

Jacqueline Araújo

***SOROPREVALÊNCIA DA DOENÇA CELÍACA EM
CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DIABETES
MELLITUS TIPO 1 EM SERVIÇOS DE
ENDOCRINOLOGIA PEDIÁTRICA***



Recife 2005

Jacqueline Araújo

SOROPREVALÊNCIA DA DOENÇA CELÍACA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 1 EM SERVIÇOS DE ENDOCRINOLOGIA PEDIÁTRICA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Colegiado do Curso de Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente, do Departamento Materno Infantil do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, orientada pela Prof^a Dra Gisélia Alves Pontes da Silva, para obtenção do grau de mestre em saúde da criança e do adolescente.



Recife 2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Araújo, Jacqueline Rosângela de
Soroprevalência da doença celíaca em crianças e
adolescentes com diabetes mellitus tipo 1 em
serviços de endocrinologia pediátrica / Jacqueline
Rosângela de Araújo. – Recife: O Autor, 2005.
113 folhas : il., tab., quadros

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal
de Pernambuco. CCS. Saúde da Criança e do
Adolescente, 2005.

Inclui bibliografia, glossário e anexos.

1. Diabetes. 2. Doença celíaca. I. Título.

616.379-008.64
616.462

CDU (2.ed.)
CDD (20.ed.)

UFPE
CCS2006-003

REITOR

Prof. Dr. Amaro Henrique Pessoa Lima

VICE-REITOR

Prof. Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR DA PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Celso Pinto de Melo

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. Dr. José Thadeu Pinheiro

COORDENADOR DA COMISSÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO DO CCS

Profa. Dra. Gisélia Alves Pontes da Silva

DEPARTAMENTO DE MATERNO INFANTIL

CHEFE

Prof. Salvio Freire

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

COLEGIADO

Prof. Dra. Marília de Carvalho Lima (Coordenadora)

Profa. Dra. Sônia Bechara Coutinho (Vice-Coordenadora)

Profa Dra Gisélia Alves Pontes da Silva

Profa. Dra. Emília pessoa Perez

Prof. Dr. Pedro Israel Cabral de Lira

Prof. Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Profa. Mônica Maria Osório de Cerqueira

Prof. Dr. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho

Profa. Dra. Sílvia Wanick Sarinho

Profa. Dra. Luciane Soares de Lima

Nilton César Nogueira dos Santos (Representante discente)

SECRETARIA

Paulo Sérgio Oliveira do Nascimento

Jacqueline Araújo

SOROPREVALÊNCIA DA DOENÇA CELÍACA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 1 EM SERVIÇOS DE ENDOCRINOLOGIA PEDIÁTRICA

Jacqueline Rosângela de Araújo submeteu-se à prova de Defesa de Dissertação de Mestrado em 25 de fevereiro de 2005, tendo recebido a menção de Aprovada com Distinção. A banca examinadora foi composta pelos Professores Doutores:

Prof. Emanuel Savio Cavalcanti Sarinho

Emanuel Savio Cavalcanti Sarinho

Profa. Maria Eugênia Farias Almeida Motta

Maria Eugênia Farias Almeida Motta

Profa. Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Célia Maria Machado B. de Castro

Recife 2005

Dedicatória

**“Os barcos estariam seguros se permanecessem no porto,
mas não foram feitos para isto.”**

Autor desconhecido

***Aos meus pais, Alzira e Francisco, que tão cedo
abdicaram do direito e do prazer da convivência com sua
única filha, para oferecer a mim a oportunidade de realizar
meus sonhos. Obrigada meus pais, pelo amor e dedicação e
por me ensinarem a fazer escolhas na vida baseada na
recompensa da chegada e não nas dificuldades do caminho.***

Agradecimentos

Ao meu marido, Sérgio, pelo amor incondicional, carinho e compreensão em todos os momentos da nossa vida. Obrigada por se importar tanto com a minha felicidade e meus sonhos.

A Gisélia, minha orientadora, pelo apoio, incentivo, entusiasmo, dedicação e exemplo de competência. O que aprendi com você, vai além do conhecimento científico, foram lições para toda a vida.

A Francisco Montenegro Melo pela generosidade, interesse e vibração com a minha pesquisa. Obrigada por abrir as portas do seu laboratório e tornar este projeto viável. Você é dos grandes responsáveis pela realização deste sonho.

Ao meu amigo, mestre e grande incentivador Dr. Ney Cavalcanti, por estar sempre segurando na minha mão e me ensinando a caminhar com mais segurança.

A Suely Lira, técnica do laboratório LAPAC, pela sua dedicação, paciência, competência e disponibilidade.

A todas as crianças e adolescentes diabéticos e seus familiares, por me permitirem cuidar deles e confiarem na minha boa vontade de ajudá-los. Agradeço pela oportunidade de aprender com vocês.

A Elcy Falcão, Amélia Melo e Cynthia Waechter, por abrirem as portas dos seus ambulatórios e me permitirem realizar este projeto.

A todos os amigos do mestrado em Saúde da criança e do adolescente pelo companheirismo durante esta jornada.

A Ana Carla Gueiros, Virgínia Buarque e Thamine Hatem pela grande amizade, carinho e pelos muitos momentos de alegria. Obrigada principalmente pelo apoio nos momentos difíceis.

Ao meu sogro, Paulo Azevedo e meu tio Rubem Azevedo pela cuidadosa leitura e correção desse texto.

A professora Marília pela paciência, disponibilidade e ajuda despretenciosa.

A Paulo, pela prestatividade, competência, pelo seu interesse em nosso sucesso e vibração com as nossas vitórias.

Ao Laboratório NOVO NORDISK pelo apoio financeiro para a realização desse projeto.

Resumo

RESUMO

Objetivo: a possibilidade de diagnosticar precocemente a doença celíaca em crianças e adolescentes diabéticos motivou a realização desta dissertação de mestrado, apresentada sob a forma de um artigo de revisão e de um artigo original que teve o objetivo de conhecer a soroprevalência da doença celíaca em crianças e adolescentes com diabetes mellitus tipo 1.

Métodos: foi feita uma revisão sobre a associação da doença celíaca e diabetes tipo 1 utilizando as bases de dados do *Medline*, *Lilacs* e *Scielo*, no período de abril de 1964 a dezembro de 2004. Concomitantemente foi realizado um estudo transversal para pesquisar a soroprevalência da doença celíaca em crianças e adolescentes diabéticas atendidas nos serviços de endocrinologia pediátrica de Recife, utilizando como teste de triagem o anticorpo anti-transglutaminase humana.

Resultados: a revisão de literatura mostra o crescente aumento do diagnóstico da doença celíaca nas crianças diabéticas e aborda as evidências e principais teorias que justificam, pelo menos em parte, a maior prevalência desta associação. No estudo transversal, foram avaliados 354 crianças e adolescentes diabéticos observando-se uma soroprevalência da doença celíaca de 10,5%.

Conclusões: no artigo de revisão observa-se ampla variação geográfica desta associação e que a doença celíaca e o diabetes mellitus tipo 1 são doenças imuno-mediadas, de etiologia multifatorial. Uma possível explicação para esta associação pode ser o envolvimento de uma base biológica comum. A soroprevalência da doença celíaca em crianças e adolescentes diabéticos de Pernambuco é elevada, sendo aconselhável a realização rotineira do anti-transglutaminase humana em todas as crianças e adolescentes diabéticas.

ABSTRACT

Objective: This master's dissertation was motivated by the possibility of diagnosing precociously celiac disease in diabetic children and adolescents. It is exposed under the format of a review article and an original article that had the aim to investigate the serum prevalence of celiac disease in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus.

Methods: A review on the association between celiac disease and type 1 diabetes was done using the of *Medline*, *Lilacs* and *Scielo* database, from April of 1964 to December of 2004. Simultaneously a sectional study was performed to identify the serum prevalence of celiac disease in diabetic children and adolescents followed at pediatric endocrinology services in Recife, using the human antibody transglutaminase as a screening test.

Results: The reviewed papers demonstrates increased diagnosis of celiac disease in diabetic children and adolescents and analyses the evidences and the main theories that explain, at least in part, the major prevalence of this association. In the sectional study, 354 diabetic children and adolescents were evaluated, and the serum prevalence observed was 10.5%.

Conclusions: The reviewed papers shows geographical variations of this association and demonstrates that celiac disease and type 1 diabetes are multifactorial and immune-mediated diseases. A possible explanation for this association could be the involvement of a common genetic background. The serum prevalence of celiac disease in diabetic children and adolescents in Pernambuco is high, thus recommending routine screening serological tests with human anti-transglutaminase in all children and adolescents with type 1 diabetes.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
Referências bibliográficas	16
2. ARTIGO 1	17
Diabetes Mellitus tipo 1 e doença celíaca: bases biológicas da associação	
Resumo.....	18
Abstract.....	19
Introdução	20
A doença celíaca	21
Identificando os portadores da DC.....	24
DM1 e DC: bases biológicas	29
Evidências e base genética da associação DM1 e DC	32
DM1 e DC: a mediação imunológica e ambiental	34
DM1 e DC: alguns aspectos epidemiológicos da associação	38
DM1 e DC: triar ou não? tratar ou não?	40
Considerações finais.....	42
Referências bibliográficas	45
3. ARTIGO 2	66
Soroprevalência da doença celíaca em crianças e adolescentes diabéticos em Pernambuco, Brasil.	
Resumo.....	67
Abstract.....	68

Introdução	69
Material e métodos	70
Resultados	72
Discussão	73
Referências.....	78
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	84
5. ANEXOS	86
Projeto.....	88
Questionário.....	109
Termo de consentimento livre e esclarecido.....	110
Carta de aprovação do comitê de ética.....	112
Orçamento	113



1-Introdução

Introdução

As primeiras descrições dos sintomas do diabetes ocorreram na Índia, cerca de 1000 anos aC e, durante muitos séculos, esta doença permaneceu como mortal, sem que nenhuma forma de tratamento pudesse aliviar o sofrimento ou prolongar a vida desses pacientes(1). Foi somente em 1921 que Banting e Best, dotados de grande persistência e sabedoria, descobriram um extrato pancreático que reduzia o nível da glicose na urina, e a denominaram de insulina (2). Desde então, grandes avanços ocorreram no tratamento de crianças, adolescentes e adultos portadores de diabetes, garantindo-lhes longa sobrevivência com uma boa qualidade de vida.

Uma das mais importantes evoluções no tratamento do diabetes, foram as conclusões, após vários anos de estudos, de que a constante manutenção do controle adequado da glicemia protege o paciente das complicações crônicas associadas ao diabetes (3). Com o surgimento de novas insulinas, com perfil de ação semelhante ao fisiológico, e a disponibilidade de tecnologias domiciliares para a aplicação da insulina e a monitorização da glicemia, hoje é possível atingir o bom controle do diabetes; e este passou a ser o grande objetivo do tratamento.

A obtenção de níveis ideais de glicemia, nem sempre é fácil, pois envolve vários fatores sociais, culturais, psicológicos e, em algumas situações, doenças associadas ao diabetes podem contribuir para essas dificuldades. Há alguns anos já se sabe que o paciente com diabetes mellitus tipo 1 (DM1) tem maior propensão para desenvolver outras doenças auto-imunes, e quando não diagnosticadas e devidamente tratadas contribuem para evolução desfavorável do diabetes. A mais comumente observada é a tiroidite auto-imune, sendo seguida pela doença celíaca (DC) (4,5); a triagem rotineira da primeira já faz parte do protocolo de seguimento desses pacientes, entretanto a segunda ainda é motivo de controvérsias e só recentemente vem sendo mais valorizada.

Os primeiros relatos da associação do DM1 e DC ocorreram há mais de 50 anos (6) e desde então se observa que essas crianças podem apresentar maior dificuldade em obter um bom controle do diabetes, sendo, habitualmente, propensas à hipoglicemias freqüentes e graves e grandes oscilações nos níveis de glicemia.(7) Além disso pode contribuir para outras complicações como a baixa estatura, atraso puberal, osteoporose e doenças malignas (8).

A convivência diária com crianças e adolescentes diabéticos nos faz perceber que a busca de uma boa qualidade de vida e a prevenção das complicações crônicas associadas ao diabetes, passa a ser uma constante preocupação dos pacientes e de seus familiares. Às vezes nos deparamos com situações onde apesar da dedicação, esforço e determinação em seguir todas as recomendações médicas alguns não conseguem atingir seus objetivos; isso nos faz questionar que outros fatores podem estar contribuindo para o controle inadequado. Uma das minhas freqüentes preocupações com crianças e adolescentes diabéticos é a presença da doença celíaca subclínica, que, se precocemente diagnosticada e devidamente tratada, poderá permitir ao paciente atingir os objetivos desejados.

No Brasil há poucos estudos sobre a soroprevalência da DC na população de crianças e adolescentes diabéticos; na nossa região ainda não se conhecia a freqüência desta associação. Isto, associado ao interesse em beneficiar os pacientes atendidos nos diversos serviços públicos de Recife com a realização de um exame de elevado custo para a população carente e não custeado pelo governo, me motivou a realizar esta pesquisa.

Resgatar a freqüência desta associação em diversas regiões do mundo, conhecer as bases biológicas que ligam a DC ao DM1 e as controvérsias sobre a triagem rotineira e os benefícios do tratamento da DC em crianças e adolescentes diabéticos foram algumas razões para a realização dessa dissertação. O motivo

principal foi estudar a soroprevalência da DC em crianças e adolescentes portadores de DM1, atendidos nos serviços públicos de endocrinologia pediátrica de Recife.

Na dissertação foram incluídos dois artigos: o primeiro, um artigo de revisão, intitulado “Diabetes Mellitus tipo 1 e doença celíaca: bases biológicas da associação”, comprehende uma revisão da literatura mostrando o crescente aumento do diagnóstico da DC nas crianças diabéticas, com a evolução dos testes sorológicos; aborda as evidências e as principais teorias que justificam, pelo menos em parte, a maior prevalência da DC em pacientes com DM1, bem como os fatores imunológicos e ambientais envolvidos na gênese desta associação. O segundo, um artigo original, sob o título “Soroprevalência da doença celíaca em crianças e adolescentes diabéticos em Pernambuco, Brasil”, consiste de um estudo transversal, com o objetivo de avaliar a soroprevalência da doença celíaca em crianças e adolescentes com diabetes mellitus tipo 1 em Pernambuco, utilizando o anticorpo anti-transglutaminase como método de triagem. Com os resultados espera-se levar o endocrinologista e o pediatra a valorizarem mais a DC no acompanhamento de rotina do paciente com DM1, estimular a realização de estudos multicêntricos sobre esta associação, no Brasil, e contribuir para que a triagem rotineira da DC passe a fazer parte do seguimento das crianças e adolescentes diabéticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Diabetes e açúcar através da história. In: **História e Lenda**. São Paulo: Europa Press, 1994;1:5-7.
2. Kruif P. O homem que descobriu a insulina. In: Kruif P editor. **A luta contra a morte** 3th edição. Porto Alegre: Livraria globo,1942:55-9.
3. DCCT Research Group: The relationship of glycemic exposure (HbA1c) To the risk of development and progression of retinopathy in the diabetes control and complications trial. **Diabetes** 1995;44(8):968-83.
4. Radetti G, Paganini C, Gentili L, Bernasconi S, Betterle C, Borkenstein M, Cvijovic K, Kadrnka-Lovrencic M, Krzisnik C, Battelino T. Frequency of Hashimoto's thyroiditis in children with type 1 diabetes mellitus. **Acta Diabetol** 1995;32(2):121-4.
5. Koletzko S, Burgin-Wolff A, Koletzko B, Knapp M, Burger W, Gruneklee D. Prevalence of coeliac disease in diabetic children and adolescents. A multicentre study. **Eur J Pediatr** 1988; 148(2):113-7.
6. Auricchio S, Troncone R. History of coeliac disease. **Eur J Pediatr** 1996;155(6):427-8.
7. Barera G, Bonfanti R, Viscardi M, Bazzigaluppi E, Calori G, Meschi F, Bianchi C, Chiumello G. Occurrence of celiac disease after onset of type 1 diabetes: a 6-year prospective longitudinal study. **Pediatrics** 2002;109(5):833-8.
8. Murray JA. The widening spectrum of celiac disease. **Am J Clin Nutr** 1999;69(3):354-65.



2-Artigo 1

Artigo 1

Diabetes mellitus tipo 1 e doença celíaca: bases biológicas da associação

RESUMO

Doença celíaca é uma desordem intestinal crônica imune-mediada, que se desenvolve em indivíduos geneticamente predispostos, causada por hipersensibilidade e intolerância permanente ao glúten, presente no trigo, centeio e cevada. Até recentemente era considerada rara, com prevalência de 1/6000. Com a evolução dos métodos diagnósticos, e o melhor conhecimento das suas formas de apresentação clínica hoje se sabe que é muito mais prevalente, variando na população geral de 1/150 a 1/300. Diversos estudos têm demonstrado prevalência elevada da doença celíaca em pacientes com diabetes mellitus tipo 1. Esta associação é mais comumente observada na Argélia, Líbia e Dinamarca e menos freqüente na Alemanha e Áustria. A maioria dos pacientes com doença celíaca são assintomáticos ou oligossintomáticos e somente são diagnosticados em programas de triagem. Ambas são doenças imune-mediadas e de etiologia multifatorial, uma possível explicação para esta associação pode ser o envolvimento de uma base biológica comum no complexo de antígenos leucocitário humano (HLA). Alterações na regulação imunológica ou incapacidade de desenvolver tolerância à auto-antígenos podem ser outras possíveis explicações. Ainda há controvérsias se um programa de triagem deve ser instituído de forma rotineira e se a implementação da dieta sem glúten trará benefícios para esses pacientes.

Descritores: diabetes mellitus tipo 1, doença celíaca

ABSTRACT

Celiac disease (CD) is a chronic intestinal autoimmune disease that occurs in genetically predisposed individuals and is caused by sensitivity to gluten, a dietary protein present in wheat, rye and barley. Until recently, CD was considered uncommon, with an estimated prevalence of one case per 6000 persons. With the availability of accurate serologic tests and a greater awareness of its presentations, celiac disease is now recognized as a much more common condition, affecting one in 150 - 300 persons. Several studies have proven the association of celiac disease and type 1 diabetes mellitus. The highest prevalence was reported from Algeria, Lybia and Denmark and the lowest in Germany and Austria. The majority of patients with celiac disease were asymptomatic, and were only diagnosed by screening program. Both are multifactorial and immune-mediated diseases, and a possible explanation for this association could be the involvement of common susceptibility gene in the human leucocyte antigens (HLA). Defective immunoregulation or a poor ability to develop tolerance to auto antigens could be another explanation. It remains controversial whether a screening program should be instituted to detect clinically unrecognized CD, and particularly whether implementation of a gluten free diet is worthwhile in asymptomatic patients.

Keywords: diabetes mellitus,type 1; celiac disease

INTRODUÇÃO

As doenças auto-imunes (DAI) costumam apresentar um período assintomático longo e o início dos eventos que causam as lesões teciduais, gerando manifestações clínicas, geralmente ocorre muito tempo antes da doença se tornar clinicamente manifesta, dificultando a identificação dos fatores desencadeantes bem como o diagnóstico precoce da doença. A origem das condições auto-imunes é multifatorial. Sabe-se que a predisposição genética, associada a fatores ambientais, resulta em lesão tissular causada por auto-reactividade das células T ou anticorpos (1).

Há vários anos já existe o conceito de que pacientes com uma condição auto-imune apresentam risco maior em desenvolver outras doenças auto-imunes (2,3); um dos exemplos mais comuns é a maior prevalência de tireoidite de Hashimoto em pacientes com diabetes mellitus tipo 1 (DM1) (4,5). A auto-imunidade é a principal marca do DM1, o que é claramente expresso pela presença de anticorpos circulantes que levam à destruição das células beta pancreáticas. Outras condições como doença de Graves, doença de Addison, anemia perniciosa, síndrome de Sjögren, doenças do colágeno e a doença celíaca (DC) podem coexistir com o DM1 e serem pouco sintomáticas, tendo seu diagnóstico estabelecido somente alguns anos após a instalação do processo (6).

A associação de DM1 e DC foi inicialmente descrita há cerca de 50 anos (7) e estudos posteriores comprovaram a maior prevalência da DC em pacientes com DM1 (2,8,9,10). A evolução dos estudos genéticos tem possibilitado a identificação das bases biológicas que explicam, pelo menos em parte esta associação. Ainda não está claro se a ocorrência simultânea das duas doenças está ligada a uma base genética comum, ou se de fato, uma doença predispõe a outra; atualmente a primeira hipótese é a mais aceita.

Neste artigo faremos uma revisão sobre os conceitos básicos, aspectos epidemiológicos e diagnósticos, com ênfase especial às bases genéticas e aos aspectos imunológicos e ambientais da associação de DM1 e DC. A revisão foi feita utilizando as bases de dados do *Medline*, *Lilacs* e *Scielo*, no período de abril de 1964 a dezembro de 2004 com os descritores: diabetes mellitus e doença celíaca, e qualificadores: genética, imunologia, história, epidemiologia e diagnóstico. Foram selecionados preferencialmente os estudos que abordam a base genética da associação DM1 e DC.

A DOENÇA CELÍACA

A DC foi relatada pela primeira vez por Samuel Gee sob a denominação de “afeccção celíaca”; durante uma conferência em 1888, ele a descreveu como uma indigestão crônica encontrada em pessoas de todas as idades, principalmente em crianças entre um e cinco anos e acreditava que a cura poderia estar na retirada de algum componente da dieta (7). A importância do trigo na gênese da doença foi sugerida por Dicke, um pediatra holandês, durante a segunda guerra mundial com a observação de que durante o período de racionamento de trigo a incidência do “sprue celíaco” diminuiu, voltando a aumentar quando os aviões suecos trouxeram pão para a Holanda, associando dessa forma os efeitos deletérios de certos tipos de cereais à doença celíaca (11). Foi somente em 1954 que Pauley descreveu a mucosa jejunal marcadamente inflamada e sem vilosidades, aspecto histopatológico utilizado para o diagnóstico da DC até os dias atuais (12).

