

LORAINÉ FARIAS LANDGRAF

**PREVALÊNCIA DE DEFICIÊNCIA DE
IMUNOGLOBULINA "A" EM PACIENTES COM
DIABETES MELLITUS TIPO 1 E SOROLOGIA
POSITIVA PARA DOENÇA CELÍACA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação, MESTRADO EM PEDIATRIA, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, para obtenção do título de **MESTRE EM PEDIATRIA**

Orientador:

**Prof. Dr. Bonald C.
Figueiredo**

Co-Orientador:

**Prof. Dr. Nelson Augusto
Rosário Filho**

**Curitiba
1999**



Parecer

Parecer conjunto dos Professores: *Dr. Ronald Cavalcante de Figueiredo, Dra. Dara José de Messias-Reason e o Dr. Carlos Alberto Longui*, sobre a dissertação: **PREVALÊNCIA DE DEFICIÊNCIA DE IMUNOGLOBULINA "A" EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 1 E SOROLOGIA POSITIVA PARA DOENÇA CELÍACA**, nível de Mestrado em Pediatria, da aluna: *Dra. Loraine Farias Landgraf*, do Curso de Pós-Graduação - Mestrado em Pediatria da Universidade Federal do Paraná.

A Comissão Examinadora considerou que a *Dra. Loraine Farias Landgraf*, apresentou trabalho adequado para a dissertação a nível de Mestrado em Pediatria e defendeu convenientemente as arguições que lhes foram feitas, atribuindo-lhes as seguintes notas:

<i>Prof. Dr. Ronald Cavalcante de Figueiredo</i>	<i>Nota (100) e Conceito A</i>
<i>Profa. Dra. Dara José de Messias-Reason</i>	<i>Nota (100) e Conceito A</i>
<i>Prof. Dr. Carlos Alberto Longui</i>	<i>Nota (100) e Conceito A</i>

Tendo a candidata sido aprovada com *Média Final (100) e Conceito A* sendo pois unanimemente recomendada à Universidade Federal do Paraná, a concessão de título de "Mestre em Pediatria" e a publicação da dissertação em veículo de divulgação conveniente.

Curitiba, 20 de dezembro de 1999

Prof. Dr. Ronald Cavalcante de Figueiredo

Profa. Dra. Dara José de Messias-Reason

Prof. Dr. Carlos Alberto Longui

*Ao meu esposo Antonio, que me
acompanhou neste longo caminho, com
amor, paciência e dedicação.*

AGRADECIMENTOS

- ✓ Ao Prof. Dr. Bonald Cavalcante de Figueiredo, orientador deste trabalho e Coordenador do Curso de Pós-graduação - Mestrado em Pediatria da Universidade Federal do Paraná.
- ✓ Ao Prof. Dr. Nelson Augusto Rosário Filho, Professor Titular de Pediatria e co-orientador deste estudo.
- ✓ Ao Prof. Dr. Izrail Cat, pelos ensinamentos em pediatria e por ter me auxiliado a atingir esta meta.
- ✓ Ao Prof. Dr. Luiz de Lacerda Filho, chefe do Departamento de Pediatra do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.
- ✓ Ao Prof. Dr. Mitsuru Miyaki, chefe do Departamento de Pediatria na época de meu ingresso no Curso de Pós-graduação, pelo apoio.
- ✓ À Prof^a Martha García Gomensoro de Sánchez, professora de Metodologia Científica da Universidade Federal do Paraná.
- ✓ Ao Prof. Luiz Gonzaga Caleffe, professor de Estatística.
- ✓ Ao Prof. Dr. Francisco Moraes Silva, professor de Ética Médica da Universidade Federal do Paraná.
- ✓ Aos Prof. Dr. Dinarte José Girardi e Prof^a Dra. Leide Parolin Marinoni, pelos ensinamentos na área da didática.
- ✓ À Juliana Moura, futura mestrande em Bioquímica, pelo auxílio nos ensaios de ELISA.
- ✓ Aos funcionários do Setor de Coleta do Laboratório de Análises Clínicas.
- ✓ À secretária Clara Lara de Freitas do Departamento de Pediatria.
- ✓ À Ângela da Matta Silveira Martins, pela orientação na realização da análise estatística.
- ✓ À CAPES que financiou esta pesquisa.
- ✓ Às crianças e adolescentes que concordaram em participar deste estudo e aos seus pais, pela contribuição indispensável à pesquisa e ao conhecimento médico.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	vii
LISTA DE GRÁFICOS	viii
LISTA DE QUADROS	viii
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE ANEXOS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	01
1.1 DIABETES MELLITUS TIPO I.....	01
1.2 DEFICIÊNCIA DE IMUNOGLOBULINA A.....	03
1.3 ASSOCIAÇÃO ENTRE DEFICIÊNCIA DE IMUNOGLOBULINA A E DOENÇAS AUTO-IMUNES.....	08
1.4 DOENÇA CELÍACA.....	09
1.5 ASSOCIAÇÃO ENTRE DOENÇA CELÍACA E DIABETES MELLITUS TIPO I.....	11
1.6 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA.....	17
2. OBJETIVOS	19
3. CASUÍSTICA	20
4. MÉTODOS	23
4.1 DETERMINAÇÃO DE IMUNOGLOBULINAS A, G, M SÉRICAS.....	23
4.1.1 MÉTODO DE TURBIDIMETRIA.....	23
4.2 DETERMINAÇÃO DE IMUNOGLOBULINA A SÉRICA.....	24
4.2.1 MÉTODO DE IMUNODIFUSÃO RADIAL SIMPLES EM PLACA DE BAIXA CONCENTRAÇÃO.....	24
4.2.2 DOSAGEM DE IMUNOGLOBULINA A PELO MÉTODO DE IMUNOPEROXIDASE INDIRETO (ELISA)	26
4.3. DETERMINAÇÃO DE ANTICORPOS MARCADORES DE DOENÇA CELÍACA	29
4.3.1. DOSAGEM DE IgA ANTIGLIADINA PELO MÉTODO DE IMUNOPEROXIDASE INDIRETO (ELISA).....	29

4.3.2. DETERMINAÇÃO DE IMUNOGLOBULINA A ANTI-ENDOMÍCIO POR IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA.....	31
4.4. ENDOSCOPIA DIGESTIVA ALTA E BIÓPSIA INTESTINAL	32
4.5. CRITÉRIOS PARA O DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE DOENÇA CELÍACA.....	33
4.6. CÁLCULO DA ESTATURA ALVO	34
4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
5. RESULTADOS	35
5.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO I DE ACORDO COM OS RESULTADOS DO ANTICORPO ANTI-ENDOMÍCIO	35
5.2. ANÁLISE HISTOLÓGICA DA MUCOSA DUODENAL DOS PACIENTES COM ANTICORPO ANTI-ENDOMÍCIO POSITIVO	36
5.3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES COM ANTICORPO ANTI- ENDOMÍCIO POSITIVO DE ACORDO COM OS RESULTADOS DA BIÓPSIA INTESTINAL	45
5.4. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES COM ANTICORPO ANTI- ENDOMÍCIO NEGATIVO E PACIENTES COM DOENÇA CELÍACA CONFIRMADA.....	46
5.5. ANÁLISE DA ESTATURA ALVO	47
5.6. ANÁLISE DA FREQUÊNCIA DE HIPOGLICEMIA.....	47
5.7. DOENÇAS AUTO-IMUNES ASSOCIADAS	48
5.8. RESULTADOS DAS DOSAGENS DE IgA	49
5.9. CARACTERIZAÇÃO DOS PACIENTES COM DEFICIÊNCIA DE IMUNOGLOBULINA A	51
5.10. RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE IgA ANTIGLIADINA PELO ELISA.....	52
5.11. RELAÇÃO ENTRE BIÓPSIA INTESTINAL, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍCIO, ANTICORPOS ANTIGLIADINA E DEFICIÊNCIA DE IMUNOGLOBULINA A	52
6. DISCUSSÃO	55
7. CONCLUSÕES	73
8. ANEXOS	74
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGA	- Anticorpos antigliadina
DC	- Doença Celíaca
DIgA	- Deficiência de IgA
DM-1	- Diabetes mellitus tipo I
ELISA	- Análise de imuno-absorção por ligação enzimática
EMA	- Anticorpos anti-endomísio
ESPGAN	- Sociedade Européia de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição
HLA	- Antígeno Leucocitário Humano
IgA 1	- Imunoglobulina A subclasse 1
IgA 2	- Imunoglobulina A subclasse 2
IgA	- Imunoglobulina A
IgG	- Imunoglobulina G
IgM	- Imunoglobulina M
IL-2	- Interleucina 2
IL-5	- Interleucina 5
IL-6	- Interleucina 6
INF-γ	- Interferon gama
NDM-1	- Diabetes mellitus não dependente de insulina
TGF- β	- Fator de crescimento transformador beta
TNF-α	- Fator de necrose tumoral alfa

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1- RESULTADO DO EMA EM PACIENTES COM DM-1

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - RESULTADO DA BIÓPSIA INTESTINAL

QUADRO 2 - NÍVEIS SÉRICOS DE IgA EM PACIENTES COM DIgA

QUADRO 3 - NÍVEIS SÉRICOS DE IgG E IgM NOS PACIENTES COM DIgA

QUADRO 4 - AVALIAÇÃO DOS PACIENTES COM DM-1 EM RELAÇÃO AOS RESULTADOS DO EMA, AGA E IgA

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS I E II

TABELA 2 - CARACTERÍSTICAS DA TURBIDIMETRIA

TABELA 3 - CARACTERÍSTICAS DA IMUNODIFUSÃO RADIAL EM PLACA DE BAIXA CONCENTRAÇÃO

TABELA 4 - CARACTERIZAÇÃO DOS PACIENTES COM EMA POSITIVO E NEGATIVO

TABELA 5 - RESULTADO DA BIÓPSIA INTESTINAL EM PACIENTES COM DM-1 E EMA POSITIVO

TABELA 6 - CARACTERIZAÇÃO DOS PACIENTES COM EMA POSITIVO E BIÓPSIA INTESTINAL NORMAL E DC

TABELA 7 - CARACTERIZAÇÃO DOS PACIENTES COM DM-1 E EMA NEGATIVO E PACIENTES COM DM-1 E DC

TABELA 8 - ESTATURA ALVO DE ACORDO COM O RESULTADO DO EMA

TABELA 9 - FREQUÊNCIA DE HIPOGLICEMIA NOS PACIENTES COM DM-1 DE ACORDO COM OS RESULTADOS DO EMA

TABELA 10 - CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES COM DIgA

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - PLACA DE ELISA PARA DETERMINAÇÃO DE IgA.

FIGURA 2 - ENTEROPATIA INFLAMATÓRIA GRAU 0

FIGURA 3 - ENTEROPATIA INFLAMATÓRIA GRAU 0 (20 X)

FIGURA 4 - ENTEROPATIA INFLAMATÓRIA GRAU I

FIGURA 5 - ENTEROPATIA INFLAMATÓRIA GRAU II

FIGURA 6 - ENTEROPATIA INFLAMATÓRIA GRAU III

FIGURA 7 - ENTEROPATIA INFLAMATÓRIA GRAU IV

FIGURA 8 - ENTEROPATIA INFLAMATÓRIA GRAU IV (20 X)

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 – FICHA DE AVALIAÇÃO INICIAL

ANEXO 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO

ANEXO 3 – PLANILHA COM OS DADOS DOS PACIENTES DO GRUPO CONTROLE

ANEXO 4 – PLANILHA COM OS DADOS DOS PACIENTES COM DM-1

ANEXO 5 – PLANILHA COM OS DADOS DOS PACIENTES DE ACORDO COM OS
RESULTADOS DO EMA

ANEXO 6 – PLANILHA COM OS COM OS DADOS DOS PACIENTES COM DIgA

ANEXO 7 – FLUXOGRAMA DE ORIENTAÇÃO DO *SCREENING* PARA DOENÇA
CELÍACA EM PACIENTES DIABÉTICOS

ANEXO 8 – ESTATURA ALVO DOS PACIENTES COM DM-1

RESUMO

A diabetes mellitus tipo 1 (DM-1) pode ocorrer em associação com deficiência de IgA (DIgA), doença celíaca (DC) e outras doenças auto-imunes. A maior prevalência de DIgA entre pacientes com DM-1 tornou-se evidente após introdução dos testes sorológicos de *screening* para DC, pois a imunoglobulina, que geralmente é detectada contra a proteína do trigo (gliadina) ou constituintes da mucosa intestinal (endomísio), pertence à classe de imunoglobulina A (IgA). O objetivo do presente estudo foi determinar a prevalência de DIgA entre pacientes com DM-1 e suas implicações na avaliação dos testes sorológicos para DC. Um grupo de 149 crianças e adolescentes com DM-1 (média da idade de 12,4 anos) foi selecionado de forma randomizada para determinação de anticorpos IgA anti-endomísio (EMA), realização de biópsia intestinal de acordo com EMA, dosagem de anticorpos IgA antigliadina (AGA) e de IgA sérica por 3 métodos (turbidimetria, imunodifusão radial em placa de baixa concentração e ELISA). Trinta dos 35 pacientes com EMA positivo foram submetidos à biópsia intestinal, 13 tiveram DC confirmada com biópsia (Graus III e IV); destes, 9 tinham AGA positivo. Apenas quatro pacientes com EMA positivo tinham sintomas de DC, 3 com DC confirmada, e um não foi submetido à biópsia. A maioria dos pacientes com DM-1 e DC tinha estatura abaixo da estatura alvo em comparação aos pacientes com DM-1 e EMA negativo ($p=0,002$). EMA teve sensibilidade de 100% e AGA, de 69,2%; a especificidade de AGA foi de 94,1% (a especificidade de EMA não pôde ser calculada). A prevalência de DIgA no grupo de DM-1 foi de 5,3% (8/149), 50 vezes maior do que a população brasileira normal, sendo que nenhum paciente se apresentou com infecções recorrentes. Todos os pacientes com DIgA tinham EMA positivo e nenhum teve níveis detectáveis de AGA. Em quatro pacientes com DIgA, o EMA foi positivo, AGA negativo e biópsia intestinal normal, o que sugeriu que EMA foi falso positivo. Apenas 1 (1/13) paciente com DC teve DIgA, ou seja, a prevalência de DIgA em pacientes diabéticos com DC foi de 7,7%. Devido à variabilidade dos resultados dos testes sorológicos (EMA e AGA), foi proposto um protocolo para o diagnóstico de DC em pacientes diabéticos.

ABSTRACT

Type 1 diabetes mellitus (DM-1) may occur in association with IgA deficiency (IgAD), celiac disease (CD) and other autoimmune diseases. Increased prevalence of IgA deficiency among diabetic patients became more evident after introduction of serologic tests for CD screening. The immunoglobulin that usually is found against a wheat protein (gliadin) or any protein of the small intestine mucosa (endomysium) is from the IgA class. The present study was designed to assess the prevalence of IgAD among DM-1 patients and its implications in the evaluation of serologic tests for CD. One hundred and forty nine DM-1 children (mean age 12.4 years) were randomly selected for IgA anti-endomysial antibody test (EMA), intestinal biopsy (according to EMA), IgA anti-gliadin antibody (AGA) and determination of serum IgA (three methods were used: turbidimetry, radial immunodiffusion and ELISA). Thirty of 35 positive EMA were submitted to duodenal biopsy, 13 with confirmed CD (grade III or IV), 9 with positive AGA. Four were symptomatic for CD, 3 with confirmed CD. In the group with CD, the mean height was statistically below the target height ($p=0,002$), compared with the group of DM-1 children and negative EMA. The sensitivity of EMA was 100% and AGA, 69,2%; the specificity of AGA was 94,1%, the specificity of EMA was not possible to be calculated. The prevalence of IgAD was 5,3% (8/149), 50 times higher than normal Brazilian population, no patients with recurrent upper respiratory tract, pulmonary, or gastrointestinal infections. All patients with IgAD had positive EMA, no patients with detectable AGA. Four IgAD cases (very low IgA serum levels obtained in an ELISA assay) were positive for EMA, not for AGA, and had normal biopsy, which could suggest false positive EMA. One IgA-deficient patient had confirmed CD, the prevalence of IgAD in CD was 7.7%. Because of the variability in the results of serologic tests (EMA versus AGA), a protocol was proposed to optimize the screening, the diagnosis of CD and to reduce number of cases indicated for intestinal biopsy.

1. INTRODUÇÃO

1.1 DIABETES MELLITUS TIPO 1

A diabetes mellitus tipo 1 (DM-1) é uma das doenças crônicas mais comuns e que geralmente resulta em graves complicações. O tipo 1 foi originalmente proposto para ser equivalente a diabetes mellitus dependente de insulina (DM-1), assim como o tipo 2 seria chamado de diabetes mellitus não dependente de insulina (NDM-1). DM-1 e NDM-1 foram propostos pelo Grupo Nacional de Dados de Diabetes dos Estados Unidos da América (NATIONAL DIABETES DATA GROUP, 1979) e passaram a ser adotados pela Organização Mundial de Saúde com base essencialmente clínica, enquanto permaneciam os termos tipo 1 e tipo 2 como definições relacionadas à etiologia (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1980, 1985). Segundo CUDWORTH (1976), a denominação DM-1 seria mais apropriada e estaria associada a tipos mais específicos de antígeno leucocitário humano (HLA) e à presença de anticorpos anti-ilhota pancreática. Entretanto, o consenso atual é de se usar a classificação em 3 tipos: diabetes tipo 1 (no lugar de DM-1), diabetes tipo 2 (no lugar de NDM-1) e diabetes gestacional. A DM-1 é uma doença auto-imune caracterizada pela destruição da célula beta do pâncreas, resultando em intolerância à glicose e dependência de insulina (SJÖBERG, ERIKSSON, BREDBERG e cols., 1998).

A incidência de DM-1 é variável, sendo mais elevada na Finlândia, com 42,9/100.000 casos por ano (TUOMILEHTO, LOUANAMA, TUOMILEHTO-WOLFF, 1991) e aparentemente mais baixa na China, com 0,7/100.000 casos por ano (BAO, WANG, DORMAN, e cols., 1989). Não há registros completos sobre a incidência brasileira, mas acredita-se que seja semelhante aos demais países da América Latina, tais como Chile (CARRASCO, LOPEZ, GARCIA DE LOS RIOS, e cols., 1991) com incidência abaixo de 3,0/100.000 casos por ano.

A incidência de DM-1 é maior em caucasianos do que em americanos de origem africana, ambos da mesma localidade dos Estados Unidos da América (LAPORTE, TAJIMA, DORMAN e cols., 1986), o que demonstra uma variação em função das diferenças étnicas. Tem sido observado um aumento da incidência de DM-1 em vários países do mundo (DIABETES EPIDEMIOLOGY RESEARCH INTERNATIONAL GROUP, 1990), provavelmente em decorrência de fatores ambientais (SIEMIATYCKI, COLLE, CAMPBELL, e cols., 1988).

O risco de desenvolver DM-1 aumenta após a idade de 9 meses até a puberdade, com dois picos, um menor, ocorrendo em torno de 5 anos, e o maior, durante a puberdade (GAMBLE, 1980; JONER & SOVIK, 1989). Este perfil é mais ou menos semelhante, com pequenas variações, em todos os países. O primeiro pico tem sido atribuído a fatores ambientais, sobretudo as infecções que ocorrem mais frequentemente no período de início da fase escolar. Acredita-se que o segundo pico seria decorrente da ação hormonal durante a fase de crescimento rápido, sendo 1-2 anos mais precoce em meninas, correspondendo com o início mais precoce da puberdade do que em meninos (BLOM, PERSSON, DAHQUIST, 1992). Outro parâmetro que indica a participação ambiental é a variação sazonal, com menor número de casos observados durante os meses do verão (FISHBEIN, LAPORTE, ORCHARD, e cols., 1982; ELAMIN, OMER, ZEIN, e cols., 1992). Estes estudos apontam evidências da influência viral e do estado nutricional.

Embora não tenha sido encontrado o modo exato de herança genética, DM-1 é uma doença com importante componente genético e maior suscetibilidade ligada a genes do HLA de classe I (HLA-A, B, C), classe II (HLA-DR, DQ, DP) e da classe III de antígenos, e vários outros genes relacionados com a resposta imune (DORMAN, LAPORTE, STONE, TRUCCO, 1990).

