de autoimunidade é importante na patogênese das DII.

Na presente investigação, dos pacientes com DC (n=36), até o momento, 3 destes apresentaram manifestações clínicas de doenças da tireóide, dois do sexo feminino (59 e 67 anos de idade) e um masculino (16 anos de idade) (apêndice 1), dados semelhantes aos acima citados. Contudo, mais investigações clínicas são necessárias para esclarecer a exata relação entre DC, DAI da tireóide e a resposta imune.

No que diz respeito à positividade de autoanticorpos no soro de todos os pacientes estudados e correlacionando-os com as DAI's, não se pode estabelecer associação, uma vez que alguns pacientes com manifestações clínicas eram negativos para os autoanticorpos, ou não foram testados para o mesmo, enquanto outros sem clínica evidente eram positivos.

Em síntese, as afecções autoimunes encontradas nos pacientes celíacos (dermatite herpetiforme, doenças autoimunes da tireóide, diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2) são as usualmente descritas na literatura e relacionadas com genes do sistema HLA. Na DC houve um caso com psoríase e destaca-se, embora em número pequeno de casos, a associação com doenças da tireóide com manifestações clínicas. Presume-se

que a ligação entre positividade de autoanticorpos e doenças autoimunes associadas ainda permanece um desafio à pesquisa clínica.

Neste contexto, a determinação de amplo painel de autoanticorpos pode se mostrar útil no diagnóstico diferencial de várias afecções, além de permitir suspeição diagnóstica antes do aparecimento de manifestações clínicas, seja da doença básica, seja das doenças autoimunes associadas, reforçando a aplicabilidade clínica da presente pesquisa.

8 CONCLUSÕES

A análise dos dados obtidos no presente estudo permitiu as seguintes conclusões:

1. Houve prevalência de adultos jovens do sexo feminino em ambas afecções estudadas. Tais dados demonstram que a Dc e a DC mantêm, no sul do Brasil, as mesmas características demográficas que em outros países.

2. A ocorrência total de autoanticorpos foi maior na Dc do que na DC, sugerindo maior componente autoimune na primeira. A menor frequência de autoanticorpos nos celíacos tratados aponta a presença de glúten como possível desencadeante das alterações de autoimunidade.

3. Os autoanticorpos anti-endomísio (EmA) e anti-transglutaminase tecidual (anti-tTG) mostraram-se excelentes marcadores para Dc, tanto para diagnóstico como para monitoramento da dieta isenta de glúten. Na DC, o EmA não demonstrou aplicabilidade clínica ao apresentar-se totalmente negativo, inclusive nos casos positivos para o anti-tTG, nos quais havia grande comprometimento tecidual.

4. A positividade para o anticorpo anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), tanto nos pacientes com DC como nos celíacos, sugere forte correlação com alterações da permeabilidade da mucosa intestinal.

5. A determinação de anticorpos anti-tireoperoxidase (anti-TPO) foi de relevância tanto para a Dc, inclusive aparecendo nos celíacos tratados e com maior idade, como nos pacientes portadores de DC, apesar do número pequeno de casos. Recomenda-se que sejam pesquisados periodicamente em ambas afecções, independente do tempo da doença e do tratamento instituído.

6. O fator anti-nuclear (FAN) foi positivo nos pacientes celíacos e com DC com queixas articulares, embora em baixa porcentagem. Os autoanticorpos anti-mitochondrial (AMIT) e anti-microsomal de fígado e rim (ALKM) não foram detectados, correlacionando-se com a falta de evidência de alterações hepáticas nestes pacientes.

7. O anti-músculo liso (AML) foi positivo em pequena porcentagem apenas nos celíacos, contudo sem evidência de alterações hepáticas. O anti-célula gástrica parietal (ACGP) foi positivo em um celíaco tratado demonstrando que, mesmo sem glúten, pode haver processo autoimune na mucosa gástrica.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A detecção de autoanticorpos pôde ser considerada como biomarcador. Além de contribuir para o diagnóstico das afecções estudadas também serviu de alerta para a concomitância ou previsão de outras afecções autoimunes que poderão ou não se manifestar nos pacientes estudados.

Numa visão futura, outros biomarcadores poderão ainda ser preconizados no estudo das doenças aqui pesquisadas. Tais considerações podem ser extensivas a doenças de outros aparelhos ou sistemas.

A relevância do atual estudo foi demonstrada pelas apresentações em eventos nacionais e internacionais (anexo B), pela premiação em congresso nacional (anexo C) e aceitação imediata em periódico internacional de grande impacto (anexo D e E).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, M.B.; PEÑA, A.S. Clinical applications of NOD2/CARD15 mutations in Crohn's disease. **Arq Gastroenterol Latinoam** 2007;37:49-64.

AHMAD, T. et al. The molecular classification of the clinical manifestations of Crohn's disease. **Gastroenterology** 2002;122:854-866.

AMRE, D.K. et al. Utility of serological markers in predicting the early occurrence of complications and surgery in pediatric Crohn's disease patients. **Am J Gastroenterol** 2006;101(3):645-652.

ALEXANDER-WILLIAMS, J. Doença de Crohn. In: Coelho, J.C.U. **Aparelho Digestivo. Clínica e Cirurgia** 2.a ed. Rio de Janeiro, MEDSI, p. 525-35, 1996.

ALVES, C. et al. Associação do sistema de histocompatibilidade humano com doenças gastrintestinais. **Acta Gastroenterol Latinoam** 2006;36:86-93.