Desde a descrição inicial até os dias atuais, mudanças importantes ocorreram nos conhecimentos, principalmente no que se refere à epidemiologia, quadro clínico e diagnóstico. Atualmente, a DC pode ser definida como uma desordem intestinal crônica imune-mediada, causada por hipersensibilidade e intolerância permanente ao glúten, e que se desenvolve em indivíduos geneticamente predispostos (13). O glúten é uma macromolécula protéica, presente no endosperma de alguns cereais, principalmente no

trigo, cuja fração tóxica é chamada gliadina, mas também em outros cereais como o centeio, a cevada e provavelmente a aveia (14). Indivíduos susceptíveis ao entrarem em contato com alimentos contendo glúten desenvolvem enteropatia inflamatória caracterizada por infiltração intraepitelial de linfócitos, hiperplasia das criptas e atrofia parcial ou completa das vilosidades; essas alterações regredem completamente com a retirada desse componente da dieta (15). A inflamação do intestino delgado leva a uma síndrome de má-absorção de intensidade variada, que resulta em um amplo espectro clínico da doença celíaca (13).

A forma clássica ou típica da DC se caracteriza por um quadro que, geralmente, se inicia nos primeiros anos de vida e se manifesta clinicamente com diarréia crônica, distensão abdominal, vômitos, irritabilidade, anorexia, perda de peso, e crescimento deficiente. As formas atípicas se caracterizam por quadro mono ou pouco sintomático, no qual as manifestações digestivas estão ausentes ou, quando presentes, ocupam um segundo plano. Tendem a se manifestar mais tarde na infância e os pacientes deste grupo podem apresentar manifestações isoladas, como por exemplo: baixa estatura, anemia por deficiência de ferro refratária a ferroterapia oral, aftas de repetição, dermatite herpética, artralgia ou artrite, constipação intestinal, hipoplasia do esmalte dentário, atraso puberal, osteoporose e esterilidade (15,16,17,18).

A melhor descrição da apresentação da DC nos dias atuais foi feita por Richard Logan em 1991 que comparou a distribuição das várias formas da DC com um “iceberg” onde a pequena parte visível corresponderia aos casos com manifestações clínicas evidentes e a maior parte, que se encontra submersa, aos casos silenciosos ou assintomáticos que abrangem as formas: atípica, silenciosa e potencial (16,17).

Nos últimos anos novos termos foram acrescentados a essa classificação, como a forma latente (ou silenciosa) e a DC potencial. A primeira se caracteriza por um achado de enteropatia inflamatória típica em um indivíduo aparentemente saudável e tem sido descrita em parentes de primeiro grau de pacientes com DC, pacientes

com DM1 e em estudos de triagem na população geral. O termo DC potencial foi proposto para os indivíduos que apresentam arquitetura da mucosa intestinal normal ou pouco alterada e que jamais apresentaram biópsia jejunal característica de DC, mas que apresentam anormalidades imunológicas e genótipo similar àqueles encontrados nos pacientes com DC, constituindo um grupo de risco para o desenvolvimento da forma típica no futuro (18).

O amplo espectro das manifestações clínicas leva o paciente a se apresentar inicialmente a diferentes especialistas: gastroenterologistas, dermatologistas, alergologistas, hematologistas, reumatologistas, neurologistas, pediatras, odontólogos, bem como aos endocrinologistas (17).

Até bem recentemente a DC era considerada pouco comum em todo o mundo, com prevalência estimada de 1 caso para 6000 pessoas (19,20). Com a evolução dos métodos de diagnósticos, a disponibilidade de novos métodos sorológicos mais sensíveis e específicos e o melhor conhecimento das suas formas de apresentação clínica, hoje se sabe que é muito mais prevalente do que se supunha anteriormente, variando na população geral de 1 caso para cada 150 a 300 pessoas tanto na Europa (21) como nos Estados Unidos (22) e América do Sul (23), afetando crianças e adultos de todas as idades (24).

Vários estudos sobre a prevalência da DC já foram realizados em diversas regiões do mundo, sendo constatadas algumas diferenças regionais; atualmente é considerada a desordem crônica tratável mais freqüente da Europa (21) e dos Estados Unidos (9). O primeiro estudo de triagem em DC no Brasil e na América Latina, foi realizado por Gandolfi *et al*, em 1999 (23); foram avaliados 2.045 adultos doadores de sangue e encontrada uma prevalência de 1:681. Em 2000, os mesmos autores apresentaram resultados de um novo estudo realizado em crianças atendidas em um Hospital Universitário de Brasília; foram rastreadas 1.686 crianças entre dois e dezessete anos e a prevalência encontrada foi de 1:281 (25). Em Pernambuco, estudo

de triagem da DC avaliou uma população de 1030 indivíduos (crianças, adolescentes e adultos) atendidos no Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP) e encontrou 20 pacientes positivos para antitransglutaminase tecidual (anti-tTG) *guinea-pig*, anti-tTG humana e anti-endomílio (AAE), resultando em soroprevalência de 1,9% (26). Portanto a DC - que originalmente foi descrita ocorrendo de forma rara e somente na infância - é agora reconhecida como uma condição comum que pode ser diagnosticada em qualquer idade.

A DC não diagnosticada e não tratada, é motivo de preocupação, pois ao longo prazo está associada a um maior risco de mortalidade e morbidade. As complicações mais temidas são as doenças malignas; o risco de linfoma do intestino em pacientes com a forma sintomática da DC é maior do que na população geral e há maior prevalência de carcinoma da orofaringe esôfago e intestino (27,28). Várias complicações extra-intestinais podem ocorrer, como hipogonadismo, infertilidade, abortos de repetição, impotência, baixa estatura, osteoporose, epilepsia e depressão dentre outras (12,13,15,18). Além disso, se observa prevalência 10 vezes maior de DAI quando comparado com a população geral; freqüentemente a DAI associada é diagnosticada primeiro e a DC detectada posteriormente em triagem sorológica de rotina nos indivíduos com doenças como DM1, tiroidite autoimune, doença de Addison, síndrome de Sjögren, doenças hepáticas auto-imunes, doenças do colágeno dentre outras (13,16,29). Alguns autores têm demonstrado que as complicações e a associação com DAI são maiores com o aumento da idade ao diagnóstico e proporcional ao tempo de exposição ao glúten, reforçando a importância do diagnóstico precoce (30,31), entretanto, essa observação não foi confirmada em outros estudos (32).

IDENTIFICANDO OS PORTADORES DA DC

O surgimento de testes sorológicos com maior sensibilidade contribuiu para a identificação de mais casos da DC e não somente as formas clássicas. Estes testes são

úteis na avaliação de pacientes com suspeita da doença celíaca e na triagem das formas atípicas e dos grupos de maior risco e servem como reforço ao diagnóstico nos pacientes com alterações histológicas, bem como são usados para monitorização da resposta ao tratamento (16,33,34). Os testes sorológicos atualmente disponíveis são, por ordem de surgimento, os anticorpos anti-reticulina (ARA), anti-gliadina (AGA), AAE, anti-tTG *guinea pig* e anti-tTG humana.

O primeiro teste sorológico foi desenvolvido 1971, através da imunofluorescência indireta, e denominado anticorpo anti-reticulina. Ao longo dos anos, os estudos têm demonstrado boa especificidade, porém baixa sensibilidade para o diagnóstico da DC. O ARA não é utilizado de forma rotineira, tendo sido substituído pelos anticorpos mais modernos (35).

Os anticorpos anti-gliadina (AGA) foram descritos em 1981. Avaliam a presença de anticorpos da classe IgA e IgG contra a fração tóxica do trigo (a gliadina), sendo geralmente dosados através da técnica de ELISA. Muitos indivíduos normais, bem como pacientes com inflamação gastrointestinal de outras causas podem apresentar AGA positivo (36).

Em 1983, Chorzelski *et al* (37) descreveram a existência de anticorpos da classe IgA dirigidos contra o endomíseo, uma proteína do tecido conectivo encontrada entre as miofibrilas no trato gastrointestinal dos primatas. O AAE representou uma importante evolução na triagem sorológica para DC, apresentando sensibilidade e especificidade superior ao AGA e ARA. Inicialmente a técnica para pesquisa do AAE foi descrita utilizando, como substrato, esôfago de macaco, estrutura rica em tecido conectivo onde se encontra o endomíseo, sendo posteriormente descrita a pesquisa do AAE, utilizando, como substrato, cordão umbilical humano, também rico em tecido conectivo. Esta última é considerada uma técnica menos dispendiosa e ecologicamente mais aceitável (37,38,39). Apesar da elevada sensibilidade e especificidade, o AAE tem apresentado

algumas limitações no seu uso em grande escala: custo elevado, técnica laboriosa e necessidade de sacrificar animais (quando utilizado esôfago de macaco). Além do mais, tem sido considerado, um método semi-quantitativo sujeito, em parte, à avaliação do observador (40).

Dieterich *et al* (41) identificaram, em 1997, a enzima transglutaminase tecidual (tTG), como o auto-antígeno da DC, tendo sido desenvolvida técnica de ELISA, para pesquisar a presença do anticorpo anti-tTG no organismo do paciente (42). Surgiu como uma grande esperança na triagem para DC, sendo um teste de fácil execução, possível de ser realizado em massa, menor custo e com resultados semelhantes ao AAE. Os primeiros estudos utilizaram como substrato a enzima tTG derivada do fígado de *guinea pig*, que apresentaria concordância com a humana, superior a 80% (43) e com o AAE em torno de 95% (42,43,44). Estudos posteriores questionaram a especificidade deste teste, devido à constatação de diferenças de pureza, distribuição e seqüência de aminoácidos entre a enzima tTG humana e enzima de *guinea pig*, além da possibilidade de falso-positivo em pacientes com outras DAI (45).

Em 1999, foi clonada a tTG humana de um espécime de biópsia de um paciente com DC (46). O teste sorológico utilizando a tTG humana representou um avanço adicional, sendo altamente específico e sensível, tornando-o um teste de triagem, segundo alguns autores (33,39), ainda mais eficiente que o AAE. Nos estudos comparativos, o anti-tTG humana demonstra maior sensibilidade e especificidade quando comparado ao anti-tTG guinea-pig (46,47) e, semelhante, quando comparado ao AAE (41,48). Em razão da alta sensibilidade e especificidade dos anticorpos anti-tTG e da simplicidade e possibilidade de análise de um grande número de amostras do método ELISA, a avaliação destes anticorpos é de grande utilidade no diagnóstico da DC na prática clínica, podendo ser visto como uma substituição ao AAE (33,49).

Vários estudos têm sido realizados com o objetivo de comparar a sensibilidade e especificidade dos diversos testes sorológicos. De um modo geral, o AAE e anti-tTG

humana apresentam sensibilidade e especificidade superiores ao AGA e anti-tTG *guinea pig*, mas ainda não está claro se há vantagem entre o AAE e anti-tTG humana, tendo ambos elevado grau de sensibilidade e especificidade (Tabela 1).

Tabela 1 Sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos para DC

Teste	Sensibilidade	Especificidade	Referências
AGA IgG	57 a 100%	47 a 94%	(50-53)
AGA IgA	52 a 100%	71 a 100%	(50, 52-55)
AAE	87 a 100%	90 a 100%	(39,44,46,51,53,56,57)
Anti-tTG humana	84 a 100%	91 a 100%	(39,42-44,46,49,51,56-70)

A opinião dos estudiosos na área tem sido divergente no que diz respeito ao teste ou combinação de testes mais indicada para a triagem da DC. Na clínica Mayo, os pesquisadores demonstraram que a triagem inicial com AAE teve a melhor relação custo-benefício para o diagnóstico da DC em populações de baixo risco, enquanto a triagem inicial com AGA foi a melhor estratégia para grupos de alto risco; entretanto não foi avaliado o custo-benefício do anti-tTG (61). Fasano e Catassi (33) bem como Carroccio *et al* (49) recomendam anti-tTG humana como método de triagem inicial, enquanto Kumar *et al* (62) recomendam anti-tTG ou AGA associado ao AAE.

A deficiência de IgA é 10 a 15 vezes mais comum em pacientes com doença celíaca quando comparado à população saudável e ocorre em 1,7% a 3% dos pacientes com DC (62,63). Indivíduos com deficiência de IgA e DC não formam anticorpos anti-IgA (antiendomísio, anti-tTG ou AGA) mas usualmente apresentam concentrações elevadas de anticorpos IgG. As sorologias para anti-tTG humana e antiendomísio comercialmente disponíveis são habitualmente limitadas aos isótopos de IgA dos anticorpos; portanto os pacientes com deficiência de IgA poderão apresentar resultados falso-negativos (62). Para detectar DC nestes indivíduos, a dosagem de IgA

sérica deve ser incluída no painel de testes, e se confirmada a deficiência, sorologias para anticorpos IgG (AGA, anti-tTG ou AAE) devem se realizadas (62,63).

Apesar da evolução dos testes sorológicos, o diagnóstico da DC ainda é baseado em critérios histológicos, que permanecem como o padrão ouro no diagnóstico da DC até os dias atuais (64). Em pacientes sintomáticos, a Sociedade Européia de Gastroenterologia e Nutrição Pediátrica (E.S.P.G.A.N) considera indispensável o achado de anormalidades características na mucosa do intestino delgado em, no mínimo, um espécime de biópsia, associado a uma remissão clínica evidente da sintomatologia, quando em dieta isenta de glúten. Nos assintomáticos recomendam a realização de três biópsias, a primeira no momento do diagnóstico, demonstrando alterações estruturais compatíveis com DC, uma segunda após dois anos em dieta isenta de glúten, demonstrando clara recuperação da mucosa. Neste momento, o glúten seria reintroduzido na dieta até o surgimento de sintomas ou por período variável de três a seis meses, quando seria realizada a terceira biópsia, devendo demonstrar deterioração da mucosa (64,65).

A endoscopia é considerada mais confiável do que as cápsulas perorais, por permitir a realização de múltiplas biópsias do intestino delgado, diminuindo a chance de erros devido às amostras (66). Na histologia, a gravidade e a extensão das anormalidades variam amplamente na DC. Na fase inicial a mucosa caracteriza-se por apresentar vilosidade normal, sendo o epitélio preenchido por numerosos linfócitos pequenos e não mitóticos; a fase seguinte caracteriza-se essencialmente por hiperplasia críptica e a fase final apresenta lesão clássica de atrofia vilositária, hiperplasia críptica e de grandes linfócitos intraepiteliais em mitose; há ainda uma forma hipoplásica de lesão mucosa que ocorre em um pequeno grupo de pacientes que não respondem à dieta sem glúten e que apresentam maior risco de complicações malignas (18,67).

Apesar de característico, o aspecto histológico da mucosa não é específico. As lesões são indistinguíveis das que ocorrem em alguns pacientes com sobrecrecimento bacteriano intestinal, enteropatia ambiental, enterite eosinofílica, gastroenterite viral ou linfoma primário do intestino delgado (68). Além disso, podem ocorrer resultados falso-negativos devido à irregularidade das alterações da mucosa, que são mais graves na porção proximal do jejuno, habitualmente não atingida pela endoscopia (69,70).

O conhecimento sobre a DC teve inicio com a observação clínica, que foi posteriormente comprovada com a descrição da lesão histológica e o retorno ao padrão normal com a retirada do glúten da dieta, e se fortaleceu com o surgimento dos testes sorológicos, que possibilitaram os estudos epidemiológicos. Com o advento das pesquisas envolvendo a biologia molecular, as bases genéticas da DC vem sendo gradativamente identificadas, o que tornará possível, no futuro, a evolução dos métodos diagnósticos e da conduta terapêutica.

DM1 E DC: BASES BIOLÓGICAS

O diabetes mellitus tipo 1 e a doença celíaca são doenças auto-imunes resultantes de uma interação complexa entre fatores genéticos, imunológicos e ambientais (13,71). Algumas semelhanças no mecanismo fisiopatológico, além da maior prevalência de DC em indivíduos com DM1, sugerem que a etiologia de ambas pode envolver mecanismos genéticos semelhantes (2,3,8,72,73).

O DM1 é uma doença auto-imune órgão específico, onde células T ativadas contra determinados抗ígenos infiltram o pâncreas, levando à destruição das células células β pancreáticas resultando em hiperglicemia. Ocorre em indivíduos geneticamente predispostos, e estudos em gêmeos têm demonstrado que 70-75% do risco da doença está relacionado ao efeito genético, enquanto 25-30% está associado a fatores ambientais (74,75).

As evidências para a susceptibilidade genética têm sido demonstradas em diversos estudos familiares; a freqüência é maior em parentes de primeiro e segundo graus de pacientes com DM1 quando comparado com a população geral; aproximadamente 6% dos irmãos também desenvolvem a doença, enquanto a prevalência da população geral é de apenas 0,4% (76). A presença dos anticorpos antiilhotas, que geralmente precedem o desenvolvimento da doença, é mais comum em parentes de primeiro grau desses pacientes (5-13%) quando comparada à população geral (0,2-4,4%) (77,78). Os estudos têm demonstrado um índice de concordância de 35% a 70% em gêmeos monozigóticos, enquanto nos dizigóticos é de cerca de 11% (75).

A DC é também precipitada em indivíduos geneticamente susceptíveis. Diversos estudos têm demonstrado que a prevalência em parentes de primeiro grau varia de 2% a 20% com média de 8% a 12% na maioria dos estudos (9,79,80) e o risco relativo (λ_s) para os irmãos de pacientes celíacos é maior que 30 ($\lambda_s > 5$ indica contribuição genética importante na patogênese de uma determinada doença), ou seja, a DC é 30 vezes mais comum em irmãos de celíacos do que na população geral (81,82). Estudos em gêmeos monozigóticos demonstram um índice de concordância de 70% a 80% (83).

O complexo principal de histocompatibilidade (MHC) é uma coleção de genes localizados no cromossomo 6p21 que codifica o complexo de antígenos leucocitário humano (HLA). Estes são glicoproteínas expressas na superfície das células que ligam pequenos peptídeos, gerados ou degradados pelas células, e os apresentam aos linfócitos T (1). Os genes do sistema HLA são os mais importantes na gênese do DM1, sendo responsáveis por aproximadamente 45% da susceptibilidade genética à doença (84). Diferentes genes no MHC têm sido identificados, levando à maior susceptibilidade ou conferindo proteção ao DM1. Existe uma associação bem estabelecida de DM1 com HLA-DR3 e HLA-DR4 (85,86). Análises adicionais têm demonstrado que os haplótipos DR4-DQA1*0302 e DR3-DQA1*0501-DQB1*0201 estão mais fortemente associados

com DM1, enquanto outros haplótipos como DR2DQA1*0102-DQB1*0602 demonstraram associação negativa, conferindo proteção contra a doença (86,87).

A susceptibilidade codificada pelo HLA no DM1 corresponde a menos da metade dos casos, portanto, muitos outros genes não HLA podem contribuir para o desenvolvimento da doença. Até o momento, apenas dois foram confirmados. O primeiro locus, fora da região HLA, associado com a doença de maneira consistente, foi o gene da insulina localizado no cromossomo 11p5 (88). O gene, que codifica citocinas e receptores de células T(CTLA-4), localizado no cromossomo 2q33, é outro candidato (89). Estudos envolvendo mapeamento de todo o genoma tem sido utilizados para tentar identificar genes adicionais e sugerem que cerca de 20 intervalos genômicos com graus variáveis de associação e de reprodutibilidade podem influenciar no risco para o desenvolvimento do DM1, porém ainda não se sabe muito bem quais são os genes protetores e quais são os falso-positivos (90).

A base genética da DC está apoiada em diversas observações. Estudos têm demonstrado que genes do MHC contribuem com 40% a 50% da susceptibilidade genética na DC. Existe uma forte associação entre DC e antígeno de histocompatibilidade da classe II, HLA-DR3 e HLA-DQ2 (DQB1*0201 e DQA1*0501) (91,92). A grande maioria dos pacientes com DC DR3 negativos é DR5/DR7 heterozigotos (72). Os genes DQA1*0501 e DQB1*0201 estão localizados em cis (no mesmo cromossomo) em indivíduos DR3, e em trans (em cromossomos opostos) em indivíduos heterozigotos DR5/DR7 (93). Aproximadamente 95% dos pacientes com DC apresentam o heterodímero DQ2 (formado por DQB1*0201 e DQA1*0501); a maior parte dos 5% restantes, apresentam o heterodímero DQ8 (formado por DQB1*0302 e DQA1*0301) (94).

A prevalência do HLA DQ2 é 20-30% na população geral e apenas uma minoria irá desenvolver DC (92,95). Isso implica no envolvimento adicional de outros genes na patogênese da doença. Acredita-se que os genes da classe HLA classe II na sub-região

DQ no cromossomo 6 são necessários, mas esta associação sozinha não é suficiente para explicar a natureza hereditária da DC. Parece haver uma heterogeneidade genética e que outros genes, provavelmente não ligados ao HLA, estão implicados no desenvolvimento da doença. Alguns candidatos têm sido sugeridos por estudos envolvendo o mapeamento de todo o genoma.

Na Finlândia foi identificada associação com genes nas regiões 6p21.3, 1p36, 4p15, 5q31 e 7q21 (96); na Suíça e Noruega foi encontrada forte associação à 6p, e foram identificados oito locus adicionais, particularmente em 11q e 5q (97); na Europa, em famílias com dois ou mais membros com CD, a ligação foi identificada com genes nos locus 6p21.3, 4p14 e 19p13.3 (98). Acredita-se que a região mais consistentemente associada com a DC é a 5q31-33, uma região que abriga muitos candidatos a susceptibilidade genética e está localizada no braço curto do cromossomo 5 (96,99). Diversos outros estudos têm sugerido também o papel do gene codificador do CTLA-4 (2q33), um regulador negativo da resposta imune ou de um gene contíguo (100). Parece haver também genes que conferem proteção; em um estudo de Lie *et al*, um alelo encontrado no locus D6S2223 foi menos freqüente entre os celíacos homozigotos HLADR3-DQ2 do que nos controles não celíacos homozigotos HLADR3-DQ2, parecendo ser um gene que confere proteção (101).