1.2 DEFICIÊNCIA DE IMUNOGLOBULINA A

A imunoglobulina A (IgA) é a segunda imunoglobulina mais abundante no soro humano; tem uma estrutura química semelhante à imunoglobulina G (IgG), mas o catabolismo é 5 vezes mais rápido, com meia-vida de 3 a 6 dias (WALDMANN & STROBER, 1969). A IgA pode ser dividida em duas subclasses: IgA1 e IgA2. A IgA1 é a subclasse predominante no soro e IgA2 nas secreções. A IgA sérica é monomérica (contém duas cadeias pesadas e duas leves) e a IgA secretora é dimérica formada por dois monômeros ligados pela cadeia J ou componente secretório (KERR, 1990). A maioria dos linfócitos B produtores de IgA está localizada na mucosa respiratória e no trato gastrointestinal. Estas células produzem IgA secretora, a imunoglobulina mais abundante nas secreções humanas (TOMASI & BIENENSTOCK, 1968). Baseado no número de plasmócitos secretores de IgA e a rápida taxa de catabolismo, estima-se que 80% das células B produzem IgA (MESTECKY & MCGHEE, 1987).

A IgA sérica foi primeiramente identificada por GRABAR & WILLIAMS, em 1953, e posteriormente foi isolada e caracterizada por HEREMANS em 1974.

A importância da presença de IgA no trato gastrointestinal foi primeiramente descrita por CRABBÉ, CARBONARA, HEREMANS, em 1965, que identificaram um predomínio de células produtoras de IgA na mucosa intestinal humana.

Os antígenos externos, ao contato com as mucosas, estimulam a secreção de IgA. A IgA secretora combina-se com o antígeno na superfície da mucosa e impede a penetração no organismo. A IgA secretora neutraliza vírus, liga-se à toxinas, aglutina bactérias, impede o ligamento das bactérias às células, e liga-se a vários antígenos alimentares, tais como: proteínas do leite, lecitina de soja e gliadina. Portanto, a IgA tem uma importância fundamental em impedir que agentes infecciosos e antígenos alimentares penetrem nas superfícies mucosas (TOMASI & BIENENSTOCK, 1968; HANSON, 1983; MESTECKY & MCGHEE, 1987).

A deficiência de IgA (DIgA) é definida como níveis de IgA sérica <5 mg/dL, níveis de imunoglobulinas G e M (IgG e IgM) normais (HONG & AMMANN, 1989). É a imunodeficiência primária mais comum, com prevalência que varia de 1/223 a 1/1.000 em diferentes países (BACHMANN, 1965; GRUNDBACHER, 1972; CASSIDY & NORDBY, 1975). Em um estudo realizado no Brasil a prevalência foi de 1 em 965 indivíduos (CARNEIRO SAMPAIO, CARBONARE, ROZENTRAUB, e cols., 1989).

Vários estudos indicaram que em pacientes com DIgA, as células B expressam IgA de superfície em quantidade normal (GREY, RABELLINO, PIROFSKY, 1971; LAWTON, ROYAL, SELF, COOPER, 1972), os passos iniciais da diferenciação de célula B estavam intactos e que o defeito estaria na diferenciação terminal de células B com IgA de superfície em plasmócitos secretores de IgA. Entretanto, em estudo mais recente, embora as células B com IgA de superfície estivessem presentes em pacientes com DIgA, os números eram reduzidos e tinham fenótipo imaturo, isto é, eram células B que expressavam IgA na superfície e também IgM e IgD (CONLEY & COOPER, 1981).

A falha na maturação terminal da célula B tem sido atribuída a vários fatores:

1. Anormalidades nas células T auxiliaadoras (KING, WELLS, NELSON, 1979).
2. Presença de células T supressoras específicas para IgA (WALDMANN, BRODER, KRAKAUER, e cols., 1976; ATWATER & TOMASI, 1978; SCHWARTZ, 1980).
3. Defeito intrínseco da célula B (CASSIDY, OLDHAM, PLATTS-MILLS, 1979; INOUE, OKUBO, KUDO, e cols., 1984).
4. A presença de anticorpos maternos anti-IgA que suprimem o desenvolvimento de IgA (PETTY, SHERRY, JOHANNSON, 1985).

5. Alteração na capacidade da célula T sintetizar citocinas essenciais para o desenvolvimento da célula B e sua diferenciação, que promovem a secreção de IgA tais como: fator de crescimento transformador beta (TGF- β) e interleucina 5 (IL-5) ou nas respostas dos linfócitos B a estas citocinas (ABBAS, LICHTMAN, POBER, 1995).

Do ponto de vista genético, essa imunodeficiência tem sido associada com alterações de três cromossomas: 6, 14 e 18. Muitos indivíduos têm alterações detectáveis no cromossoma 18 pela citogenética, mas todos os indivíduos com alteração detectada pela simples observação de cariótipo têm outras alterações genéticas associadas. Pouco se sabe a respeito dos fenótipos com relação a microdeleções (situação mais comum entre todas as alterações de DNA). Os pacientes com DIgA e com alterações cromossômicas, particularmente envolvendo o cromossoma 18, tais como cromossoma 18 em anel e deleção do braço curto ou longo, têm outros defeitos congênitos, tais como: anormalidades na face, orelhas e mãos, retardo de crescimento, hipotonia muscular e retardo mental (WERTELEKI & GERALD, 1971; WILSON, TOWNER, FORSMAN, SIRIS, 1979). Quase a metade dos pacientes com deleção do braço curto e cromossoma 18 em anel tem DIgA (LEWKONIA, LIN, HASLAN, 1980). O envolvimento do cromossomo 18 na patogênese de DIgA é mais complexo do que se imaginava. Em um estudo recente, havia translocações t(8,18), t(18,21) em dois pacientes com DIgA, porém ainda não existem evidências sobre qual o gene ou grupo de genes estariam diretamente envolvidos (VORECHOVSKÝ, BLENNOW, NORDENSKJÖLD, e cols., 1999). No entanto, a maioria dos pacientes com DIgA sem alterações mentais ou físicas não tem alterações cromossômicas (HERRMANN, CHIPPER, BELL, 1982).

A IgA, a imunoglobulina das mucosas, tem várias propriedades que a diferenciam de outras imunoglobulinas e que aumentam sua capacidade de funcionar efetivamente nas mucosas (STROBER & BROWN, 1988). Entre estas propriedades está a capacidade de interagir com o componente secretório, uma proteína de transporte da célula epitelial que facilita a distribuição da IgA nas superfícies mucosas e aumenta a resistência da IgA à digestão proteolítica. A IgA não fixa complemento e é capaz de interagir com patógenos nas mucosas sem ao mesmo tempo iniciar a cascata inflamatória, por muitas vezes lesiva (STROBER & SNELLER, 1991)

A IgA tem um papel no controle da exposição do sistema imune aos antígenos ingeridos. O sistema imune associado às mucosas, mediante a formação de anticorpos específicos, retardam o transporte de tais antígenos para a circulação, provavelmente porque os anticorpos impedem a ligação às células epiteliais (STROBER & BROWN, 1988).

As moléculas de IgA têm a capacidade de combinar-se com antígenos exógenos e eliminar ou impedir que estes penetrem na circulação (NEWCOMB & SUTORIS, 1974) e desencadeiem uma resposta imunológica. Se os antígenos penetrarem na circulação, estimulam o desenvolvimento de anticorpos que podem ter reação cruzada com antígenos teciduais ou iniciam outros eventos imunológicos que resultam em doenças auto-imunes (BURKS & STEELE, 1986).

Portanto, a ausência do mecanismo de eliminação do antígeno, mediado pela IgA nas membranas mucosas, permite um aumento da exposição antigênica ao sistema linfóide ou altera o controle do linfócito T na formação de anticorpos, o que explicaria a maior ocorrência de doenças auto-imunes em pacientes com DIgA (HANSON, 1983; KLEMOLA, 1987).

A associação entre DIgA e doença celíaca (DC) foi descrita há 30 anos. CRABBÉ e HEREMANS, em 1967, descreveram três pacientes com DIgA e esteatorréia, um com DC. Desde então, vários autores descreveram essa correlação (MAWHINNEY & TOMKIN, 1971; COLLIN, MAKI, KEYRILAINEN, e cols., 1992; MEINI, PILLAN, VILLANACCI, e cols., 1996).

É possível que haja um aumento na absorção de antígenos do trigo devido à ausência de IgA secretora. De fato, a IgA secretora pode ligar-se à gliadina e impedir sua absorção. A biópsia intestinal de pacientes com associação entre DIgA e DC é semelhante aos pacientes com DC isolada, e ambos têm boa resposta à dieta sem glúten (KLEMOLA, 1988a). Portanto, a resposta à dieta sem glúten e o curso clínico parecem ser semelhantes nos pacientes com DC independente da associação com DIgA (MAWHINNEY & TOMKIN, 1971).

A DC é associada com antígenos HLA B8, DR3 e DR7 (VERKASALO, TILIKAINEN, KUITUNEN, e cols., 1983). A frequência de antígeno HLA B8 é aumentada em DIgA de acordo com STROTHMAN, WHITE, TESTIN, e cols. (1986). A associação entre DC e DIgA pode estar relacionada aos antígenos HLA. Em ambas as condições a frequência de certos alelos e haplótipos do HLA (B8, DR3, DR7, DQ2) está aumentada em comparação com a população em geral (KLEMOLA, SAVILAHTI, KOSKIMIES, PELKONEN, 1988b; CLERICI, FERNANDEZ, SAIZ, e cols. 1993).

A associação primária de HLA B8, DR3 com DC foi detectada em pacientes com DC e DIgA. Estas associações podem ser dadas em consequência da presença de haplotipos HLA idênticos, isto é, B8 e DR3, comuns às duas situações.

1.3 ASSOCIAÇÃO ENTRE DEFICIÊNCIA DE IMUNOGLOBULINA A E DOENÇAS AUTO-IMUNES

AMMANN & HONG, em 1970, demonstraram uma maior associação de doenças auto-imunes com DIgA. A maioria dos pacientes com DIgA tem anticorpos com especificidade para uma variedade de componentes extracelulares e intracelulares, bem como anticorpos contra proteínas alimentares (CUNNINGHAM-RUNDLES, BRANDEIS, GOOD, DAY, 1979). Em alguns casos, por exemplo, isso resulta na ocorrência de doenças auto-imunes, incluindo, artrite reumatóide juvenil, lupus eritematoso sistêmico, endocrinopatias auto-imunes (tireoidite), síndrome de Sjogren, anemia perniciosa, hepatite crônica ativa e enteropatia sensível ao glúten (AMMANN & HONG, 1971; VAN THIEL, SMITH, RABIN, e cols., 1977; SMITH, RABIN, HUELIMANTEL, e cols., 1978). Tais estudos fornecem evidências claras que a DIgA é geneticamente associada com certas doenças auto-imunes (PEREZ-JIMENEZ, LOPEZ, TALLO, e cols., 1981).

VAN THIEL, SMITH, RABIN, e cols., em 1977, descreveram uma síndrome de má absorção associada com DIgA e DM-1 em três indivíduos com haplotipo HLA em comum (HLA B8, DR3).

Portanto, há evidências de maior associação de doenças auto-imunes em pacientes com DIgA, entre essas a DM-1 e a DC.

1.4 DOENÇA CELÍACA

A DC é uma enteropatia por sensibilidade ao glúten caracterizada por atrofia de vilosidades do intestino delgado proximal e graus variados de má absorção. É causada por uma hipersensibilidade à gliadina, uma proteína do glúten encontrada no trigo e outras proteínas de grãos de cereais (WIESER, 1995).

Os cereais que são tóxicos para os pacientes com DC são trigo, centeio cevada e aveia. A toxicidade do trigo resulta da fração protéica da gliadina e a de outros cereais provavelmente da fração prolamina, equivalente à gliadina. A seqüência do aminoácido responsável pela doença não foi completamente elucidada. Nos estudos *in vitro*, as seqüências 31 a 43 e 44 a 55 da molécula de α -gliadina são imunogênicas (MAIURI, TRONCONE, MAYER e cols., 1996). Entretanto, os métodos *in vitro* precisam ser comparados com estudos de provocação *in vivo*. De fato, alterações histológicas têm sido demonstradas na mucosa intestinal após provocação com 200 mg de peptídeo sintético de seqüência 31 a 49 de α -gliadina (STURGESS, DAY, ELLIS e cols., 1994).

A suscetibilidade à DC parece ser conferida, basicamente, por um heterodímero HLA-DQ codificado pelos genes DQA1*0501 DQB1*0201 em configurações cis ou trans (SOLLID & THORSBY, 1993). Essas moléculas HLA DQ *in vitro* são fundamentais na ligação dos peptídeos da gliadina com células T específicas para o antígeno derivadas da mucosa do intestino delgado de pacientes portadores de DC (LUNDIN, SCOTT, HANSEN e cols., 1993; PAULSEN, LUNDIN, GJERTSEN, e cols., 1995).

A DC é uma enteropatia do intestino delgado, cujas lesões da mucosa têm algumas características que sugerem uma estimulação imunológica mediada por célula e humoral. A ativação de células T da lâmina própria por células apresentadoras de antígenos restritas ao HLA de classe II é um dos primeiros eventos desencadeados pela gliadina (MATSH, 1992). O reconhecimento do antígeno leva a um aumento da expressão de receptores de interleucina 2 (IL-2) e a produção de citocinas. Na mucosa de pacientes com DC, há um aumento significativo do percentual de células mononucleares que expressam receptor para IL-2 (células CD25+), como descrito por HALSTENSEN & BRANDTZAEG em 1993, e um aumento de moléculas de adesão intercelular do tipo I (STURGESS, KONTAKOU, SPENCER e cols., 1993).

Estudos de hibridização *in situ* demonstraram que a expressão de RNA mensageiro para interferon γ (INF γ), fator de necrose tumoral α (TNF α) e interleucina 6 (IL-6) está significativamente aumentada na mucosa de pacientes com DC (KONTAKOU, STURGERS, PRZEMIOSLO e cols., 1994; KONTAKOU, PRZEMIOSI, STURGERS e cols., 1995).

Há um aumento de linfócitos CD8⁺ no epitélio do trato gastrintestinal após provocação com antígeno em pacientes com DC com ou sem DIgA (KLEMOLA, 1988a), ou seja, o antígeno estimula o aparecimento de linfócitos T supressores. Portanto, uma característica da mucosa intestinal de pacientes com DC é a infiltração de linfócitos no epitélio, cerca de 90% dos linfócitos T intra-epiteliais expressam CD8⁺ e aproximadamente 10%, CD4⁺. Na mucosa normal, os linfócitos T intra-epiteliais, expressam receptores de célula T α/β (90%) ou γ/δ (10%). Na mucosa dos pacientes com DC, a percentagem de linfócitos intra-epiteliais com receptor para célula T γ/δ está aumentada (HALSTENSEN, SCOTT, BRANDTZAEG, 1989). Os linfócitos T intra-epiteliais têm um papel importante no mecanismo de lesão, porque têm um potencial lítico e um perfil de citocinas que sugere um padrão TH-1 e citotóxico (BRANSKI & TRONCONE, 1998).

Na DC a evolução da lesão de mucosa requer transição de um estágio precoce caracterizado por um padrão infiltrativo (epitélio com numerosos linfócitos), até uma lesão hiperplásica (hiperplasia de criptas sem atrofia de vilosidades), e, por fim, a estrutura destrutiva da mucosa achatada (MATSH, 1992).

Segundo a Sociedade Européia de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição (WALKER-SMITH, GUANDALINI, SCHMITZ, e cols. 1990), os critérios diagnósticos para DC são: 1) alterações características na mucosa quando o paciente está em dieta com glúten e 2) remissão clínica após suspensão do glúten da dieta.

Os pacientes com DC apresentam, após estimulação por gliadina, uma maior produção de anticorpos dirigidos às proteínas da matriz extracelular, os anticorpos anti-reticulina e anti-endomísio (MAKI, HALLSTROM, MARTTINEN, 1991; PICARELLI, MAIURI, FRATE, e cols., 1996).

Nos últimos anos, surgiram vários testes laboratoriais para auxiliar no diagnóstico da DC, tais como: a determinação de anticorpos antigliadina, anti-reticulina, e anti-endomísio, presentes no soro dos pacientes com doença em atividade, assim como naqueles assintomáticos.

1.5 ASSOCIAÇÃO ENTRE DOENÇA CELÍACA E DIABETES MELLITUS TIPO 1

A DM-1, por sua vez, também tem sido associada a outras doenças auto-imunes, tais como: tireoidite crônica, gastrite atrófica e, entre essas, a DC (LANCASTER-SMITH, 1974; MAKI, HALLSTROM, HUUPPONEN e cols., 1984; KONTIAINEN, SCHLEZKA, KOSKIMIES, e cols., 1990).

Os pacientes com DM-1 e DC apresentam antígenos de histocompatibilidade em comum que podem estar envolvidos na patogênese das duas condições (SHANAHAN, McKENNA, McCARTHY, e cols., 1982).

A prevalência de DC em pacientes com DM-1, que previamente pensava-se ser semelhante à população geral, tem aumentado. A prevalência de DC em DM-1 varia de 1 a 4% entre crianças (KOLETZKO, BURGİN-WOLFF, KOLETZKO e cols., 1988; BARERA, BIANCHI, CALISTI, e cols., 1991; CALERO, RIBES-KONINCKX, ALBIACH, e cols.,1996) e de 2 a 4,6 % (COLLIN, SALMI, HALLSTROM, e cols., 1989; SATEGNA-GUIDETTI, GROSSO, PULITANO e cols., 1994; PAGE, LLOYD, HILL e cols., 1994; SJÖBERG, ERIKSSON, BREDBERG e cols., 1998) entre adultos e é maior do que na população em geral, recentemente estimada em 0,26-0,38% (GRODZINSKY, FRANZEN, HED, e cols., 1991; CATASSI, RATSCH, FABIANI, e cols., 1994).

Segundo PAGE, LLOYD, HILL e cols. (1994), a prevalência de DC em adultos com DM-1 foi de 1:50, semelhante ao relatado em crianças (BARERA, BIANCHI, CALISTI e cols., 1991), quando um *screening* com anticorpos IgA-antigliadina (IgA-AGA) foi inicialmente empregado. Conforme CRONIN, FEIGHERY, FERRISS e cols. (1997), a prevalência de DC de quase 1 em 20 pacientes com DM-1 de uma amostra randomizada, confirma uma relação significativa entre DC e DM-1.

Nos relatos iniciais de DC associada à DM-1 (WALSH, COOPER, WHIGHT e cols., 1978), quase todos os pacientes tinham sintomas e sinais clínicos de DC, tais como: diarreia, perda de peso, anemia e dificuldade no controle da glicemia, geralmente com hipoglicemia. Atualmente, estudos que utilizam *screening* com anticorpos IgA-AGA e IgA anti-endomísio (IgA-EMA) têm detectado pacientes com poucos ou sem sintomas aparentes ou conseqüências de má absorção ou seja, formas assintomáticas ou silenciosas têm sido descritas (SJÖBERG, ERIKSSON, BREDBERG e cols, 1998). Atualmente, as formas clinicamente silenciosas com atrofia total de vilosidades são 5 a 7 vezes mais comuns do que as formas reconhecidas na prática clínica (CATASSI, RATSCH, FABIANI e cols, 1994).

Os membros saudáveis da família de pacientes com DC e doenças auto-imunes têm maior risco de desenvolverem DC silenciosa. As formas assintomáticas de DC em crianças com DM-1 são mais frequentes (VISA KORPI, 1969).

A melhora da qualidade dos testes laboratoriais que detectam anticorpos antigliadina e anti-endomísio e o reconhecimento de formas mais leves, menos sintomáticas de DC, sem os sinais de má absorção, podem ter contribuído para o aumento das taxas de prevalência de DC.

Em pacientes com alterações metabólicas, tais como DM-1, nos quais a neuropatia gastrointestinal e as alterações no peso podem ser características clínicas, o diagnóstico de DC pode ser difícil de se estabelecer (SJÖBERG, ERIKSSON, BREDBERG e cols., 1998)

A maioria dos pacientes com DC e DM-1 não apresenta sintomas ou a evidência de má absorção tem sido atribuída à diabetes (PAGE, LLOYD, HILL e cols., 1994). Os sintomas gastrointestinais típicos de DC em pacientes com DM-1 podem ser leves e, quando presentes, devido à longa duração da diabetes, podem ser interpretados como neuropatia autonômica. O reconhecimento de DC em pacientes assintomáticos é importante porque DC está associada com maior morbidade e mortalidade.