ANSALDI, N. et al. Che cosa mangiano i bambini celiaci? Analisi dietologica su um gruppo di celiaci a dieta. **Riv Ital Pediatr** 1994;20(suppl):53. a

ANSALDI, N. et al. Autoimmune thyroid disease and celiac disease in children. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 2003;37:63-66. b

ARRANZ, E.; FERGUSON, A. Intestinal antibody pattern of celiac disease: occurrence in patients with normal jejunal biopsy histology. **Gastroenterology** 1993;104:1550-1562.

BAERT, F.; CAPRILLI, R.; ANGELUCCI, E. Medical therapy for Crohn's disease: top-down or step-up? **Dig Dis Sci** 2007; 25:260-266.

BAGNASCO, M.; GRASSIA, L.; PESCE, G. The management of the patient with unexpected autoantibody positivity. **Autoimmun Rev** 2007;6(6):347-353.

BAPTISTA, M.L. et al. Prevalence of celiac disease in Brazilian children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 2005;41:621-624.

BARBIERI, D.; KOTZE, L.M.S.; RODRIGUES, M. Doença inflamatória intestinal crônica inespecífica. In: KOTZE, L.M.S.; BARBIERI, D. **Afecções Gastrointestinais da Criança e do Adolescente**. 1ª edição, Revinter, Rio de Janeiro, 2003. p.298-329.

BARDELLA, M.T. et al. Need for follow-up in celiac disease. **Arch Dis Child** 1994;70:211-213.

BARTA, Z. et al. Seroreactivity against anti-*Saccharomyces cerevisiae* in patients with Crohn's disease and celiac disease. **World J Gastroenterol** 2003;9(10):2308-2312.

BENAHMED, M. et al. Inhibition of TGF-beta signaling by IL-15: a new role for IL-15 in the loss of immune homeostasis in celiac disease. **Gastroenterology** 2007;132:994-1008.

BERGE-HENEGOUWEN, G.P van; MULDER, C.J. Pioneer in the gluten free diet: Willen-Karel Dicke 1905-1962, over 50 years of gluten free diet. **Gut** 1993;34(11):1473-1475.

BIZARRO, N et al. IgA and IgG Tissue transglutaminase antibody prevalence and clinical significance in connective tissue disease, inflammatory bowel disease and primary biliar cirrhosis. **Dig Dis Sci** 2003;48(12):2360-2365.

BLOMM, P.D. et al. Wireless capsule endoscopy (CE) is more informative than ileoscopy and SBFT for the evaluation of the small intestine (SI) in patients with known or suspected Crohn's disease. **Gastroenterology** 2003;14(4) Supl 1:A203.

BORRELLI, O. et al. Infliximab heals intestinal inflammatory lesions and restores growth in children with Crohn's disease. **Dig Liver** 2004;36:342-7.

BROCCHI, E.; CORAZZA, G.R.; CALETTI, G. Endoscopic demonstration of loss of duodenal folds in the diagnosis of celiac disease. **N Engl J Med** 1988;319:741-744.

BUCHMANN, P.; ALEXANDER-WILLIAMS, J. Classification of perianal Crohn's disease. **Clin. Gastroenterol** 1980;9:323-30.

BUNN, S.K et al. Fecal calprotectin as a measure of disease activity in childhood inflammatory bowel disease. **JPGN** 2001; 32:171-7.

CALICH, I. Doenças auto-imunes. In: FERRI, R.G.; CALICH, V.L.G.; VAZ, C.A.C. **Imunologia**. 2ª edição, Artes Médicas, São Paulo, 1979. p. 274-305.

CAMPOS, J,V.M.; KOTZE, L.M.S. Doença Celíaca (Espru celíaco, enteropatia glúten-sensível). **Arq Gastroenterol** 1980;17:176-180.

CANBAY, A. et al. Generalized pustulous psoriasis: A novel extraintestinal manifestation of Crohn's disease? **Z Gastroenterol** 2001;39(9):801-805.

CASE, S. The Gluten-free diet: How to provide effective education and resources. **Gastroenterology** 2005;128:S128-S134.

CATASSI, C. et al. Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. **Lancet** 1994;343:200-203.

CATASSI, C. et al. Association of celiac disease and intestinal lymphomas and other cancers. **Gastroenterology** 2005;128:S79-S86.

COOPER, G.S.; STROEHLA, B.C. The epidemiology of autoimmune diseases. **Autoimmunity Reviews** 2003;2:119-125.

CORAZZA, G.R. et al. Autoimmune enteropathy and villous atrophy in adults. **Lancet** 1997;350(9071):1.

COHEN, R. et al. Autoimmune disease concomitance among inflammatory bowel disease patients in the United States, 2001-2002. **Inflamm Bowel Dis** 2008;14(6):738-743.

CUOCO, L. et al. Prevalence and early diagnosis of celiac disease in autoimmune thyroid disorders. **Ital J Gastroenterol Hepatol** 1999;31:283-287.

CUFFARI, C. Inflammatory bowel disease in children: a pediatrician's perspective. **Minerva Pediatr** 2006;58:139-157.

DAMOISEAUX, J.G.M.C. et al. Diagnostic value of anti-*Saccharomyces cerevisiae* and antineutrophil cytoplasmic antibodies for inflammatory bowel disease: high prevalence in patients with celiac disease. **J Clin Immunol** 2002;22(5):281-288.