EVIDÊNCIAS E BASE GENÉTICA DA ASSOCIAÇÃO DM1 E DC

A primeira observação da coexistência dessas duas doenças em um mesmo paciente foi feita por Payne em 1954 e comprovada através de biópsia em 1960 por Ellenberg e Bookman (7). Desde então diversos estudos foram publicados demonstrando que a prevalência de DC em pacientes com DM1 é significativamente maior que na população geral (Tabela 2). A evolução dos estudos genéticos tem possibilitado a identificação das bases biológicas que justificam a associação destas duas doenças.

A doença celíaca compartilha muitos fatores com as DAI em geral, como o modo de herança poligênica, uma forte associação com antígenos HLA-DQ2 e HLA-DQ8, a produção local de resposta inflamatória (infiltração linfocitária e produção de citocinas), a presença de auto anticorpos na circulação, preponderância no sexo feminino e uma associação com outras DAI (102,105,110,111,122). A associação entre estas duas doenças pode ser explicada, pelo menos em parte, por compartilharem um mecanismo genético comum no sistema HLA (123). O DM1 tem uma forte associação com HLA DR3 e DR4 sendo o estado heterozigoto DR3/DR4 particularmente associado com alto risco de desenvolver DM1 (86,124,125). A doença celíaca é associada com HLA DR3 no norte da Europa e DR5/DR7 em parte do sul da Europa e América Latina (95,126). Shanahan *et al* (2) demonstraram que a freqüência de HLA DR3 é de 88% em pacientes com a associação DM1 e DC, 88% em pacientes com DC isolada e 69% naqueles somente com DM1, o que é significativamente maior do que na população geral (44%). Tem sido também demonstrada prevalência elevada de HLA B8 em pacientes com ambas as doenças (2,11,105); seis em cada sete pacientes com a associação DM1 e DC apresentam a combinação HLA-B8 e HLA-DR3, comparada com apenas 41% nos pacientes com DM1 isolado (95).

Estudos adicionais em DM1 e DC tem sugerido a presença de outro *locus* de susceptibilidade na região telomérica do HLA (101,127). Mais recentemente MICA (MHC *class I chain-related protein A*), um membro da família da proteína MHC não clássica, localizada entre HLA-B e TNFA que tem sido também implicado como um possível candidato para explicar a associação destas duas doenças (128).

A boa correlação entre a positividade de autoanticorpos na DC e a presença de haplótipos HLA específicos HLA-DQ2 ou DQ8, tem despertado interesse na tipagem do HLA como um método de triagem em grupos de risco para DC. Apesar da baixa especificidade, o valor preditivo negativo do HLA na DC é elevado (129). Além disso, o desenvolvimento de kits mais baratos tornaram este exame possível na prática clínica podendo apresentar uma boa relação custo benefício, pois seria realizado uma única

vez na vida e, se negativo, praticamente exclui a possibilidade do paciente ter ou vir a desenvolver a DC. Neste modelo, a sorologia seria realizada somente nos indivíduos com HLA-DQ2 e DQ8 positivos, o que permitiria a exclusão de 70% das sorologias desnecessárias (129,130). A possibilidade de falso-negativo da biópsia, associado à difícil aceitação por parte dos pacientes em se submeterem a um procedimento invasivo, tem levado alguns autores a sugerir uma nova definição para o diagnóstico da DC, baseado na presença de anticorpos positivos (anti-tTG ou AAE) associado a presença de alelos HLA-DR3-DQ2 ou HLA-DR4-DR8 (130).

DM1 E DC: A MEDIAÇÃO IMUNOLÓGICA E AMBIENTAL

A associação entre o DM1 e a DC tem uma base genética. Entretanto, um desencadeante externo (o glúten), um auto-antígeno (a enzima transglutaminase tecidual) e a presença de reações imunológicas são necessários, para que as alterações patológicas se desenvolvam e a doença se torne clinicamente manifesta ou seja detectada através da avaliação sorológica.

Ainda não se conhece a patogênese da DC em toda a sua extensão, mas diversos avanços têm ocorrido nesta área e, atualmente, acredita-se que mecanismos imunológicos estão implicados no desenvolvimento da lesão mucosa exposta ao glúten (131). Em pacientes não tratados, há evidências de ativação do sistema imune humoral e celular.

Em 1983 foi demonstrada a existência de auto-anticorpos da classe IgA dirigidos ao endomísio (estrutura do tecido conectivo, presente em todo organismo), em uma grande proporção de soros de pacientes com DC. Recentemente, Dieterich (41) identificou a enzima presente no endomísio, tTG, como sendo o alvo específico contra o qual eram produzidos os auto-anticorpos, sendo portanto o auto-antígeno da DC. A tTG é uma enzima intracelular, liberada pelas células durante mecanismos de estresse ou lesão tissular, e que tem um papel importante no controle da homeostase celular e na

regulação do ciclo celular através do seu envolvimento na proliferação, diferenciação e apoptose (132).

As células T CD4+ glúten-específico da lâmina própria da mucosa do intestino delgado de pacientes com DC reconhecem os peptídeos derivados do glúten, principalmente quando apresentados por heterodímeros associados à DC (DQ2 ou DQ8). Todos os clones de célula T secretam interferon-gama em altas concentrações, e alguns deles também secretam uma ou várias das citocinas IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e fator de necrose tumoral. Portanto é possível que o interferon-gama e outras citocinas produzidas pelas células T ativadas da mucosa do intestino delgado estejam envolvidas no desenvolvimento da doença celíaca (133).

Acredita-se que em vigência de um ambiente apropriado - como durante agressões virais e bacterianas à mucosa do intestino, há um maior influxo de gliadina (fração tóxica do trigo) da dieta, liberação de tTG e formação de complexos entre a gliadina, ou seus substratos, com a tTG. Este complexo tTG-gliadina é fagocitado pelas células B apresentadoras de antígeno e exposto na superfície destas células, ligado especificamente ao DQ2. Células T CD4 gliadina específicas, presentes apenas na mucosa intestinal dos pacientes celíacos, são ativadas por este complexo, levando a liberação de citocinas. Estas estão envolvidas na agressão à mucosa intestinal vista na DC e ainda promovem a maturação destas células B, levando a produção de anticorpos contra a gliadina e contra a tTG (134).

As primeiras mudanças na morfologia intestinal e a ativação dos marcadores podem ser detectadas uma hora após o contato com o glúten, e antecedem a infiltração linfocitária. Isso leva à hipótese de que as células T glúten-específico sejam apenas um produto da lesão da mucosa e não o mecanismo primário, pois a reatividade das células T CD4+ resulta em resposta do tipo tardio, onde se espera um intervalo de alguns dias para que ocorra a resposta inflamatória (16).

Do ponto de vista imunológico, a coexistência do DM1 e DC pode ser explicada pelo mecanismo de mímica molecular, no qual a gliadina ou tTG ativam as células T que fazem reação cruzada com vários auto-antígenos (1). Esta resposta inflamatória pode ter a capacidade de persistir em hospedeiros geneticamente predispostos e levar à doença crônica auto-imune, via difusão do epitopo (135). Entretanto, não está claro se alguma seqüência similar existe entre gliadina ou tTG e, por exemplo, o anticorpo antidescarboxilase do ácido glutâmico (GAD) ou outros anticorpos associados com DM1. É possível também que, além da gliadina, a tTG possa modificar outros抗ígenos próprios ou externos através de ligação cruzada, gerando novos抗ígenos. Esta produção de抗ígenos e anticorpos pode induzir vários fenômenos autoimunes fora do intestino (136).

Há evidências de que, no desenvolvimento da auto-imunidade do DM1, a falha em adquirir tolerância à auto-antígenos possa vir do intestino. Tem sido sugerido que o aumento da permeabilidade intestinal em pacientes celíacos não tratados predispõe a outras doenças por facilitar que抗ígenos externos adicionais como proteínas alimentares, produtos derivados de bactérias e endotoxinas penetrem na lámina própria do intestino, levando a ativação do fenômeno auto-imune (137,138).

Estudos experimentais têm reforçado a hipótese do papel dos抗ígenos alimentares na autoimunidade. Em modelos animais a incidência de DM1 é significativamente menor em camundongos diabéticos não obesos (NOB) que nunca foram expostos ao glúten (139). Em camundongos BB (*Bio-Breeding*), tem sido demonstrado aumento da permeabilidade paracelular até três a quatro semanas antes do desenvolvimento de inflamação das células β pancreáticas e das manifestações clínicas do diabetes. Redução da incidência de DM1 nos que foram alimentados com caseína hidrolisada ao invés da não-hidrolisada e redução da incidência de diabetes de 64% para 15% naqueles alimentados com dieta livre de glúten por 320 dias (139,140).

Estudos em humanos têm demonstrado que anticorpos relacionados ao DM1 podem estar presente em 7-25% dos pacientes com DC; porém ainda não se sabe se esses anticorpos são preditivos do desenvolvimento de DM1 em pacientes celíacos ou somente indicativos de um distúrbio imunológico generalizado (30,141). Além disso, anticorpos relacionados à DC podem estar presentes como um fenômeno transitório no início do diabetes em pacientes com biópsia de intestino normal; a presença destes anticorpos pode simplesmente refletir eventos próprios do início do diabetes como aumento da permeabilidade intestinal e imunidade alterada (114).

Alguns autores especulam que a DC ocorre antes do DM1, e que a mucosa intestinal anormal intensifica a absorção de抗ígenos externos, induzindo uma resposta imune em pacientes geneticamente predispostos ao DM1 (142). Ventura *et al* (30) demonstraram que em 11 pacientes com DC não tratada e, com pelo menos um anticorpo relacionado ao DM1, houve desaparecimento completo destes anticorpos após 12 meses de dieta livre de glúten.

Para que ocorra o desencadeamento da reação imunológica, é necessário, além da susceptibilidade genética, a presença de um fator ambiental. O principal fator ambiental envolvido na gênese da DC é o glúten da dieta; as proteínas deletérias são a gliadina (trigo), hordeína (cevada), secalina (centeio), e possivelmente a avidina (aveia). A toxicidade dessas proteínas foi estabelecida há muitos anos em estudos clínicos. São proteínas complexas que compartilham seqüências repetitivas comuns, porém a seqüência exata de peptídeos envolvida no mecanismo de agressão não foi precisamente identificada. Entretanto se sabe que os peptídeos ricos em glutaminas e prolínas são ativadores potentes da resposta imune na DC (13,143).

A presença de fatores ambientais adicionais parece ser necessária para que a DC ou outras condições auto-imunes se estabeleçam. O adenovírus sorotípico 12 demonstra uma seqüência de aminoácidos homóloga com o peptídeo gliadina, entretanto não há evidências de maior prevalência de infecção por este vírus em

pacientes celíacos. Por outro lado se sabe que infecções virais podem iniciar a resposta imune celular (73,123).

No DM1, diversos fatores ambientais têm sido implicados, porém, até o momento não há nenhuma evidência convincente de que algum fator ambiental esteja envolvido no processo de início da doença. Os principais candidatos são as infecções virais, a introdução precoce do leite de vaca, a amamentação ao seio por tempo curto, e componentes da dieta, como nitritos e nitrosaminas (144,145).

O glúten é sem dúvida o fator ambiental mais importante no desenvolvimento da DC, e tem sido também advogado como fator de risco para o desenvolvimento do DM1. Exposição à proteína da soja e ao glúten do trigo parece modificar a incidência de DM1 em camundongos BB e em camundongos NOB (139). O risco de ocorrer DC em pacientes com DM1 parece estar correlacionado com a duração de exposição ao glúten (30). Além disso, foi observado aumento da resposta imunológica celular ao glúten em células mononucleares no sangue periférico de pacientes diabéticos (146).

DM1 E DC: ALGUNS ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA ASSOCIAÇÃO

Há uma ampla variação geográfica na incidência de DM1 em todo o mundo, sendo mais freqüente nos países nórdicos da Europa e menos comum na América do Sul e na Ásia. Na Finlândia, a incidência é de 40/100.000 crianças/ano, nos Estados Unidos 15/100.000 crianças/ano, no Brasil 7,4/100.000 crianças/ano e no Japão 0,8/100.000 crianças/ano (147).

A presença da DC em pacientes com DM1 também mostra uma ampla variação geográfica em diversos países do mundo, sem entretanto apresentar nenhuma relação com a incidência de DM1 ou a prevalência de DC. Esta associação é mais comumente observada na Argélia (16,4%), Líbia (10,3%) e Dinamarca (10%) e menor na Alemanha (0,97% a 1,7%) e Áustria (1,5%) (Tabela 2). No Brasil há poucos dados sobre a prevalência dessa associação. Em Pernambuco, estudo envolvendo um pequeno grupo

de crianças e adolescentes diabéticos encontrou elevada soroprevalência da DC, com cerca de 21% dos pacientes apresentando anticorpos positivos (148).

Tabela 2 Prevalência de DC em pacientes com DM1 em estudos de triagem

Origem	N	Teste sorológico	Soroprev	N (biopsia)	Prevalência DC	Ano
Alemanha/Suiça	1032	AGA	1,3%	9/17	0,97%	1988 (8)
Áustria	403	EMA/AGA	2,98%	13/14	1,5%	2000 (102)
Alemanha	520	AtTG/EMA	4,4%	13/23	1,7%	2000 (103)
Austrália	273	EMA/AGA	3%	5/5	1,8%	1994 (104)
Finlândia	776	AGA/ARA	2,4%	19/36	2,4%	1996 (105)
Espanha	141	AGA	8,5%	12/12	2,8%	1996 (106)
Itália	498	AGA	6%	22/30	3,2%	1991 (107)
Itália	200	AGA/EMA	7%	11/14	4%	1997 (108)
USA	218	EMA	7,7%	14/17	4,6%	2001 (109)
UK	167	EMA/AGA	6,6%	9/11	4,8%	1998 (110)
Suécia	436	AGA/ARA	6,4%	26/28	4,6%	1993 (111)
Arábia S	123	AGA/ARA	8,1%	6/10	4,9%	2003 (112)
Canadá	236	EMA	8%	17/19	5,1%	1998 (113)
Suécia	115	EMA/AGA	7,8%	6/9	6,2%	1999 (114)
Itália	274	EMA	9,8%	20/27	6,2%	2002 (115)
Espanha	93	EMA/AGA	7,5%	7/7	6,45%	1998 (116)
Canadá	233	EMA/Ttg	8,1%	18/19	7,7%	2001 (117)
Hungria	205	EMA	11,7%	24/24	8,3%	2003 (118)
Dinamarca	106	AGA	9,4%	9/10	10,4%	2001 (119)
Líbia	234	Todos	21,3%	50/50	10,3%	2003 (120)
Algéria	116	AGA	13,7%	13/13	16,4%	1996 (121)

Nota: (em ordem crescente de prevalência)

As razões para estas variações geográficas não são bem compreendidas, ainda permanece por ser estabelecido se pode ser atribuída a variações na susceptibilidade genética, nos hábitos alimentares, outros fatores ambientais ou à combinação de todos estes fatores (3).

Tem sido demonstrado também que parentes de primeiro grau de pacientes com DM1 apresentam maior risco em desenvolver DC na sua forma silenciosa (149). Por outro lado, pacientes com DC também apresentam maior risco de desenvolver DM1, a prevalência é em torno de 4,5%, o que é vinte vezes maior do que na população geral, entretanto ainda há poucos estudos avaliando este aspecto (141,150).

DM1 E DC: TRIAR OU NÃO? TRATAR OU NÃO?

O diagnóstico da DC pode preceder o do DM1, mas em cerca de 90% dos casos o diabetes é diagnosticado primeiro (30,104,142,145,121,151,152) e a DC é diagnosticada meses ou anos após o início do DM1, mais freqüentemente dois a cinco anos após (13,115,142). A maioria dos pacientes diabéticos apresenta as formas subclínica ou silenciosa da DC (15,64,112,153) e apenas cerca de 10% são identificados pela sintomatologia clássica (123). Pacientes com ambas as condições apresentam idade mais jovem no diagnóstico do DM1 do que os diabéticos não portadores de DC, (102,142) tendem a apresentar hipoglicemias recurrentes (154,155), controle glicêmico inadequado (115) e maior freqüência de anticorpos anti-tireóide (156).

O número de pacientes diabéticos com sinais e sintomas sugestivos de DC varia amplamente, nos diversos estudos, o que provavelmente reflete a freqüência com que se pensa nesta associação e o cuidado com que se investiga tais sintomas. Geralmente não há queixa de sintomas gastrointestinais (103,104,107,108), porém com certa freqüência estes sintomas são identificados de forma retrospectiva. Na grande maioria dos pacientes diabéticos, a DC é diagnosticada através dos testes sorológicos em estudos de triagem (157).

Embora não se tenha dúvida sobre a maior prevalência de DC em pacientes com DM1, ainda há controvérsias se um programa de triagem deve ser instituído de forma rotineira para a detecção das formas subclínicas ou silenciosas (3,114,157). Diversos grupos já advogam a triagem de rotina com testes sorológicos em crianças (11,13,31,102,105, 107, 109,110,113,114,115,116,118,120) e adultos (13,151,152,159) com DM1. Alguns argumentos são usados para justificar esta conduta; o risco de doenças malignas nas formas subclínica e silenciosa ainda não é conhecido, porém pacientes assintomáticos podem desenvolver crescimento deficiente, atraso puberal, osteopenia, anemia, irregularidade menstrual e controle glicêmico inadequado. Muitas destas complicações podem ser reversíveis com a instituição precoce de dieta livre de glúten. Além disso, no início do seu curso estas complicações podem não ser identificadas através da história e exame físico, sendo então necessária triagem de rotina para o diagnóstico precoce.

Ainda não há um consenso sobre a periodicidade da realização dos testes sorológicos para a DC, alguns defendem que devem ser realizados no início do DM1 e depois anualmente (114,115), outros concordam com a sorologia inicial, porém aconselham nova avaliação com um, três e cinco anos (105) ou em qualquer período, se houver suspeita clínica (153). Outros autores têm advogado que a primeira avaliação deve ser realizada somente após um ou dois anos, pois o AGA e AAE podem estar presentes no início do DM1 como um fenômeno transitório refletindo distúrbio da imunidade ou aumento da permeabilidade intestinal neste período (8,107,113,119,142).

O impacto da dieta sem glúten, no controle metabólico do diabetes, depende dos sintomas da DC apresentados pelo paciente. Na forma clássica, com sinais importantes de má-absorção, a dieta leva a melhor controle e redução dos episódios de hipoglicemia (2,153). Nos pacientes assintomáticos detectados pela triagem, a influência do tratamento dietético, avaliado pela redução das hipoglicemias e melhora da hemoglobina glicosilada, tem sido variável, há relatos de melhora no controle metabólico e outros demonstraram pouco ou nenhum efeito (108,154,155).

Alguns autores demonstram que a instituição da dieta livre de glúten em pacientes assintomáticos é importante para garantir crescimento e desenvolvimento puberal adequados e prevenir complicações como osteoporose, anemia e irregularidade menstrual (160,161). Uma questão ainda em aberto é se pacientes com DC não tratada têm aumento na incidência e /ou na progressão das complicações crônicas do diabetes (123). Ventura *et al* (30) observaram que o desenvolvimento de outras DAI está correlacionado com o tempo de exposição ao glúten, e sugerem que o diagnóstico e tratamento precoces da DC podem prevenir o surgimento destas doenças.

O DM1 por si só já traz uma série de restrições e modificações na rotina do paciente e seus familiares, por este motivo a adesão à dieta sem glúten é muitas vezes difícil nos pacientes assintomáticos. A intervenção dietética é fortemente recomendada em pacientes sintomáticos, bem como nas formas subclínicas com hipoglicemias graves, difícil controle da glicemia, osteopenia, crescimento deficiente, disfunção hepática, irregularidade menstrual, anemia ou sintomas neurológicos inexplicados. Porém nos pacientes assintomáticos sem evidências de complicações, recomenda-se uma discussão com os pacientes e os familiares sobre o curso e o prognóstico da doença e uma decisão em conjunto sobre a instituição do tratamento. No futuro, se nas formas silenciosas da DC for confirmado maior risco de doenças malignas, a restrição do glúten deverá ser recomendada para todos os pacientes com biópsia positiva (162).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A doença celíaca afeta principalmente o trato gastrointestinal, mas as evidências recentes demonstram que esta condição pode envolver diversas manifestações extra-intestinais sendo os pacientes inicialmente avaliados por outros especialistas com queixas relacionadas a outros sistemas, o que torna a doença difícil de ser reconhecida ou tem seu diagnóstico retardado.

Uma forte associação entre várias condições auto-imunes endocrinológicas e a DC tem sido demonstrada nos estudos e, dentre elas, a mais importante é a

coexistência de DM1 e DC com observação crescente do aumento da incidência, devido à evolução dos métodos de triagem. Esta associação leva a uma série de questões: a ocorrência destas duas doenças é um fenômeno paralelo com uma base genética comum? uma doença predispõe a outra? E se for, quem vem primeiro? Pode o DM1 ser uma entidade glúten-dependente e passível de prevenção através do diagnóstico precoce da DC e tratamento com dieta sem glúten? As evidências atuais apontam algumas semelhanças no mecanismo patogenético e que a etiologia de ambas pode envolver mecanismos genéticos semelhantes que irão exercer um importante papel no mecanismo de resposta imune.