A DC, se não diagnosticada, está associada com retardo no crescimento e no início da puberdade (GROLL, CANDY, PREECE, 1980; CACCIARI, VOLTA, LAZZARI, 1985).

Em pacientes com DC há um aumento no risco de doenças malignas, particularmente carcinomas e linfomas de célula T do trato gastrointestinal (FREEMAN, WEINSTEIN, SHNITKA, 1977; FREEMAN & CHIU 1986). O diagnóstico precoce de DC é importante para que se possa tão precoce quanto possível iniciar o tratamento adequado e detectar as complicações. Uma dieta sem glúten tem um efeito protetor em pacientes com DC e reduz o risco de doenças malignas intestinais (HOLMES, PRIOR, LANE e cols., 1989). Portanto, um diagnóstico precoce e a aderência à dieta são essenciais.

Não há dúvida de que uma alta suspeita de DC deve existir em pacientes com DM-1 com qualquer sintoma gastrointestinal, mesmo se forem sintomas leves (CRONIN & SHANAHAN, 1997). CALERO, RIBES-KONINCKX, ALBIACH, e cols. (1996) aconselharam uma investigação precoce em pacientes com DM-1 assintomáticos e em pacientes diabéticos com alterações metabólicas e sintomas gastrointestinais. Sempre deve-se considerar DC em pacientes com DM-1 e sintomas gastrointestinais inespecíficos, retardo de crescimento e puberdade tardia. Além disso, como as crianças diabéticas têm alto consumo de carboidratos que contêm glúten o diagnóstico precoce de DC em pacientes com DM-1 assintomáticos pode trazer benefícios no controle da diabetes.

Atualmente, os marcadores séricos de DC, particularmente, anticorpos IgG e IgA anti gliadina (AGA), e anti-endomísio (EMA) têm sido utilizados para identificar os pacientes que necessitam de biópsia intestinal (McMILLAN, HAUGHTON, BIGGART e cols., 1991). Esses testes laboratoriais auxiliam no diagnóstico da DC em pacientes com a doença em atividade, assim como naqueles assintomáticos (BODÉ, WIELLE, KRASILNIKOFF e cols., 1993)

A determinação da concentração sérica de AGA tem sido utilizada por vários autores em *screening* para DC (LERNER & LEBENTHAL, 1991; BARERA, BIANCHI, CALISTI e cols., 1991; SJÖBERG, ALM, IVARSSON e cols., 1994), no entanto com níveis de sensibilidade e especificidade ao redor de 80% (LERNER & LEBENTHAL, 1991). A sensibilidade e especificidade variam entre diferentes instituições. Estudos em crianças indicam sensibilidade de 52% a 100%, e especificidade de 86% a 95% para IgA AGA em diferentes estudos (LERNER, KUMAR, IANCU e cols., 1994; LINDQUIST, ROGOZINSKI, MOI e cols., 1994; GRODZINSKY, JANSSON, SKOGH e cols., 1995). Segundo VALDIMARSSON, FRANZEN, GRODZINSKI e cols., (1996), a sensibilidade de IgA AGA foi de 79% e a especificidade foi de 70%. Os valores preditivos positivo e negativo foram 28 e 96%, respectivamente.

Os testes que detectam AGA têm sido úteis na identificação de DC, mesmo em formas pouco sintomáticas ou latentes da doença celíaca, tais como em crianças com baixa estatura (CACCIARI, VOLTA, LAZZARI, 1985) e em parentes em primeiro grau de celíacos (RIBES-KONINCKX, PEREDA, PENA, 1991). Os autores sugerem que esses testes devem ser usados como *screening* para DC na população com ou sem sintomas porque é mais sensível e com menor custo. Títulos altos de AGA estão presentes no soro da maioria dos pacientes com DC e sem tratamento, um declínio gradual dos mesmos ocorre após a instituição da dieta sem glúten.

A demonstração de atrofia de vilosidades do intestino delgado é essencial para o diagnóstico de DC, altos títulos de AGA em pacientes com DM-1 têm sido úteis em identificar aqueles que necessitam de biópsia (HILL, THOMSON, HOLMES e cols., 1991). A maioria dos pacientes com DM-1 e DC tem benefícios clínicos após o tratamento com a dieta isenta de glúten, portanto, a determinação de IgA-AGA auxilia o manejo da DM-1.

Um segundo passo na avaliação de DC antes da biópsia em pacientes com AGA positivo, com testes sorológicos mais específicos, por exemplo, anticorpos EMA da classe IgA, tem aumentado a predição do *screening* e reduzido o número de biópsias (CATASSI, RATSCH, FABIANI e cols., 1994). A associação de IgA e IgG AGA e EMA tem uma sensibilidade e especificidade para DC de 100% (BURGIN-WOLFF, GAZE, HADZISELIMOVIC e cols., 1991).

Anticorpos anti-endomísio são auto-anticorpos tissulares, testados no esôfago de macaco (CHORZELSKI, SULEJ, TCHORZEWSKA e cols., 1983), ou em cordão umbilical humano (SACCHETTI, FERRAJOLO, SALERMO e cols., 1996). EMA da classe IgA têm sido altamente sensíveis e específicos para DC (MAKI, 1995) e são bons indicadores de DC. O antígeno para anticorpos anti-endomísio foi recentemente identificado como uma transglutaminase tissular, uma enzima responsável pela modificação do glúten (DIETRICH, EHNIS, BAUER e cols., 1997).

O método para detectar EMA da classe IgA, utilizando esôfago de macaco, é limitado pelo alto custo do substrato utilizado e por problemas relacionados à ética com relação à preservação das espécies (SULKANEN, COLLIN, LAURILA e cols., 1998). Atualmente, a técnica utilizando o cordão umbilical como substrato é uma nova opção (SACCHETTI, FERRAJOLO, SALERMO e cols., 1996)

EMA tem se tornado um teste mais confiável para o diagnóstico de DC, se comparado com sua confiabilidade quando primeiramente descrito em 1983 quando mostrou sensibilidade de somente 60% (CHORZELSKI, SULEJ, TCHORZEWSKA e cols., 1983). Atualmente, EMA tem sensibilidade de 100% e especificidade de 99 a 100% em alguns centros (KUMAR, 1989; SATEGNA-GUIDETTI, GROSSO, BRUNO, e cols., 1995).

Os testes sorológicos utilizados para o diagnóstico de DC são sensíveis e específicos, especialmente quando baseados na detecção de anticorpos da classe IgA, ao invés de IgG. No entanto, nos indivíduos com DIgA, quando se usam anticorpos da classe IgA, o diagnóstico se torna difícil. Portanto, os níveis de IgA sérica devem ser rotineiramente mensurados. Antigamente, a DIgA não interferia no diagnóstico de DC porque todos os pacientes eram submetidos à biópsia. Recentemente, os marcadores sorológicos têm sido empregados como primeira linha para investigação de DC e são usados na monitorização da resposta ao tratamento. Considerar somente os anticorpos da classe IgA sem checar os níveis séricos de IgA pode levar a falhas no diagnóstico de ambas as condições.

1.6 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

Vários estudos descreveram alta prevalência de DC entre crianças e adolescentes com DM-1. Acredita-se que um dos motivos de existirem grandes diferenças em parte dos estudos sobre taxas de prevalência poderia ser decorrente da utilização de diferentes métodos de dosagem de anticorpos e da falta de um consenso na padronização dos critérios de diagnóstico de DC (SIGURS, JOHANSSON, ELFSTRAND, e cols., 1993).

Deve-se suspeitar de DC em pacientes com DM-1 que apresentem quaisquer sintomas gastrointestinais, mesmo se houver apenas sintomas leves (CRONIN & SHANAHAN, 1997). A DC está associada com maior morbidade e maior mortalidade, mas que podem ser evitadas com a dieta sem glúten (LOGAN, RIFKIND, TURNER e cols., 1989). Entretanto, geralmente é necessário realizar um *screening* inicial em pacientes com DM-1, utilizando dois ou mais métodos de dosagem de anticorpos contra os antígenos mais comuns, antigliadina e anti-endomísio, com ou sem sintomas de DC, lembrando que muitas crianças podem apresentar apenas retardo de crescimento e puberdade tardia. Assim, o diagnóstico precoce de DC em pacientes com DM-1 tem benefícios potenciais, pois permite prevenir suas complicações, excluindo-se o glúten da dieta.

Este estudo foi motivado por três observações: (1) a prevalência de DIgA é maior em pacientes com DC, a qual freqüentemente se associa a DM-1 (CRABBÉ & HEREMANS, 1967; MAWHINNEY & TOMKIN, 1971; COLLIN, SALMI, HALLSTROM, 1989; MEINI, PILLAN, VILLANACCI e cols.,1996); (2) os anticorpos antigliadina e anti-endomísio, observados em pacientes com DC são geralmente da classe de IgA (BURGIN-WOLFF, GAZE, HADZISELIMOVIC e cols., 1991; SATEGNA-GUIDETTI, GROSSO, BRUNO e cols., 1995) e (3) a DIgA, de acordo com o critério adotado pela Organização Mundial de Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION SCIENTIFIC GROUP, 1997), que refere-se à concentração sérica de IgA <5mg/dL, pode levar a resultados falso negativos quando utilizam-se anticorpos AGA ou EMA da classe IgA para o screening de DC. Assim, a hipótese é que poderia haver um número elevado de deficiência de IgA em 149 pacientes com DM-1 submetidos ao screening para DC com diferentes métodos de determinação de anticorpos, que devem ser sensíveis e específicos, e exame histológico da mucosa duodenal.

2. OBJETIVOS

1. Verificar a prevalência de DIgA em pacientes com DM-1 com ou sem anticorpos anti-endomísio positivos e em grupo controle;
2. Determinar a prevalência de DC em uma população de crianças e adolescentes com DM-1 a partir da pesquisa de anticorpos IgA anti-endomísio e IgA antigliadina, seguido de biópsia intestinal e exame histológico;
3. Identificar as características clínicas de DIgA e DC em crianças e adolescentes diabéticos;

3. CASUÍSTICA

Grupo I: Foram selecionados, de forma randomizada, 149 pacientes com diagnóstico confirmado de DM-1, de um total aproximado de 300 pacientes em acompanhamento no Ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), no período de outubro a dezembro de 1997. Todos os pacientes e/ou seus pais ou responsáveis responderam a um questionário que avaliou a presença de sinais e sintomas de DC e DIgA (ANEXO 1). Em seguida os pacientes foram examinados e tiveram colhida a amostra de sangue para análise. Setenta e sete (51,7%) pacientes eram do sexo masculino e 72 (48,3%), do sexo feminino. A idade variou de 1,7 a 22,5 anos, com média da idade de $12,6 \pm 4,0$ e mediana de 12,9 anos (Tabela 1). A média da idade de início da DM-1 foi de $7,0 \pm 3,5$ anos (mediana de 6,8 anos). Por conseguinte, a duração da DM-1 foi em média $5,4 \pm 4,2$ anos (mediana de 4,6 anos).

Grupo II (Grupo Controle): Foram avaliados 150 crianças e adolescentes que compareceram ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, para coletarem amostra de sangue para exames laboratoriais de rotina, ou exames pré-operatórios para cirurgias eletivas. Todos os pais ou responsáveis responderam ao questionário que avaliou sinais e sintomas de DIgA, DC e DM-1 (ANEXO 1). Foram excluídos pacientes com diagnóstico ou em investigação para DM-1 ou DC, história de infecções de repetição nas vias aéreas superiores, pulmonares ou gastrointestinais, pacientes em uso de drogas que levam à diminuição dos níveis séricos de IgA, tais como: fenitoína (BARDANA, GARBOUREL, DAVIES e cols., 1983), sulfasalazina (LEICKLY & BUCKLEY; 1986), pacientes com ataxia-telangiectasia (THIEFFRY, ARTHIUS, AIRCADI, LYON, 1961), síndrome da rubéola congênita (SOOTHILL, HAYES, DUGEON, 1996),

infecção por Epstein-Baar (SAULSBURY, 1989), esplenectomizados (SKREDE, WINTHER, MUNTHER, NORDOY, 1977) ou submetidos ao transplante de medula óssea (ELFENBEIN, ANDERSON, HUMPHREY, 1976). Oitenta e cinco (56,6%) pacientes eram do sexo masculino e 43,3%, do sexo feminino. A idade variou de 5,0 a 21,0 anos, a média da idade foi $10,4 \pm 3,3$ anos e mediana, de 10,0 anos (Tabela 1).

Os pais ou responsáveis de todos os pacientes (Grupos I e II) assinaram o termo de consentimento informado que autorizou a participação de seus filhos no estudo (ANEXO 2).

Tabela 1 - Caracterização dos grupos I e II

Grupo	n	Idade (anos) ^σ*	Sexo M/F**
I	149	$12,6 \pm 4,0$ (12,9)	85/65
II	150	$10,4 \pm 3,3$ (10,0)	77/72

^σ Média \pm Desvio Padrão (mediana)

* Grupo I X Grupo II (t de Student $p < 0,0001$)

** Grupo I X Grupo II (Qui-quadrado $p = 0,4535$)

A determinação de anticorpos IgA anti-endomísio (EMA) para detecção da doença celíaca por imunofluorescência indireta foi realizada em todos os 149 pacientes com DM-1, na Universidade de Oxford, na Inglaterra, por intermédio do Professor Dr. David Dunger e Professor Dr. Grahame Bird, em todos os pacientes do grupo I, pois atualmente esse método é considerado o mais específico e mais sensível para o diagnóstico de DC (VALDIMARSSON, FRANZEN, GRODZINSKY e cols., 1996). Os pacientes com EMA positivo foram submetidos à biópsia intestinal com posterior análise histológica dos fragmentos de duodeno.

Devido à maior associação de DIgA em pacientes com DM-1 do que na população geral (VAN THIEL e cols., 1977; SMITH e cols., 1978), e o teste utilizado para detecção de EMA basear-se em anticorpos da classe IgA, foram medidas as concentrações de IgA por 3 diferentes métodos, a fim de melhor diagnosticar os pacientes com deficiência de IgA, ou seja, concentração de IgA sérica < 5 mg/dL. Inicialmente foi utilizada a turbidimetria; se níveis de IgA não fossem detectáveis por esse método, a seguir era realizada a dosagem de IgA por imunodifusão em placa de baixa concentração. Nos pacientes cuja dosagem de IgA nos dois métodos anteriores não era detectável, procedeu-se à determinação de IgA por ELISA.

Nos pacientes com DIgA, as medidas de IgG e IgM foram realizadas por turbidimetria, para exclusão de outros tipos de imunodeficiências humorais que cursam com diminuição dos níveis séricos de IgA, tais como: agamaglobulinemia e imunodeficiência comum variável.

Foi realizada a determinação de IgA pelo método de ELISA para estabelecer a prevalência de deficiência de IgA em um grupo de crianças e adolescentes que foram ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas para coleta de sangue para exames de rotina, de acordo com os critérios de exclusão descritos acima.

4. MÉTODOS

4.1 DETERMINAÇÃO DE IMUNOGLOBULINAS A, G E M SÉRICAS:

4.1.1 Método de Turbidimetria

Os reagentes utilizados foram anticorpos contra IgA, IgG ou IgM humana, pré-diluídos em tampão de reação (solução de polímeros hidrofílicos em uma solução de cloreto de sódio tamponada com tricina). Estes anticorpos foram obtidos mediante a imunização de coelhos com IgA, IgG ou IgM humana. Os anti-soros foram calibrados com o tampão de reação em turbidímetro (Behringwerke). A filtração estéril e o agregado de agentes de conservação evitaram a contaminação bacteriana dos reativos utilizados.

A imunoglobulina do soro humano forma imunocomplexos com anticorpos específicos. A turvação produzida na reação é medida por fotometria. As concentrações existentes foram determinadas quantitativamente pela medida da velocidade máxima da reação. A medição simultânea da velocidade máxima da reação da formação de precipitado e o tempo necessário para atingir a velocidade máxima, permitem que as medidas sejam feitas em ambos os lados da curva de Heidelberg. Os resultados são avaliados por comparação de ambos os parâmetros da reação com valores obtidos por um padrão de referência. Quando a turvação produzida na reação é muito intensa, a absorvância é maior que 1,5 A. Após determinar a causa (presença de fibrina, lipemia extrema crioglobulina), deve-se realizar o correspondente tratamento prévio das amostras.

Foram utilizadas amostras de soro congeladas. As amostras de soro dos pacientes foram descongeladas e misturadas com solução anti-soro, numa diluição 1:21 (Tabela 2). O resultado da determinação da proteína foi calculado automaticamente em mg/dL.

Tabela 2 - Características da Turbidimetria

Imunoglobulina	Diluição da amostra	Volume do soro	Limites de detecção aceitáveis para o método	Referência normal
IgA	1:21	50 μ L	40-500 mg/dL	100-490 mg/dL
IgG	1:21	20 μ L	100-1700 mg/dL	800-1700 mg/dL
IgM	1:21	200 μ L	25-50 mg/dL	50-320 mg/dL

4.2 DETERMINAÇÃO DE IMUNOGLOBULINA A SÉRICA:

4.2.1 Método de Imunodifusão Radial Simples em Placa de Baixa Concentração

A placa de imunodifusão (LC-Partigen IgA) contém, em uma placa de gel agarose, um anti-soro monoespecífico contra cadeia α da imunoglobulina humana A. O anti-soro é obtido pela imunização de coelhos, ovelhas ou cabras com IgA humana altamente purificada

A placa foi deixada aberta durante 5 minutos a temperatura ambiente, para que se evaporasse a água de condensação que pode se formar nos poços.

Foi pipetada uma quantidade de 20 μL (0,02mL) de cada uma das diluições padrões fornecidas pelo fabricante (BEHRING), em 3 diferentes concentrações, nos poços numerados de 1 a 3. Os outros poços restantes foram preenchidos com as amostras a serem analisadas. O volume necessário da amostra foi de 20 μL (Tabela 3). Após preencher os poços, as placas foram deixadas abertas por 10 a 20 minutos e, a seguir, fechadas adequadamente e deixadas em repouso em temperatura ambiente.

Os diâmetros dos precipitados foram lidos com acurácia dentro de 0,1 a 0,2 mm após um tempo de difusão de 2 a 3 dias usando o medidor apropriado. Foi transportado sobre um papel milimetrado a concentração do antígeno em UI/mL na abscissa; e na ordenada, o quadrado do diâmetro do anel de precipitação em mm^2 .

Foi obtida uma reta cujo ponto de intersecção com a ordenada deveria estar em $21 \pm 4,5 \text{ mm}^2$. Dessa curva de referência, foram determinadas as concentrações de IgA correspondentes aos diâmetros dos anéis de precipitação dos soros dos pacientes.

A variação foi calculada em método padrão usando os valores mínimos e máximos de 5mm e 10 mm para os anéis de precipitação. Desvios dos valores padrões até $\pm 15\%$ eram permitidos.

Tabela 3 - Características da Imunodifusão Radial em Placa de Baixa Concentração

Imunoglobulina	Volume de soro	Limites de detecção aceitáveis para o método	Referência normal
IgA	20 μL	0,84-1,3 mg/dL	5-490 mg/dL

4.2.2 Dosagem de IgA pelo método imuno-enzimático ou enzima imuno-ensaio(ELISA)

O método de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) para detecção de IgA utilizado foi preparado e padronizado no laboratório de Endocrinologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e consistiu em: (1) fixação do anticorpo anti-IgA "de captura" (monoclonal de camundongo adquirido da SIGMA) na placa de ELISA; (2) adição de IgA humana (procedente da SIGMA para a curva padrão ou o soro do paciente) e (3) ligação do anticorpo "de marcação" (conjugado com horseradish peroxidase). A sensibilização da placa de ELISA, fase (1) descrita acima, foi feita no dia anterior ao procedimento, ou seja, foi colocado em cada poço 1 µg do primeiro anticorpo em 100 µL de tampão carbonato a 0,05 M em pH 9,6 (*coating buffer*). A placa foi incubada durante a noite, a 4° C, até a manhã do dia seguinte. Em seguida, o conteúdo da placa foi retirado por inversão, a placa foi lavada no mínimo 2 vezes com solução de lavagem de ELISA (soro fisiológico a 0,9% com Tween 20 a 0,5%), sendo o excesso retirado por inversão sobre um papel absorvente.