DASS, K.M. Relationship of extraintestinal involvements in inflammatory bowel disease: new insights into autoimmune pathogenesis. **Dig Dis Sci** 1999;44(1):1-13.

DELLAVANCE, A. et al. II Consenso brasileiro de fator antinuclear em células Hep-2. **Rev Bras Reumatol** 2003;43(3):129-141

DESPLAT-JÉGO, S. et al. Update on anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies, anti-nuclear associated antineutrophil antibodies and antibodies to exocrine pancreas detected by indirect immunofluorescence as biomarkers in chronic inflammatory bowel disease: Results of a multicenter study. **World J Gastroenterology** 2007;13:2312-8.

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

DIETERICH, W. et al. Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease. **Gastroenterology** 1998;115:317-321.

DI TOLA, M. et al. Anti-tissue transglutaminase antibodies in inflammatory bowel disease: new evidence. **Clin Chem Lab Med** 2004;42(10):1092-1097.

DOWD, B.; WALKER-SMITH, J. Samuel Gee, Arataeus and the celiac affection. **Br Med J** 1974;2(5909):45-47.

DUBINSKY, M.C. et al. Serum immune responses predict rapid disease progression among children with Crohn's disease: immune responses predict disease progression. **Am J Gastroenterol** 2006;101:360-367.

FABIANI, E. et al. Dietary compliance in screening-detected coeliac disease adolescents. **Acta Paediatr Suppl** 1996;412:65-67.

FARIA, L.C. et al. Aspectos clínicos da doença de Crohn em um centro de referência para doenças intestinais. **GED** 2004;23(4):151-164.

FASANO, A. Clinical presentation of celiac disease in the pediatric population. **Gastroenterology** 2005;128:S68-S73.

FASANO, A. Systemic autoimmune disorders in celiac disease. **Curr Opin Gastroenterol** 2006;22:674-679.

FASANO, A.; SHEA-DONOHUE, T. Mechanisms of disease: the role of intestinal barrier function in the pathogenesis of gastrointestinal autoimmune diseases. **Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology** 2005;2(9):416-421.

FERREIRA, M. et al. Endomysial antibody: is it the best screening test for celiac disease? **Gut** 1992;33:1633.

FIGUEIREDO, V. Diagnóstico laboratorial de hepatites auto-imunes. *Medicina Laboratorial. Espaço Diagnóstico*. 2008;2:01.

FIOCCHI, C. Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. **Gastroenterology** 1998;115:182-205.

FRANCO LOIDA, C.E.; DANI, R. Atualização em doença de Crohn. **J. Bras. Gastroenterol** 2005;5:49-62.

GANDOLFI, L. et al. Prevalence of celiac disease among blood donors in Brazil. **Am J Gastroenterol** 2000;95:689-692.

GASCHE, C. et al. A simple classification of Crohn's disease: Report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology, Vienna 1998. **Inflamm Bowel Dis** 2000;6: 8-15.

GISBERT, J.P. et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in the diagnoses of ulcerative colitis and Crohn's disease. **Med Clin** 2004;122(4):134-135.

GHORAISHIAN, S.M.; HEKMATI MOGHADDAM, S.H.; AFKHAMI-ARDEKANI, M. Relationship between anti-thyroid peroxidase antibody and thyroid function test. **Iran J Immunol** 2006;3(3):146-149.

GRANITO, A. et al. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* and perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in coeliac disease before and after gluten-free diet. **Aliment Pharmacol Ther** 2005;21:881-887.

GREEN, P.H.R. The many faces of celiac disease: Clinical presentation of celiac disease in the adult population. **Gastroenterology** 2005;128:S74-S78.

GREEN, P.H.R.; CELLIER, C. Celiac disease. **N Engl J Med** 2007;357(17):1731-1743.

GUPTA, N. et al. Risk factors for initial surgery in pediatric patients with Crohn's disease. **Gastroenterology** 2006;130:1069-1077.

HALFVARSON, J. et al. Environmental factors in inflammatory bowel disease: A co-twin control study of a Swedish-Danish twin population. **Inflamm Bowel Dis** 2006;12:925-933.

HARDMAN, C.M. et al. Absence of toxicity of oats in patients with dermatitis herpetiformis. **N Engl J Med** 1997;337:1884-1887.

HILL, I.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.

HILL, P.G.; HOLMES, G.K. Coeliac disease: a biopsy is not always necessary for diagnosis. **Aliment Pharmacol Ther** 2008;

HODGES, S. et al. Autoimmune chronic active hepatitis in a family. **Gut** 1991;32(2):299-302.

HOLLANDER, D. Permeability in Crohn's disease: altered barrier function in health relatives? **Gastroenterology** 1993;104:1848-1851.

INOKUCHI, T. et al. Autoimmune thyroid disease (Grave's disease and Hashimoto's thyroiditis) in two patients with Crohn's disease: case reports and literature review. **Intern Med** 2005;44(4):303-306.

ISRAELI, E. et al. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* and antineutrophil cytoplasmic antibodies as predictors of inflammatory bowel disease. **Gut** 2005;54:1232-1236.

IVARSSON, A. et al. Breast-feeding protects against celiac disease. **Am J Nutr** 2002;75:921-924.

JANOWITZ, H.D. **Burris B Crohn (1884-1983) Life and Work**. Falk Foundation e.V. 2000 1a edição 2000 Germany.

KAGNOFF, M. Overview and Pathogenesis of Celiac Disease. **Gastroenterology**. 2005;128:S10-S18.