Além de questões relacionadas à etiologia e à patogenia desta associação, há ainda muitas controvérsias em relação à necessidade de implementação de triagem de rotina da DC em pacientes com DM1 e que benefícios os pacientes assintomáticos terão com a adesão a um tratamento dietético com restrição do glúten. Após o encerramento da presente revisão, em janeiro de 2005, a Sociedade Norte Americana de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição publicou um novo consenso sobre a DC. Recomenda a triagem sistemática de grupos de risco como o DM1 e elege o anti-tTG humana como teste de escolha para a triagem inicial em grupos de risco para a DC (163).

Há necessidade de evidências científicas para que se possa decidir sobre a instituição precoce da dieta sem glúten e os benefícios que esta medida trará para os pacientes assintomáticos. São necessários estudos multicêntricos, em longo prazo, que avaliem a evolução para complicações crônicas do diabetes, repercussões sobre o crescimento, osteoporose, doenças malignas e outras complicações em indivíduos assintomáticos com triagem sorológica e biópsia positivas, comparando um grupo de pacientes com obediência à dieta sem glúten e outro grupo, onde a adesão ao tratamento não tenha sido adequada ou tenha optado por não suspender o glúten da dieta.

À luz do conhecimento atual, pode-se concluir que a triagem rotineira para DC entre os pacientes portadores de DM1 deve ser realizada e os pacientes com sorologia positiva devem ser submetidos ao estudo histológico da mucosa intestinal. Nos pacientes com sintomas clássicos ou inespecíficos com alterações da mucosa se faz necessária instituição de dieta isenta de glúten, nas formas silenciosa e potencial ainda não há um consenso sobre os benefícios do tratamento dietético.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Leech S. Molecular mimicry in autoimmune disease. **Arch Dis Child** **1998**;79(5):448-51.
2. Shanahan F, McKenna R, McCarthy CF, Drury MI. Coeliac disease and diabetes mellitus: a study of 24 patients with HLA typing. **Q J Med** **1982**;51(203):329-35.
3. Soran H, Gill G. Type 1 Diabetes and Celiac Disease. **J R Coll Physicians** **2002**;32(3):178-88.
4. Radetti G, Paganini C, Gentili L, Bernasconi S, Betterle C, Borkenstein M, Cvijovic K, Kadrnka-Lovrencic M, Krzisnik C, Battelino T. Frequency of Hashimoto's thyroiditis in children with type 1 diabetes mellitus. **Acta Diabetol** **1995**;32(2):121-4.
5. Bilmoria KY, Pescovitz OH, DiMeglio LA. Autoimmune thyroid dysfunction in children with type 1 diabetes mellitus: screening guidelines based on a retrospective analysis. **J Pediatr Endocrinol Metab** **2003**;16(8):1111-7.
6. Kontiainen S, Schlenzka A, Koskimies S, Rilva A, Maenpaa J. Autoantibodies and autoimmune disease in young diabetics. **Diabetes Res** **1990**;13(4):151-6.
7. Auricchio S, Troncone R. History of coeliac disease. **Eur J Pediatr** **1996**;155(6):427-8.
8. Koletzko S, Burgin-Wolff A, Koletzko B, Knapp M, Burger W, Gruneklee D. Prevalence of coeliac disease in diabetic children and adolescents. A multicentre study. **Eur J Pediatr** **1988**;148(2):113-7.

9. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. **Arch Intern Med** 2003;163(3):286-92.
10. Cronin CC, Feighery A, Ferriss JB, Liddy C, Shanahan F, Feighery C. High prevalence of celiac disease among patients with insulin-dependent (type I) diabetes mellitus. **Am J Gastroenterol** 1997; 92(12):2210-2.
11. Berge-Henegouwen GP, Mulder CJJ. Pioneer in the gluten free diet: Wille-Karel Dicke 1905-1962, over 50 years of gluten free diet. **Gut** 1993;34(11):1473-5.
12. Sdepanian VL, Morais MB, Neto UF. Doença celíaca: a evolução dos conhecimentos desde sua centenária descrição original até os dias atuais. **Arq Gastroenterol** 1999;36(4):244-57.
13. Murray JA. The widening spectrum of celiac disease. **Am J Clin Nutr** 1999;69(3):354-65.
14. Shan L, Molberg O, Parrot I. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. **Science** 2002;297(5590):2275-9.
15. Farrell RJ, Kelly CP. Diagnosis of celiac sprue. **Am J Gastroenterol** 2001;96(12):3237-46.
16. NIH Consensus Development Conference on Celiac Disease. William H. Natcher Conference Center National Institutes of Health Bethesda, Maryland June 28-30, 2004. http://consensus.nih.gov/cons/118/118cdc_intro.htm
17. Green P H R, Jabri B. Coeliac disease. **Lancet** 2003; 362(9381):383-91.

18. Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S. Clinical and pathological spectrum of coeliac disease - active, silent, latent, potential. **Gut** **1993**;34(2):150-1.
19. Fasano A. Where have all the American celiacs gone? **Acta Paediatr** **1996**;412(Suppl):20-4.
20. American Gastroenterological Association medical position statement: Celiac Sprue. **Gastroenterology** **2001**;120(6):1522-5.
21. Catassi C, Fabiani E, Ratsch IM. The coeliac iceberg in Italy: a multicentre antigliadin antibodies screening for coeliac disease in school age subjects. **Acta Paediatr** **1996**; 412(Suppl):29-35.
22. Not T, Horvath K, Hill ID, Partanen J, Hammed A, Magazzu G, Fasano A. Celiac disease risk in the USA: high prevalence of antiendomysium antibodies in healthy blood donors. **Scand J Gastroenterol** **1998**;33(5):494-8.
23. Gandolfi L, Pratesi R, Cordoba JC, Tauil PL, Gasparin M, Catassi C. Prevalence of celiac disease among blood donors in Brazil. **Am J Gastroenterol** **2000**;95(3):689-92.
24. Loftus C.G, Murray JA. Celiac Disease: Diagnosis and Management. **J Clin Outcomes Manage** **2002**;9(6):341-9.
25. Gandolfi L, Bocca AL, Pratesi R. Screening of celiac disease in children attending the outpatient clinic of a University Hospital. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** **2000**;31(2):212-3.
26. Trevisiol C, Brandt KG, Silva GA, Crovella S, Ventura A. High prevalence of unrecognized celiac disease in an unselected hospital population in North-Eastern Brasil (Recife, Pernambuco). **J Pediatr Gastroenterol Nutr** **2004**;39(2):214-5

27. West J, Logan RF, Smith CJ, Hubbard RB, Card TR. Malignancy and mortality in people with coeliac disease: population based cohort study. **BMJ** 2004; 25;329(7468):716-9.
28. Swinson CM, Slavin G, Coles EC, Booth CC. Celiac Disease and Malignancy. **Lancet** 1983;1(8316):111-5.
29. Jason SR, Jennings MR, Peter DH. New Developments in Celiac Disease. **Curr Opin Gastroenterol** 2003;19(2):118-29.
30. Ventura A, Magazzu G, Greco L. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. SIGEP Study Group for Autoimmune Disorders in Celiac Disease. **Gastroenterology** 1999;117(2):297-303.
31. Peretti N, Bienvenu F, Bouvet C, Fabien N, Tixier F, Thivolet C, Levy E, Chatelain PG, Lachaux A, Nicolino M. The temporal relationship between the onset of type 1 diabetes and celiac disease: a study based on immunoglobulin a anti transglutaminase screening. **Pediatrics** 2004;113(5):418-22.
32. Sategna Guidetti C, Solerio E, Scaglione N, Aimo G, Mengozzi G. Duration of gluten exposure in adult coeliac disease does not correlate with the risk for autoimmune disorders. **Gut** 2001;49(4):502-5.
33. Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease, an evolving spectrum. **Gastroenterology** 2001;120(3):636-51.
34. Fabiani E, Catassi C. The serum IgA class anti-tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis and follow up of coeliac disease. Results of an international multi-centre study. International Working Group on Eu-tTG. **Eur J Gastroenterol Hepatol** 2001;13(6):659-65.

-
35. Ciclitira PJ, King AL, Fraser JS. AGA technical review on Celiac Sprue. American Gastroenterological Association. **Gastroenterology**. 2001;120(6):1526-40.
36. Uibo O, Uibo R, Kleimola V, Jogi T, Maki M. Serum IgA anti-gliadin antibodies in an adult population sample. High prevalence without celiac disease. **Dig Dis Sci** 1993;38(11):2034-7.
37. Chorzelski TP, Beutner EH, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Kumar V, Kapuscinska A. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. **Br J Dermatol.** 1984;111(4):395-402.
38. Ladinser B, Rossipal E, Pittschieler K. Endomysium antibodies in coeliac disease: an improved method. **Gut** 1994;35(6):776-8.
39. Yiannakou JY, Dell'Olio D, Saaka M, Ellis HJ, Rosen-Bronson S, Dumonde DC, Ciclitira PJ. Detection and characterisation of anti-endomysial antibody in coeliac disease using human umbilical cord. **Int Arch Allergy Immunol** 1997;112(2):140-4.
40. Ferreira M, Davies SL, Butler M, Scott D, Clark M, Kumar P. Endomysial antibody: is it the best screening test for coeliac disease? **Gut** 1992;33(12):1633-7.
41. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. **Nat Med** 1997;3(7):797-801.
42. Troncone R, Maurano F, Rossi M, Micillo M, Greco L, Auricchio R, Salerno G, Salvatore F, Sacchetti L. IgA antibodies to tissue transglutaminase: An effective diagnostic test for celiac disease. **J Pediatr** 1999;134(2):166-71.

43. Dieterich W, Laag E, Schopper H, Volta U, Ferguson A, Gillett H, Riecken EO, Schuppan D. Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease. **Gastroenterology** **1998**;115(6):1317-21.
44. Sulkkanen S, Halttunen T, Laurila K, Kolho KL, Korponay-Szabo IR, Sarnesto A, Savilahti E, Collin P, Maki M. Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. **Gastroenterology** **1998**;115(6):1322-8.
45. Clemente MG, Musu MP, Frau F, Lucia C, De Virgiliis S. Antitissue transglutaminase antibodies outside celiac disease. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** **2002**;34(1):31-4.
46. Sblattero D, Berti I, Trevisiol C, Marzari R, Tommasini A, Bradbury A, Fasano A, Ventura A, Not T. Human recombinant tissue transglutaminase ELISA: an innovative diagnostic assay for celiac disease. **Am J Gastroenterol** **2000**; 95(5):1253-7.
47. Wong RC, Wilson RJ, Steele RH, Radford-Smith G, Adelstein S. A comparison of 13 guinea pig and human anti-tissue transglutaminase antibody ELISA kits. **J Clin Pathol.** **2002**;55(7):488-94.
48. Hansson T, Dahlbom I, Hall J, Holtz A, Elfman L, Dannaeus A, Klareskog L. Antibody reactivity against human and guinea pig tissue transglutaminase in children with celiac disease. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** **2000**;30(4):379-84.
49. Carroccio A, Vitale G, Di Prima L, Chifari N, Napoli S, La Russa C, Gulotta G, Averna MR, Montalto G, Mansueto S, Notarbartolo A. Comparison of anti-transglutaminase ELISAs and an anti-endomysial antibody assay in the diagnosis of celiac disease: a prospective study. **Clin Chem** **2002**;48(9):1546-50.

50. Burgin-Wolff A, Berger R, Gaze H, Huber H, Lentze MJ, Nussle D. IgG, IgA and IgE gliadin antibody determinations as screening test for untreated coeliac disease in children, a multicentre study. **Eur J Pediatr** 1989;148(6):496-502.
51. McMillan SA, Haughton DJ, Biggart JD, Edgar JD, Porter KG, McNeill TA. Predictive value for coeliac disease of antibodies to gliadin, endomysium, and jejunum in patients attending for jejunal biopsy. **BMJ** 1991;303(6811):1163-5.
52. Not T, Ventura A, Peticarari S, Basile S, Torre G, Dragovic D. A new, rapid, noninvasive screening test for celiac disease. **J Pediatr** 1993;123(3):425-7.
53. Burgin-Wolff A, Gaze H, Hadziselimovic F, Huber H, Lentze MJ, Nussle D, Reymond-Berthet C. Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease. **Arch Dis Child** 1991;66(8):941-7.
54. Sacchetti L, Ferrajolo A, Salerno G, Esposito P, Lofrano MM, Oriani G et al. Diagnostic value of various serum antibodies detected by diverse methods in childhood celiac disease. **Clin Chem** 1996;42(11):1838-42.
55. Bode S, Weile B, Krasilnikoff PA, Gudmand-Hoyer E. The diagnostic value of the gliadin antibody test in celiac disease in children: A prospective study. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 1993;17(3):260-64.
56. Baldas V, Tommasini A, Trevisiol C, Berti I, Fasano A, Sblattero D, et al. Development of a novel rapid non-invasive screening test for coeliac disease. **Gut** 2000;47(5):628-31.
57. Salmaso C, Ocmant A, Pesce G, Altrinetti V, Montagna P, Descalzi D, et al. Comparison of ELISA for tissue transglutaminase autoantibodies with antiendomysium antibodies in pediatric and adult patients with celiac disease. **Allergy** 2001;56(6):544-7.

58. Bonamico M, Tiberti C, Picarelli A, Mariani P, Rossi D, Cipolletta E, et al. Radioimmunoassay to detect antitransglutaminase autoantibodies is the most sensitive and specific screening method for celiac disease. **Am J Gastroenterol** **2001**;96(5):1536-40.
59. Vitoria JC, Arrieta A, Arranz C, Ayesta A, Sojo A, Maruri N, Garcia-Masdevall MD. Antibodies to gliadin, endomysium, and tissue transglutaminase for the diagnosis of celiac disease. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** **1999**;29(5):571-4.
60. Baudon JJ, Johonet C, Absalon YB, Morgant G, Cabrol S, Mougenot JF. Diagnosing celiac disease: a comparison of human tissue transglutaminase antibodies with antigliadin and antiendomysium antibodies. **Arch Pediatr Adolesc Med** **2004**;158(6):584-8.
61. Harewood GC, Murray JA. Diagnostic approach to a patient with suspected celiac disease: a cost analysis. **Dig Dis Sci** **2001**;46(11):2510-4.
62. Kumar V, Jarzabek-Chorzecka M, Sulej J, Karnewska K, Farrell T, Jablonska S. Celiac disease and immunoglobulin A deficiency: how effective are the serological methods of diagnosis? **Clin Diagn Lab Immunol** **2002**;9(6):1295-300.
63. Cataldo F, Marino V, Ventura A, Bottaro G, Corazza GR. Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in coeliac disease: an Italian multicentre study. Italian Society of Paediatric Gastroenterology and Hepatology (SIGEP) and "Club del Tenue" Working Groups on Coeliac Disease. **Gut** **1998**;42(3):362-5.
64. Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling DH, Visakorpi JK. Revised criteria for diagnosis of celiac disease: report of working group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. **Arch Dis Child** **1990**;65(8):909-11.

65. Hill ID, Bhatnagar S, Cameron DJ, De Rosa S, Maki M, Russell GJ, Troncone R. Celiac disease: Working Group Report of the First World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. **J Pediatr Gastroenterol Nutr.** 2002;35(Suppl 2):78-88.
66. Thomson M, Kitching P, Jones A, Walker-Smith JA, Phillips A. Are endoscopic biopsies of small bowel as good as suction biopsies for diagnosis of enteropathy? **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 1999;29(4):438-41.
67. Troncone R, Greco L, Mayer M, Paparo F, Caputo N, Micillo M, et al. Latent and potential coeliac disease. **Acta Paediatr** 1996;412(Suppl):10-14.
68. Farrell RJ, Kelly CP. Celiac sprue. **N Engl J Med** 2002;346(3):180-8
69. Moyana TN, Xiang J. The impact of endoscopic technology on gastrointestinal pathology. **Ann Clin Lab Sci** 1999;29(3):200-8.
70. Feighery C, Weir DG, Whelan A, Willoughby R, Youngprapakorn S, Lynch S. Diagnosis of gluten-sensitive enteropathy: is exclusive reliance on histology appropriate? **Eur J Gastroenterol Hepatol** 1998;10(11):919-25.
71. De Block CE, De Leeuw IH, Vertommen JJ, Rooman RP, Du Caju MV, Van Campenhout CM et al; Belgian Diabetes Registry. Beta-cell, thyroid, gastric, adrenal and coeliac autoimmunity and HLA-DQ types in type 1 diabetes. **Clin Exp Immunol** 2001;126(2):236-41.
72. Sollid LM, Thorsby E. HLA susceptibility genes in coeliac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. **Gastroenterology** 1993;105(3):910-22.

73. Auricchio R, Paparo F, Maglio M, Franzese A, Lombardi F, Valerio G, et al. In vitro-deranged intestinal immune response to gliadin in type 1 diabetes. **Diabetes** 2004; 53(7):1680-3.
74. Kaprio J, Tuomilehto J, Koskenvuo M, Romanov K, Reunanan A, Eriksson J, et al. Concordance for type 1 (insulin-dependent) and type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in a population-based cohort of twins in Finland. **Diabetologia** 1992;35:1060-7.
75. Kyvik KO, Green A, Beck-Nielsen H: Concordance rates of insulin dependent diabetes mellitus: a population based study of young Danish twins. **BMJ** 1995;311(7010):913-7.
76. Wagener DK, Sacks JM, LaPorte RE, Macgregor JM. The Pittsburgh study of insulin-dependent diabetes mellitus. Risk for diabetes among relatives of IDDM. **Diabetes** 1982;31(2):136-44.
77. Eskola V, Vahasalo P, Akerblom HK, Knip M; Finnish ENDIT Study Group. Increased frequency of islet cell antibodies in unaffected brothers of children with type 1 diabetes. **Horm Res** 2003;59(4):195-200.
78. Maiz A, Manrique M, Hodgson MI, Diaz de Valdes M, Acosta AM, Andrade L, Olmos P. Prevalence of islet cell antibodies among 1021 relatives of type 1 diabetics. **Rev Med Chil** 1999;127(5):515-22.
79. Marsh MN, Bjarnason I, Shaw J, Ellis A, Baker R, Peters TJ. Studies of intestinal lymphoid tissue. XIV--HLA status, mucosal morphology, permeability and epithelial lymphocyte populations in first degree relatives of patients with coeliac disease. **Gut** 1990;31(1):32-6.

80. Gudjonsdottir AH, Nilsson S, Ek J, Kristiansson B, Ascher H. The risk of celiac disease in 107 families with at least two affected siblings. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** **2004**;38(3):338-42.
81. Bevan S, Popat S, Braegger CP, Busch A, O'Donoghue D, Falth-Magnusson K, et al. Contribution of the MHC region to the familial risk of coeliac disease **J Med Genet** **1999**;36(9):687-90.
82. Petronzelli F, Bonamico M, Ferrante P, Grillo R, Mora B, Mariani P, et al. Genetic contribution of the HLA region to the familial clustering of coeliac disease. **Ann Hum Genet** **1997**;61(4):307-17.
83. Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, Maglio M, et al. The first large population based twin study of coeliac disease. **Gut** **2002**;50(5):624-8.
84. Noble JA, Valdes AM, Cook M, Klitz W, Thomson G, Erlich HA. The role of HLA class II genes in insulin-dependent diabetes mellitus: molecular analysis of 180 Caucasian, multiplex families. **Am J Hum Genet** **1996**;59(5):1134-48.
85. Khalil I, Deschamps I, Lepage V, al-Daccak R, Degos L, Hors J. Dose effect of cis- and trans-encoded HLA-DQ alpha beta heterodimers in IDDM susceptibility. **Diabetes** **1992**;41(3):378-84.
86. Pugliese A. Genetics of type 1 diabetes. **Endocrinol Metab Clin North Am** **2004**;33(1):1-16
87. Hagopian WA, Sanjeevi CB, Kockum I, Landin-Olsson M, Karlsen AE, Sundkvist G, et al. Glutamate decarboxylase-, insulin-, and islet cell-antibodies and HLA typing to detect diabetes in a general population-based study of Swedish children. **J Clin Invest** **1995**;95(4):1505-11.

88. Bell GI, Horita S, Karam JH. A polymorphic locus near the human insulin gene is associated with insulin-dependent diabetes mellitus. **Diabetes** 1984;33(2):176-83.
89. Nistico L, Buzzetti R, Pritchard LE, Van der Auwera B, Giovannini C, Bosi E, et al. The CTLA-4 gene region of chromosome 2q33 is linked to, and associated with, type 1 diabetes. Belgian Diabetes Registry. **Hum Mol Genet** 1996;5(7):1075-80.
90. [Onengut-Gumuscu S, Concannon P](#). Mapping genes for autoimmunity in humans: type 1 diabetes as a model. **Immunol Rev** 2002;190(1):182-94.
91. Michalski JP, McCombs CC, Arai T, Elston RC, Cao T, McCarthy CF, Stevens FM. HLA-DR, DQ genotypes of celiac disease patients and healthy subjects from the West of Ireland. **Tissue Antigens** 1996;47(2):127-33.
92. Polvi A, Eland C, Koskimies S, Maiki M, Partanen J. HLA DQ and DP in Finnish families with coeliac disease. **Eur J Immunogen** 1996;23(3):221-34.
93. Fernandez-Arquero M, Figueredo MA, Maluenda C, de la Concha EG. HLA-linked genes acting as additive susceptibility factors in celiac disease. **Hum Immunol** 1995;42(4):295-300.
94. Margaritte-Jeannin P, Babron MC, Bourgey M, Louka AS, Clot F, Percopo S, Coto I, Hugot JP, Ascher H, Sollid LM, Greco L, Clerget-Darpoux F. HLA-DQ relative risks for coeliac disease in European populations: a study of the European Genetics Cluster on Coeliac Disease. **Tissue Antigens** 2004;63(6):562-7.
95. Sollid LM, Markussen G, Ek J, Gjerde H, Vartdal F, Thorsby E. Evidence for a primary association of celiac disease to a particular HLA-DQ α/β heterodimer. **J Exp Med** 1989;169(1):345-50.