A cada poço foi adicionado 100 µl de solução de bloqueio (caseína a 2% em PBS). A placa foi incubada por 1 hora a 37° C. Em seguida, foi feita lavagem da placa com solução de lavagem por, no mínimo, 2 vezes e o excesso retirado por inversão em um papel absorvente. Para obter a curva padrão, foram usadas triplicatas de concentrações variáveis de IgA em tampão de incubação (PBS a 0,05M, caseína a 2% e Tween a 0,4%). O volume de soro utilizado dos pacientes (triplicatas) foi variável devido à grande sensibilidade do método, ou seja, em 4 dos 8 pacientes com deficiência de IgA foi necessária uma alíquota de 100 µl de soro, nos outros pacientes foram utilizadas alíquotas de 8 µl (2 pacientes), 6 µl (1 paciente) e 7 µl (1 paciente) de soro dos pacientes, completando-se com tampão de incubação até atingir 100 µl.

Para os pacientes com IgA normal e todas as amostras do grupo controle, foi necessário diluir 10 μ l de soro em 5.000 μ l de tampão de incubação, e desta retirou-se 10 μ l que foi completado para 1.000 μ l com o mesmo tampão, resultando numa diluição 1: 50.000. A placa foi incubada por 1 hora a 37⁰ C. Após esta incubação, foi realizada nova lavagem com solução de lavagem (repetida 6 vezes).

Adicionou-se 100 μ l do segundo anticorpo (cabra anti-IgA humana) em cada poço numa diluição de 1:16.000 (1 μ l do conjugado adquirido da SIGMA em 16 ml de tampão de incubação) e a placa foi incubada a 37⁰ C por 1 hora. Em seguida, foram feitas 6 lavagens com a solução de lavagem.

Na última incubação adicionou-se em cada poço, 100 μ l da solução de *o*-fenilenodiamina (SIGMA) a 0,02% em tampão citrato (ácido cítrico a 27mM, fosfato de sódio dibásico anidro a 50 mM e fosfato de sódio dibásico hepta-hidratado a 50 mM em pH 5,0) e 2 μ l de peróxido de hidrogênio a 30 volumes, mistura preparada no momento da utilização. A placa foi deixada em repouso em local escuro por 15 minutos.

Após o repouso, pipetou-se 20 μ l de uma solução de ácido sulfúrico concentrado numa diluição final de 1:20.

A leitura da absorbância foi realizada numa leitora de ELISA (Microwell System - Organon Tecknika) num comprimento de onda de 450 nm.

Para se encontrar as concentrações ideais de anticorpos e do antígeno (IgA), a foto de uma placa obtida no final de um ensaio de ELISA (Figura 1) é mostrada abaixo.

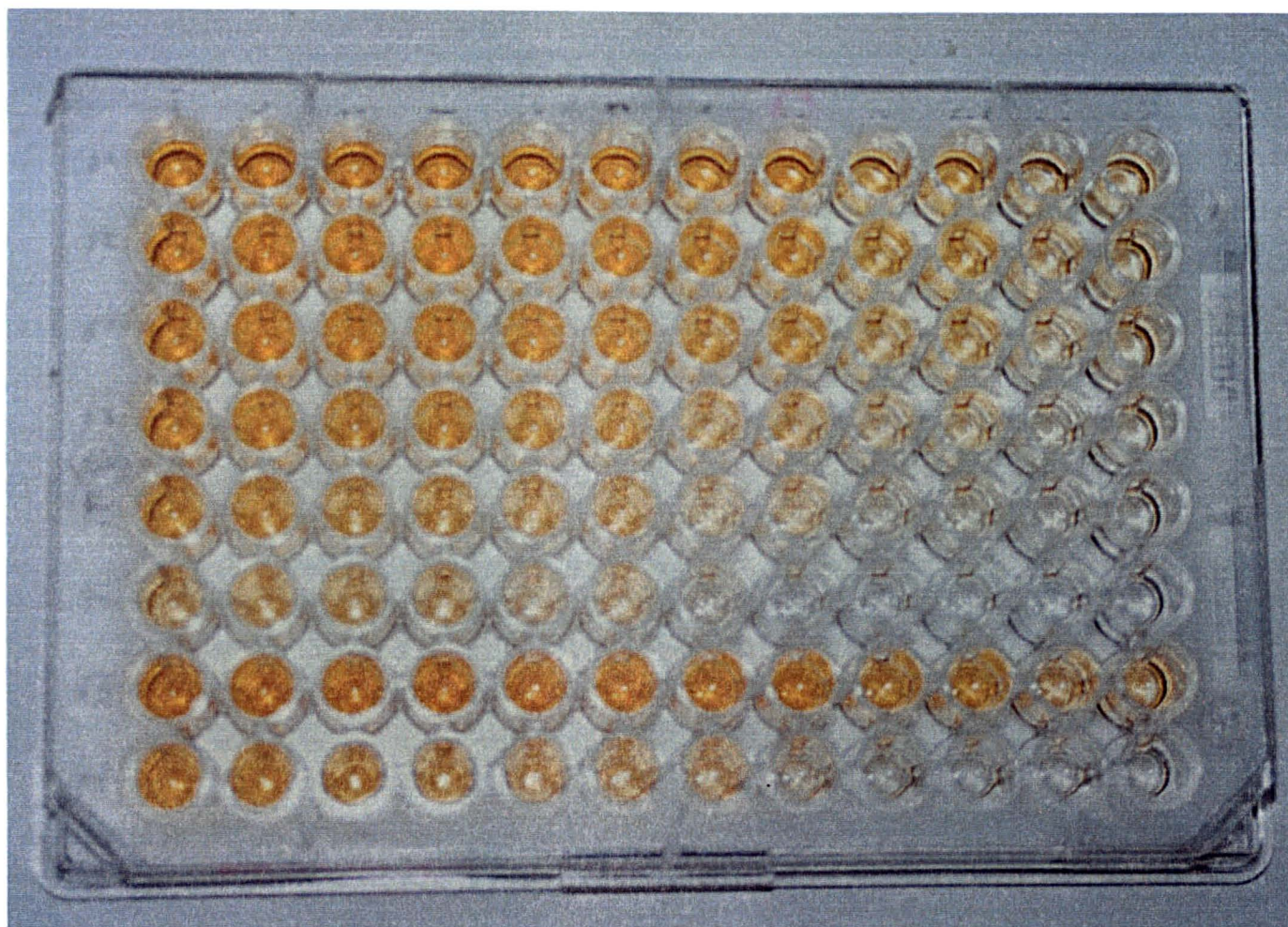


Figura 1 – PLACA DE ELISA PARA DETERMINAÇÃO DE IgA.

Demonstração da proporcionalidade entre quantidade do segundo anticorpo (conjugado com horseradish peroxidase) que diminui, em duplicatas, da esquerda para direita (da coluna 1 para 12) e quantidade de antígeno (IgA) colocada em cada poço do ensaio que diminui, em duplicatas, de cima para baixo (da linha A para linha F). Nas linhas G e H são mostrados os resultados decrescentes (da esquerda para direita) da coloração obtida com amostras de 2 indivíduos normais, porém todos os poços tinham o mesmo volume de soro (mesma quantidade de IgA). Com base nestes dados, foi decidido selecionar para curva padrão as concentrações de IgA entre B e F (excluindo apenas a quantidade usada em A) e a concentração do segundo anticorpo apresentada nas colunas 7 e 8.

4.3 DETERMINAÇÃO DE ANTICORPOS MARCADORES DE DOENÇA CELÍACA

4.3.1 DOSAGEM DE IGA ANTIGLIADINA PELO MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA)

O *kit* para dosagem de anticorpos humanos antigliadina da classe IgA (IgA AGA) pelo método de ELISA indireto (antígeno-anticorpo-anticorpo) foi totalmente padronizado pelo fabricante (IMMCO Diagnostics, Buffalo, NY). A gliadina já é fornecida previamente fixada ("primeira incubação") nos poços da placa. O ensaio começa com a incubação da solução controle, calibradores e soro dos pacientes durante 30 minutos, em temperatura ambiente. Em seguida, anticorpos não ligados e outras proteínas séricas são removidos mediante 4 lavagens dos micropoços. Anticorpos do tipo IgA ligados aos sítios livres de gliadina são detectados pela adição de um segundo anticorpo (anti-IgA humana) conjugado à fosfatase alcalina. O substrato *p*-nitro-fenol fosfato (SIGMA) é então adicionado aos poços, o qual muda de cor ao ser quimicamente modificado pela enzima fosfatase alcalina, presente no segundo anticorpo. A reação é interrompida pela solução *stop* e a intensidade da variação da cor, a qual é proporcional à concentração do anticorpo, é lida por espectrofotômetro a 405 nm. Os resultados são calculados e expressos em Unidades de ELISA/mL (absorbância da amostra/absorbância do calibrador D x 28). Foram consideradas positivas as amostras com valores acima de 23 EU/mL.

O procedimento seguiu as seguintes etapas:

- 1) as amostras de soro e reagentes do teste ficaram a temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos antes do início do teste;

2) para a determinação semiquantitativa foram utilizados 4 calibradores denominados A, B, C e D, cujas concentrações eram previamente conhecidas: 225 EU/mL, 113 EU/mL, 56 EU/mL e 28 EU/mL;

3) as amostras de soro dos pacientes foram diluídas (1:51) adicionando 10 μ L do soro do paciente com 500 μ L do diluente, e desta mistura foram utilizados 100 μ L;

4) foram pipetados 100 μ L dos calibradores, controles positivo e negativo nos respectivos poços;

5) um dos poços continha apenas 100 μ L do diluente e serviu como reagente branco. A absorbância do reagente branco não deveria ser maior do que 0,3;

6) em seguida a placa foi incubada durante 30 minutos (\pm 5 minutos) a temperatura ambiente;

7) após a incubação, foi lavada com líquido de lavagem (4 vezes);

8) em seguida, foi pipetado 100 μ L do conjugado nos micropoços;

9) a placa foi submetida à incubação por 30 minutos (\pm 5 minutos) a temperatura ambiente;

10) após a incubação, a placa foi novamente lavada com solução de lavagem (4 vezes);

11) na seqüência foi pipetado 100 μ L de substrato de enzima em cada micropoço da mesma maneira e tempo que o conjugado;

12) em seguida, a placa foi incubada por 30 minutos (± 5 minutos) a temperatura ambiente;

13) após a incubação, foi adicionado 100 μL da solução *stop* para interromper o processo em cada micropoço. Foi realizada a leitura da absorbância 1 hora após a adição da substância que interrompe o processo.

O controle negativo foi sempre inferior a 20 EU/mL, como descrito pelo fabricante. O coeficiente de variação, segundo o fabricante, é de 8,4% a 12% (interensaio) e 4,5% a 10,7% (intraensaio).

4.3.2 DETERMINAÇÃO DE IGA ANTI-ENDOMÍCIO POR IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA

Em 1983, CHORZELSKI, SULEJ, TCHORZEWSKA e cols., descreveram um ensaio para determinação de anticorpos IgA anti-endomísio (EMA). EMA são auto-anticorpos da classe IgA anti-fibras de tecido conjuntivo que recobrem as fibras musculares lisas. As amostras de 149 pacientes diabéticos foram enviadas para a Universidade de Oxford, na Inglaterra, onde foram analisadas pelo Dr. Grahame Bird.

Cortes de congelamento da porção distal do esôfago de macaco foram fixados em lâminas como substrato antigênico.

As amostras de soro dos pacientes a serem analisadas foram diluídas 1:5 em PBS (*phosphate buffered saline*) em pH 7,6. Cada ensaio incluiu um controle positivo. O soro diluído foi aplicado sobre as lâminas, e estas foram incubadas por 30 minutos. Após a incubação, as lâminas foram lavadas com PBS.

O segundo anticorpo, anti-IgA humana de cabra conjugado com isotiocianato de fluoresceína na diluição 1:20, foi aplicado, e novamente as lâminas foram incubadas por 30 minutos.

Após a lavagem final, as lâminas foram colocadas em glicerol a 10% em PBS e analisadas em microscópio de fluorescência.

4.4 ENDOSCOPIA DIGESTIVA ALTA E BIÓPSIA INTESTINAL

Foi realizada endoscopia digestiva alta para obtenção de 4 fragmentos da segunda e terceira porção do duodeno para realização da análise histológica, com consentimento informado previamente assinado pelos pais ou responsáveis.

Para graduação de DC foi usada uma classificação baseada e modificada de SHENK & KLIPSTEIN (1972). A graduação foi classificada em graus 0 a 4, descritos a seguir:

Grau 0 ou Mucosa Normal: Arquitetura vilositária preservada com relação entre altura da vilosidade e a da cripta de 4 a 5 para 1. Vilosidades com o epitélio superficial do tipo intestinal típico: células cilíndricas de núcleos basais, borda estriada nítida e células caliciformes bem evidentes e raros linfócitos intra-epiteliais.

Grau I: As vilosidades são levemente encurtadas, com relação vilosidade / cripta 2 a 3 para 1, epitélio superficial preservado notando-se no córion aumento do infiltrado celular de linfócitos e plasmócitos.

Grau II: Moderado grau de atrofia vilositária no qual a relação vilosidade / cripta é quase de 1 para 1, com aumento do infiltrado celular de linfócitos e plasmócitos.

Grau III: Intensa atrofia vilositária com inversão da relação vilosidade / cripta, isto é, as criptas são mais longas do que as vilosidades. Além do alargamento e encurtamento das vilosidades, há também intenso aumento do infiltrado celular de linfócitos e plasmócitos do córion.

Grau IV: A superfície da mucosa é praticamente plana, com desaparecimento das vilosidades por acentuado grau de atrofia e alargamento com hiperplasia compensatória das criptas que se mostram muito alongadas. O epitélio superficial apresenta alterações representadas por redução da altura das células, perda da borda estriada, da polaridade nuclear e grande quantidade de linfócitos intra-epiteliais.

4.5 CRITÉRIOS PARA O DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE DOENÇA CELÍACA

O critério considerado para o diagnóstico clínico de DC foi a presença de dois ou mais sintomas gastrointestinais: dor abdominal, diarreia crônica, distensão abdominal e flatulência na vigência da dieta com glúten (TRONCONE, GRECO, AURICCHIO, 1996).

4.6 CÁLCULO DA ESTATURA ALVO

A estatura alvo foi calculada pelo método de TANNER e cols. (1970), de acordo com as fórmulas abaixo:

$$\text{a) Meninos: } \frac{\text{estatura do pai} + (\text{estatura da mãe} + 13) \pm 10 \text{ cm}}{2}$$

$$\text{b) Meninas: } \frac{\text{estatura da mãe} + (\text{estatura do pai} - 13) \pm 10 \text{ cm}}{2}$$

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

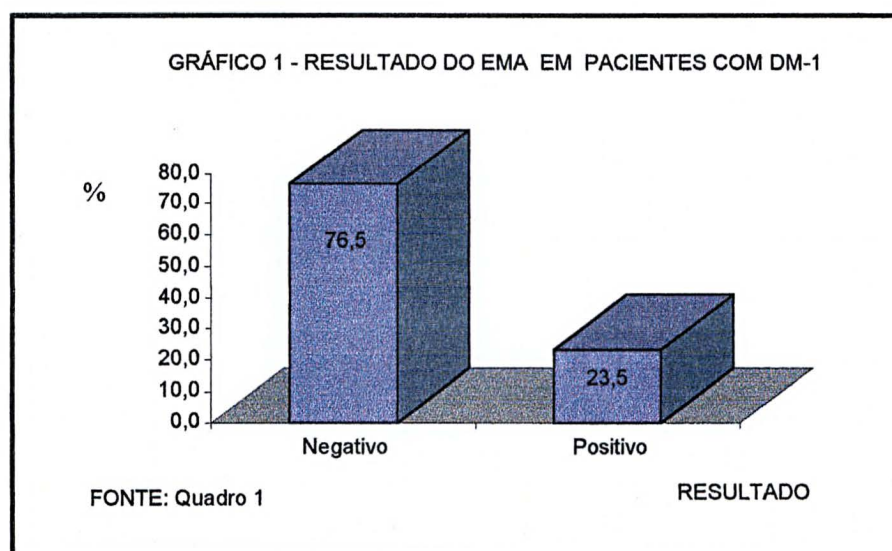
Para a comparação dos dados, foram utilizados o teste paramétrico “t” de Student e os não paramétricos Mann-Whitney” (ambos pelo Software “Primer of Biostatistics”), “Qui-quadrado com correção de Yates” e “Exato de Fisher” (por meio do software “Epi-Info”), para amostras independentes.

O nível de significância (ou probabilidade de significância) mínimo adotado foi de 5%.

5. RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES COM DM-1 DE ACORDO COM OS RESULTADOS DO EMA

Dos 149 pacientes com DM-1, 35 pacientes (23,5%) tiveram resultados positivos no teste de EMA pelo método de imunofluorescência indireta, e 114 (76,5%) EMA negativo (Gráfico 1).



Não houve diferença estatisticamente significativa com relação ao sexo, idade, idade de início da DM-1 e o tempo de duração da DM-1 entre os grupos de pacientes com EMA positivo (35/149) e EMA negativo (114/149) (Tabela 4).

Tabela 4 Caracterização dos pacientes com EMA positivo e negativo

	DM-1 e EMA + n = 35	DM-1 e EMA – n = 114	Estatística
Sexo			
Masculino	15 (43%)	62 (54%)	χ^2 p=0,3171
Feminino	20 (57%)	52 (46%)	
Idade (anos)*	13,1 ± 4,7 (13,7)	12,4 ± 3,8 (12,4)	Mann-Whitney p=0,091
Idade Início DM-1 (anos)*	7,1 ± 3,8 (6,2)	7,0 ± 3,4 (6,9)	Mann-Whitney p=0,828
Duração DM-1 (anos)*	6,0 ± 5,3 (3,9)	5,3 ± 3,8 (4,6)	Mann-Whitney p=0,148
Idade de Introdução do glúten na dieta (meses)*	2,3 ± 2,3 (1,0)	3,0 ± 2,2 (3,0)	Mann-Whitney p=0,003

*Média ± DP (Mediana)

Houve diferença significativa com relação à idade de introdução do glúten na dieta nos pacientes com EMA positivo, ou seja, esse grupo de pacientes recebeu o glúten na dieta mais precocemente em relação ao grupo EMA negativo (p=0,003).

5.2 ANÁLISE HISTOLÓGICA DA MUCOSA DUODENAL DOS PACIENTES COM EMA POSITIVO

Trinta (85,7%) dos 35 pacientes com EMA positivo submeteram-se à biópsia intestinal, após consentimento informado e assinado pelos pais ou responsáveis. Dezesete (56,7%) pacientes tiveram, na análise da mucosa duodenal, grau histológico variando de 0 a II (6 com grau 0, 10 com grau I e apenas 1 com grau II), e treze (43,3%, 13/30) pacientes tiveram mucosa duodenal classificada em grau histológico III ou IV, o que confirmou o diagnóstico de DC. (Tabela 5). Portanto, entre os 149 pacientes com DM-1, a prevalência de DC foi de 8,7%.

Tabela 5 - Resultado da biópsia intestinal em pacientes com DM-1 e**EMA positivo**

Biópsia	n = 35
Grau 0	6
Grau I	10
Grau II	1
Grau III	3
Grau IV	10
Não Realizada	5

O padrão histológico típico de cada grau de mucosa duodenal é apresentado abaixo. As Figuras 2,4,5,6 e 7 ilustram as suas respectivas características. Nas fotos com maior ampliação pode se notar também a ausência de linfócitos intra-epiteliais no grau 0 (Figura 3), bem como a presença de grande quantidade de linfócitos intra-epiteliais característica do grau IV (Figura 8).