KAILA, B., ORR, K., BERNSTEIN, C.N. The anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibody assay in a province-wide practice: accurate in identifying cases of Crohn's disease and predicting inflammatory disease. **Can J Gastroenterol** 2005;19(12):717-721.

KALAYCI, A.G. et al. The prevalence of celiac disease as detected by screening in children with iron deficiency anemia. **Acta Paediatr** 2005;94:678-681.

KETTANEH, A. et al. Hyperthyroidism in two patients with Crohn disease and Takayasu arteritis. **Scand J Gastroenterol** 2003;38(8):901-903.

KETHU, S.R. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel diseases. **Journal of Clinical Gastroenterology** 2006;40(6):467-475.

KING, A.L.; CICLITIRA, P.J. Celiac disease: strongly heritable, oligogenic, but genetically complex. **Mol Gen Metabol** 2000;71:70-75.

KOMATIREDDY, G.R. et al. Association of systemic lupus erythematosus and gluten enteropathy. **South Med J** 1995;88(6):673-676.

KORPONAY-SZABÓ, I.R. et al. High prevalence of silent celiac disease in preschool children screened with IgA/IgG antiendomysium antibodies. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 1999;28:23.

KOTZE, L.M.S. Doença celíaca. In: LOPES, A. C. (ed). **Tratado de clínica médica**. São Paulo: Roca, 2009.pp. 973-990.

KOTZE, L.M.S. Doença Celíaca. **J bras Gastroenterol** 2006;6(1)23-34.

KOTZE, L.M.S. Gynaecological and obstetrical finding in Brazilian patients with celiac disease in relation to nutritional status and adherence to a gluten-free diet. **J Clin Gastroenterology** 2004;38:567-574.

KOTZE, L.M.S. Doença de Crohn. Experiência Pessoal. **Rev Bras Colo-Proctol** 1991;11-9-14.

KOTZE, L.M.S. et al. Thyroid disorders in Brazilian patients with celiac disease. **J Clin Gastroenterol** 2006;40(1):33-36.

KOTZE, L.M.S. et al. IgA class antiendomysium and anti-tissue transglutaminase antibodies in relation to duodenal mucosal changes in celiac disease. **Pathology** 2003;35:56-60.

KOTZE, L.M.S. et al. Antiendomysium antibodies in Brazilian patients with celiac disease and their first-degree relatives. **Arq Gastroenterol** 2001;38:94-103.

KOTZE, L.M.S et al. Comparação dos Anticorpos Anti-Reticulina e Antiendomísio Classe IgA para Diagnóstico e Controle da Dieta na Doença Celíaca. **Arq Gastroenterol** 1999;36(4):177-184.

KOTZE, L.M.S et al. Formas de apresentação e evolução da doença de Crohn na infância e na adolescência. **Rev Gastroenterol** 1994;pp.15.

KOTZE, L.M.S.; KOTZE, P.G. Doença de Crohn. In: BARBIERI, D.; KOTZE, L.M.S.; RODRIGUES, M.; ROMALDINI, C. (editores). **Atualização em doenças diarreicas da criança e do adolescente**. São Paulo: Atheneu, 2009 (no prelo).

KOTZE, L.M.S.; KOTZE, P.G. Infliximab na doença de Crohn. Experiência em sete casos. **V Semana do Aparelho Digestivo**, Rio de Janeiro. Temas Livres. Número 11. 2002.

KOTZE, L.M.S.; KOTZE, L.R. Clinical presentation, therapeutic management and evolution of Brazilian patients with Crohn's disease at different ages. **Trends in Inflammatory Bowel Disease Therapy** Vancouver, Canadá. 1999;27-29.

KRAWITT, E.L. Autoimmune hepatitis review. **The New England Journal of Medicine** 2006;354(1):54-66.

KUPPER, C. Dietary guidelines and implementation for celiac disease. **Gastroenterology** 2005;128:S121-S127.

LANNA, C.C.D et al. Manifestações articulares em pacientes com doença de Crohn e retocolite ulcerativa. **Rev Bras. Reumatol** 2006;46(1):45-51.

LAWRANCE, J.C. et al. Prospective comparative study of ASCA and pANCA in Chinese and Caucasian IBD patients. **Am J Gastroenterol** 2004;99(11): 2186-2194.

LEE, F.I; BELLARY, S.Y; FRANCIS, C. Increased occurrence of psoriasis in patients with Crohn's disease and their relatives. **Am J Gastroenterol** 1990;85(8):962-963.

LEON, F. et al. Anti-transglutaminase IgA ELISA: Clinical potential and drawbacks in celiac disease diagnosis. **Scand. J. Gastroenterol** 2001;36:849-853.

LIU, C; CRAWFORD, J.M.O trato gastrointestinal. In: KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. **Robins e Cotran – Patologia: Bases Patológicas das Doenças**. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier 7ª edição, 2005. p. 837-918.

LUDVIGSSON, J.F. et al. Celiac disease and risk of liver disease: a general population-based study. **Clin Gastroenterol Hepatol** 2007;5(1):63-69.

MALLANT-HENT, R.C. et al. Disappearance of anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies in coeliac disease during a gluten-free diet. **Eur J Gastroenterol Hepatol** 2006;18(1):75-78.

MARSH, M.N. Mucosal pathology in gluten sensitivity. In: MARSH, M.N. **Coeliac Disease**. 1st ed. Oxford: Blakwell Scientific Publications, 1992. p. 136-191.

MASCART-LEMONE, F. et al. Serological aspects of celiac disease. **Acta Gastroenterol Belg** 1992;55:200.