96. Liu J, Juo SH, Holopainen P, Terwilliger J, Tong X, Grunn A, et al. Genomewide linkage analysis of celiac disease in Finnish families. **Am J Hum Genet** 2002;70(1):51-9.
97. Naluai AT, Nilsson S, Gudjonsdottir AH, Louka AS, Ascher H, Ek J, et al. Genome-wide linkage analysis of Scandinavian affected sib-pairs supports presence of susceptibility loci for celiac disease on chromosomes 5 and 11. **Eur J Hum Genet** 2001;9(12):938-44.
98. Popat S, Bevan S, Braegger CP, Busch A, O'Donoghue D, Falth-Magnusson K, et al. Genome screening of celiac disease. **J Med Genet** 2002;39(5):328-31.
99. Greco L, Babron MC, Corazza GR, Percopo S, Sica R, Clot F, et al. Existence of a genetic risk factor on chromosome 5q in Italian coeliac disease families. **Ann Hum Genet** 2001;65(1):35-41.
100. Holopainen P, Naluai AT, Moodie S, Percopo S, Coto I, Clot F, et al. Candidate gene region 2q33 in European families with coeliac disease. **Tissue Antigens** 2004;63(3):212-22
101. Lie BA, Sollid LM, Ascher H, Ek J, Akselsen HE, Ronningen KS, et al. A gene telomeric of the HLA class I region is involved in predisposition to both type 1 diabetes and coeliac disease. **Tissue Antigens** 1999;54(2):162-8.
102. Schober E, Bittmann B, Granditsch G, Huber WD, Huppe A, Jager A, et al. Screening by anti-endomysium antibody for celiac disease in diabetic children and adolescents in Austria. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 2000;30(4):391-6.
103. Kordonouri O, Dieterich W, Schuppan D, Webert G, Muller C, Sarioglu N, et al. Autoantibodies to tissue transglutaminase are sensitive serological parameters for

- detecting silent coeliac disease in patients with Type 1 diabetes mellitus. **Diabet Med** **2000**;17(6):441-4.
104. Verge CF, Howard NJ, Rowley MJ, Mackay IR, Zimmet PZ, Egan M, et al. Anti-glutamate decarboxylase and other antibodies at the onset of childhood IDDM: a population-based study. **Diabetologia** **1994**;37(11):1113-20.
105. [Saukkonen T, Savilahti E, Reijonen H, Ilonen J, Tuomilehto-Wolf E, Akerblom HK](#). Coeliac disease: frequent occurrence after clinical onset of insulin-dependent diabetes mellitus. Childhood Diabetes in Finland Study Group. **Diabet Med**. 1996 May;13(5):464-70.
106. Calero P, Ribes-Koninckx C, Albiach V, Carles C, Ferrer J. IgA antigliadin antibodies as a screening method for nonovert celiac disease in children with insulin-dependent diabetes mellitus **J Pediatr Gastroenterol Nutr** **1996**;23(1):29-33.
107. Barera G, Bianchi C, Calisti L, Cerutti F, Dammacco F, Frezza E, et al. Screening of diabetic children for coeliac disease with antigliadin antibodies and HLA typing. **Arch Dis Child** **1991**;66(4):491-4.
108. [Cacciari E, Bianchi FB, Salardi S, Bazzoli F, De Franceschi L, Volta U](#). Late development of IgA antiendomysial antibodies and small intestinal mucosal atrophy after insulin dependent diabetes mellitus onset. **Arch Dis Child** **1997**;77(5):465.
109. Aktay AN, Lee PC, Kumar V, Parton E, Wyatt DT, Werlin SL. The prevalence and clinical characteristics of celiac disease in juvenile diabetes in Wisconsin. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** **2001**;33(4):462-5.

110. Acerini CL, Ahmed ML, Ross KM, Sullivan PB, Bird G, Dunger DB. Coeliac disease in children and adolescents with IDDM: clinical characteristics and response to gluten free diet. **Diabetes Med** 1998;15(1):38-44.
111. Sigurs, N., C. Johansson, P. O. Elfstrand, M. Viander, and A. Lanner. Prevalence of coeliac disease in diabetic children and adolescents in Sweden. **Acta Paediatr** 1993; 82(9):748-51.
112. Lebenthal E, Branski D. Celiac disease: an emerging global problem. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 2002;35(4):472-4.
113. Fraser-Reynolds KA, Butzner JD, Stephure DK, Trussell RA, Scott RB. Use of immunoglobulin A-antiendomysial antibody to screen for celiac disease in North American children with type 1 diabetes. **Diabetes Care** 1998;21(11):1985-9.
114. Carlsson AK, Axelsson IE, Borulf SK, Bredberg AC, Lindberg BA, Sjoberg KG, Ivarsson SA. Prevalence of IgA-antiendomysium and IgA-antigliadin autoantibodies at diagnosis of insulin-dependent diabetes mellitus in Swedish children and adolescents. **Pediatrics** 1999;103(6):1248-52.
115. Barera G, Bonfanti R, Viscardi M, Bazzigaluppi E, Calori G, Meschi F, et al. Occurrence of celiac disease after onset of type 1 diabetes: a 6-year prospective longitudinal study. **Pediatrics** 2002;109(5):833-8.
116. Vitoria JC, Castano L, Rica I, Bilbao JR, Arrieta A, Garcia-Masdevall MD. Association of insulin-dependent diabetes mellitus and celiac disease: a study based on serologic markers. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 1998;27(1):47-52.
117. Gillett PM, Gillett HR, Israel DM, Metzger DL, Stewart L, Chanoine JP, Freeman HJ. High prevalence of celiac disease in patients with type 1 diabetes detected by

- antibodies to endomysium and tissue transglutaminase. **Can J Gastroenterol** **2001**;15(5):297-301
118. Arato A, Korner A, Veres G, Dezsofi A, Ujpal I, Madacsy L. Frequency of coeliac disease in Hungarian children with type 1 diabetes mellitus. **Eur J Pediatr** **2003**;162(1):1-5.
119. Hansen D, Bennedbaek FN, Hansen LK, Hoier-Madsen M, Hegedu LS, Jacobsen BB, Husby S. High prevalence of coeliac disease in Danish children with type 1 diabetes mellitus. **Acta Paediatr** **2001**;90(11):1238-43.
120. Ashabani A, Abushofa U, Abusrewill S, Abdelazez M, Tuckova L, Tlaskalova-Hogenova H. The prevalence of coeliac disease in Libyan children with type 1 diabetes mellitus. **Diabetes Metab Res Rev** **2003**;19(1):69-75
121. Boudraa G, Hachefaf W, Benbouabdellah M, Belkadi M, Benmansour FZ, Touhami M. Prevalence of coeliac disease in diabetic children and their first- degree relatives in west Algeria: screening with serological markers. **Acta Paediatr** **1996**;412(Suppl):58-60.
122. Toscano V, Conti FG, Anastasi E, Mariani P, Tiberti C, Poggi M, et al. Importance of gluten in the induction of endocrine autoantibodies and organ dysfunction in adolescent celiac patients. **Am J Gastroenterol** **2000**;95(7):1742-8.
123. Collin P, Kaukinen K, Valimaki M, Salmi J. Endocrinological disorders and celiac disease. **Endocr Rev** **2002**;23(4):464-83.
124. Petronzelli F, Multari G, Ferrante P, Bonamico M, Rabuffo G, Campea L, Mazzilli MC. Different dose effect of HLA-DQ alpha beta heterodimers in insulin-dependent diabetes mellitus and celiac disease susceptibility. **Hum Immunol** **1993**;36(3):156-62.

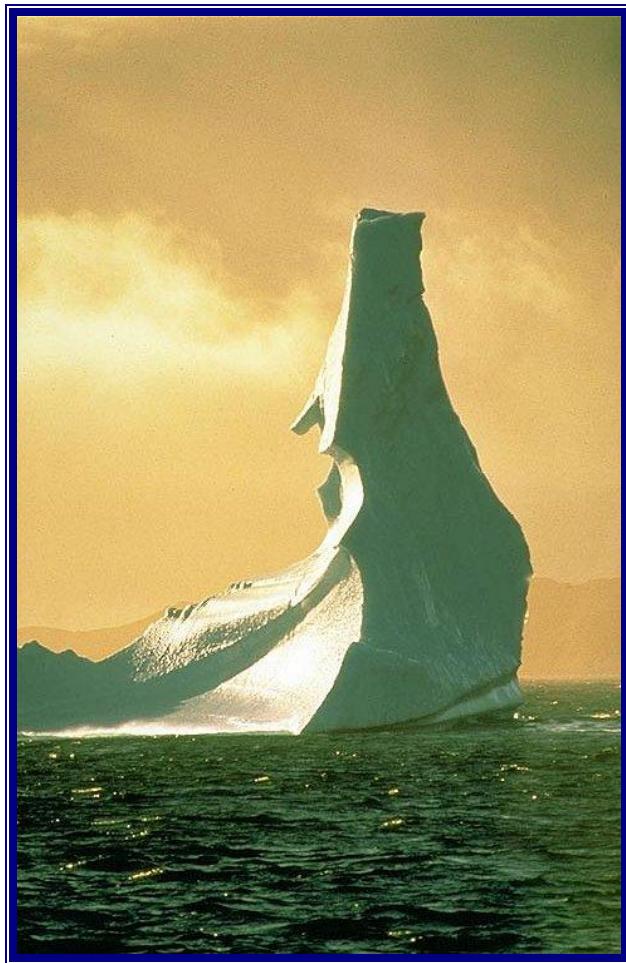
125. Thorsby E, Ronningen KS. Particular HLA-DQ molecules play a dominant role in determining susceptibility or resistance to type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. **Diabetologia** 1993;36(5):371-7.
126. Herrera M, Chertkoff L, Palavecino E, Mota A, Guala MC, Fainboim L, Satz ML. Restriction fragment length polymorphism in HLA class II genes of Latin-American Caucasian celiac disease patients. **Hum Immunol** 1989;26(4):272-80.
127. Nejentsev S, Gombos Z, Laine AP, Veijola R, Knip M, Simell O, et al. Non-class II HLA gene associated with type 1 diabetes maps to the 240-kb region near HLA-B. **Diabetes** 2000;49(12):2217-21.
128. Gambelunghe G, Ghaderi M, Cosentino A, Falorni AD, Brunetti P, Falorni AL, Sanjeevi CB. Association of MHC class I chain-related A (MIC-A) gene polymorphism with type I diabetes. **Diabetologia** 2000;43(4):507-14.
129. Kaukinen K, Partanen J, Maki M, Collin P. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. **Am J Gastroenterol** 2002;97(3):695-9.
130. Maki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T, et al. Prevalence of Celiac disease among children in Finland. **N Engl J Med** 2003;348(25):2517-24.
131. Sollid LM, Molberg O, McAdam S, Lundin KE. Autoantibodies in coeliac disease: tissue transglutaminase--guilt by association? **Gut** 1997;41(6):851-2.
132. Piacentini M, Colizzi V. Tissue transglutaminase: apoptosis versus autoimmunity. **Immunol Today** 1999;20(3):130-4.

133. Nilsen EM, Lundin KE, Krajci P, Scott H, Sollid LM, Brandtzaeg P. Gluten specific, HLA-DQ restricted T cells from coeliac mucosa produce cytokines with Th1 or Th0 profile dominated by interferon gamma. **Gut** **1995**;37(6):766-76.
134. Schuppan D, Dieterich W, Riecken EO. Exposing gliadin as a tasty food for lymphocytes. **Nat Med** **1998**;4(6):666-7.
135. Schuppan D. Current concepts of celiac disease pathogenesis. **Gastroenterology** **2000**;119(1):234-42.
136. Da Rosa Utiyama SR, da Silva Kotze LM, Nisihara RM, Carvalho RF, de Carvalho EG, de Sena MG, de Messias Reason IJ. Spectrum of autoantibodies in celiac patients and relatives. **Dig Dis Sci** **2001**;46(12):2624-30.
137. Paronen J, Klemetti P, Kantele JM, Savilahti E, Perheentupa J, Akerblom HK, Vaarala O. Glutamate decarboxylase-reactive peripheral blood lymphocytes from patients with IDDM express gut-specific homing receptor alpha4beta7-integrin. **Diabetes** **1997**;46(4):583-8.
138. Fasano A. Intestinal zonulin: open sesame! **Gut** **2001**;49(2):159-62.
139. Funda DP, Kaas A, Bock T, Tlaskalova-Hogenova H, Buschard K: Gluten-free diet prevents diabetes in NOD mice. **Diabete Metab Res Rev** **1999**;15(5):323-7.
140. Meddings JB, Jarand J, Urbanski SJ, Hardin J, Gall DG. Increased gastrointestinal permeability is an early lesion in the spontaneously diabetic BB rat. **Am J Physiol** **1999**;27(4):951-7.
141. Rapoport MJ, Bistritzer T, Vardi O, Broide E, Azizi A, Vardi P. Increased prevalence of diabetes-related autoantibodies in celiac disease. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** **1996**;23(5):524-7.

142. Pocecco M, Ventura A. Coeliac disease and insulin-dependent diabetes mellitus: a causal association? **Acta Paediatr** **1995**; 84(12):1432-3.
143. Tatham AS, Marsh MN, Wieser H, Shewry PR. Conformational studies of peptides corresponding to the coeliac-activating regions of wheat alpha-gliadin. **Biochem J** **1990**; 270(2):313-8.
144. Virtanen SM, Rasanen L, Ylonen K, Aro A, Clayton D, Langholz B, et al. Early introduction of dairy products associated with increased risk of IDDM in Finnish children. The Childhood in Diabetes in Finland Study Group. **Diabetes** **1993**;42(12):1786-90.
145. Dahlquist GG, Blom LG, Persson LA, Sandstrom AI, Wall SG. Dietary factors and the risk of developing insulin dependent diabetes in childhood. **BMJ** **1990**; 300(6735):1302-6.
146. Klemetti P, Savilahti E, Ilonen J, Akerblom HK, Vaarala O. T-cell reactivity to wheat gluten in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. **Scand J Immunol** **1998**;47(1):48-53.
147. Karvonen M, Viik-Kajander M, Moltchanova E, Libman I, LaPorte R, Tuomilehto J. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. **Diabetes Care** **2000**;23(10):1516-26.
148. Brandt KG, Silva GAP, Antunes MC. Doença celíaca em um grupo de crianças e adolescentes portadores de diabetes mellitus tipo 1. **Arq Bras Endocrinol Metabol** **2004**;48(6) 823-7.
149. Hummel M, Bonifacio E, Stern M, Dittler J, Schimmel A, Ziegler AG. Development of celiac disease-associated antibodies in offspring of parents with type I diabetes. **Diabetologia** **2000**;43(8):1005-11.

150. Galli-Tsinopoulou A, Nousia-Arvanitakis S, Dracoulacos D, Xefteri M, Karamouzis M. Autoantibodies predicting diabetes mellitus type I in celiac disease. **Horm Res** **1999**;52(3):119-24.
151. Talal AH, Murray JA, Goeken JA, Sivitz WI. Celiac disease in an adult population with insulin-dependent diabetes mellitus: use of endomysial antibody testing. **Am J Gastroenterol** **1997**;92(8):1280-4.
152. Sategna-Guidetti C, Grosso S, Pulitano R, Benaduce E, Dani F, Carta Q. Celiac disease and insulin-dependent diabetes mellitus. Screening in an adult population. **Dig Dis Sci**; 39(8):1633-7.
153. Holmes GK. Coeliac disease and Type 1 diabetes mellitus - the case for screening. **Diabet Med** **2001**;18(3):169-77.
154. Iafusco D, Rea F, Prisco F. Hypoglycemia and reduction of the insulin requirement as a sign of celiac disease in children with IDDM. **Diabetes Care** **1998**;21(8):1379-81.
155. Mohn A, Cerruto M, Lafusco D, Prisco F, Tumini S, Stoppoloni O, Chiarelli F. Celiac disease in children and adolescents with type I diabetes: importance of hypoglycemia. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** **2001**;32(1):37-40.
156. Ascher H. Coeliac disease and type 1 diabetes: an affair still with much hidden behind the veil. **Acta Paediatr** **2001**;90(11):1217-20.
157. Brook LS. Diagnosing Celiac Disease In 2002: Who, Why, And How? **Pediatrics** **2002**;109:952-54.

-
158. Schober E, Rami B, Granditsch G, Crone J. Coeliac disease in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: to screen or not, to treat or not? **Horm Res** 2002;57(Suppl 1):97-100.
159. Seissler J, Schott M, Boms S, Wohlrab U, Ostendorf B, Morgenthaler NG, Scherbaum WA. Autoantibodies to human tissue transglutaminase identify silent coeliac disease in Type I diabetes. **Diabetologia** 1999;42(12):1440-1.
160. Saadah OI, Zacharin M, O'Callaghan A, Oliver MR, Catto-Smith AG. Effect of gluten-free diet and adherence on growth and diabetic control in diabetics with coeliac disease. **Arch Dis Child** 2004;89(9):871-6.
161. Kaspers S, Kordonouri O, Schober E, Grabert M, Hauffa BP, Holl RW. Anthropometry, metabolic control, and thyroid autoimmunity in type 1 diabetes with celiac disease: A multicenter survey. **J Pediatr** 2004;145(6):790-5.
162. Freemark M, Levitsky LL. Screening for celiac disease in children with type 1 diabetes: two views of the controversy. **Diabetes Care** 2003 Jun;26(6):1932-9.
163. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, hepatology and nutrition. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 2005;40(1):1-19.



3-Artigo 2

Artigo 2

Soroprevalência da doença celíaca em crianças e adolescentes diabéticos em Pernambuco, Brasil.

RESUMO

A associação de doença celíaca e diabetes mellitus já é conhecida há várias décadas. A doença celíaca não diagnosticada pode ser encontrada em uma grande proporção de pacientes diabéticos, que geralmente são assintomáticos. O objetivo do estudo foi avaliar a soroprevalência da doença celíaca em crianças e adolescentes com diabetes mellitus tipo 1. Através de um estudo transversal realizou-se triagem sorológica com anticorpo IgA anti-transglutaminase humana em 354 crianças e adolescentes diabéticos, atendidos em ambulatórios de endocrinologia pediátrica de Recife, Pernambuco, no período de janeiro a junho de 2004. O anti-tansglutaminase humana foi positivo em 37/354 pacientes, resultando em soroprevalência de 10,5% (IC 95%: 7,6%-14,2%). Dentre os pacientes soropositivos houve predomínio do sexo masculino (56,8%) em relação ao feminino (43,2%), porém sem significância estatística. O anticorpo anti-endomíseo foi realizado nos pacientes com anti-transglutaminase humana positivo, sendo negativo em 14/37 (37,8%) e positivo in 22/37 (59,5%). A soroprevalência da doença celíaca em crianças e adolescentes diabéticos encontrada em Pernambuco, Brasil, é elevada, sendo comparável à observada em estudos da América do Norte e Europa e menor do que na África, sugerindo que a triagem sorológica para doença celíaca seja realizada em todas as crianças e adolescentes com diabetes mellitus tipo 1.

Descritores: diabetes mellitus tipo 1; doença celíaca; prevalência; crianças e adolescentes

ABSTRACT

The association of celiac disease and type 1 diabetes mellitus has been known for decades, and unrecognized celiac disease may be found in a substantial proportion of diabetic patients that, in general, are asymptomatic. The aim of this study was to investigate the serum prevalence of celiac disease in children and adolescents with type 1 diabetes. Screening for celiac disease with serum IgA antibodies against human tissue transglutaminase was performed in 354 diabetic children and adolescents seen at pediatric endocrinology services in Recife, between January and June of 2004. The human anti-transglutaminase was positive in 37/354 patients, giving the prevalence of 10.5% (CI 95%: 7.6%-14.2%). Among positive individuals there were more males (56.8%) than females (43.2%), but without significant statistical difference ($p=0.66$). Antiendomysium antibody was measured in all positive human anti-transglutaminase patients; it was negative in 14/37 (37.8%) and positive in 22/37 (59.5%). The serum prevalence of celiac disease in diabetic children and adolescents found in Pernambuco, Brazil is high, being comparable to that found in American and European studies, and lower than African studies. This study suggests that all children and adolescents with type 1 diabetes mellitus should be screened for celiac disease.

Keywords: diabetes mellitus, type 1; celiac disease; prevalence; children and adolescents.

INTRODUÇÃO

A associação entre doença celíaca (DC) e diabetes mellitus tipo 1 (DM1) vem sendo estudada há cerca de 50 anos. Diversos estudos em todo o mundo têm demonstrado maior prevalência da DC em crianças, adolescentes e adultos com DM1 (1,2). Ambas são condições auto-imunes resultantes de uma interação complexa entre fatores genéticos, imunológicos e ambientais. Ainda não está claro se a ocorrência simultânea das duas doenças está ligada a uma base genética comum, ou se de fato, uma doença predispõe a outra; atualmente a primeira hipótese é a mais aceita, podendo a associação dessas doenças ser explicada, pelo menos em parte, por compartilharem um mecanismo genético comum no sistema HLA (3).

A DC em pacientes diabéticos era, anteriormente, considerada rara, quando o diagnóstico se baseava apenas nas manifestações clínicas clássicas. Com o uso de marcadores sorológicos cada vez mais sensíveis mostrou-se uma doença relativamente comum. (4,5,6) Habitualmente os pacientes são assintomáticos e o diagnóstico somente é feito através de estudos de triagem. (7) A maioria dos pacientes diabéticos apresenta as formas subclínica ou silenciosa da DC (8) e apenas cerca de 10% são identificados pela sintomatologia clássica (3).