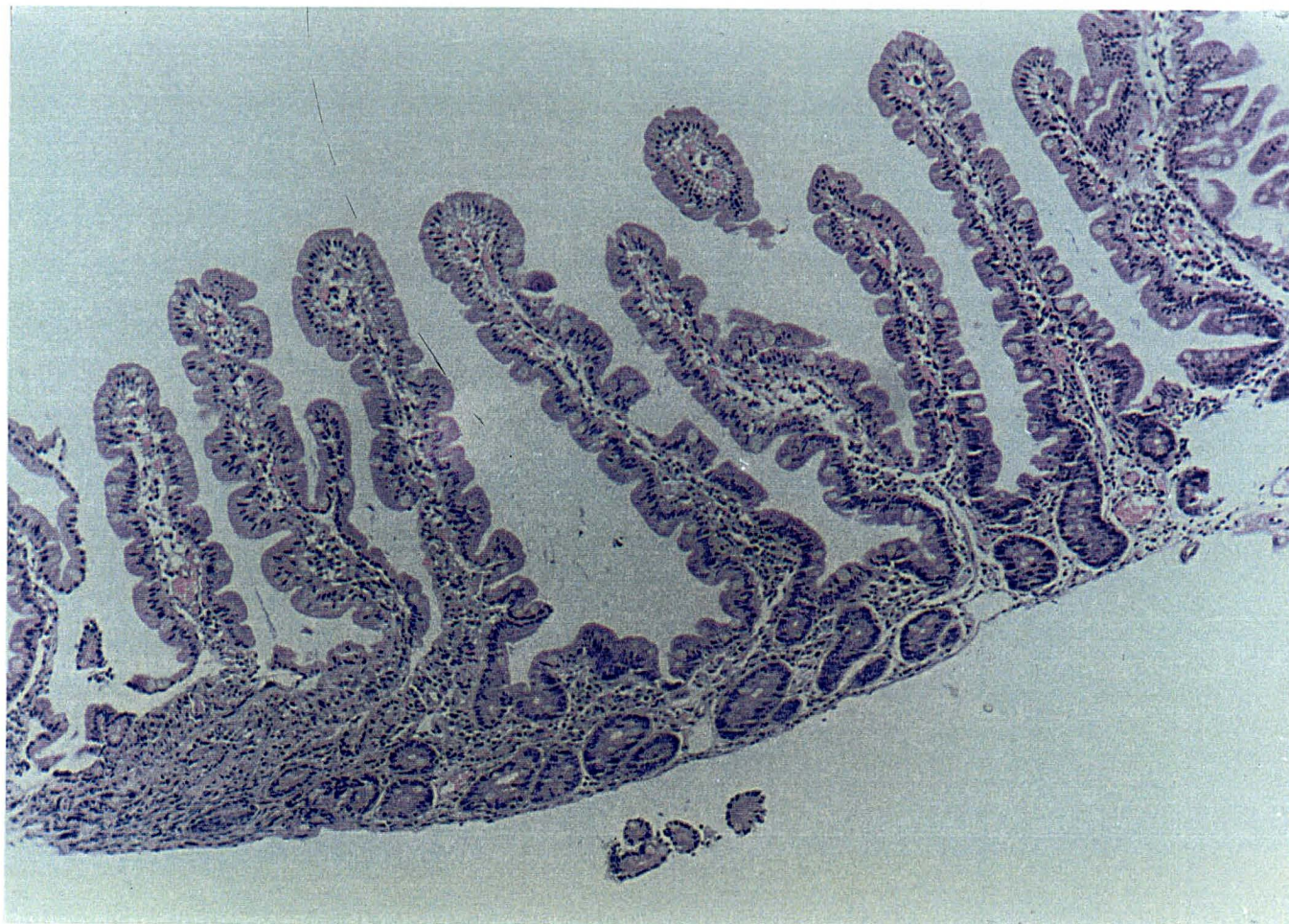


FIGURA 2- ENTEROPATIA INFLAMATÓRIA GRAU 0 (NORMAL). Coloração hematoxilina-eosina. Objetiva 10 X. Arquitetura vilositária preservada com relação entre altura da vilosidade e a da cripta de 4 a 5 para 1.

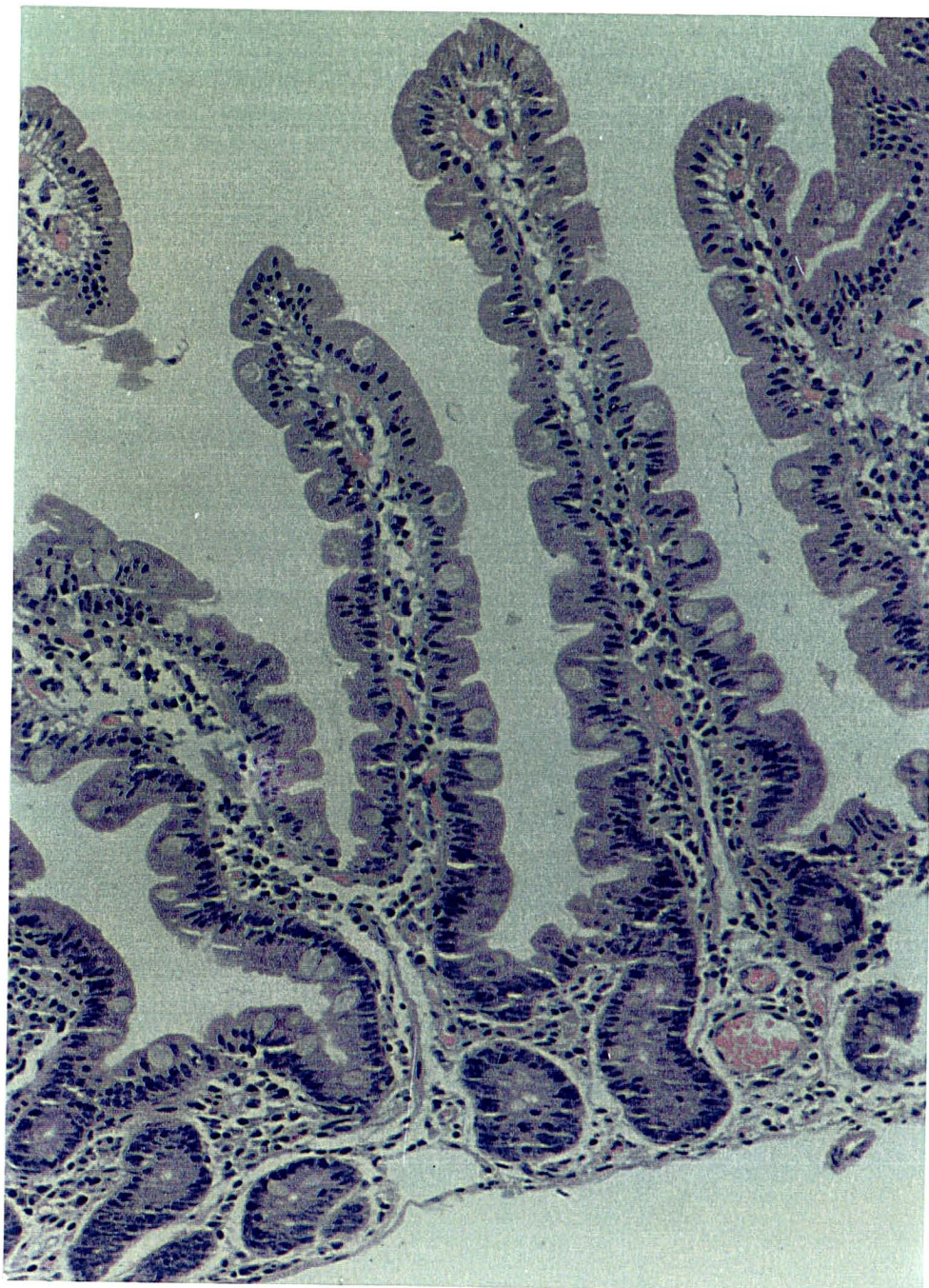


FIGURA 3 - ENTEROPATIA INFLAMATÓRIA GRAU 0 (20X). Coloração hematoxilina-eosina. Objetiva 20 X. Vilosidades com o epitélio superficial do tipo intestinal típico: células cilíndricas de núcleos basais, borda estriada nítida e células caliciformes bem evidentes. Raros linfócitos intra-epiteliais.

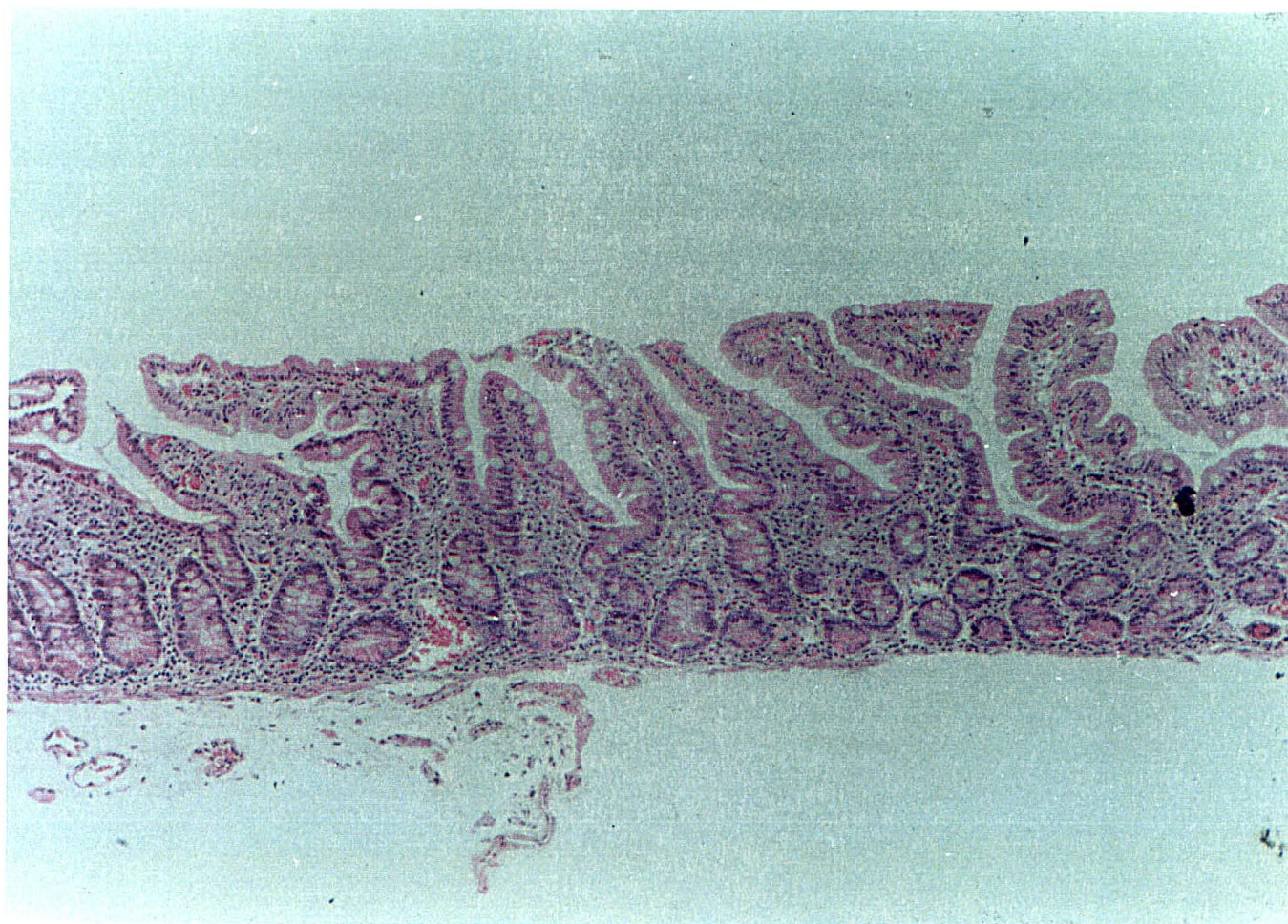


FIGURA 4 - ENTEROPATIA INFLAMATÓRIA GRAU I Coloração hematoxilina-eosina.

Objetiva 10 X. As vilosidades são levemente encurtadas, com relação vilosidade/cripta 2 a 3 para 1, epitélio superficial preservado notando-se no córion discreto aumento do infiltrado celular de linfócitos e plasmócitos.



FIGURA 5 - ENTEROPATIA INFLAMATÓRIA GRAU II. Coloração hematoxilina-eosina. Objetiva 10 X. Moderado grau de atrofia vilositária no qual a relação vilosidade/cripta é quase de 1 para 1, com poucas alterações no epitélio superficial e aumento do infiltrado celular de linfócitos e plasmócitos.

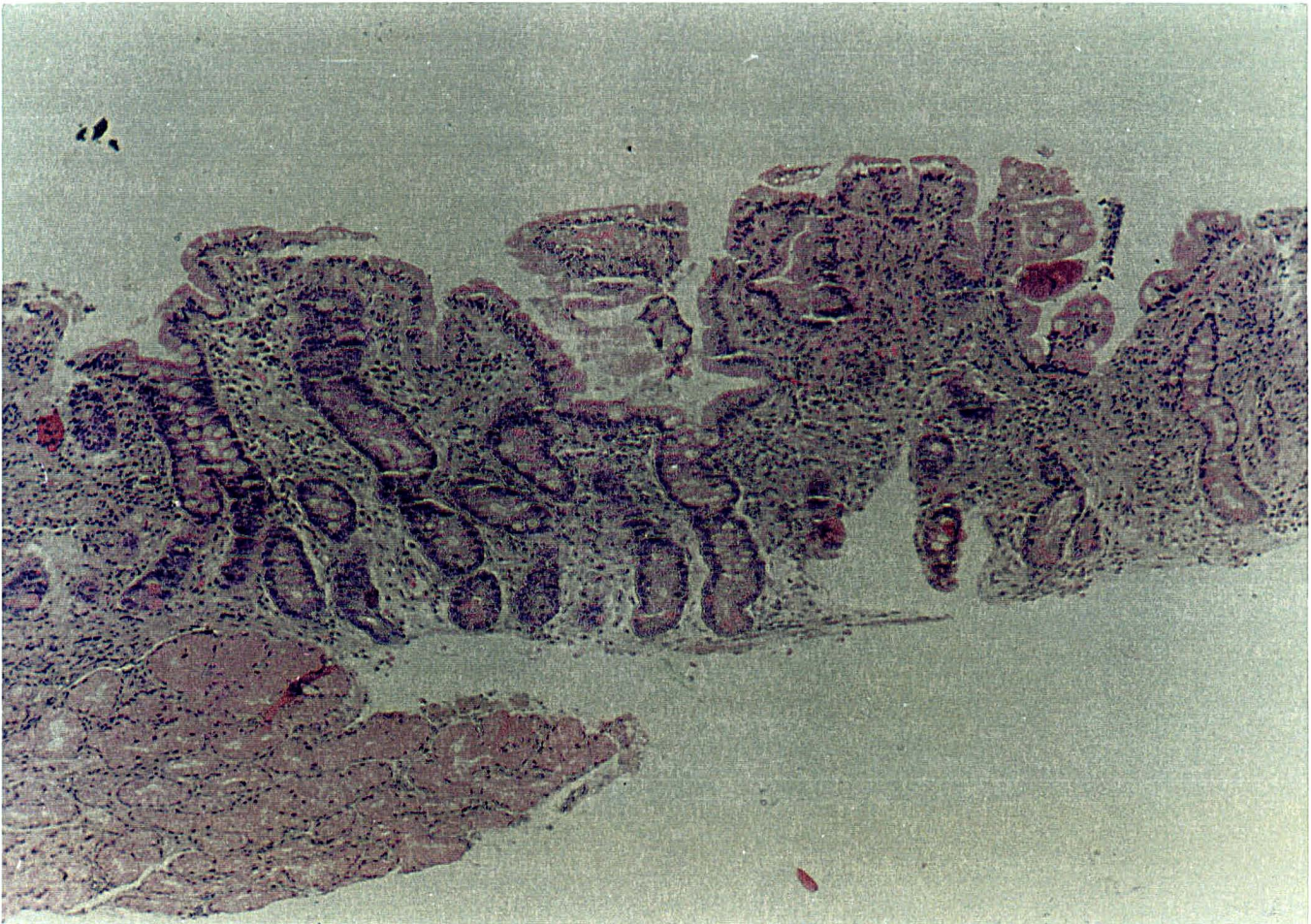


FIGURA 6 - ENTEROPATIA INFLAMATÓRIA GRAU III. Coloração hematoxilina-eosina. Objetiva 10 X. Intensa atrofia vilositária com inversão da relação vilosidade/cripta, isto é, as criptas são mais longas do que as vilosidades. Além do alargamento e encurtamento das vilosidades, há também intenso aumento do infiltrado celular de linfócitos e plasmócitos do córion.



FIGURA 7 - ENTEROPATIA INFLAMATÓRIA GRAU IV. Coloração hematoxilina-eosina. Objetiva 10 X. A superfície da mucosa é praticamente plana, com desaparecimento das vilosidades por acentuado grau de atrofia e alargamento com hiperplasia compensatória das criptas que se mostram muito alongadas.

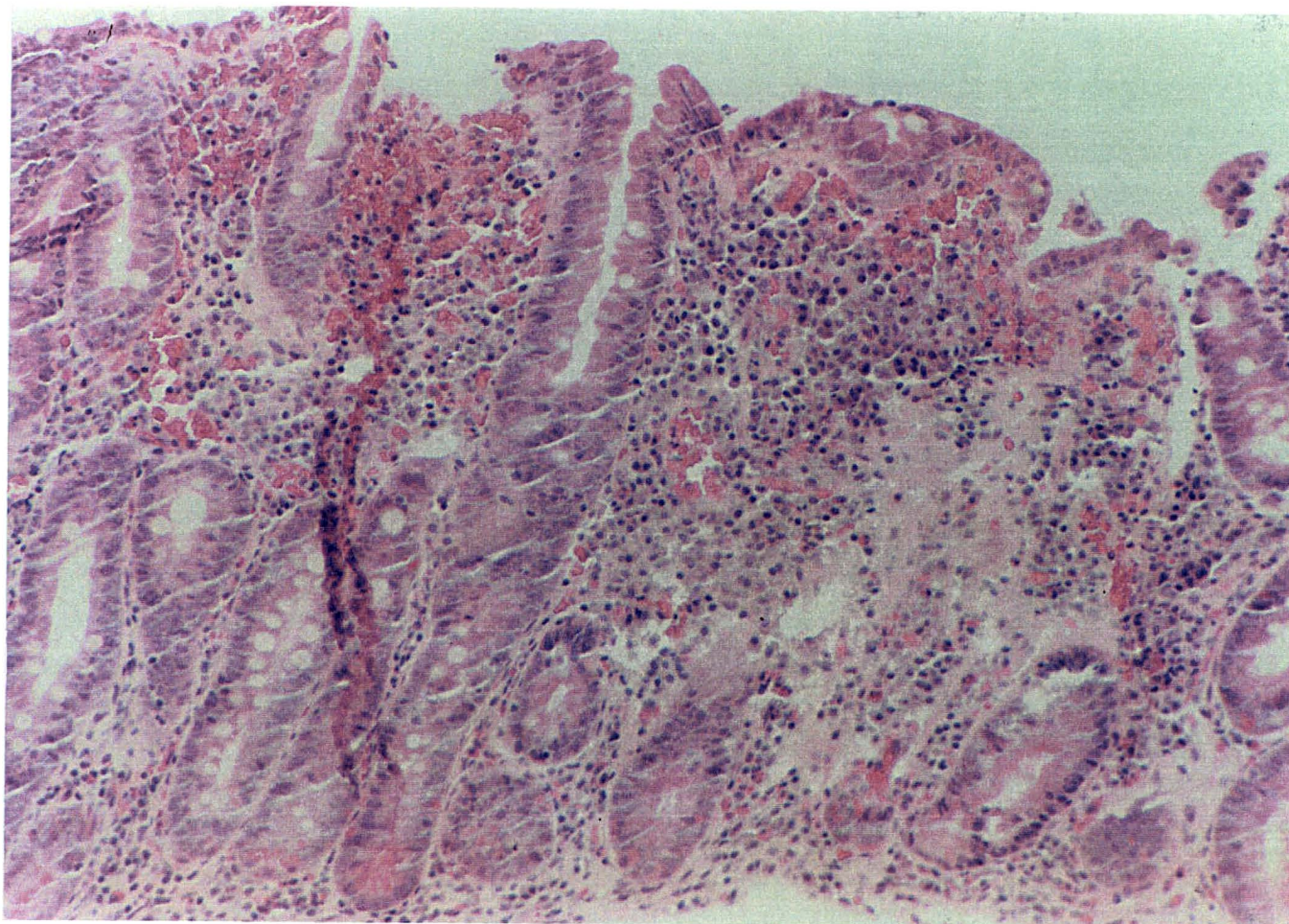


FIGURA 8 - ENTEROPATIA INFLAMATÓRIA GRAU IV (20X). Coloração hematoxilina-eosina. Objetiva 20 X. O epitélio superficial apresenta alterações representadas por redução da altura das células, perda da borda estriada e da polaridade nuclear e grande quantidade de linfócitos intra-epiteliais. Nota-se hipertrofia da cripta. Intenso aumento do infiltrado inflamatório do córion principalmente de plasmócitos e linfócitos que se adensam na parte superior da mucosa.