MELO, S.B.C. et al. Prevalence and demographic characteristics of celiac disease among blood donors in Ribeirão Preto, state of São Paulo, Brazil. **Dig Dis Sci** 2006;51:1020-1025.

MEUWISS, M.A. et al. New biomarkers of Crohn's disease: serum biomarkers and development of diagnostic tools. **Expert Rev Mol Diagn** 2008;8(3):327-337.

MITEA, C et al Efficient degradation of gluten by a prolyl endoprotease in a gastrointestinal model: implications for a celiac disease. **Gut** 2008;57:25-32.

MIYAKAWA, H. et al. Detection of anti-LKM 1 (anti-CYP2D6) by na enzyme linked immunosorbent assay in adults patients with cronic liver disease. **Autoimmunity** 1999;30(2):107-114.

MONTANELLI, A. et al. Immunological markers anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies (ASCA) and anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in inflammatory bowel disease: a helpful diagnostic tool. **Minerva Gastroenterol Dietol** 2005;51(2):201-207.

MOTA, E.S. et al. Manifestações extra-intestinais em doença de Crohn e retocolite ulcerativa: Prevalência e correlação com o diagnóstico, extensão, atividade, tempo de evolução da doença. **Rev. bras. Coloproct** 2007;27(4):349-363.

MUKAMEL, M. et al. Celiac disease associated with systemic lupus erythematosus. **Isr J Med Sci** 1994;30(8):656-658.

MURRAY, J.A. Celiac disease in patients with an affected member, type 1 diabetes, iron-deficiency, or osteoporosis? **Gastroenterology** 2005;128:S52-S56.

NASS, Flávia Raphaela. **Análise sorológica e clínico-laboratorial de auto-anticorpos em familiares de pacientes com doença celíaca**. 2008.132 f. Dissertação (Mestrado) – Ciências Farmacêuticas Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

NESS-ABRAMOF, R. et al. Prevalence and evaluation of B₁₂ deficiency in patients with autoimmune thyroid disease. **Am J Med Sci** 2006;332(3):119-122.

NISIHARA, R.M. et al. Celiac disease in children and adolescents with Down syndrome. **J Pediatr** 2005;81:373-376.

NIVELONI, S. et al. Antibodies against synthetic deamidated gliadina peptides as predictors of celiac disease: Prospective assessment in an adult population with high risk pretest probability of disease. **Clin Chem** 2007;53:2186-2192.

OGURA, Y. et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. **Nature** 2001;31;411(6837):603-606.

OLIVEIRA, R.P. et al. High prevalence of celiac disease in Brazilian blood donor volunteers based on screening by IgA anti-tissue transglutaminase antibody. **Eur J Gastroenterol** 2007;19:43-49.

PATERSON, B.M. et al. The safety, tolerance, pharmacokinetic and pharmacodynamic effects of single doses of AT-1001 in celiac disease subjects: a proof of concept study. **Aliment Pharmacol Ther** 2007;26:757-66.

PEREIRA, M.A. et al. Prevalence of celiac disease in an urban area of Brazil with predominantly european ancestry. **World J Gastroenterol** 2006;12:6546-6550.

PETRONIENE, R. et al. Performance evaluation of the Given® Diagnostic imaging system in diagnosing celiac disease. **Gastroenterology** 2002 (Suppl);122(4):A-329.

POLANCO, I; MARTÍN ESTEBAN, M; LARRAURI, J. Relación de los anticuerpos IgA anti-transglutaminasa tisular con la situación morfológica de la mucosa intestinal em niños com enfermedad celíaca. **Pediátrika** 2001;21:43-54.

POLITO, C. et al. Weight overgrowth of coeliac children on gluten-free diet. **Nutr Res** 1992;12:353-358.

PRESENT, D.H.; BANKS, P.A. The role of pANCA and ASCA in differentiating ulcerative colitis, Crohn's disease and indeterminate colitis. **Inflamm Bowel Dis** 1999;5:66-67.

QUINTON, J.F. et al. Anti-Sacharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. **GUT** 1998;42:88-91.

RASHID, M. et al. Consumption of pure oats by individual with celiac disease: a position statement by Canadian Celiac Association. **Can J Gastroenterol** 2007;21:649-651.

REESE, G.E. et al. Diagnostic precision of anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. **Am J Gastroenterol** 2006;101(10):2410-2422.

REWERS, M. Epidemiology of celiac disease: What are the prevalence, incidence, and progression of celiac disease? **Gastroenterology** 2005;128:S47-S51.

RITO NOBRE, S.; SILVA, T. PINA CABRAL, J.E. Doença celíaca revisitada. **J Port Gastroenterol** 2007;14:184-193.

ROMALDINI, C.C.; BARBIERI, D. Anticorpos séricos na doença celíaca. **Arq Gastroenterol** 1999;36(4):258-264.

ROSE, N.R.; MACKAY, I.R. Prelude. In: ROSE, N.R; MACKAY, I.R. **The Autoimmune Diseases**. 3 ed. New York: Academic Press, 1998. p.1-4.

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

SAIBENI, S. et al. Diagnostic role and clinical correlates of anti-*Sacharomyces cerevisiae* antibodies (ASCA) and anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (p-ANCA) in Italian patients with inflammatory bowel diseases. **Dig Liver Dis** 2003;35(12):862-868.