A DC não diagnosticada e não tratada é motivo de preocupação, pois ao longo prazo está associada a um maior risco de mortalidade e morbidade (9). Embora não se tenha dúvida sobre a maior prevalência de DC em pacientes com DM1, ainda há controvérsias se um programa de triagem deve ser instituído de forma rotineira para a detecção das formas subclínicas ou silenciosas e qual o teste sorológico de escolha (10,11).

Diversos estudos têm sido realizados com o objetivo de comparar a sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos para DC. Atualmente se sabe que o anticorpo antiendomísio (AAE) e o anticorpo antitransglutaminase (anti-tTG) tecidual humana são superiores aos demais testes, porém ainda não está claro se há vantagem

entre o AAE e o anti-tTG humana. Embora ambos apresentem elevada sensibilidade e especificidade alguns estudos têm demonstrado graus de concordância variáveis (11,12,13). Recentemente, a Sociedade Norte Americana de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição analisando a literatura publicada de 1966 a 2003 definiu um novo consenso sobre a DC e recomenda o anti-tTG humana como teste de escolha para o triagem inicial em grupos de risco para a DC (14).

O objetivo desse estudo foi determinar a soroprevalência da doença celíaca em crianças e adolescentes com diagnóstico prévio de DM1, utilizando o anti-tTG humana como teste de triagem.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado nos serviços de endocrinologia pediátrica da rede pública de assistência à saúde do Recife, durante o período de Janeiro à Junho de 2004. O desenho foi descritivo do tipo corte transversal, tendo sido avaliadas crianças e adolescentes com diagnóstico prévio de DM1, acompanhadas nestes serviços.

A amostra foi obtida por conveniência segundo a demanda dos ambulatórios, com estimativa do tamanho amostral baseada na soroprevalência de 21% observada em estudo realizado previamente em Pernambuco com um pequeno grupo de crianças e adolescentes diabéticos (15), com variação de 25% em torno da prevalência e intervalo de confiança de 95%. O tamanho amostral estimado foi de 231, tendo sido recrutados 361 pacientes. A população do estudo foi formada por pacientes diabéticos com idade de 2 anos a 19 anos e 11 meses. Foi considerada idade igual ou superior a 2 anos pela probabilidade de, em nosso meio, já terem sido expostos ao glúten da dieta por pelo menos um ano. Excluiu-se todos os pacientes com deficiência de IgA pela probabilidade de falso negativo para a IgA anti-tTG humana.

As variáveis utilizadas foram: idade, segundo Marcondes (16), sendo considerados crianças de 2 a 9 anos e 11 meses e adolescentes de 10 a 19 anos e 11 meses; diagnóstico prévio de DM1 segundo os critérios da Associação Americana de

Diabetes (17). Soroprevalência positiva para anti-tTG humana com concentrações superiores a 20U/ml (18) e positiva para AAE com presença de fluorescência uniforme, na diluição de 1/5 do soro. (19) Foram considerados deficientes de IgA, pacientes com níveis abaixo do normal de acordo com a faixa etária (20).

Todos os pacientes diabéticos com idade entre 2 e 19 anos e 11 meses que compareceram à consulta neste período foram abordados e após obtenção do consentimento livre e esclarecido, foi preenchido um questionário e colhida amostra de sangue, por punção venosa, em tubos sem anti-coagulante que eram depois centrifugados para separação do soro. As amostras eram aliquotadas e congeladas a – 20º C até a realização dos testes laboratoriais. Foram realizadas dosagens séricas de IgA anti-tTG humana e imunoglobulina A (IgA) em todos os pacientes e o IgA AAE somente nos pacientes que apresentaram anti-tTG humana positivo.

O anti-tTG humana IgA foi realizado através da técnica de enzimoimunoensaio (Biosystems, Espanha) por prova em microplaca, onde anticorpos presentes no soro se ligam aos抗ígenos adsorvidos na superfície dos poços de microplacas de polietileno (21). Houve o cuidado com a realização dos controles que foram feitos em 10% das amostras.

Para a pesquisa do AAE foi utilizada a imunofluorescência indireta, tendo como substrato cortes histológicos da porção distal de esôfago de macaco fixados em lâminas de microscópio (Biosystems, Espanha). O AAE do soro liga-se ao substrato e é revelado por anticorpos anti-IgA marcados com isotiocianato de fluoresceína (19). Um técnico experiente em imunofluorescência realizou todas as leituras em microscópio LEITZ provido com lâmpada de mercúrio (Alemanha).

A dosagem da IgA foi realizada pela técnica de imunoturbidimetria (22), com *kits* fornecidos pela Biosystems (Espanha), e o sistema automatizado Cobas Mira Plus para realização destas dosagens.

Os pacientes com sorologia positiva foram encaminhados para o ambulatório de gastroenterologia pediátrica para dar seguimento à investigação e tratamento. Todos os resultados dos exames, positivos e negativos foram devidamente registrados no prontuário de cada paciente.

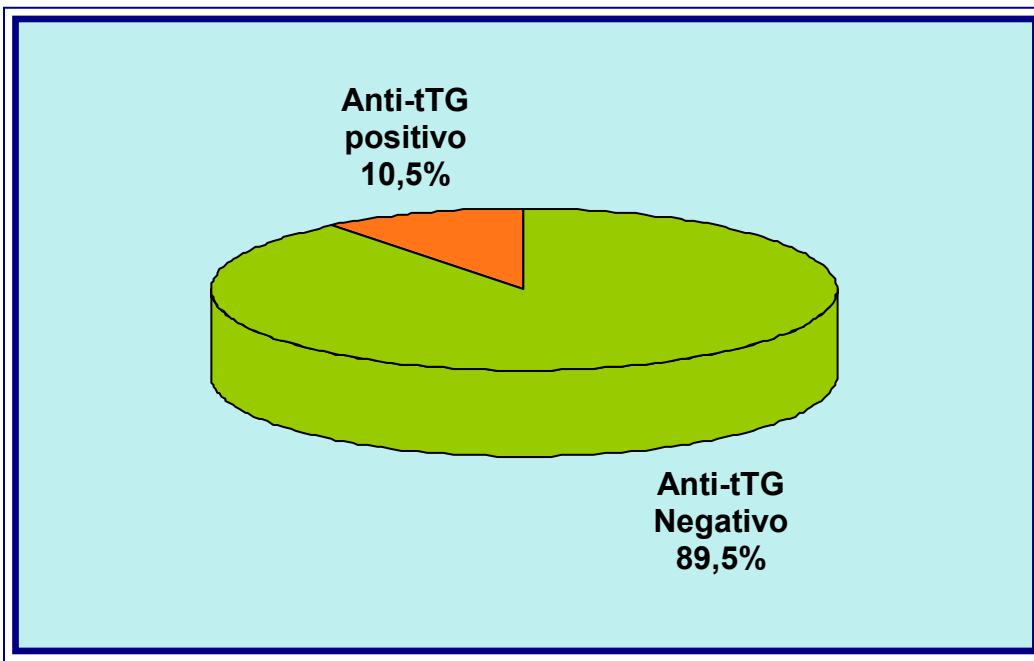
Os dados foram armazenados em um arquivo do Epi-Info 6.0. O programa *Check* foi utilizado, permitindo uma verificação automática dos erros ocorridos durante a entrada dos dados. Foi realizada a dupla entrada dos dados e utilizado o programa *Validate*. A soroprevalência foi calculada através da proporção dos indivíduos com sorologia anti- tTG humana positivo na população estudada, calculado o intervalo de confiança (IC).

O projeto foi previamente avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto Materno Infantil Professor Fernando Figueira.

RESULTADOS

Durante o período de 01 de janeiro a 30 de junho de 2004 foram avaliados 361 crianças e adolescentes com diagnóstico prévio de DM1. Sete indivíduos foram excluídos, por apresentarem deficiência de IgA, permanecendo no estudo um total de 354 pacientes. A mediana da idade foi de 12 anos (p25=9 anos, p75=15 anos), sendo 184/354 (52,0%) do sexo masculino e 170/354 (48%) feminino, procedentes de Recife e região metropolitana 172/ 354 (48,6%) e interior de Pernambuco 182/354 (51,4%).

O anticorpo anti-tTG humana foi positivo em 37 dos 354 pacientes estudados, resultando em soroprevalência geral de 10,5% (IC 95%: 7,6%-14,2%), (gráfico 1). No grupo de crianças a soroprevalência foi de 13,8% (IC 95% 7,9%-21,6%) e nos adolescentes de 9% (IC 95% 5,7%-13,2%). Observou-se um predomínio na faixa etária de crianças em relação aos adolescentes, entretanto essa diferença não foi estatisticamente significante ($\chi^2= 1.37$, $p=0.2$).

Gráfico 1 Soroprevalência da DC em crianças e adolescentes com DM1

Nos pacientes com sorologia positiva, a idade variou de 3 anos e 5 meses a 19 anos e 10 meses (mediana de 11 anos; p25=8anos, p75=15 anos). A idade no diagnóstico do diabetes variou de 1 ano a 12 anos e 10 meses, (mediana de 5 anos; p25=3 anos, p75=8 anos) e o tempo do diagnóstico do diabetes, no momento da coleta do exame, variou de 1 mês à 16 anos e 10 meses, (mediana de 6 anos; p 25=2anos, p 75=9 anos). Dentre os pacientes soropositivos predominou o sexo masculino (56,8%) em relação ao feminino (43,2%), porém sem significância estatística ($\chi^2 = 0,19$ p=0,66).

O AAE foi realizado em todos os pacientes anti-tTG humana positivos e observou-se que em 14/37 pacientes (37,8%) ele foi negativo, positivo em 22/37 (59,5%) e inconclusivo em 1/37 (2,7%).

DISCUSSÃO

Diversos estudos têm demonstrado uma ampla variação geográfica na soroprevalência da DC em crianças e adolescentes diabéticos, ao redor do mundo, sem,

entretanto, apresentar nenhuma relação com a incidência de DM1 ou da DC (5,7,23,24). Nos países nórdicos da Europa observam-se as maiores incidências mundiais do DM1 (25). No entanto, estudos avaliando a soroprevalência da DC em crianças e adolescentes diabéticos, utilizando anticorpos anti gliadina (AGA) como teste de triagem, encontraram resultados diferentes em países desta mesma região: na Finlândia em torno de 2,4% (23) e na Dinamarca 9,4% (5). O mesmo acontece quando se comparam países europeus que utilizaram o AAE como teste de triagem, como na Hungria (11,7%), (26) Itália (6%) (27) e Áustria (3,5%) (28), sugerindo que esta variação pode ser devida a características populacionais ainda desconhecidas. Os estudos de soroprevalência da DC na América do Norte, utilizando AAE como teste sorológico, demonstraram resultados mais uniformes: no Canadá em torno de 8% (29) e nos EUA 7% (25). A maior soroprevalência mundial desta associação foi observada na África (Argélia 13,7% e Líbia 21,3%) (5,7), embora estes estudos tenham utilizado o AGA, hoje considerado um teste sorológico menos sensível e específico.

A soroprevalência de DC em crianças e adolescentes diabéticos encontrada no presente estudo foi menor que a observada em países com condição sócio-econômica comparável à nossa, como nos estudos da África utilizando o AGA (5) ou na Índia com o anti-tTG (30). Sendo semelhante ao dos EUA (11,6%) (31) e maior que o da Alemanha (4,4%) (13), em estudos utilizando o anti-tTG humana como teste sorológico para a triagem.

O desenho transversal utilizado neste estudo permitiu avaliar a soroprevalência da DC na população selecionada em um determinado momento, entretanto sabe-se que pacientes com sorologia inicialmente negativa podem se tornar positivos para a DC ao longo do tempo. Ainda não há um consenso sobre a periodicidade da realização dos testes sorológicos em pacientes diabéticos. Alguns (32) defendem que devem ser realizados no momento do diagnóstico do DM1 e depois anualmente. Outros autores (1,33) recomendam uma primeira avaliação somente após um ou dois anos do diagnóstico, pois alguns anticorpos podem estar presentes no início do DM1 como um fenômeno transitório.

Embora o padrão ouro para o diagnóstico da DC permaneçam sendo as alterações histológicas (14,17), o fato da biópsia ser um método invasivo, impede a sua aceitação como método diagnóstico para a investigação inicial. Além disso o amplo espectro da DC e as manifestações clínicas não específicas dificultam a identificação dos pacientes que necessitam ser submetidos à investigação. Muitos estudos têm sido realizados com o objetivo de identificar métodos sorológicos de triagem com adequada sensibilidade e especificidade que possam no futuro substituir a biópsia no diagnóstico da DC (11,12,13,23).

Diversas publicações têm demonstrado a elevada acurácia do AAE (11,12,34), entretanto existem algumas limitações ao seu uso em grande escala, como o custo elevado, técnica laboriosa e o fato de ser um método semi-quantitativo sujeito, em parte, à avaliação do observador (35). Devido a essas dificuldades, o anti-tTG humana tem sido sugerido como o teste de eleição para a triagem inicial. Além de sensibilidade e especificidade comparáveis ao AAE, é um método mais simples com possibilidade de análise de um grande número de amostras e menor custo (11). Alguns autores observaram que em pacientes com DM1 com a forma silenciosa da DC, o anti-tTG é um método mais sensível que o AAE (13). Por outro lado, o elevado índice de falso-positivo em alguns estudos com o anti-tTG humana, levou alguns autores a sugerir um novo protocolo utilizando o anti-tTG humana como triagem inicial, seguido do AAE nos casos positivos (36). Em publicação recente, a Sociedade Norte Americana de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição recomenda o anti-tTG humana como teste de escolha para a triagem inicial em grupos de risco para a DC, seguido da biópsia intestinal. E somente quando as alterações histológicas não forem consistentes com a DC, considerar a realização do AAE, a determinação do HLA ou repetir a biópsia (14).

No presente estudo optou-se por realizar sorologia seqüenciada, utilizando o anti-tTG humana, como triagem inicial, seguida do AAE nos pacientes positivos. Observamos que 37% foram anti-tTG positivo com AAE negativo. Somente com o seguimento dos pacientes e confirmação das alterações histológicas será possível

chegar-se à conclusão se os resultados refletem elevado índice de falso-positivo do anti-tTG ou, por outro lado, maior sensibilidade do método.

Há fortes evidências para a associação entre deficiência de IgA e DC, com freqüência de aproximadamente 2%, sendo 10 a 15 vezes mais comum do que na população geral (37). Indivíduos com deficiência de IgA e DC não formam anticorpos anti-IgA, e as sorologias para anti-tTG humana e AAE comercialmente disponíveis são habitualmente limitadas aos isótopos de IgA dos anticorpos. A dosagem de IgA sérica foi incluída no painel de testes do presente estudo, e observou-se que a deficiência foi confirmada em 7/361 (1,9%), sendo esses pacientes excluídos do estudo pela possibilidade de sorologia falso-negativo para DC.

Há sugestões de que a doença celíaca é mais prevalente em faixas etárias mais elevadas, devido ao maior tempo de exposição ao glúten (7). Porém em grupos de risco como o DM1 essa associação não está bem estabelecida, uma vez que outros fatores podem estar envolvidos, como a idade no diagnóstico do diabetes e o tempo de diabetes no momento da avaliação. Neste estudo observou-se predominância da soroprevalência no grupo de crianças quando comparado com os adolescentes, sem diferença estatisticamente significante ($p=0.2$). Uma possível explicação é que o tamanho da amostra, estimado para crianças e adolescentes, não seja adequado para a análise por faixa etária. Outra possibilidade é que a idade no diagnóstico do diabetes seja um fator importante na prevalência da DC. Os estudos em crianças que tiveram diagnóstico de DM1 antes dos cinco anos de idade têm demonstrado auto-imunidade mais acentuada, com presença mais freqüente de anticorpos anti-ilhotas pancreáticas e anti-insulina do que no grupo de maior faixa etária, além de acentuada susceptibilidade genética demonstrada por associação mais freqüente com genótipo de risco do sistema HLA (38), levando a crer que crianças mais jovens no diagnóstico possam apresentar risco mais elevado em desenvolver outras doenças auto-imunes e de base biológica semelhante como a DC.

Calliari (39) sinaliza que a associação DC e DM1 deveria ser mais valorizada no acompanhamento dos pacientes diabéticos e propõe a realização de estudos multicêntricos no Brasil. A soroprevalência de 10,5% observada no presente estudo é elevada, sugerindo que a triagem para DC deve ser realizada de forma rotineira em crianças e adolescentes com DM1. Porém somente após realização da biópsia intestinal destes pacientes, e a obtenção da prevalência da DC através das alterações histológicas será possível estabelecer o valor do anti-tTG humana como teste de triagem para a nossa população.

REFERÊNCIAS

1. Koletzko S, Burgin-Wolff A, Koletzko B, Knapp M, Burger W, Gruneklee D. Prevalence of coeliac disease in diabetic children and adolescents. A multicentre study. **Eur J Pediatr** 1988;148(2):113-7.
2. Cronin CC, Feighery A, Ferriss JB, Liddy C, Shanahan F, Feighery C. High prevalence of celiac disease among patients with insulin-dependent (type 1) diabetes mellitus. **Am. J. Gastroenterol** 1997;92(12):2210-12.
3. Collin P, Kaukinen K, Valimaki M, Salmi J. Endocrinological disorders and celiac disease. **Endocr Rev** 2002;23(4):464-83.
4. Hansen D, Bennedbaek FN, Hansen LK, Hoier-Madsen M, Hegedu LS, Jacobsen BB, Husby S. High prevalence of coeliac disease in Danish children with type 1 diabetes mellitus. **Acta Paediatr** 2001;90(11):1238-43.
5. Ashabani A, Abushofa U, Abusrewill S, Abdelazez M, Tuckova L, Tlaskalova-Hogenova H. The prevalence of coeliac disease in Libyan children with type 1 diabetes mellitus. **Diabetes Metab Res Rev** 2003;19(1):69-75
6. Boudraa G, Hachefaf W, Benbouabdellah M, Belkadi M, Benmansour FZ, Touhami M. Prevalence of coeliac disease in diabetic children and their first-degree relatives in west Algeria: screening with serological markers. **Acta Paediatr Suppl** 1996;412(Suppl):58-60.
7. Brook LS. Diagnosing Celiac Disease In 2002: Who, Why, And How? **Pediatrics** 2002;109(5):952-54.

8. Holmes GK. Coeliac disease and Type 1 diabetes mellitus - the case for screening. **Diabet Med** 2001;18(3):169-77.
9. West J, Logan RF, Smith CJ, Hubbard RB, Card TR. Malignancy and mortality in people with coeliac disease: population based cohort study. **BMJ** 2004; 329(7468):716-9.
10. Schober E, Rami B, Granditsch G, Crone J. Coeliac disease in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: to screen or not, to treat or not? **Horm Res.** 2002;57(Suppl 1):97-100.
11. Carroccio A, Vitale G, Di Prima L, Chifari N, Napoli S, La Russa C, et al. Comparison of anti-transglutaminase ELISAs and an anti-endomysial antibody assay in the diagnosis of celiac disease: a prospective study. **Clin Chem** 2002;48(9):1546-50.
12. Baudon JJ, Johonet C, Absalon YB, Morgant G, Cabrol S, Mougenot JF. Diagnosing celiac disease: a comparison of human tissue transglutaminase antibodies with antigliadin and antiendomysium antibodies. **Arch Pediatr Adolesc Med** 2004;158(6):584-8.
13. Kordonouri O, Dieterich W, Schuppan D, Webert G, Muller C, Sarioglu N, Becker M, Danne T. Autoantibodies to tissue transglutaminase are sensitive serological parameters for detecting silent coeliac disease in patients with Type 1 diabetes mellitus. **Diabet Med** 2000;17(6):441-4.
14. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, hepatology and nutrition. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 2005;40(1):1-19.