5.3 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES COM EMA POSITIVO DE ACORDO COM OS RESULTADOS DA BIÓPSIA INTESTINAL

Não houve diferença estatisticamente significativa entre as características (sexo, idade, início e duração de DM-1) dos pacientes com EMA positivo e biópsia normal em comparação com pacientes com EMA positivo e biópsia graus III e IV (celíacos). (Tabela 6)

Tabela 6 - Caracterização dos pacientes com EMA positivo e biópsia normal e DC

	DM-1 e EMA + n=17	DM-1 e DC n = 13	Estatística
Sexo			
Masculino	7 (41%)	5 (38%)	χ^2 p=0,8215
Feminino	10 (59%)	8 (62%)	
Idade (anos)*	12,3 ± 4,8 (13,5)	14,3 ± 4,6 (14,4)	Mann-Whitney p=0,367
Idade Início DM-1 (anos)*	7,5 ± 3,7 (8,0)	6,5 ± 3,9 (6,0)	Mann-Whitney p=0,571
Duração DM-1 (anos)*	4,7 ± 4,5 (3,5)	7,7 ± 6,1 (5,0)	Mann-Whitney p= 0,201
Idade de Introdução do glúten na dieta (meses)*	2,2 ± 2,4 (1,0)	2,0 ± 2,3 (1,0)	Mann-Whitney p=0,849

* Média ± DP (Mediana)

Não houve diferença com relação à idade de introdução do glúten na dieta entre os pacientes com EMA positivo com biópsia normal e DC (p=0,849).

5.4 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES COM DM-1 E EMA NEGATIVO E PACIENTES COM DC CONFIRMADA

Na comparação entre os grupos de pacientes com DM-1 e EMA negativo e DM-1 e DC, os pacientes celíacos apresentaram maior idade ($p < 0,0001$) e maior tempo de duração da DM-1 ($p < 0,0001$). (Tabela 7).

Os pacientes com DC confirmada tiveram o glúten introduzido na dieta em uma idade mais precoce do que pacientes diabéticos não celíacos ($p < 0,0001$) (Tabela 7).

Tabela 7 - Caracterização dos pacientes com DM-1 e EMA negativo e pacientes com DM-1 e DC

	DM-1 e EMA – n=114	DM-1 e DC n = 13	Estatística
Sexo			
Masculino	62 (54%)	5 (38%)	χ^2 p=0,4258
Feminino	52 (46%)	8 (62%)	
Idade (anos)*	12,4 ± 3,8 (12,4)	14,3 ± 4,6 (14,4)	Mann-Whitney p<0,0001
Idade Início DM-1 (anos)*	7,0 ± 3,4 (6,9)	6,5 ± 3,9 (6,0)	Mann-Whitney p=0,164
Duração DM-1 (anos)*	5,3 ± 3,8 (4,6)	7,7 ± 6,1 (5,0)	Mann-Whitney p<0,0001
Idade de Introdução do glúten na dieta (meses)*	3,0 ± 2,2 (3,0)	2,0 ± 2,3 (1,0)	Mann-Whitney p<0,0001

*Média ± DP (Mediana)

5.5 ANÁLISE DA ESTATURA ALVO

Com relação à estatura alvo, houve maior proporção de pacientes com estatura abaixo da estatura alvo no grupo de pacientes com EMA positivo (n=35) em comparação ao grupo EMA negativo (n=114), baseado na análise de comparações entre duas proporções (p= 0,009). Não houve diferença significativa com relação à estatura alvo entre os grupos de pacientes com EMA positivo com biópsia normal (n=17) e EMA positivo com DC (n=13), nem entre os pacientes com DM-1 e EMA negativo (n=114) e DM-1 e EMA positivo com biópsia normal (n=17). Todavia, houve maior proporção de pacientes com estatura abaixo da estatura alvo no grupo de pacientes com DC (n=13) em comparação com o grupo de pacientes diabéticos não celiacos (n=114). (Tabela 8).

Tabela 8 - Estatura alvo de acordo com o resultado de EMA

Estatura	DM-1 e EMA – n=114 *	DM-1 e EMA + n=17	DM-1 e DC n=13
Abaixo da estatura alvo	27 (23,7%)	6 (35,3%)	9 (69,2%)
Acima da estatura alvo	84 (73,7%)	11 (64,7%)	4 (30,8%)

*Três pacientes não relataram a altura do pai

DM-1 e EMA + X DC Comparação entre duas proporções p= 0,217

DM-1 e EMA – X DM-1 e EMA + Comparação entre duas proporções p=0,468

DM-1 e EMA – X DC Comparação entre duas proporções p= 0,002

5.6 ANÁLISE DA FREQUÊNCIA DE HIPOGLICEMIA

Não houve diferença significativa com relação à frequência de hipoglicemias entre os pacientes diabéticos com EMA negativo e EMA positivo, com biópsia normal ou alterada. Não houve maior frequência de hipoglicemia nos pacientes com DM-1 e DC confirmada (Tabela 9).

Tabela 9 Frequência de Hipoglicemia nos pacientes com DM-1

Hipoglicemia	EMA negativo n=114	EMA positivo e biópsia normal n=17	DC n=13
Não	27 (23,7%)	3 (17,6%)	4 (30,8%)
Sim			
Semanal	19 (16,7%)	6 (35,3%)	2 (15,4%)
Mensal	38 (33,3%)	3 (17,7%)	3 (23,0%)
Esporádica	30 (26,3%)	5 (29,4%)	4 (30,8%)

EMA positivo e biópsia normal X DC $p=0,3400$ (Teste Exato de Fisher)
 EMA negativo X DC $p=0,3948$ (Teste Exato de Fisher)
 EMA negativo X EMA positivo e biópsia normal $p=0,4204$ (Teste Exato de Fisher)

5.7 DOENÇAS AUTO-IMUNES ASSOCIADAS

Quatro dos pacientes com DM-1 (4/149) tinham tireoidite de Hashimoto, dos quais 2 eram EMA negativo e 2 EMA positivo (1 com biópsia normal e 1 com doença celíaca). Portanto, apenas 1 paciente tinha associação entre DM-1, DC e outra doença auto-imune, a tireoidite de Hashimoto.

5.8 RESULTADOS DAS DOSAGENS DE IGA

Cento e cinquenta crianças e adolescentes que compareceram ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, para coletarem amostra de sangue para exames laboratoriais de rotina, ou exames pré-operatórios para cirurgias eletivas formaram o grupo controle. Todos os pais ou responsáveis responderam ao questionário que avaliou sinais e sintomas de DM-1, DIgA e DC. Foram excluídas crianças com diagnóstico ou em investigação para DM-1 ou DC, infecções de repetição nas vias aéreas, pulmonares e gastrointestinais ou em uso de drogas que levam à diminuição dos níveis séricos de IgA, tais como: fenitoína, sulfasalazina, pacientes ataxia-telangiectasia, com a síndrome da rubéola congênita, infecção por Epstein-Baar, esplenectomizados ou submetidos ao transplante de medula óssea. Oitenta e cinco (56,6%) crianças eram do sexo masculino e 43,3% do sexo feminino. A idade variou de 5,0 a 21,0 anos, a média da idade foi $10,4 \pm 3,38$ anos e mediana de 10,0 anos (Tabela 1).

Nas amostras de soro das 150 crianças, a IgA sérica foi determinada pelo método de ELISA, todas apresentaram resultados normais, com concentrações de IgA variando entre 44 e 509 mg/dL (ANEXO 3).

Com relação à determinação de IgA sérica no grupo de 149 pacientes com DM-1, em 141 (94,6%), os níveis séricos de IgA foram normais para a idade pela turbidimetria. Oito pacientes (5,3%, 8/149) tiveram níveis de IgA sérica indetectáveis pelo ensaio de turbidimetria e pelo ensaio de imunodifusão radial em placa de baixa concentração realizada em duplicata e em diferentes placas. Nesses 8 pacientes, a determinação de IgA sérica foi novamente realizada utilizando um método mais sensível, o ELISA, em duplicata, com curva padrão de leitura de quase todas as amostras entre 0,39 ng e 25 ng/100 μ L/poço, sendo ainda detectadas concentrações mais baixas e proporcionais em pacientes com DIgA (Quadro 1). Todos os 8 pacientes apresentaram níveis de IgA inferior a 5 mg/dL, e presença de IgG e IgM pela turbidimetria o que confirma o diagnóstico de DIgA. Os níveis séricos de IgG e IgM nos pacientes com DIgA estavam aumentados para a idade, segundo STIEHM & FUDENBERG, 1966. (Quadro 2).

Quadro 1 - Níveis séricos de IgA em pacientes com DlgA

Paciente	IgA		
	Turbidimetria (mg/dL)	Imunodifusão radial em placa de baixa concentração (mg/dL)	ELISA * (mg/dL)
10	< 40	< 0,84	0,000078
21	< 40	<0,84	0,000096
54	< 40	<0,84	0,000027
68	< 40	<0,84	0,013427
69	< 40	<0,84	0,000079
89	< 40	<0,84	0,000058
124	< 40	<0,84	0,000358
143	< 40	< 0,84	0,014647

* As concentrações de IgA no grupo controle (normal) variaram de 40 a 470 mg/dL

Quadro 2 - Níveis séricos de IgG e IgM nos pacientes com DlgA

Paciente	Idade (anos)	Concentrações de IgG por turbidimetria mg/dL	Concentrações de IgM por turbidimetria mg/dL
10	12,4	2.260	192
21	11,8	3.060	192
54	19,2	2.060	329
68	17,6	2.890	217
69	11,9	3.770	319
89	17,7	1.900	109
124	14,6	2.650	271
143	11,8	2.490	261

5.9 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES COM DIGA

Dos 8 pacientes com DM-1 e DIgA, cinco eram do sexo masculino e três, do sexo feminino. A média da idade foi de $14,6 \pm 3,1$ anos, a média da idade de início da DM-1 foi de $8,9 \pm 3,4$ anos (mediana de 9,3 anos), com duração da DM-1 de $5,7 \pm 4,9$ anos (mediana 5,1 anos). Os pacientes com DIgA tinham maior idade ($p < 0,0001$), idade de início da DM-1 mais tardia ($p < 0,0001$) e menor tempo de aleitamento materno ($p = 0,005$) do que os pacientes com concentrações normais de IgA sérica. Nenhum paciente apresentava sintomas ou sinais clínicos de DIgA, tais como infecções recorrentes de vias aéreas superiores, vias aéreas inferiores e gastrointestinais (Tabela 10).

Tabela 10 - Características dos pacientes com DM-1 e DIgA

Dados	n=8
Sexo	
Masculino	05 (62,5%)
Feminino	03 (37,5%)
Idade (anos)*	$14,6 \pm 3,1$
Duração do aleitamento materno (meses)*	$2,7 \pm 2,1$ (2,0)
Idade de Início da DM-1 (anos)*	$8,9 \pm 3,4$ (9,3)
Duração DM-1 (anos)*	$5,7 \pm 4,9$ (5,1)
Clínica de DIgA	0
EMA +	8
AGA +	0
Clínica DC	0
Biópsia intestinal	
Grau 0	2
Grau I	2
Grau II	0
Grau III	0
Grau IV	1
Não realizada	3

* Média \pm DP (Mediana)

Os 8 pacientes com DIgA tinham EMA positivo, entretanto, apenas 1 com DC confirmada com biópsia (Grau IV). Nenhum dos pacientes com DIgA teve concentrações de AGA detectáveis para o método utilizado. A prevalência de DIgA entre pacientes diabéticos foi de 5,3% (8/149). A prevalência de DIgA entre pacientes com DC foi de 7,7% (1/13). No mesmo grupo de pacientes diabéticos, verificou-se que a prevalência de DC no subgrupo de pacientes com DIgA foi de 12,5% (1/8).

5.10 RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE IGA ANTIGLIADINA POR ELISA

A determinação de IgA AGA foi realizada pelo ELISA em todos os pacientes com DM-1. De 149 pacientes, 26 tiveram IgA AGA positivo, destes, 12 com EMA positivo (9 com DC confirmada pela biópsia intestinal, 1 com biópsia grau I e 2 não foram submetidos à biópsia intestinal). Os 14 pacientes restantes tinham EMA negativo, portanto não foram biopsiados (o critério inicial para realização da biópsia intestinal foi a presença de EMA positivo), nenhum tinha sintomas gastrointestinais.

Todos os 26 pacientes com AGA positivo tinham níveis normais de IgA sérica.

5.11 RELAÇÃO ENTRE BIÓPSIA INTESTINAL, EMA, AGA E IGA

Apenas um paciente diabético apresentou DC e DIgA associadas (0,6%). Apenas 2 pacientes com EMA negativo tinham clínica de DC, entretanto, apesar de preencherem o critério mínimo para serem considerados sintomáticos (2 sintomas gastrointestinais), ambos os testes sorológicos para DC foram negativos e a concentração de IgA sérica foi normal. No grupo de pacientes com EMA positivo, apenas 4 tinham clínica de DC, caracterizada por pelo menos dois sintomas gastrointestinais. Destes, 3 tiveram DC confirmada pela análise histológica da mucosa duodenal, no outro paciente a biópsia intestinal não foi realizada.

A prevalência de DIgA entre pacientes diabéticos foi de 5,3% (8/149). A prevalência de DIgA entre pacientes DC foi de 7,7% (1/13). No mesmo grupo de pacientes diabéticos, verificou-se que a prevalência de DC no subgrupo de pacientes com DIgA foi de 12,5% (1/8).

Para efeito de comparação entre os resultados positivos de EMA (anticorpos da classe IgA) com as concentrações encontradas para IgA, o quadro 4 a seguir mostra o que pode ser inferido a respeito da possibilidade de EMA falso positivo nos quatro pacientes com EMA detectado pela imunofluorescência indireta, porém AGA negativo, baixos níveis de IgA sérica e biópsia duodenal normal.

O índice de concordância entre as três técnicas (biópsia intestinal, EMA e AGA) nos pacientes com DC foi de 69,2% ($z=1,566$; $p=0,117$).

A sensibilidade do EMA foi de 100%, a especificidade não pôde ser calculada porque os pacientes com EMA negativo não foram submetidos à biópsia intestinal.

A sensibilidade do AGA foi de 69,2% e a especificidade foi de 94,1%.

Quadro 4 - Avaliação dos Pacientes com DM-1 em Relação aos Resultados do EMA, AGA, IgA e biópsia

PACIENTES	BIÓPSIA (Grau)	EMA	AGA		IgA mg/dL
10	0	Positivo	Negativo		0,000078
14	0	Positivo	Negativo		125,0
66	0	Positivo	Negativo		151,5
69	0	Positivo	Negativo		0,000079
78	0	Positivo	Negativo		160,9
149	0	Positivo	Negativo		147,9
53	1	Positivo	Positivo		101,0
65	1	Positivo	Negativo		76,9
68	1	Positivo	Negativo		0,013427
105	1	Positivo	Negativo		98,0
106	1	Positivo	Negativo		152,3
121	1	Positivo	Negativo		88,2
124	1	Positivo	Negativo		0,000358
129	1	Positivo	Negativo		68,8
130	1	Positivo	Negativo		342,7
146	1	Positivo	Negativo		147,9
132	2	Positivo	Negativo		262,9
87	3	Positivo	Negativo		259,9
112	3	Positivo	Positivo		112,1
148	3	Positivo	Positivo		412,3
52	4	Positivo	Positivo		189,5
54	4	Positivo	Negativo		0,000027
71	4	Positivo	Positivo		141,0
94	4	Positivo	Positivo		376,1
99	4	Positivo	Positivo		276,3
101	4	Positivo	Positivo		323,8
102	4	Positivo	Positivo		239,3
118	4	Positivo	Negativo		155,6
119	4	Positivo	Negativo		158,6
125	4	Positivo	Positivo		176,4
21	NR	Positivo	Negativo		0,000096
89	NR	Positivo	Negativo		0,000058
141	NR	Positivo	Positivo		159,0
143	NR	Positivo	Negativo		0,014647
144	NR	Positivo	Positivo		277,4

NR: Não realizada

6. DISCUSSÃO

Os pacientes com doenças auto-imunes, sobretudo os diabéticos do tipo 1 e os pacientes com DIgA, têm maior risco de desenvolver a DC (SJÖBERG, ERIKSSON, BREDBERG e cols., 1998; CATALDO, MARINO, BOTTARO, e cols., 1997). Nos pacientes com DM-1, os sintomas clássicos de DC são menos comuns, frequentemente o quadro clínico é pouco sintomático ou totalmente assintomático (COLLIN, HALLSTROM, MAKI, e cols., 1990). Essa população, juntamente com aqueles com clínica menos evidente de DC e sem outras doenças associadas, constitui o grupo que precisa de providências mais urgentes para o diagnóstico. Assim, há necessidade de uma série de testes que realmente indique, com menor risco de erro, quem deve recorrer à biópsia intestinal.

A biópsia de intestino delgado com alterações características é considerada o padrão ouro para o diagnóstico de DC. A Sociedade Européia de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição (ESPGAN), na revisão de 1990, manteve como critério diagnóstico, a análise histológica da mucosa de intestino delgado, na ausência de dieta sem glúten, eliminando o teste de provocação com a reintrodução do glúten (WALKER-SMITH, GUANDALINI, SCHMITZ e cols., 1990). No entanto, a realização de biópsia de intestino delgado é um procedimento invasivo, mais oneroso e requer cuidados médicos especializados.

O presente estudo, antes de detalhar o aspecto ligado apenas à prevalência de DIgA em crianças com DM-1 submetidas ao *screening* para DC, teve obrigatoriamente de analisar essa associação de doenças, sobretudo do ponto de vista laboratorial.

Procurou-se seguir uma seqüência de análises baseada na projeção a partir dos resultados de EMA. EMA são auto-anticorpos contra o tecido conjuntivo (substância intermiofibrilar), detectados por imunofluorescência indireta em esôfago de macaco (CHORZELSKI, SULEJ, TCHORZEWSKA e cols., 1983) e mais recentemente em cordão umbilical humano (VOLTA, MOLINARO, FRANCESCHI e cols. 1995). O EMA da classe IgA tem sido altamente sensível e específico para o diagnóstico de DC (LINDQUIST, ROGOZINSKI, MOI, e cols., 1994; GRODZINSKY, HED, SKOGH, 1994), a tal ponto de ter sido sugerido que este deveria substituir a biópsia de intestino delgado devido a sua alta especificidade (VALDIMARSSON, FRANZEN, GRODZINSKY e cols., 1996). O método para detectar EMA da classe IgA é limitado pelo alto custo do substrato utilizado (esôfago de macaco) e por problemas relacionados às implicações legais com relação ao abate desses primatas. Com uma inovação, a substituição do esôfago pelo cordão umbilical humano (VOLTA, MOLINARO, FRANCESCHI, e cols., 1995), pode-se finalmente substituir o tecido de primatas.

Ao utilizar-se um *screening* baseado na determinação de anticorpos EMA e AGA, a determinação de IgA sérica é indispensável (CATASSI, RATSCH, FABIANI, e cols., 1994). Assim, no presente estudo, apesar de a biópsia duodenal ter sido realizada em função unicamente da positividade de IgA EMA, subseqüentemente foi incluída a análise de IgA AGA e acrescentado um método mais sensível de dosagem de IgA (ELISA) nas mesmas amostras, com o propósito de reavaliar resultados de EMA.