SANDBORN, W.J. et al. An open-label study of the human anti-TNF monoclonal antibody adalimumab in subjects prior loss of response or intolerance to infliximab for Crohn's disease. **Am J Gastroenterol** 2004;99:1984.

SARTOR, R.B. Pathogenesis and immune mechanisms of chronic inflammatory bowel diseases. **Am J Gastroenterol** 1997; 92:5S-11S.

SATEGNA-GUIDETTI, C. et al. Autoimmune thyroid diseases and coeliac disease. **Eur Gastroenterol Hepatol** 1998;10(11):927-931.

SCHUPPAN, D.; DIETERICH, W.; RIECKEN, E.O. Exposing gliadina as a tasty food for lymphocytes. **Nat Med** 1998;4:666-667.

SDEPANIAN, V.L.; MORAIS, M.B. de; FAGUNDES-NETO, U. Doença Celíaca: a evolução dos conhecimentos desde sua centenária descrição original até os dias atuais. **Arq Gastroenterol** 1999;36(4):244-257.

SELMI, C. One year in autoimmunity. **Autoimmunity Reviews** 2007;7:85-93.

SENDID, B. et al. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies in familial Crohn's disease. **Am J Gastroenterol** 1998; 93:1306-1310.

SHAH, S.A.; PEPPERCORN, M.A.; PALLOTTA, J.A. Autoimmune (Hashimoto's) thyroiditis associated with Crohn's disease. **J Clin Gastroenterol** 1998;26(2):117-120.

SHAN, L. et al. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. **Science** 2002;297:2275-2279.

SHEEHAN, N.J.; STANTON-KING, K. Polyautoimmunity in a young woman. **Br J Rheumatol** 1993;32(2):254-256.

SILVA, P.C da et al. Doença celíaca: Revisão. **Clin Pesq Odontol** 2006;2(5/6):401-406.

SJOBERG, K.; LINDGREN, S.; ERIKSSON, S. Frequent occurrence of non-specific gliadin antibodies in chronic liver disease. Endomysial but not gliadin antibodies predict celiac disease in patient with chronic liver disease. **Scand Gastroenterol** 1997;32(11):1162-1167.

SNINSKY, C.A. Altering the natural history of Crohn's disease? **Inflammat Bowel Dis** 2001;7(suppl. 1):S34-9.

SOLLID, L.M.; LIE, B.A. Celiac disease genetics: current concepts and practical applications. **Clin Gastroenterol Hepatol** 2005;3:843-851.

STEINWURZ, F., SCHEINBERG, M.A. Diagnóstico sorológico de doença inflamatória intestinal (ASCA e ANCA): avaliação de 70 casos. **GED** 2001;20(2):41-42.

STENE, L. et al. Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study. **Am J Gastroenterol** 2006;101:2333-2340.

STITES, D.P. et al. Métodos laboratoriais clínicos para detecção de antígenos e anticorpos. In: STITES, D.P.; TERR, A.I.; PARSLOW, T.G. **Imunologia Médica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 163-197.

STOJANOVICH, L., MARISAVLJEVICH, D. Stress as a trigger of autoimmune disease. **Autoimmunity Reviews** 2008;7:209-213.

SUGAI, E. et al. Accuracy of testing for antibodies to synthetic gliadin related peptides in celiac disease. **Clin Gastroenterol Hepatol** 2006;4:1112-1117.

SUTTON, C.L. et al. Familial expression of anti-*Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies in affected and unaffected relatives of patients with Crohn's disease. **Gut** 2000;46:58-63.

TANURE, M.G. et al. Prevalence of celiac disease in Brazilian children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 2005; 41:621-624.

UTIYAMA, S.R.R.; REASON, Y.J.T.M.; KOTZE, L.M.S. Aspectos genéticos e imunopatogênicos da doença celíaca: visão atual. **Arq Gastroenterol** 2004;41(2):121-128.

UTIYAMA, S.R.R. et al. Spectrum of autoantibodies in celiac patients and relatives. **Dig Dis Sci** 2001;46:2623-2630.

UTIYAMA, S.R.R. et al. Correlação dos anticorpos anti-endomísio e antitransglutaminase com a doença celíaca. **RBAC** 2002;34:245-399.

UTIYAMA, S.R.R. et al. Triagem sorológica de familiares de pacientes com doença celíaca. Anticorpos anti-endomísio, anti-transglutaminase ou ambos? **Arq Gastroenterol** 2007;44:156-161.

VANDER CRUYSSSEN, B. et al. CARD 15 polymorphisms are associated with anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies in caucasian Crohn's disease patients. **Clin Exp Immunol** 2005;140:354-359.

VASILIAUSKAS, E.A. et al. Marker antibody expression stratifies Crohn's disease into immunologically homogenous subgroups with distinct clinical characteristics. **Gut** 2000;47:487-496.

VECCHI, M. et al. Antibodies to neutrophil cytoplasm in Italian patients with ulcerative colitis: Sensitivity, specificity and recognition of putative antigens. **Digestion** 1994;55(1):34-39.

VENTURA, A.; MAGAZZU, G.; GRECO, L. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. **Gastroenterology** 1999;117:297-303.

VERMEIRE, S. et al. (Auto) Antibodies in inflammatory bowel diseases. **Gastroenterol Clin Noth Am** 2008;37(2):429-438.

VOLTA, U. et al. IgA anti-endomysial antibodies on human umbilical cord tissue for celiac disease screening: save both money and monkeys. **Dig Dis Sci** 1995;40:1902-1905.