15. Brandt KG, Silva GAP, Antunes MC. Doença celíaca em um grupo de crianças e adolescentes portadores de diabetes mellitus tipo 1. **Arq Bras Endocrinol Metabol** 2004;48(6) 823-7.
16. Colli AS. Conceito de adolescência. In: Marcondes E, Vaz FC, Ramos JA, Okay Y. **Pediatria Básica** 9th edição. São Paulo: Servier, 2002:655-66.
17. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. **Diabetes Care** 1997;20(7):1183-97.
18. Wong RC, Wilson RJ, Steele RH, Radford-Smith G, Adelstein S. A comparison of 13 guinea pig and human anti-tissue transglutaminase antibody ELISA kits. **J Clin Pathol** 2002;55(7):488-94.
19. Grodzinsky E, Hed J, Skoght T. IgA Antiendomysium Antibodies Have a High Positive Predictive Value for Celiac Disease in Asyntomatic Patients. **Allergy** 1994;49(8):593-7.
20. Painter PC, Cope JY, Smith JL. Clinical chemistry and toxicology. In: Burtis CA, Ashwood ER **Tietz Textbook of Clinical Chemistry**. 2th edition. Philadelphia: Saunders 1994:2161-217.
21. Mahony JB, Chernesky MA. Immunoassays for Diagnosis of Infectious Diseases. In: Murray P.R ed. **Manual of Clinical Microbiology**. 7th edition. Washington: ASM 1999:202-244.
22. Whicher JY, Price CP, Spencer K. Immunonephelometric and immunoturbidimetric assays for proteins. **Crit Rev Clin Lab Sci.** 1983;18(3):213 - 60

23. Saukkonen, T., E. Savilahti, H. Reijonen, J. Honen, E. Tuomilehto-Wolf, and H. K. Akerblom. Coeliac disease: frequent occurrence after clinical onset of insulin dependent diabetes mellitus. Childhood Diabetes in Finland Study Group. **Diabetes Med** 1996;13(5):464-70.
24. Aktay AN, Lee PC, Kumar V, Parton E, Wyatt DT, Werlin SL. The prevalence and clinical characteristics of celiac disease in juvenile diabetes in Wisconsin. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 2001;33(4):462-5.
25. Karvonen M, Viik-Kajander M, Moltchanova E, Libman I, LaPorte R, Tuomilehto J. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. **Diabetes Care** 2000;23(10):1516-26.
26. Arato A, Korner A, Veres G, Dezsofi A, Ujpal I, Madacsy L. Frequency of coeliac disease in Hungarian children with type 1 diabetes mellitus. **Eur J Pediatr** 2003;162(1):1-5.
27. Barera G, Bianchi C, Calisti L, Cerutti F, Dammacco F, Frezza E, et al. Screening of diabetic children for coeliac disease with antigliadin antibodies and HLA typing. **Arch Dis Child** 1991;66(4):491-4.
28. Schober EB, Bittmann G, Granditsch WD, Huber A, Huppe A, Jager G, et al. Screening by anti-endomysium antibody for celiac disease in diabetic children and adolescents in Austria. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 2000;30(4):391-6.
29. Fraser-Reynolds KA, Butzner JD, Stephure DK, Trussell RA, Scott RB. Use of immunoglobulin A-antiendomysial antibody to screen for celiac disease in North American children with type 1 diabetes. **Diabetes Care** 1998;21(11):1985-9.
30. [Kanungo A, Shtauvere-Brameus A, Samal KC, Sanjeevi CB](#). Autoantibodies to tissue transglutaminase in patients from eastern India with malnutrition-

- modulated diabetes mellitus, insulin-dependent diabetes mellitus, and non insulin-dependent diabetes mellitus. **Ann N Y Acad Sci** 2002;958(4):232-4.
31. Bao F, Yu L, Babu S, Wang T, Hoffenberg EJ, Rewers M, Eisenbarth GS. One third of HLA DQ2 homozygous patients with type 1 diabetes express celiac disease-associated transglutaminase autoantibodies. **J Autoimmun** 1999;13(1):143-8.
 32. Barera G, Bonfanti R, Viscardi M, Bazzigaluppi E, Calori G, Meschi F, et al. Occurrence of celiac disease after onset of type 1 diabetes: a 6-year prospective longitudinal study. **Pediatrics** 2002;109(5):833-8.
 33. Cacciari E, Bianchi FB, Salardi S, Bazzoli F, De Franceschi L, Volta U. Late development of IgA antiendomysial antibodies and small intestinal mucosal atrophy after insulin dependent diabetes mellitus onset. **Arch Dis Child** 1997;77(5):465.
 34. Salmaso C, Ocmant A, Pesce G, Altrinetti V, Montagna P, Descalzi D, et al. Comparison of ELISA for tissue transglutaminase autoantibodies with antiendomysium antibodies in pediatric and adult patients with celiac disease. **Allergy** 2001;56(6):544-47.
 35. Ferreira M, Davies SL, Butler M, Scott D, Clark M, Kumar P. Endomysial antibody: is it the best screening test for coeliac disease? **Gut** 1992;33(12):1633-37.
 36. Lock RJ, Stevens S, Pitcher MC, Unsworth DJ. Is immunoglobulin A anti-tissue transglutaminase antibody a reliable serological marker of coeliac disease? **Eur J Gastroenterol Hepatol** 2004;16(5):467-70.
 37. Cataldo F, Marino V, Ventura A, Bottaro G, Corazza GR. Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in coeliac disease: an Italian

- multicentre study. Italian Society of Paediatric Gastroenterology and Hepatology (SIGEP). **Gut** 1998;42(3):362-5.
38. Komulainen J, Kulmala P, Savola K, Lounamaa R, Ilonen J, Reijonen H, Knip M, Akerblom HK. Clinical, autoimmune, and genetic characteristics of very young children with type 1 diabetes. Childhood Diabetes in Finland. **Diabetes Care** 1999;22(12):1950-5.
39. Calliari LE. A autoimunidade extra-pancreática no DM1: pesquisando também a doença celíaca. **Arq Bras Endocrinol Metabol** 2004;48(6) 85-786.



4-Considerações finais

Considerações finais

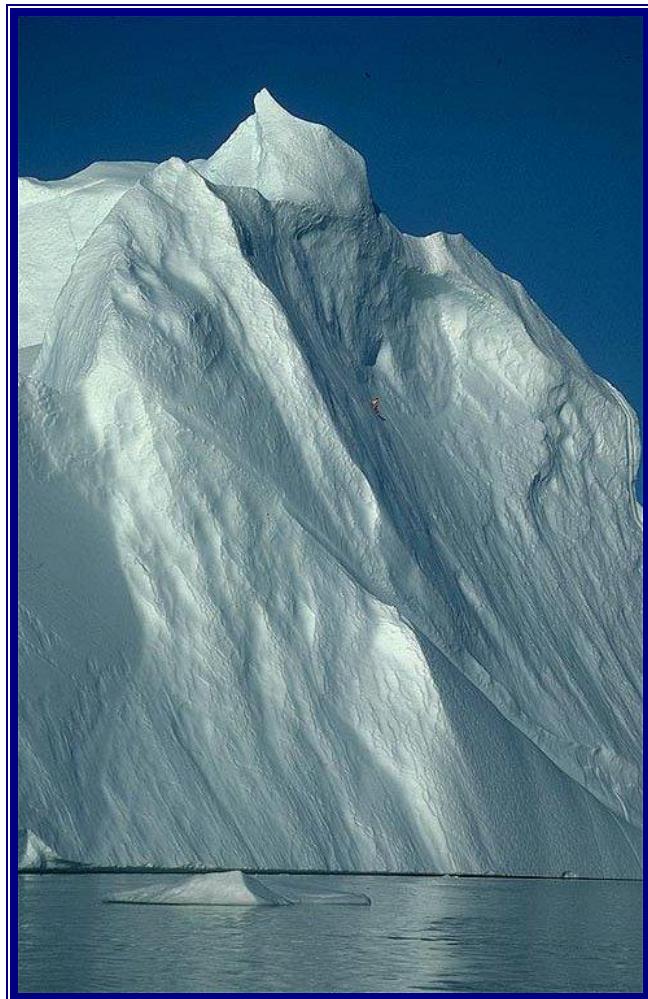
Com o resgate da literatura ficou evidenciado que a prevalência da DC é maior nas crianças e adolescentes com DM1, com uma grande variação nas diversas regiões do mundo, porém, não se sabe ainda os motivos dessas diferenças regionais. A maioria dos pacientes diabéticos não apresenta os sintomas clássicos da DC, o que leva a um retard no diagnóstico e tratamento, reforçando a importância dos programas de triagem.

A comunidade científica tem se empenhado em compreender os fatores que justificam esta associação. Uma possível explicação pode ser o envolvimento de uma base biológica comum através do sistema HLA; entretanto alterações na regulação imunológica ou incapacidade de desenvolver tolerância à auto-antígenos podem ser outras possíveis explicações.

A descoberta e evolução dos métodos sorológicos para diagnóstico da doença celíaca, tornaram viável a realização de estudos de triagem na população geral e nas populações de risco e seleção dos pacientes que necessitam ser submetidos à biópsia para confirmação diagnóstica.

Apesar de todas as evidências sobre a maior prevalência de DC em pacientes com DM1, ainda permanecem as controvérsias se um programa de triagem deve ser instituído de forma rotineira para a detecção das formas assintomáticas e se a instituição da dieta sem glúten trará benefícios para esses pacientes.

Nesse estudo transversal ficou demonstrado que a soroprevalência da DC em crianças e adolescentes diabéticos em Pernambuco é elevada, e nos motiva a buscar junto aos órgãos governamentais a inclusão da triagem rotineira para a DC em todas as crianças e adolescentes diabéticos de Pernambuco. Dessa forma poderemos dar continuidade a estudos que possam contribuir para definir os benefícios do diagnóstico precoce e da instituição precoce do tratamento desta doença em crianças e adolescentes com DM1.



5-Anexos

Anexos

Anexo1: Projeto da dissertação de mestrado

Anexo2: Questionário

Anexo 3: Termo de consentimento livre e esclarecido

Anexo 4: Aprovação do comitê de ética em pesquisa

Anexo 5: Orçamento

Projeto

SOROPREVALÊNCIA DA DOENÇA CELÍACA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 1 EM SERVIÇO DE ENDOCRINOLOGIA PEDIÁTRICA

Projeto da Dissertação de Mestrado de Jacqueline Araújo, que apresenta ao Colegiado do Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente, sob a orientação da Professora Gisélia Alves Pontes da Silva .

**JACQUELINE ARAÚJO
2003**



SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

2. OBJETIVOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e Período do Estudo

3.2 Desenho do Estudo

3.3 População do Estudo

3.4 Amostra.

3.4.1 Cálculo da Amostra

3.4.2 Técnicas de amostragem

3.4.3 Critérios de Inclusão e Exclusão

3.5 Definição das Variáveis

3.6 Operacionalização da Pesquisa

3.6.1 Infraestrutura da Pesquisa

3.6.2 Coleta de dados e Material

3.6.3 Dosagem do Anticorpos

3.6.4 Dosagem de Imunoglobulina A

3.6.5 Fluxograma

3.7 Considerações Éticas

4. CRONOGRAMA

5. ORÇAMENTO

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Doença celíaca (DC) é uma desordem intestinal crônica, imune-mediada, causada por hipersensibilidade e intolerância permanente ao glúten, e que se desenvolve em indivíduos geneticamente predispostos.(1,2) É considerada uma doença auto-imune, já estando bem documentada a associação da DC com o antígeno leucocitário humano principalmente ao HLA DR3-DQ2, que está presente em mais de 90% dos pacientes celíacos.(3)

Foi inicialmente descrita há mais de um século e, até recentemente, era considerada pouco comum em todo o mundo, com prevalência estimada de 1 caso para 4800 pessoas. Com a evolução dos métodos diagnósticos e o melhor conhecimento das suas formas de apresentação clínica, hoje se sabe que é muito mais prevalente do que se supunha tradicionalmente, variando na população geral de 2.5 a 7.5 casos para 1000 pessoas, afetando crianças e adultos de todas as idades.(4) Vários estudos de prevalência já foram realizados em diversas regiões do mundo, sendo constatado algumas diferenças regionais, atualmente é considerada a desordem crônica tratável mais freqüente da Europa (5) e dos Estados Unidos.(6) O primeiro estudo de triagem em DC no Brasil e na América Latina, foi realizado por Gandolfi *et al*, (7) em 1999. Foram avaliados 2.045 adultos, doadores de sangue; encontrou-se uma prevalência de 1:681. Em 2000, o mesmo autor, apresentou um novo estudo de triagem, realizado em crianças atendidas em um Hospital Universitário de Brasília; foram rastreadas 1.686 crianças entre dois e 17 anos e a prevalência encontrada foi de 1:281.(8) Em Pernambuco tese do Mestrado de Pediatria, na Universidade Federal de Pernambuco, realizando estudo de triagem da DC em uma população de crianças e adolescentes atendidas no IMIP encontrou soroprevalência de 5,2%. (9)

A expressão da DC varia desde a forma com sintomas e sinais clínicos evidentes, até a oligossintomática ou assintomática. Os achados clássicos incluem diarréia, distensão e dor abdominal, perda de peso e crescimento deficiente. A DC é

freqüentemente comparada a um iceberg, onde o topo visível representa a forma sintomática da doença e a parte submersa, que é a maior parte, corresponde à doença silenciosa e latente.(10)

A DC não diagnosticada e não tratada é motivo de preocupação, pois, em longo prazo, está associada com maior risco de mortalidade e morbidade. O risco de linfoma do intestino é 30 a 100 vezes maior que na população geral e há maior prevalência de carcinoma da orofaringe esôfago e intestino,(11,12) além de várias complicações extra intestinais como hipogonadismo, infertilidade, impotência, baixa estatura, osteopenia, epilepsia, depressão, deficiências nutricionais, dentre outras. Além disso, se observa prevalência aumentada de doenças auto-imunes como diabetes mellitus tipo 1 (DM1), tireoidites, anemia perniciosa e doenças do colágeno. (13,14)

Pacientes com uma desordem auto-imune têm risco aumentado de desenvolver outras condições auto-imunes. A DC e DM1 são doenças crônicas, comuns na criança e no adolescente, com prevalência na população geral de 1/258 e 1/1000 respectivamente, havendo amplas variações nas diversas regiões do mundo.(15) A associação entre DM1 e DC tem sido reconhecida há mais de cinco décadas, a coexistência dessas duas desordens foi inicialmente suspeitada por Payne em 1954, e foi documentada através de biópsia do intestino delgado em 1960 por Ellenberg e Bookman, seguidos por Walker-Smith e Grigor em 1969.(16) Desde então, foram publicados diversos estudos demonstrando prevalência elevada de DC na população de crianças e adolescentes com DM1.

A ligação genética entre DM1 e DC é inegável, e uma das explicações para essa associação freqüente é a suscetibilidade genética compartilhada que se dá pela presença do haplótipo HLA DR3-DQ2. Porém ainda não está inteiramente claro se a associação entre essas duas desordens auto-imunes é inteiramente genética. O glúten pode ter um papel no desenvolvimento da auto-imunidade, especialmente em indivíduos geneticamente predispostos, como desencadeador de uma reação auto-imune.(15,16)

Há uma ampla variação geográfica na incidência de DM1 em crianças e adolescentes em todo o mundo, sendo mais freqüente nos países nórdicos; na Finlândia a incidência é de 40/100.000/ano, nos Estados Unidos 15/100.000/ano, no Brasil 7,4/100.000/ano e no Japão 0,8/100.000/ano.(17) A prevalência de DC em pacientes com DM1 é significativamente maior que na população geral e varia entre 0,61%¹⁸ e 16,4%.(19) A presença de DC em pacientes com DM1 também apresenta ampla variação geográfica, sem entretanto apresentar nenhuma relação com a incidência de DM1. Esta associação é mais comumente observada na Argélia (16,4%) (19) , Áustria (9%) (20) USA (6%) (21) e Itália (5,6%) (22) e menor na Alemanha e Suíça (0,2 a 0,5%).(23,24) Ainda permanece por ser estabelecido se a variação na prevalência da DC em pacientes com DM1 pode ser atribuída a variações na susceptibilidade genética, hábitos alimentares, outros fatores ambientais ou à combinação de todos estes fatores. (16)

A maioria dos pacientes com DC (associada ou não ao DM1) é assintomática, oligossintomática, ou se apresenta com sintomas atípicos, sendo diagnosticados somente através de testes de triagem.(14,25) O surgimento de testes sorológicos com maior sensibilidade contribuiu para a identificação de mais casos e não somente a ponta do iceberg. Os testes sorológicos atualmente disponíveis são, por ordem de surgimento, o anticorpo anti-gliadina,(AGA) anticorpo anti-endomísio (AAE), anticorpo anti-transglutaminase tecidual (anti-tTG) *guinea pig* e anticorpo antitransglutaminase tecidual humana. Estudos mais recentes questionam a especificidade do teste utilizando o anti-tTG *guinea pig*. (26,27) Embora se relate que a anti-tTG *guinea pig* apresente uma concordância com o anti-tTG humana superior a 80%, estudo realizado na Alemanha, constatou diferenças de pureza, distribuição e sequência de aminoácidos entre a enzima tTG humana e enzima de *guinea pig*, o que poderia contribuir para variação na imunorreatividade; além disso, Clemente *et al* (27) demonstraram um grande número de indivíduos com sorologia falsamente positiva para anti-tTG *guinea pig* em pacientes portadores de outras doenças autoimunes, particularmente hepatite autoimune, onde foi observado até 50% de falsos positivos. O AAE e anti-tTG humana apresentam sensibilidade e especificidade superiores ao AGA e ao anti-tTG *guinea pig* ,

mas ainda não está claro se há vantagem entre o AAE e anti-tTG humana, tendo ambos elevado grau de sensibilidade (94 a 100% e 91 a 98% respectivamente) e especificidade (98 a 100% e 91 a 98% respectivamente).(28,29,26,30) Os testes sorológicos permitem rastrear, de forma menos invasiva, um maior número de pessoas, assegurando, que, formas clínicas leves, com sintomas não característicos, sejam diagnosticadas.(25)

Chorzelski *et al*, (31) em 1983, descreveram a existência de anticorpos da classe IgA dirigidos contra o endomíseo, detectados por imunofluorescência em secções de esôfago de macaco e presentes no soro de grande proporção de pacientes com DC e dermatite herpetiforme. A pesquisa do anticorpo anti-endomíseo (AAE) representou uma evolução na triagem sorológica para DC. Apesar de ser um teste sensível e específico, o AAE tem apresentado, segundo a avaliação de estudiosos, alguns empecilhos ao seu uso em grande escala: custo elevado, técnica laboriosa e necessidade de sacrificar animais (quando utilizado esôfago de macaco). Além do mais, tem sido considerado, um método semi-quantitativo sujeito, em parte, à avaliação do observador.(32,33)

Em 1997, Dieterich *et al* (34) identificaram a enzima transglutaminase tecidual (tTG), como o auto-antígeno da DC., tendo sido desenvolvida técnica de ELISA para pesquisar a presença do anticorpo anti-transglutaminase tecidual no organismo do paciente. Surgiu como uma grande esperança na triagem para DC, sendo um teste de fácil execução, possível de ser realizado em massa e com resultados semelhantes ao AAE , até então considerado o melhor teste sorológico para DC. Foram realizados vários trabalhos com o objetivo de confirmar sua eficácia e seu desempenho frente aos outros testes sorológicos já existentes. Os resultados têm demonstrado sensibilidade e especificidade semelhantes ao AAE.(35)

A deficiência de IgA é 10 a 15 vezes mais comum em pacientes com doença celíaca quando comparado à população saudável, como a sorologia para anti-tTG humana e antiendomílio comercialmente disponível é habitualmente limitada aos

isótopos de IgA dos anticorpos, os pacientes com DC e deficiência de IgA poderão apresentar resultados falso-negativos.(36)

Apesar do elevado grau de confiabilidade dos testes sorológicos, a negatividade da sorologia não exclui o diagnóstico de DC. O padrão ouro para o diagnóstico permanece sendo a biópsia de intestino delgado e a avaliação histológica, que se caracteriza por infiltração intraepitelial de linfócitos, hiperplasia das criptas, aumento de células plasmáticas e linfócitos na lâmina própria e em casos severos atrofia total da camada vilosa.(37)

Mas por que estaríamos preocupados com a identificação da DC assintomática em pacientes com DM1?. Um estudo multicêntrico realizado nos Estados Unidos , denominado, Diabetes Control and Complications Trial (DCCT), mostrou uma correlação positiva entre o controle glicêmico adequado e a prevenção de complicações crônicas como a retinopatia e nefropatia,(38,39,40) portanto, além das razões já mencionadas como a maior prevalência de DC em pacientes com DM1 e o maior risco de morbidade e mortalidade, a má absorção, ou absorção variada de nutrientes altera a necessidade de insulina e afeta o controle da glicemia podendo levar a episódios freqüentes de hipoglicemia alternados com períodos de hiperglicemia. A instituição de dieta livre de glúten mostrou melhor controle do diabetes e diminuição dos episódios de hipoglicemia. (14,41)

Há poucos dados no Brasil sobre a prevalência de DC na população geral; (7,8,42) Os estudos são ainda mais limitados quando nos referimos à associação de DC e DMI. Não há publicações sobre a prevalência desta associação na população pediátrica com DM1 em Pernambuco ou no Brasil. Dados sobre esta associação em um grupo de crianças com DM1 atendidas no IMIP foram apresentados no XI Congresso Brasileiro de Gastroenterologia pediátrica em 2003, e detectou prevalência de 19%, sendo superior ao que é relatado na literatura em outras partes do mundo (43). O estudo, portanto, justifica-se pela sua importância para a população pediátrica com DM1, identificando casos não diagnosticados de DC e possibilitando tratamento adequado;

para a classe médica fornecendo informações sobre a prevalência e possibilitando a sensibilização para a DC e para a comunidade científica, devido à escassez de estudos sobre essa associação em crianças e adolescentes de Pernambuco e no Brasil .



2. OBJETIVOS

Conhecer a soroprevalência da DC. em crianças e adolescentes com diagnóstico de DM1, atendidas no ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP) e Hospital da Restauração.



3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e Período do Estudo

O estudo será realizado no período de dezembro de 2003 a maio de 2004 no ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do Instituto Materno Infantil de Pernambuco – IMIP, entidade de direito privado, sem fins lucrativos, que atua nas áreas de assistência médico-social, ensino, pesquisa e extensão comunitária, e no ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do Hospital da Restauração (HR), entidade pública com atuação na área de assistência médica e de ensino.

Os exames laboratoriais serão realizados no Laboratório de Patologia Clínica Diva Montenegro (LAPAC), situado à Rua Amaro Bezerra 584 Derby, Recife-PE. Entidade Privada com excelência nas áreas de bioquímica, imunologia e patologia e com certificação pelo PALC (Programa de Acreditação de Laboratório Clínico).

3.2 Desenho do Estudo

O desenho do estudo será descritivo do tipo transversal, sendo realizado um estudo de prevalência. Este tipo de estudo possibilitará estimar a freqüência da doença em uma população definida.

3.3 População do Estudo

Crianças e adolescentes com diagnóstico prévio de Diabetes Mellitus tipo 1 segundo os critérios da Associação Americana de Diabetes (glicemia de jejum ≥ 126 ou glicemia ao acaso ou pós-prandial ≥ 200), maiores de dois anos que sejam acompanhados no Ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do IMIP e do HR.

3.4 Amostra

3.4.1 Cálculo da amostra

A amostra será composta por 280 indivíduos; número calculado através do epi-
info6 como amostra representativa da população de crianças e adolescentes com DM1 atendidas em serviço público de Endocrinologia Pediátrica em Recife - Pernambuco . A estimativa da amostra foi feita considerando-se prevalência média de 16%, com intervalo de confiança de 95%.

3.4.2 Técnica de Amostragem

Os indivíduos serão selecionados por conveniência segundo a demanda do próprio ambulatório de Diabetes. Os indivíduos que se apresentarem para consulta de rotina e que preencherem os critérios de inclusão/exclusão do estudo serão engajados à pesquisa após o consentimento livre e informado dos pais ou responsável.