O grande número de diabéticos com teste positivo para EMA da classe IgA (35/149, 23,4 %) encontrado neste estudo sugeria, a princípio, uma elevada prevalência de DC, na forma assintomática ("silenciosa" ou latente) e/ou francamente sintomática. Evidentemente, era previsto também incluir uma projeção para um pequeno número de falsos positivos, haja vista a elevada especificidade descrita para este método quando realizado em centros especializados. O que nos surpreendeu foi o elevado número de casos EMA positivo sem anormalidade de mucosa duodenal (17/35). Uma menor proporção de EMA positivo com mucosa anormal para EMA positivo com mucosa normal (5 para 1) foi encontrada na Hungria, em estudo que analisou 427 crianças numa faixa etária entre 3 a 6 anos (KORPONAY-SZABÓ, KOVÁCS, CZINNER, e cols., 1999).

Um teste não invasivo, com sensibilidade de 100% e especificidade de 100%, deve ser o ideal, não somente para conveniência do paciente, mas também para otimizar o uso e diminuir os custos. Segundo alguns autores, atualmente o EMA tem se tornado um teste mais confiável para o diagnóstico de DC, se comparado com sua menor confiabilidade, quando primeiramente descrito em 1983, mostrando sensibilidade de apenas 60% (CHORZELSKI, SULEJ, TCHORZEWSKA e cols., 1983). Mais recentemente, a sensibilidade de EMA descrita foi de 100% e a especificidade, de 100% (SATEGNA-GUIDETTI, GROSSO, BRUNO, e cols., 1995).

No presente estudo, EMA teve sensibilidade de 100% porque todos os pacientes com EMA positivo tinham DC confirmada; no entanto, a especificidade não pôde ser calculada, porque os pacientes com EMA negativo não foram submetidos à biópsia.

Os pacientes com DC confirmada (biópsia grau II ou IV) tiveram maior idade e maior tempo de duração da DM-1, ou seja, a DM-1 tendeu a se desenvolver em uma idade mais precoce em crianças com DC em comparação com crianças diabéticas não celíacas. BARERA, BIANCHI, CALISTI e cols., em 1991, descreveram que a média da idade de início da DM-1 foi menor no grupo de crianças com DM-1 e DC associada.

Apenas 4 dos 35 pacientes diabéticos com EMA positivo apresentavam sintomatologia de DC, 3 pacientes com DC confirmada e em 1 paciente a biópsia não foi realizada o que dificultou qualquer correlação com DC. No estudo realizado por SJÖBERG, ERIKSSON, BREDBERG e cols., 1998, a maioria dos pacientes com DM-1 e DC detectada por um *screening* com anticorpos, era assintomática.

Analisando os parâmetros mais tardios em decorrência de uma má nutrição, que se somariam aos problemas causados pela própria diabetes, pensou-se que era possível detectar indícios de DC nos 35 pacientes com EMA positivo. De fato, a estatura observada, em relação à estatura alvo dos respectivos pacientes EMA positivos, era mais baixa do que para os demais diabéticos EMA negativos; essa diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,009$). Entretanto, excluindo aqueles com DC comprovada pela biópsia ($n=13$), constatou-se que a estatura alvo do restante com biópsia normal (17 dos 30 biopsiados) em relação aos EMA negativos não apresentava um déficit estatisticamente significativo. Vale salientar que vários pacientes, de todos os subgrupos (EMA negativo e positivo), apresentaram escore Z de estatura abaixo do esperado para sexo e idade encontrado pelos dados do NCHS para crianças normais, sem diferenciar os grupos de interesse, e, por esse motivo, tal forma de comparação foi excluída. Na ausência de outras evidências em favor dos 17 casos EMA positivos (com biópsia 0, I ou II), procurou-se analisar outros parâmetros que pudessem sugerir ou afastar o diagnóstico de DC em potencial.

Apesar de o *screening* baseado no EMA ter maior sensibilidade e especificidade do que outros protocolos (CATASSI, RATSCH, FABIANI, e cols., 1994), alguns aspectos precisam ser avaliados. AGA, mesmo sendo considerado inferior em relação ao EMA, é mais simples de ser analisado e contava com a possibilidade de ser mais sensível em crianças do que em adultos (RAUTONEN, RAUTONEN, SAVILAHTI, 1991). Levando em consideração que o *screening* poderia ser mais rígido, para sugerir a possibilidade de DC, era preciso adotar valores de corte de AGA mais elevado para reduzir a possibilidade de falso positivo (PITTSCHIELER & LADINSER, 1996).

O AGA é um teste de *screening* simples que mede imunoglobulinas das classes IgA e IgG. A sensibilidade e especificidade variam entre diferentes instituições. Estudos em crianças indicam sensibilidade de 52% a 100%, e especificidade de 86% a 95% para AGA IgA (LERNER, KUMAR, IANCU e cols., 1994; LINDQUIST, ROGOZINSKI, MOI e cols., 1994; GRODZINSKY, JANSSON, SKOGH e cols., 1995).

Segundo CALERO, RIBES-KONINCKX, ALBIACH e cols. (1996), em um estudo realizado em 141 crianças com DM-1, o AGA mostrou-se sensível para detectar a DC, sendo recomendado de rotina para os pacientes diabéticos mesmo se surgirem sintomas gastrointestinais leves e inespecíficos.

A presença de níveis detectáveis de AGA no início da DM-1, reflete um aumento transitório na permeabilidade intestinal ou uma alteração da resposta imunológica (VOLTA, BONAZZI, PISI, 1987). Na maioria dos estudos, esses níveis elevados de AGA em pacientes com DM-1 têm sido observados somente no primeiro ano após o diagnóstico de diabetes (KOLETZKO, BURGIN-WOLF, KOLETZKO, e cols., 1988). No entanto, no presente estudo, no momento da primeira determinação de AGA, a duração de DM-1 era em média de 5,4 anos, portanto, essa alteração imunológica não foi restrita ao período imediato após início de DM-1.

Os resultados obtidos para IgA-AGA (26/149, 17,4%), entretanto, como era esperado, pela sensibilidade mais baixa, confirmaram 9 dos 13 celíacos identificados pela biópsia intestinal, indicando uma sensibilidade de 69,2%. Por outro lado, nenhum paciente com biópsia grau 0 (n=6) foi AGA positivo, e apenas 1 dos 10 pacientes com grau I foi positivo para AGA, resultando numa especificidade de 94,1%. Os resultados mostram que a sensibilidade não mudou em relação ao esperado e a especificidade foi maior do que a citada pela maioria de outros estudos.

EMA alto e AGA baixo foram relatados na população finlandesa (KOLHO, FÄRKKILLÄ, SAVILAHTI, 1996), porém os valores encontrados para EMA concordaram com o resultado da biópsia para DC em 8/11 pacientes, numa proporção muito maior do que a encontrada no nosso estudo (apenas 13/35). Estudos populacionais de *screening*, usando determinações de anticorpos IgA/IgG anti gliadina (como primeiro passo na investigação) e suspeita clínica de DC silenciosa, encontraram uma prevalência na população normal entre 3,3 a 4,8/1000, em crianças de 6 a 15 anos e doadores de sangue (CATASSI, RATSCH, FABIANI, e cols. 1994; CATASSI, FABIANI, RATSCH e cols., 1996). Porém, não ficou claro a partir desses estudos como é definida a clínica silenciosa, que para muitos significa assintomática.

No presente estudo, os 17 casos de EMA positivo (dos quais, apenas 1 com AGA positivo) com mucosa normal sem restrição de glúten, eram todos assintomáticos, e apenas 3 dos 13 pacientes com DC confirmada com biópsia tinham sintomas gastrointestinais. É conveniente considerar como DC silenciosa (assintomática) a maioria dos casos com biópsia anormal (10/13, 76,9%). Assim, foi constatado que a clínica realmente não ajudou no diagnóstico de DC na grande maioria das crianças diabéticas do presente estudo.

A expectativa em torno do questionamento principal, ou seja, a menor especificidade de EMA do que a habitualmente encontrada, com o elevado número de amostras EMA positivas, levantando a suspeita de haver uma prevalência de DC até 6 vezes mais elevada entre os diabéticos do Estado do Paraná ou de um maior número de falsos positivos (de acordo com o resultado da biópsia e do AGA, que foi muito mais específico do que o do EMA), exige ainda uma reflexão sobre o que realmente existe, em termos de IgA circulante, em alguns pacientes com EMA positivo, uma vez que todos os pacientes com DIgA tinham níveis detectáveis de EMA por imunofluorescência indireta.

Por isso, nos pacientes com DIgA, a IgA sérica foi determinada por ELISA, um teste mais preciso e mais sensível do que a turbidimetria e a imunodifusão radial em placa de baixa concentração, também utilizadas neste estudo, para esclarecer se realmente haveria anticorpos anti-endomísio da classe IgA nos pacientes com DIgA. As baixíssimas concentrações de IgA encontradas em 4 dos pacientes com DIgA e biópsia normal (grau 0 ou I, todos com AGA negativos), na ordem de até 200.000 vezes mais baixa do que o valor normal mínimo estabelecido pela OMS (5mg/100 mL), sugere que o resultado positivo para EMA nestes 4 pacientes, seja falso positivo. Além disso, o soro foi utilizado no ensaio de imunofluorescência numa concentração 5 vezes mais diluída e existem subclasses de IgA (1 e 2) e subtipos específicos para cada antígeno que sensibilizou o paciente e para inúmeros outros antígenos, o que reduziria os anticorpos anti-endomísio para níveis muito mais baixos. Mesmo na falta de dados sobre a quantidade mínima de IgA EMA para ter um teste positivo, a tendência é considerar estes resultados (pelo menos em 4 dos 8 pacientes com DIgA) como falsos positivos. Por outro lado, tem sido reportado resultado falso negativo de IgA EMA em pacientes com DIgA (CATASSI, RATSCH, FABIANI, 1994).

Em um estudo publicado pelo grupo de WALKER-SMITH, foi referido que existe uma grande possibilidade de haver reações antígeno-anticorpo (EMA) decorrentes de infecções intestinais, sem qualquer relação com DC (CHAN, PHILLIPS, MIRAKIAN, WALKER-SMITH, 1994). Tal observação deve ser mais enfatizada, principalmente na nossa instituição, onde a maioria dos pacientes é de baixo nível socioeconômico e sujeito às infecções gastrointestinais mais freqüentes do que em países desenvolvidos. Da mesma maneira, a mucosa com grau 1 (n=10) ou grau 2 (n=1) poderia ser lesada não apenas como consequência de uma reação entre glúten e IgA (ou outra imunoglobulina), mas sim de outras causas de enteropatias que causam má absorção, tal como, enteropatia por hipersensibilidade ao leite de vaca (DC (CHAN, PHILLIPS, MIRAKIAN, WALKER-SMITH, 1994).

Os pacientes com DIgA têm risco aumentado de desenvolver DC (COLLIN, MAKI, KEYRILAINEN, e cols., 1992), e geralmente têm testes baseados em anticorpos da classe IgA negativos e devem ser avaliados com testes para detecção de anticorpos da classe IgG. A prevalência de DIgA na população finlandesa é 1:400 (KOISTINEN, 1975), país com elevada incidência de DM-1, e aproximadamente 15% dos pacientes com DIgA têm DC (KLEMOLA, 1987)

Há associação de DC com outras doenças auto-imunes, especialmente doenças da tireóide (MULDER, TYTGAT, GROENLAND, 1988). Na casuística do presente estudo, foram observados apenas 4 casos de tireoidite de Hashimoto, 1 caso entre os 13 pacientes com DC e mais 3 casos entre os demais diabéticos, 2 com EMA negativo e 1 com EMA positivo e com biópsia normal. Portanto, não houve maior associação de tireoidite de Hashimoto no grupo de pacientes diabéticos com DC .

Conforme DEL ROSÁRIO, FITZGERALD, CHONG e cols. (1998), os pacientes com IgA EMA positivo devem ser submetidos à dieta sem glúten e a resposta clínica monitorizada. A resposta clínica a dieta sem glúten tem sido um critério importante para o diagnóstico de DC.

Considerando que DC pode se desenvolver após vários anos em indivíduos predispostos, o teste EMA deve ser mensurado anualmente nesses pacientes e devem ser rebiopsiados, se os títulos de anticorpos aumentarem ou se a condição clínica deteriorar, ou passarem a ser sintomáticos (MAKI & COLLIN, 1997).

Houve grande número de pacientes com AGA positivo (14) e EMA negativo, sem sintomas gastrointestinais, sendo impossível avaliar com mais detalhes porque estes pacientes não foram biopsiados, pois o critério inicial para realização da biópsia intestinal foi a presença de EMA positivo e nenhum desses pacientes tinha sintomas de DC. Com base nos dados de AGA, sugere-se que a maioria dos 17 pacientes com EMA positivo e biópsia não compatível com DC seja de fato não “celíacos em potencial”, como suspeitado inicialmente. Evidentemente, seria melhor realizar uma nova análise das mesmas amostras com outro ensaio para EMA, utilizando cordão umbilical humano, por exemplo, realizado por pessoas com experiência neste ensaio.

Portanto, a biópsia da mucosa do intestino delgado continua como "padrão ouro" para o diagnóstico. O diagnóstico de DC somente em indivíduos com sintomas gastrointestinais clássicos pode diminuir a prevalência da doença. É importante considerar um *screening*, sobretudo para indivíduos com maior risco para a doença, por exemplo, com suscetibilidade genética e/ou doenças associadas, tais como a DM-1 (MAKI & COLLIN, 1997).

Com base nos resultados, a prevalência de DC em crianças e adolescentes com DM-1 no presente estudo, segundo os critérios adotados pela ESPGAN, foi de 8,7%, maior do que em outros estudos que relatam uma prevalência variável de 1 a 4% entre crianças (KOLETZKO, BURGİN-WOLFF, KOLETZKO e cols., 1988; BARERA, BIANCHI, CALISTI e cols., 1991; CALERO, RIBES-KONINCKX, ALBIACH e cols., 1996) e de 2 a 4,6 % (COLLIN, SALMI, HALLSTROM e cols., 1989; SATEGNA-GUIDETTI, GROSSO, PULITANO e cols., 1994; PAGE, LLOYD, HILL e cols., 1994; SJÖBERG, ERIKSSON, BREDBERG e cols., 1998) entre adultos.

SIGURS, JOHANSSON, ELFSTRAND e cols. (1993) estimaram a prevalência de DC em uma população de 459 crianças e adolescentes com DM-1, na Suécia, com a dosagem de IgA AGA (ELISA). Foram detectados 15 pacientes com atrofia total de mucosa jejunal, quando a análise foi realizada junto com 6 pacientes com DM-1 e com diagnóstico prévio de DC, a prevalência de DC foi de 4,6%.

Nos relatos iniciais de DC clinicamente suspeita entre pacientes com DM-1 (WALSH, COOPER, WRIGHT, e cols., 1978), quase todos os pacientes tinham diarreia, perda de peso, anemia e dificuldade no controle da glicemia, geralmente com hipoglicemia. No presente estudo a frequência de hipoglicemia não foi maior no grupo de paciente com DC confirmada em comparação aos outros grupos.

Estudos de *screening* têm detectado pacientes com poucos, e não infreqüentemente, sem sintomas aparentes ou conseqüências de má absorção (COLLIN, HALLSTROM, MAKI, 1990). No presente estudo a maioria dos pacientes com DC (10/13, 76,9%) realmente não tinha os sintomas clássicos.

Para CALERO, RIBES-KONINCKX, ALBIACH e cols, (1996), o *screening* precoce nas crianças com DM-1 com uma combinação de AGA mais EMA e anticorpo anti-reticulina (ARA) como recomendação é inaceitável na prática. Uma avaliação em duas etapas: com IgA AGA como primeiro *screening*, seguido por EMA ou ARA como teste confirmatório, deve ser o *screening* mais adequado. LORINI, SCOTTA, CORTONA e cols. (1996) determinaram a presença de IgA AGA (ELISA), ARA e EMA (imunofluorescência indireta) em 133 pacientes com DM-1 e sugeriram que todas as crianças diabéticas devam ser avaliadas para DC com uma combinação de AGA e EMA. Se somente um teste for escolhido, EMA é o melhor, porém haverá sempre a possibilidade de falso positivo e/ou falso negativo.

Em estudos de *screening* para DC, o ideal é otimizar a sensibilidade no primeiro passo e especificidade no segundo passo, permitindo a identificação da maioria dos pacientes com DC com um mínimo de resultados falso negativos e falso positivos (CORRAO, CORAZZA, ANDREANI, e cols., 1994).

A DC não diagnosticada está associada com retardo no crescimento (CACCIARI, SALARDI, BIASCO, 1985) e com carcinomas e linfomas de célula T do trato gastrointestinal (HOLMES, PRIOR, LANE e cols., 1989). Tem sido recentemente demonstrado que DC aumenta o risco de doenças malignas não relacionadas ao sistema digestivo (STAHLBERG, SAVILAHTI, TEPPONEN, 1989). Entretanto, uma dieta restrita sem glúten tem tido um efeito protetor em pacientes com DC, reduzindo o risco de doenças malignas intestinais (HOLMES, PRIOR, LANE e cols., 1989).

Portanto, um diagnóstico precoce e aderência à dieta são essenciais. Dos 35 pacientes EMA positivos neste estudo, a dieta sem glúten foi recomendada para os 13 com biópsia grau III ou IV, porém a aderência a esta dieta foi muito abaixo do esperado. Os demais 22 pacientes ficaram sem dieta para serem reavaliados com outros métodos sorológicos.

Além disso, como as crianças diabéticas têm alto consumo de carboidratos que contêm glúten, o diagnóstico precoce de DC em pacientes com DM-1 assintomáticos pode também ter benefícios no controle da diabetes. Todas as crianças com DM-1 devem ser rotineiramente avaliadas para DC, e IgA-AGA mostrou-se um teste específico no presente estudo.

No passado, a DIgA não interferia no diagnóstico de DC porque todos os pacientes eram submetidos à biópsia. Recentemente, os marcadores sorológicos têm sido empregados como primeira linha para investigação de DC e são usados na monitorização da resposta ao tratamento. Avaliar os anticorpos classe IgA sem considerar os níveis séricos de IgA total pode levar a um resultado falso negativo.

A DIgA é a imunodeficiência primária mais comum, em um estudo realizado no Brasil, correspondeu a 28% das imunodeficiências primárias (GRUMACH, JACOB, PASTORINO, 1998). Em outros estudos que avaliaram a frequência de imunodeficiências primárias, a DIgA ocorreu em 18,6 a 48% dos pacientes (FASTH, 1982; LUZY, PESCE, RINALDI, 1989).

Segundo o Registro Latino-americano de Imunodeficiências Primárias (LAGID), as imunodeficiências humorais correspondem a 58% dos casos de imunodeficiências primárias em 1.428 pacientes, entre essas, a DIgA foi a mais comum, em 413 pacientes (CARNEIRO-SAMPAIO, 1999).

A prevalência de DIgA varia de 1:223 a 1:1000 em populações de diferentes países (BACHMANN, 1965, GRUNDBACHER, 1972, CASSIDY E NORDBY, 1975) e de 1:400 a 1:3000 entre doadores de sangue saudáveis (NATVIG, HARBOE, FAUSA e cols., 1971; FROMMEL, MOULLEC, LAMBIN e cols., 1973, KOISTINEN, 1975). Os resultados são variáveis devido provavelmente às diferentes populações estudadas, por exemplo, entre doadores de sangue finlandeses foi de 1:396 (KOISTINEN, 1975) e entre doadores de sangue franceses foi 1:3.040 (FROMMEL, MOULLEC, LAMBIN e cols., 1973), portanto mais freqüente entre finlandeses. A prevalência em doadores de sangue da raça caucasiana varia de 1:300 a 1: 2.000 (média 1:660); é menos freqüente em negros (BUCKLEY, 1975). No Japão, é considerada mais baixa (1:18.500) (KANO, MIZUMOTO, YASUDA e cols., 1986).

Um estudo clínico realizado no Brasil que envolveu 11.576 adultos saudáveis doadores de sangue e mulheres grávidas, revelou 12 indivíduos com DIgA, ou seja, uma prevalência de 1:965 (CARNEIRO-SAMPAIO, CARBONARE, ROZENTRAUB e cols., 1989).

Outro fator importante a ser considerado nos estudos de prevalência é o nível sérico de IgA utilizado para estabelecer o diagnóstico de DIgA. Alguns autores consideram o nível sérico menor que 10 mg/dL para estabelecer o diagnóstico (BUCKLEY E DEES, 1969), outros consideram um nível de 5 mg/dL ou menos (HONG & AMMANN, 1989).