ZONE, J.J. Skin Manifestation of Celiac Disease. **Gastroenterology** 2005;128:S87-S91.

WAHBEH, G.; WYLLIE, R.; KAY, M. Value of serologic marker (ANCA & ASCA) in the diagnosis of pediatric inflammatory bowel disease. **J Pediatric Gastroentrol Nutr** 2001;33(3):370-385.

WALKER, T.R. et al. Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker of disease activity in children and young adults with inflammatory bowel disease. **J Pediatric Gastroenterol Nutr** 2007;44:414-422.

WANG, Y.F; ZHANG, H; OUYANG, Q. Clinical manifestations of inflammatory bowel disease: East and West differences. **J Dig Dis** 2007;8(3):121-127.

WGO-OMGE Practice Guidelines. Celiac disease. **World Gastroenterology News** 2005;Suppl:1-8.

WOLTERS, V.M; WIJMENGA, C. Genetic background of celiac disease and its clinical implications. **Am J Gastroenterol** 2008;103:190-195.

APÊNDICES

APÊNDICE A – PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS 1

PROTOCOLO PARA COLETA DE DADOS (1)

DOENÇA CELÍACA

[illegible]

PROTOCOLO PARA COLETA DE DADOS (1)

DOENÇA DE CROHN

[illegible]

APÊNDICE B – PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS 2

PROTOCOLO PARA COLETA DE DADOS (2)

DOENÇA CELÍACA (Dc)

Identificação paciente (iniciais): _____ Dc n.º: _____

Idade: _____ Sexo: () F () M

Dieta: () habitual (com glúten) () sem glúten (aderente)
() sem glúten (não aderente)

Doenças associadas: _____

Outros tratamentos: _____

DOENÇA DE CROHN (DC)

Identificação paciente (iniciais): _____ DC n°: _____

Idade: _____ Sexo: () F () M

Doenças associadas: _____

Tratamento clínico progresso: _____

Tratamento clínico atual: _____

Cirugías: _____

APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Eu _____, RG nº _____, estou sendo convidado a participar de um estudo denominado: “Perfil de Autoanticorpos em Pacientes Portadores de Doença Celíaca e de Doença de Crohn”, cujo objetivo é identificar e comparar o perfil de autoanticorpos em pacientes portadores de doença celíaca e de doença de Crohn.

Sei que para o avanço da pesquisa a participação de voluntários é de fundamental importância. Caso aceite participar desta pesquisa eu participarei da chamada oficial para coleta de sangue para identificação dos autoanticorpos e responderei a um questionário/anamnese elaborado pelos pesquisadores, que consta de questões fechadas, abertas e objetivas, referentes a alguns casos da prática de profissionais de saúde.

Estou ciente de que minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome, ou qualquer outro dado confidencial, será mantido em sigilo. A elaboração final dos dados será feita de maneira codificada, respeitando o imperativo ético da confidencialidade.

Estou ciente também, que haverá desconforto relacionado à punção venosa para coleta de sangue, bem como, de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, nem sofrer qualquer dano.

Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto são: orientadora Professora Doutora Lorete Maria da Silva Kotze e mestrande Petra Mirella Theiss, com quem poderei manter contacto pelos respectivos telefones: 3243-0033, 3271-2285; 9121-6137, 3567-7188.

Estão garantidas todas as informações que eu queira saber antes, durante e depois do estudo.

Li, portanto, este termo, fui orientado quanto ao teor da pesquisa acima mencionada e compreendi a natureza e o objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. Concordo, voluntariamente em participar desta pesquisa, sabendo que não receberei nem pagarei nenhum valor econômico por minha participação.

Assinatura do sujeito de pesquisa

Assinatura dos pesquisadores

Curitiba, _____ de _____ de 2007.

APÊNDICE D – DADOS REFERENTES AOS PACIENTES COM Dc

Iniciais, sexo, idade, grupo, EmA, anti-tTG, ASCA IgA, ASCA IgG, ANCA, AML, AMIT, FAN, ALKM, ACGP, anti-TPO e doenças autoimunes (DAI) associadas

N	INICIAIS	SEXO	IDADE	GRUPO	EmA	anti-tTG	ASCA IgA	ASCA IgG	ANCA	AML	AMIT	ALKM	FAN	ACGP	anti-TPO	DAÍ
1	MSM	F	51	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	P	DT
2	IC	F	51	DX	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	P	DT
3	KR	F	22	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N
4	SF	F	43	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N
5	AHL	F	45	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N
6	RJ	F	38	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N
7	KP	F	23	DX	P	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N
8	NS	F	29	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	P	N
9	MG	F	49	DX	P	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	DT
10	GF	M	57	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	DM; DT
11	PA	F	21	DX	P	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	**
12	CF	F	65	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N
13	LR	F	29	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	**	N
14	AMM	F	46	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	**	DT
15	CR	M	35	DX	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	**
16	EM	F	49	DX	P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	N	DT
17	RV	F	45	DX	P	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	DT
18	DW	F	33	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	**	DM
19	HJ	M	48	DX	P	P	N	P	N	N	N	N	N	N	**	DH
20	NS	M	34	DX	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	**
21	WS	M	44	DX	P	N	N	P	N	N	N	N	N	N	**	**
22	LO	F	22	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	**	N
23	OB	M	66	DX	P	P	N	P	N	N	N	N	P	N	**	**
24	SG	F	38	DX	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	**	N
25	SF	M	21	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	**	**
26	AMM	F	18	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N
27	ES	F	53	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	DT
28	EB	F	63	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	DT
29	CK	M	19	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	**	**
30	RH	F	43	DX	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	**	DH
31	ACA	F	46	DIG	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	P	DT
32	SM	F	40	DIG	P	N	N	P	N	P	N	N	N	N	**	N
33	NV	F	56	DIG	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P	**	**
34	HS	F	55	DIG	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	DT; DH