3.4.3 Critérios de Inclusão e Exclusão

- Crianças e adolescentes com diagnóstico prévio de DM1 segundo critérios da Associação Americana de Diabetes.
- Faixa etária – crianças com mais de 2 anos e adolescentes até 19 anos e 11 meses. Como a exposição ao glúten é fundamental para o desenvolvimento da

DC, o limite mínimo de dois anos foi estabelecido, acreditando-se que todas as crianças nessa faixa etária já consumam alimentos que contêm glúten e, portanto, passíveis de desenvolver a doença.

- Serão excluídos os pacientes com diagnóstico prévio de DC.
- Serão excluídos os pacientes com deficiência de IgA pela probabilidade de sorologia falso-negativa.

3.5 Definição das Variáveis

- Sexo
- Idade (segundo Marcondes, 2002):
 - Crianças: 2 a 9 anos e 11 meses
 - Adolescentes: 10 a 19 anos e 11 meses.
- Procedência:

Recife - Indivíduos residentes na cidade do Recife;
Região metropolitana do Recife – serão considerados pertencentes à região Metropolitana os indivíduos residentes nos seguintes municípios (segundo informações obtidas em site oficial do governo do Estado de Pernambuco): Olinda, Jaboatão dos Guararapes, Camaragibe, São Lourenço da Mata, Moreno, Abreu e Lima.
Interior – Indivíduos residentes nas demais regiões do Estado de Pernambuco.
- Soropositivo para doença celíaca – serão considerados soropositivos os indivíduos com anticorpo anti-tTG humana superior a 20UI/ml
- Não deficiente de IgA

3.6 Operacionalização da Pesquisa

3.6.1- Infraestrutura da Pesquisa

A viabilidade financeira será buscada com a indústria farmacêutica e órgãos do governo voltados para a pesquisa científica. Será buscado o apoio do IMIP e o Hospital

da Restauração, no sentido de ceder suas instalações e profissionais do laboratório para coleta do material.

3.6.2 Coleta de dados e material

As crianças e adolescentes que procurarem o IMIP e o HR para consulta de rotina de acompanhamento do diabetes, serão abordadas para inclusão no estudo. Uma vez obtido o consentimento livre e esclarecido, a pesquisadora preencherá um formulário onde irão constar informações sobre procedência, idade, sexo, e endereço detalhado (a fim de possibilitar posteriormente a localização dos casos positivos). Ao se encaminharem para coleta de sangue de exames de rotina no laboratório do IMIP ou da Restauração (dependendo a que hospital o paciente pertence), será separada uma alíquota de sangue de 5ml em tubo seco que será submetida à centrifugação para obtenção do soro, devidamente etiquetado e registrado e depois serão mantidos sob refrigeração (2 a 8º C). A pesquisadora supervisionará as atividades na sala de coleta e no mesmo dia realizará o transporte das amostras adequadamente acondicionadas na temperatura recomendada para o Laboratório LAPAC onde serão realizados o Anticorpo anti-tTG humana e dosagem de IgA.

3.6.3 Dosagem do Anticorpo Antitransglutaminase Tecidual Humana e Antiendomílio

O anti-anti-tTG humana será realizado no laboratório LAPAC através da técnica de enzimoimunoensaio por prova em microplaca. Os soros são distribuídos nos poços da placa que será posteriormente incubada durante 30 minutos em câmara úmida à temperatura ambiente. Os anticorpos anti transglutaminase tecidual presentes no soro se unem ao antígeno adsorvido à superfície dos poços da microplaca. A reação enzimática ocorre com uma solução de ácido sulfúrico e a formação do produto é medida a 450nm. A concentração de anticorpos na amostra é proporcional à absorção do produto da reação. Serão consideradas positivas as amostras com concentrações superiores a 20U/ml .

Nos pacientes com sorologia positiva para anti-tTG humana será realizado também o AAE sérico, utilizando-se amostra do soro já colhido, através da técnica de

imunofluorescência indireta com esôfago de macaco. As secções serão incubadas, por período de 30 minutos, com o soro do paciente em uma diluição de 1:5. Após lavagem, as secções serão incubadas com anticorpos anti-IgA humana, marcados por conjugados de fluoresceína, por 30 minutos. As secções serão lavadas e examinadas por microscopia fluorescente. O Anticorpo Antiendomísio IgA é considerado negativo por técnica de imunofluorescência indireta quando os títulos são menores que 1:5.

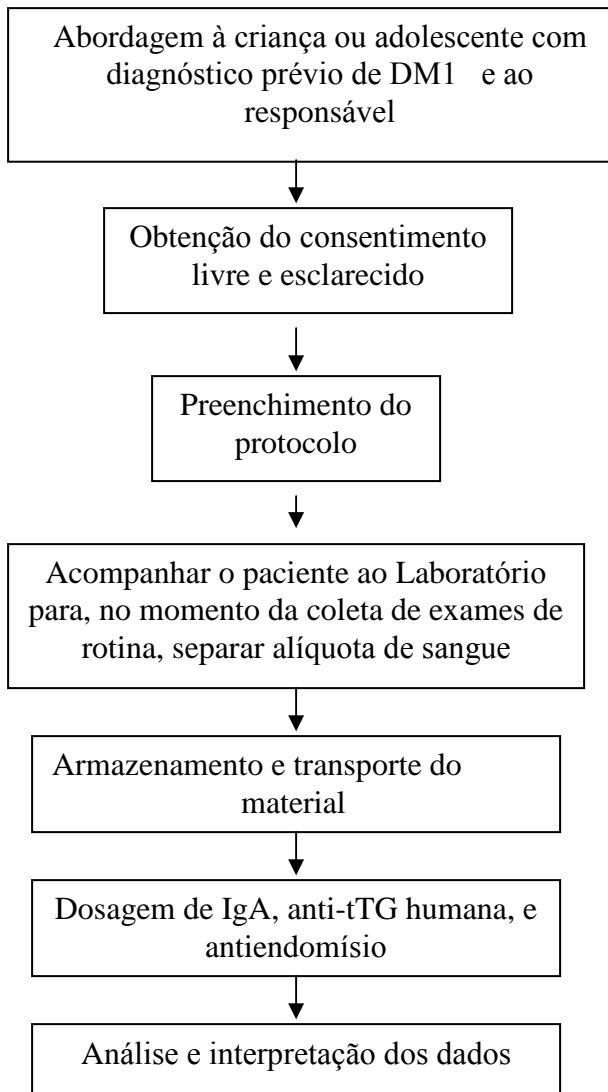
3.6.4 Dosagem de Imunoglobulina A (IgA)

Método: Turbidimetria.

Referencial:

Sangue Cordão	1 a 4
Recém Nascido: 1 mês	2 a 50
2 a 9 meses	4 a 80
10 a 12 meses	15 a 90
1 a 5 anos	15 a 160
6 a 12 anos	35 a 250
12 a 60 anos	40 a 350

3.6.5 Fluxograma



3.7 Considerações Éticas

A pesquisa terá início após aprovação pela Comissão de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do IMIP. Será solicitado o consentimento do responsável pela criança, após leitura e esclarecimento verbal pelo pesquisador de possíveis dúvidas sobre a natureza do estudo. Nos casos em que o responsável seja analfabeto será realizada a leitura do termo de consentimento com a presença de uma testemunha que

também assinará o termo. Será entregue uma cópia do consentimento livre informado ao responsável .

Haverá preocupação desde o início com o aspecto ético, no sentido de não causar dor ou transtorno adicional à criança ou à família, apenas com o objetivo de favorecer a pesquisa.

Para o diagnóstico definitivo de DC (preenchendo todos os critérios estabelecidos pela E.S.P.G.A.N.), seria necessário um período mínimo de dois anos e seis meses de observação, sendo este prazo inviável para realização da dissertação do mestrado. Sendo assim, apesar do acompanhamento dos indivíduos prosseguir até o diagnóstico e seguimento adequado, o objetivo da pesquisa se deterá à soropositividade sorológica por anticorpo anti-anti-tTG humana.

Nos casos soropositivos, serão realizadas buscas ativas destes indivíduos, através do endereço residencial, serão encaminhados ao Ambulatório de Gastroenterologia do IMIP, realizarão biópsia de intestino delgado e acompanhamento até que sejam preenchidos os critérios preconizados pela E.S.P.G.A.N. (1990). Aqueles indivíduos com diagnóstico confirmado de DC serão submetidos à dieta sem glúten e serão acompanhados por nutricionistas e pelo Ambulatório Especializado de Gastroenterologia, além de permanecerem em tratamento nos respectivos serviços de Endocrinologia Pediátrica.



4. CRONOGRAMA

O início da coleta de dados e do material para o estudo está previsto para dezembro de 2003 e terminará quando forem obtidos 280 pacientes com DM1 para realização de sorologia. A previsão para apresentação dos resultados finais do estudo é outubro de 2004.

	Coleta de dados e material para sorologia	Análise dos dados e preparo do estudo	Apresentação dos resultados do estudo: defesa de tese
Dezembro 2003	X		
Janeiro 2004	X		
Fevereiro	X		
Março	X		
Abril	X		
Maio	X		
Junho	X	X	
Julho		X	
Agosto		X	
Setembro		X	
Outubro		X	X



5. ORÇAMENTO

- Sorologia: R\$ 2.500,00
- Dosagem de IgA: R\$ 300,00
- Despesas com correio para convocação de pacientes: R\$ 300,00

TOTAL R\$ 3.100,00



6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mcmanus R, Kelleher D. Celiac Disease. The villain unmasked?. **N Engl J Med** **2003**;348(25):2573-4.
2. Jennings JS, Howdle PD. Celiac disease. **Curr Opin Gastroenterol** **2001**;17(2):118-126.
3. Farre C, Humbert P, Vilar P, Varea V, Aldeguer X, Carnicer J, et al. Sorological markers and HLA DQ2 haplotype among first-degree relatives of celiac patients. **Digestive Diseases and Sciences** **1999**;44(11):2344-9.
4. Loftus CG, Murray JA. Celiac disease: diagnosis and management. **JCOM** **2002**; 9(4):341-9.
5. Catassi C, Fabiani E, Ratsch IM, Coppa GV, Giorgi PL, Pierdomenico R, Alessandrini S, et al. The coeliac iceberg in Italy: a multicentre antigliadin antibodies screening for coeliac disease in school-age subjects. **Acta Paediatr** **1996**; 412(Suppl):29-35.
6. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. **Arch Intern Med** **2003**; 163(3):286-292.
7. Gandolfi L, Pratesi R, Cordoba JC, Tauli PL, Gasparin M, Catassi C. Prevalence of celiac disease among blood donors in Brazil. **Am J Gastroenterol** **2000**;95(3):689-92.
8. Gandolfi L, Bocca AL, Pratesi R. Screening of celiac disease in children attending the outpatient clinic of a University Hospital. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** **2000**;31(2):212-3.

-
9. Brandt KG. Soroprevalência de doença celíaca em crianças e adolescentes atendidos no Instituto Materno Infantil de Pernambuco – IMIP. **Dissertação de Mestrado 2000**;UFPE.
10. Catassi C, Ratsch IM, Fabiani E, Rossini M, Bordicchia F, Candela F, et al. Coeliac disease in the Year 2000: exploring the iceberg. **Lancet** **1994**;343(8891):200-3.
11. Swinson CM, Slavin G, Coles EC, Booth CC. Celiac disease and malignancy. **Lancet** **1983**;1(8316):111-5.
12. Pricolo VE, Mangi AA, Asward B, Bland KI. Gastrointestinal malignancies in patients with celiac sprue. **Am J Surg** **1998**;176(4):34-7.
13. Jason SR, Jennings MR, Peter DH. New developments in celiac disease. **Curr Opin Gastroenterol** **2003**; 19(4):118-129.
14. Brook LS. Diagnosing celiac disease In 2002: Who, why, and how? **Pediatrics** **2002**; 109(5):952-4.
15. Barera G, Bonfanti R, Viscardi M, Bazzigaluppi E, Calori G, Meschi F, et al. Occurrence of celiac disease after onset of type 1 diabetes: a 6-year prospective longitudinal study. **Pediatrics** **2002**;109(5):833-8.
16. Soran H, Gill G. Type 1 Diabetes and celiac disease. **J R Coll Physicians** **2002**;32(3):178-88.
17. Karvonen M, Viik-Kajander M, Moltchanova E, Libman I, LaPorte R, Tuomilehto J. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. **Diabetes Care** **2000**;23(10):1516-26.

-
18. Schober E, Granditsch G. IDDM and celiac disease. **Diabetes Care** 1994; 17(12):1549-50.
 19. Boudraa G, Hachefaf W, Benbouabdellah M, Belkadi M, Benmansour FZ, Touhami M. Prevalence of coeliac disease in diabetic children and their first-degree relatives in west Algeria: screening with serological markers. **Acta Paediatr** 1996;412(Suppl):58-60.
 20. Crone J, Rami B, Huber WB, Gransditsch G, Schober E. Prevalence of celiac disease and follow-up of AAE in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 2003;37(1):67-71.
 21. Rensch MJ, Merenich JA, Lieberman M, Long BD, Davis DR, McNally PR. Glutensensitive enteropathy in patients with insulin-dependent diabetes Mellitus. **Ann Int Med** 1996;124(6):564–7.
 22. Not T, Tommasini A, Tonini G, Buratti E, Pocecco M, Tortul C, et al. Undiagnosed celiac disease and risk of autoimmune disorders in subjects with type I diabetes mellitus. **Diabetologia** 2001; 44(2):151-5.
 23. Koletzko S, Burgin-Wolff A, Koletzko B, Knapp M, Burger W, Gruneklee D. Prevalence of coeliac disease in diabetic children and adolescents. A multicentre study. **Eur J Pediatr** 1988; 148(2):113-7.
 24. Seissler J, Schott M, Boms S, Wohlrab U, Ostendorf B, Morgenthaler NG, Scherbaum WA. Autoantibodies to human tissue transglutaminase identify silent coeliac disease in type I diabetes. **Diabetologia** 1999;42(12):1440–1.
 25. Johnston SD, Watson RG, McMillan SA, McMaster D, Evans A. Preliminary results from follow-up of a large-scale population survey of antibodies to gliadin, reticulin and endomysium. **Acta Paediatr** 1996;412(Suppl):61-4.

26. Biagi F, Pezzimenti D, Campanella J, Vadacca GB, Corazza GR. Endomysial and tissue transglutaminase antibodies in coeliac sera: a comparison not influenced by previous serological testing. **Scand J Gastroenterol** 2001;36(9):955-8.
27. Clemente MG, Musu MP, Frau F, Lucia C, De Virgiliis S. Antitissue transglutaminase antibodies outside celiac disease. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 2002;34(1):31-4.
28. Green PH, Barry M, Matsutani, M. Serologic tests for celiac disease. **Gastroenterology** 2003; 124(2):585-6.
29. Bak SR. Celiac disease serology. **The Ward Report** 2003;14:353-6.
30. Shamir R, Eliakim R, Lahat N, Sobel E, Lerner A. Elisa of anti-endomysial antibodies in the diagnosis of celiac disease. **Isr Med Assoc J** 2002;4(8):594-6.
31. Chorzelski TP, Beutner EH, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Kumar V, Kapuscinska A. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. **Br J Dermatol** 1984;111(4):395-402.
32. Ferreira M, Davies SL, Butler M, Scott D, Clark M, Kumar P. Endomysial antibody: is it the best screening test for coeliac disease? **Gut** 1992;33(12):1633-7.
33. Cataldo F, Ventura A, Lazzari R, Balli F, Nassimbeni G, Marino V. Antiendomysium Antibodies and coeliac disease: Solved and unsolved questions. An Italian Multicentre Study. **Acta Paediatrica** 1995;84(10):1125-31.
34. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. **Nat Med** 1997;3(7):797-801.

35. Lebenthal E, Branski D, Serum anti-endomysial and anti-tissue transglutaminase for screening of celiac disease. **Isr Med Assoc J** 2002;4(8):627-8.
36. Kumar V, Jarzabek-Chorzelska M, Sulej J, Karnewska K, Farrell T, Jablonska S. Celiac disease and immunoglobulin A deficiency: how effective are the serological methods of diagnosis? **Clin Diagn Lab Immunol** 2002;9(6):1295-300.
37. Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling DH, Visakorpi JK. Revised criteria for diagnosis of celiac disease: report of working group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. **Arch Dis Child** 1990;65(8):909-11.
38. DCCT Research Group: The relationship of glycemic exposure (HbA1c) To the risk of development and progression of retinopathy in the diabetes control and complications trial. **Diabetes** 1995;44(8):968-83.
39. DCCT Research Group: Implications of the DCCT for Children and Adolescents with IDDM. **N Engl J Med** 1995; 91(4):227-8.
40. DCCT Research Group: Effect of Intensive Diabetes Treatment on the Development and Progression of Long-Term Complications in Adolescents with Insulin-Dependent Diabetes Mellitus: Diabetes Control and Complications Trial. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. **J Pediatr** 1994; 125(2):177-88.
41. Mohn A, Cerruto M, Lafusco D, Prisco F, Tumini S, Stoppoloni O, Chiarelli F. Celiac disease in children and adolescents with type I diabetes: importance of hypoglycemia. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 2001;32(1):37-40.
42. Mandal A, Mayberry J. How common is celiac disease in South America? **Am J Gastroenterol** 2000;95(3):579-80.

43. Brandt KG, Silva GAP, Antunes MMC, Trevisol K, Ventura A. Doença celíaca em pacientes diabéticos tipo 1: prevalência em um grupo de crianças e adolescentes. **Anais do XI Congresso Brasileiro de Gastroenterologia Pediátrica 2003**, Salvador, Bahia:119.

Questionário

PROTOCOLO DE INVESTIGAÇÃO

“Soroprevalência da doença celíaca em crianças e adolescentes com diabetes mellitus tipo 1 em serviços de endocrinologia pediátrica”

NÚMERO QUESTIONÁRIO: _____

HOSPITAL: _____ DATA: ____ / ____ / ____

NÚMERO DO PRONTUÁRIO: _____ SEXO: _____

NOME: _____

MÃE: _____

ENDEREÇO: _____ CIDADE _____

ESTADO: ____ CEP: _____ TELEFONE: _____

DATA NASC ____ / ____ / ____ IDADE: _____

DATA DIAGNÓSTICO DE DM1: ____ / ____ / ____ IDADE DIAGNÓSTICO: _____

TEMPO DE DIABETES: _____

RESULTADOS DOS EXAMES:

Anticorpo anti-anti-tTG humana: _____

Anticorpo anti-endomísio _____

IgA: _____

Termo de consentimento livre e esclarecido

Título da pesquisa: “SOROPREVALÊNCIA DE DOENÇA CELÍACA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 1 EM SERVIÇOS DE ENDOCRINOLOGIA PEDIÁTRICA”

Responsável pelo projeto: Dra Jacqueline Araújo (Tel: 96155885)

Estamos realizando uma pesquisa sobre a Doença Celíaca em crianças e adolescentes com Diabetes Mellitus do tipo 1. Esta pesquisa foi avaliada e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP) e autorizada pela comissão de ensino e pesquisa do Hospital Agamenon Magalhães.

A doença celíaca é uma forma de alergia ao glúten. O glúten está presente em alimentos como o trigo, a aveia e em outras comidas de crianças e adultos. Hoje se sabe que a doença celíaca acontece mais em pessoas diabéticas do que nas outras pessoas. A criança pode ter a doença e não sentir nada, ou sentir muito pouco como dificuldade para crescer e para controlar o diabetes, apesar de seguir o que seu médico diz.

Com sua autorização, gostaríamos de utilizar uma pequena quantidade do sangue que será colhido do seu filho nos exames de controle do diabetes, para realizar um exame para Doença Celíaca , e também para dosar uma substância chamada Imunoglobulina A que faz parte do mecanismo de defesa contra infecções.

Caso seja encontrada alguma alteração nos exames, você será comunicado e a criança será encaminhado para o Ambulatório de Gastroenterologia Pediátrica do IMIP onde receberá as orientações sobre o tratamento e para saber como deve ser sua alimentação.

Caso não queira autorizar seu filho (a) a participar desta pesquisa, ele (a) continuará a receber o mesmo atendimento que sempre recebeu no ambulatório de diabetes deste hospital.

Eu li, comprehendi e autorizo que seja realizado o teste sorológico para Doença Celíaca na amostra de sangue colhida do meu (minha) filho (a)_____

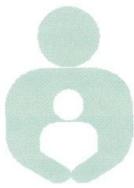
Concordo que os dados obtidos sejam utilizados para pesquisa.

Recife, __ / __ / __

(Assinatura do responsável)

Testemunha (em caso de responsável analfabeto)

Carta de aprovação do comitê de ética



INSTITUTO MATERNO INFANTIL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA EM SERES HUMANOS

DECLARAÇÃO

Declaro que o projeto de pesquisa de **Jaqueleine Rosangela de Araujo** intitulado: **“Soroprevalência da doença celíaca em crianças e adolescentes com diabetes Tipo 1 em serviço de endocrinologia pediátrica”** foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos do Instituto Materno Infantil de Pernambuco, em sua reunião em 03 de novembro de 2003.

Recife, 03 de novembro de 2003.

Dr. Gilliatt Hanois Falbo
Coordenador do Comitê de Ética e
Pesquisa em Seres Humanos do IMIP

Orçamento Final

1- Sorologias anti-tTG humana R\$ 2.000,00

2- Sorologias AAE R\$ 740,00

3- Dosagem de IgA R\$ 361,00

4- Despesas para coleta do sangue R\$ 611,00

5- Despesas de correio para convocação pacientes R\$ 200,00

7- Despesas com artigos de revista R\$ 400,00

8- Despesas com a confecção da dissertação R\$ 300,00

TOTAL R\$ 4.612,00