35	LK	F	39	DIG	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	**
36	JC	F	22	DIG	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	**	**
37	MC	F	27	DIG	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	**	N
38	CC	F	32	DIG	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	**	N
39	JÁ	F	28	DIG	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N
40	DC	F	22	DIG	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	**	N
41	RB	F	54	DIG	N	N	N	P	N	N	N	N	N	P	N	N	DT; DH
42	AB	M	22	DIG	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	P	DT
43	MTN	M	33	DIG	P	N	P	P	N	N	N	N	N	N	N	**	N
44	RMF	F	30	DIG	P	P	P	P	N	P	N	N	N	N	N	**	N
45	JM	F	57	DIG	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N

Em negrito valores positivos e associações com DAI's

Notas: DX = diagnóstico

DIG = dieta isenta de glúten

DT = doenças da tireóide

DH = dermatite herpetiforme

DM = diabetes melitus

EmA= anticorpo anti-endomísio

anti-tTG = anticorpo anti-transglutaminase tecidual

ASCA IgA/IgG = anticorpo anti-*Saccharomyces cerevisiae*

ANCA = anticorpo anti-citoplasma de neutrófilo

AML = anticorpo anti-músculo liso

AMIT = anticorpo anti-mitocondrial

ALKM = anticorpo anti-microsomal de fígado e rim

FAN = fator anti-nuclear

ACGP = anticorpo anti-célula gástrica parietal

anti-TPO = anticorpo anti-tireoperoxidase

DAI = doenças autoimunes

N = negativo

P = positivo

** sem informações

F = feminino

M = masculino

APÊNDICE E – DADOS REFERENTES AOS PACIENTES COM DC

Apêndice E: Dados referentes aos pacientes com doença de Crohn (DC)

Iniciais, sexo, idade, grupo, EmA, anti-tTG, ASCA IgA, ASCA IgG, ANCA, AML, AMIT, FAN, ALKM, ACGP, anti-TPO e doenças autoimunes (DAI) associadas

N	INICIAIS	SEXO	IDADE	GRUPO	EmA	anti-tTG	ASCA IgA	ASCA IgG	ANCA	AML	AMIT	ALKM	FAN	ACGP	anti-TPO	DAI
1	HTS	F	41	C	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	**	N
2	MBG	F	41	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	P	N
3	MT E	F	57	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	P	N
4	TFSF	F	42	C	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	**	N
5	AMM	F	26	C	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	**	N
6	BMW	F	32	C	N	P	P	P	N	N	N	N	N	N	**	N
7	MK	M	59	C	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	P	PSO
8	SG	F	83	C	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	**	N
9	NA	F	64	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
10	RS	F	34	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N
11	MRM	F	65	C	N	N	P	P	N	N	N	N	P	N	**	N
12	CFS	M	32	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N
13	MAG	F	81	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N
14	DPM	F	67	C	N	N	N	N	N	N	N	N	P	N	P	DT
15	PHN	M	19	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N
16	JNP	F	70	C	N	N	N	N	P	N	N	N	P	N	**	N
17	SSS	M	52	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N
18	GLS	M	48	C	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	**	N
19	LM	F	59	C	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N
20	WH	M	25	C	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	**	N
21	CP	F	29	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N
22	OCC	M	28	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N
23	LRM	F	26	C	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	**	N
24	BLC	M	28	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N
25	JPV	M	38	C	N	P	P	P	N	N	N	N	N	N	**	N
26	DCSR	F	32	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N
27	FRD	F	29	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N
28	OJBS	M	28	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N
29	RG	M	42	C	N	P	P	P	P	N	N	N	N	N	**	N
30	RDS	F	19	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N
31	ES	M	71	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N
32	MLC	F	59	C	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	P	DT
33	ASPA	F	29	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	**	N
34	VSB	F	19	C	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	**	N
35	GG	M	16	C	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	P	DT
36	RHA	F	54	C	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	**	N

Em negrito valores positivos e associações com DAI's

Notas:

DC = doença de Crohn

DT = doenças da tireóide

C = clínico

PSO = psoríase

EmA= anticorpo anti-endomísio

anti-tTG = anticorpo anti-transglutaminase tecidual

ASCA IgA/IgG = anticorpo anti-*Saccharomyces cerevisiae*

ANCA = anticorpo anti-citoplasma de neutrófilo

AML = anticorpo anti-músculo liso

AMIT = anticorpo anti-mitochondrial

ALKM = anticorpo anti-microsomal de fígado e rim

FAN = fator anti-nuclear

ACGP = anticorpo anti-célula gástrica parietal

anti-TPO = anticorpo anti-tireoperoxidase

DAI = doenças autoimunes

N = negativo

P = positivo

** sem informações

F = feminino

M = masculino

ANEXOS

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA (CEP)

ANEXO B – RESUMOS DE CONGRESSOS NACIONAIS E INTERNACIONAIS

ANEXO C – PRÊMIO DE CONGRESSO NACIONAL

ANEXO D – SUBMISSÃO DO ARTIGO

ANEXO E – PUBLISHED AHEAD OF PRINT DO ARTIGO