No presente estudo, a DIgA foi definida de acordo com HONG & AMMANN (1989), com níveis de IgA sérica diminuídos ($< 5 \text{ mg/dL}$ ou $0,05 \text{ g/L}$), IgG e IgM séricas normais. Os indivíduos com DIgA têm tanto IgA sérica quanto IgA secretória baixas, apenas em 3% dos casos pode ocorrer dissociação entre essas dosagens (WALDMANN, BRODER, KRAKAUER, e cols., 1976). Por isso, no presente estudo foi avaliada somente a presença de IgA sérica.

Em nenhuma das amostras do grupo controle ($n=150$), a dosagem de IgA sérica foi inferior a 5 mg/dL , entretanto, verificou-se uma elevada prevalência de DIgA em diabéticos do tipo 1, aproximadamente 53:1.000 diabéticos (cálculo extrapolado a partir do resultado obtido em 149 pacientes), ou seja, quase 50 vezes maior do que na população brasileira em geral, estimada em 1:1.000 (CARNEIRO-SAMPAIO, CARBONARE, ROZENTRAUB e cols., 1989).

CATALDO, MARINO, BOTTARO, e cols. (1997), em um estudo multicêntrico, relataram a prevalência e as características clínicas de pacientes com DIgA em um grupo de 688 crianças com DC detectada por análises de anticorpos IgA e IgG anti gliadina, IgA EMA. Doze entre 688 (1,7%) pacientes com DC tinham DIgA, ou seja, 10 vezes mais comum na população de celíacos do que na população geral.

Em pacientes com suspeita de DC, é aconselhável medir a concentração de IgA sérica e considerar a biópsia jejunal em pacientes com DIgA e com sintomas de DC, independente da dosagem de anticorpos IgA AGA e EMA. Segundo HENEGHAN, STEVENS, CRYAN, e cols. (1997), a DIgA foi encontrada em 14 de 604 pacientes com DC avaliados, uma prevalência de 2,31 em 100 para DIgA, semelhante a outros estudos (MAWHINNEY & TOMKIN, 1971), portanto, os indivíduos com DIgA têm 13 a 18 vezes maior risco de desenvolverem DC do que a população geral.

Surpreendentemente, no presente estudo foi identificado apenas 1 caso de DIgA entre 13 celíacos, o que resulta numa prevalência de 7,7 em 100. Evidentemente, com este pequeno número de DC analisado fica difícil extrapolar este resultado para toda a população.

A prevalência de DIgA no sexo masculino é maior do que no sexo feminino, especialmente em pacientes sintomáticos (BUCKLEY, 1975). FASTH, em 1982, relatou uma frequência de DIgA igual em ambos os sexos. No presente estudo, com um pequeno número de crianças detectadas com DIgA, houve predomínio de pacientes do masculino (5 meninos para 3 meninas).

A maioria dos pacientes com DIgA é assintomática, considerando a maior susceptibilidade para infecções. Este fato pode ser explicado pela capacidade de transporte de IgM para as mucosas, como mecanismo compensatório (BRANDTZAEG, KARLSSON, HANSON e cols., 1986). Vários estudos relatam aumento de IgM nas secreções e no soro (KWITKO, ROBERTS-THOMAS, SHEARMAN, 1982). A presença de células B com expressão de IgM de superfície na mucosa do trato gastrointestinal e a observação de que a IgM é capaz de transportar o componente secretor através do epitélio, adquirindo um papel compensatório, poderiam explicar a ausência de sintomatologia em alguns casos. Este aspecto foi observado por alguns autores quando constataram níveis elevados de IgM no colostro de uma nutriz portadora de DIgA (BARROS, PORTO, LESER e cols., 1985). Outra explicação pode ser a capacidade de produção de anticorpos de outros isotipos. Nenhum dos 8 pacientes com DIgA tinha infecções recorrentes de vias aéreas superiores, vias aéreas inferiores e gastrointestinais.

As dosagens de IgM e IgG elevam-se em pacientes com DIgA, provavelmente devido a um mecanismo compensatório. As dosagens de IgG e IgM séricas realizadas por turbidimetria dos pacientes com DIgA do presente estudo estavam acima dos valores normais para a idade. Segundo MELLANDER, BJORKANDER, CARLSON, e cols. (1986), as infecções são mais comuns em pacientes com DIgA com níveis de IgM diminuídos ou ausentes, o que pode aumentar ainda mais a chance de uma lesão de mucosa intestinal sem qualquer relação com DC.

Portanto, a DIgA é marcada por um defeito na habilidade de produção de IgA (geralmente de ambas as subclasses de IgA) associada com uma capacidade normal de produzir imunoglobulinas de outros isotipos. Este defeito não é absoluto, e alguns indivíduos têm a capacidade de produzir baixos níveis de IgA. Os pacientes com DIgA possuem células B circulantes com presença de IgA na superfície (CONLEY & COOPER, 1981) e, por isso, podem ter IgA detectável no soro. No presente estudo, em pacientes com DIgA, foram detectadas pequenas quantidades de IgA pelo método ELISA.

Diante do exposto acima, verifica-se que o *screening* para diagnóstico de DC deve levar em consideração o que foi sugerido por CORRAO, CORAZZA, ANDREANI, e cols. (1994), ou seja, que o *screening* deve ser iniciado com um teste sorológico com maior sensibilidade, que seria o EMA, e depois passaria por uma segunda seleção, analisando as amostras de soro com um ensaio com maior especificidade. No presente estudo, o ensaio com maior especificidade foi o AGA (não foi possível calcular especificidade para EMA), entretanto, permanece a dúvida com relação à técnica empregada na realização do ensaio de EMA.

Um fluxograma foi realizado para auxiliar no *screening* para DC em pacientes com DM-1, com a finalidade de reduzir o número de biópsias intestinais em pacientes normais (ANEXO 7).

Devido à alta prevalência de DIgA entre pacientes com DM-1 (5,3%) detectada no presente estudo, deve-se medir a concentração de IgA sérica antes de iniciar a avaliação com os testes sorológicos para DC nos pacientes diabéticos.

No presente estudo a prevalência de DC entre pacientes com DM-1 foi de 8,7%. A maioria dos pacientes não apresentava sintomas gastrointestinais, portanto, independente da presença de sinais e sintomas de DC, todos os pacientes com DM-1 devem ser rotineiramente avaliados, principalmente se apresentarem estatura abaixo da estatura alvo, com pelo menos 2 testes sorológicos para DC (IgA AGA e IgA EMA).

Se IgA EMA e IgA AGA forem positivos, indica-se a biópsia intestinal. Se apenas IgA EMA ou IgA AGA positivo, sem DIgA, repetir ambos os testes por outro ensaio.

No presente estudo, os pacientes com DIgA não tinham níveis detectáveis de IgA AGA, portanto, nesses pacientes deve-se dosar IgG AGA. Se positivo, indica-se a biópsia intestinal.

Em todos os casos, se a biópsia intestinal for normal (graus 0 e 1), repetir EMA e AGA anualmente. Se a biópsia intestinal for grau II, manter o acompanhamento do paciente e repetir a biópsia anualmente, ou antes se o quadro clínico deteriorar. Em pacientes com biópsia graus III e IV, a DC é confirmada e recomenda-se a dieta sem glúten.

Nos pacientes com DIgA detectados durante o *screening*, realizar a dosagem de IgG e IgM para afastar outras imunodeficiências humorais, tais como, imunodeficiência comum variável e agamaglobulinemia.

7. CONCLUSÕES

1. A prevalência de DIgA entre crianças e adolescentes com DM-1 no Estado do Paraná foi de 5,3%, 50 vezes maior do que na população brasileira em geral.
2. Em pacientes cujos níveis séricos de IgA foram indetectáveis por turbidimetria e imunodifusão radial em placa de baixa concentração, a dosagem sérica de IgA por ELISA, mostrou-se altamente sensível para detectar baixos níveis de IgA nos pacientes com DIgA;
3. A prevalência de DC confirmada com biópsia intestinal, entre crianças e adolescentes com DM-1, foi de 8,7% no Paraná.
4. No presente estudo, IgA EMA teve alta sensibilidade (100%), mas apresentou alguns resultados considerados falso-positivos; IgA AGA teve menor sensibilidade do que EMA (69,2%), no entanto, teve alta especificidade, 94,1%;
5. A maioria dos pacientes com DC era assintomática, apenas 3 entre 13 (23%) pacientes apresentaram sintomas de DC.
6. Nenhum paciente com DIgA tinha infecções recorrentes das vias aéreas superiores, inferiores ou gastrointestinais.

8. ANEXOS

ANEXO 1: FICHA DE AVALIAÇÃO INICIAL

1. DADOS PESSOAIS

Nome: RG-HC nº:

Idade: Data de Nascimento:/...../.....

Sexo: masculino feminino

Idade de Início DMID:

História de Doença Celíaca na família

0. Ninguém
1. Pai
2. Mãe
3. Irmão
4. Avó materna
5. Avô materno
6. Avó paterna
7. Avô paterno
8. Mais de 1 irmão
9. Primo de 1^o grau (materno)
10. Primo de 1^o grau (paterno)
11. Irmão (ã) mãe
12. Irmão (ã) pai
13. Desconhece (adotivo)

2. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS: SINAIS E SINTOMAS GASTROINTESTINAIS

- | | | | | |
|-------------------------------|-----|--------------------------|-----|--------------------------|
| 2.1. Distensão Abdominal | Sim | <input type="checkbox"/> | Não | <input type="checkbox"/> |
| 2.2. Flatulência | Sim | <input type="checkbox"/> | Não | <input type="checkbox"/> |
| 2.3. Diarréia crônica | Sim | <input type="checkbox"/> | Não | <input type="checkbox"/> |
| 2.4. Dor Abdominal Recorrente | Sim | <input type="checkbox"/> | Não | <input type="checkbox"/> |

2.5. Hábito Intestinal

0. Mais de 3 vezes ao dia
1. 2 a 3 vezes ao dia
2. 1 vez ao dia
3. 1 vez a cada 2 dias
4. 1 vez a cada 3 dias ou mais

2.6. Doenças associadas

0. Sem outras doenças associadas
1. Tireoidite de Hashimoto
2. Doença de Addison
3. Anemia Hemolítica auto-imune
4. Dermatite Herpetiforme
5. Outra
6. Mais de uma (Tireoidite + outra)

2.7. História de infecções de repetição:

Vias aéreas superiores (Otite, sinusite) Sim Não

Vias aéreas inferiores (Traqueobronquite, pneumonia) Sim Não

Gastrointestinais Sim Não

3. EXAMES COMPLEMENTARES**3.1. IgA sérica**

Método:

Turbidimetria

Imunodifusão Radial em placa de Baixa Concentração

ELISA

3.2. Anticorpo IgA anti-endomísio

1. Positivo
2. Negativo

3.3. Anticorpo IgA anti-gliadina

1. Positivo
2. Negativo

3.4. Biópsia Intestinal

0. Grau 0
1. Grau I
2. Grau II
3. Grau III
4. Grau IV
5. Grau III com áreas grau IV
5. Não realizada

ANEXO 2: TERMO DE CONSENTIMENTO

Declaração de Termo de Consentimento

Declaro que fui suficientemente informado (a) a respeito dos objetivos da pesquisa e da natureza dos procedimentos a serem realizados.

Declaro que concordo que o menor.....
faça parte da Tese de Mestrado intitulada **“Deficiência de IgA em pacientes com Diabetes Mellitus Insulino-dependente submetidos ao Screening para Doença Celíaca”**.

Curitiba,/...../.....

.....
Assinatura do(a) Responsável

ANEXO 3: PLANILHA COM OS DADOS DOS PACIENTES DO GRUPO CONTROLE (NORMAIS)

Nº	Sexo	Idade	IgA (ELISA)	Clínica DC	Clínica DígA	Clínica DM-1
1	2	12	104	1	1	1
2	1	7	222	1	1	1
3	1	9	106	1	1	1
4	2	7	138	1	1	1
5	1	5	146	1	1	1
6	2	12	291	1	1	1
7	2	7	156	1	1	1
8	1	5	362	1	1	1
9	2	17	381	1	1	1
10	1	7	100	1	1	1
11	1	10	106	1	1	1
12	1	7	121	1	1	1
13	2	6	255	1	1	1
14	1	10	128	1	1	1
15	1	20	246	1	1	1
16	1	16	79	1	1	1
17	2	8	120	1	1	1
18	2	7	191	1	1	1
19	2	7	105	1	1	1
20	1	6	62	1	1	1
21	2	10	180	1	1	1
22	1	6	152	1	1	1
23	1	9	243	1	1	1
24	1	10	85	1	1	1
25	1	8	155	1	1	1
26	1	13	243	1	1	1
27	2	10	409	1	1	1
28	1	10	114	1	1	1
29	2	8	254	1	1	1
30	2	12	282	1	1	1
31	1	14	80	1	1	1
32	1	8	317	1	1	1
33	2	16	163	1	1	1
34	2	9	128	1	1	1
35	1	13	281	1	1	1
36	1	12	82	1	1	1
37	1	15	338	1	1	1
38	2	12	326	1	1	1
39	2	9	166	1	1	1
40	2	14	274	1	1	1
41	1	6	131	1	1	1
42	2	11	248	1	1	1
43	2	9	109	1	1	1
44	1	10	171	1	1	1
45	2	9	227	1	1	1
46	1	6	270	1	1	1
47	2	7	172	1	1	1
48	2	11	251	1	1	1
49	1	10	180	1	1	1
50	2	10	190	1	1	1

continua

**PLANILHA COM OS DADOS DOS PACIENTES DO GRUPO CONTROLE
(NORMAIS)**

Nº	Sexo	Idade	IgA (ELISA)	Clínica DC	Clínica DtgA	continuação
						Clínica DM-1
51	1	11	97	1	1	1
52	1	8	215	1	1	1
53	2	14	372	1	1	1
54	1	8	104	1	1	1
55	2	8	139	1	1	1
56	1	15	204	1	1	1
57	1	6	142	1	1	1
58	2	8	225	1	1	1
59	1	9	80	1	1	1
60	1	5	116	1	1	1
61	1	7	198	1	1	1
62	2	12	132	1	1	1
63	2	8	111	1	1	1
64	1	14	89	1	1	1
65	2	10	123	1	1	1
66	1	9	104	1	1	1
67	2	6	125	1	1	1
68	2	12	187	1	1	1
69	1	7	196	1	1	1
70	1	12	253	1	1	1
71	1	11	108	1	1	1
72	2	10	84	1	1	1
73	1	12	118	1	1	1
74	2	7	215	1	1	1
75	1	6	395	1	1	1
76	1	16	172	1	1	1
77	1	13	173	1	1	1
78	2	13	302	1	1	1
79	2	6	157	1	1	1
80	2	9	132	1	1	1
81	1	9	138	1	1	1
82	2	10	379	1	1	1
83	2	11	109	1	1	1
84	1	6	120	1	1	1
85	2	8	205	1	1	1
86	1	8	226	1	1	1
87	1	7	239	1	1	1
88	1	14	160	1	1	1
89	1	18	221	1	1	1
90	1	11	230	1	1	1
91	2	8	119	1	1	1
92	1	6	216	1	1	1
93	1	11	509	1	1	1
94	1	8	350	1	1	1
95	2	10	163	1	1	1
96	2	8	297	1	1	1
97	1	9	212	1	1	1
98	2	11	227	1	1	1
99	2	10	90	1	1	1
100	1	11	498	1	1	1

Continua

**PLANILHA COM OS DADOS DOS PACIENTES DO GRUPO CONTROLE
(NORMAIS)**

Nº	Sexo	Idade	IgA (ELISA)	Clínica DC	Clínica DtgA	continuação
						Clínica DM-1
101	2	6	156	1	1	1
102	1	14	161	1	1	1
103	2	8	214	1	1	1
104	1	13	476	1	1	1
105	2	11	353	1	1	1
106	1	6	195	1	1	1
107	1	9	91	1	1	1
108	2	7	109	1	1	1
109	2	11	286	1	1	1
110	1	8	160	1	1	1
111	2	10	215	1	1	1
112	1	10	432	1	1	1
113	2	8	200	1	1	1
114	1	8	335	1	1	1
115	2	13	433	1	1	1
116	1	7	395	1	1	1
117	1	10	157	1	1	1
118	1	10	245	1	1	1
119	1	14	395	1	1	1
120	1	10	295	1	1	1
121	1	9	174	1	1	1
122	1	10	381	1	1	1
123	2	8	129	1	1	1
124	2	14	142	1	1	1
125	1	9	53	1	1	1
126	1	13	129	1	1	1
127	1	21	341	1	1	1
128	1	14	187	1	1	1
129	1	21	456	1	1	1
130	2	17	107	1	1	1
131	1	12	404	1	1	1
132	2	15	429	1	1	1
133	1	14	212	1	1	1
134	2	19	211	1	1	1
135	2	14	44	1	1	1
136	1	10	446	1	1	1
137	1	10	205	1	1	1
138	1	13	134	1	1	1
139	1	14	212	1	1	1
140	1	8	365	1	1	1
141	2	6	74	1	1	1
142	2	11	171	1	1	1
143	2	12	388	1	1	1
144	1	12	132	1	1	1
145	1	10	385	1	1	1
146	1	19	125	1	1	1
147	2	13	201	1	1	1
148	1	17	238	1	1	1
149	1	14	310	1	1	1
150	1	13	241	1	1	1

ANEXO 4: PLANILHA DE DADOS DOS PACIENTES COM DM-1

Nº	IDADE	SEXO	INIC DM	LEIT MAT	INIC GLUT	DURA DM	IgA	EMA	BIÓ PSIA
1	12,1	1	2,00	6,0	6,0	10,10	1	0	-
2	8,6	2	3,75	1,0	1,0	4,85	1	0	-
3	12,1	1	8,50	6,0	6,0	3,60	1	0	-
4	9,3	2	9,25	2,0	2,0	0,05	1	0	-
5	15,6	2	6,41	6,0	6,0	9,19	1	0	-
6	10,1	2	2,33	4,0	4,0	7,77	1	0	-
7	16,2	2	2,91	3,0	3,0	13,29	1	0	-
8	16,1	1	5,50	2,0	2,0	10,60	1	0	-
9	12,9	2	9,83	1,0	1,0	3,07	1	0	-
10	12,4	1	10,66	3,0	3,0	1,74	2	1	0
11	16,7	1	6,83	6,0	6,0	9,87	1	0	-
12	11,2	2	11,08	3,0	3,0	0,12	1	0	-
13	12,9	2	12,58	0,5	0,5	0,32	1	0	-
14	1,7	2	1,50	6,0	6,0	0,20	1	1	0
15	4,7	1	4,41	4,0	4,0	0,29	1	0	-
16	12,7	2	11,83	6,0	6,0	0,87	1	0	-
17	4,8	2	4,00	5,0	5,0	0,80	1	0	-
18	8,5	1	7,50	3,0	3,0	1,00	1	0	-
19	11,7	1	10,33	0,5	0,5	1,37	1	0	-
20	6,3	2	4,66	5,0	5,0	1,64	1	0	-
21	11,8	1	11,08	5,0	5,0	0,72	2	1	6
22	7,4	1	6,08	0,5	0,5	1,32	1	0	-
23	13,1	1	7,50	2,0	2,0	5,60	1	0	-
24	17,1	2	12,00	3,0	3,0	5,10	1	0	-
25	12,2	1	8,00	1,0	1,0	4,20	1	0	-
26	9,9	1	4,75	1,0	1,0	5,15	1	0	-
27	15,3	2	8,00	0,5	0,5	7,30	1	0	-
28	13,6	1	9,00	5,0	5,0	4,60	1	0	-
29	4,4	1	4,25	0,5	0,5	0,15	1	0	-
30	12,0	1	6,41	4,0	4,0	5,59	1	0	-
31	8,5	2	5,00	4,0	4,0	3,50	1	0	-
32	15,6	1	9,50	6,0	6,0	6,10	1	0	-
33	9,5	1	7,66	3,0	3,0	1,84	1	0	-
34	11,2	1	9,33	0,5	0,5	1,87	1	0	-
35	14,7	2	9,83	7,0	7,0	4,87	1	0	-
36	16,3	2	9,91	12,0	12,0	6,39	1	0	-
37	13,4	1	11,33	0,5	0,5	2,07	1	0	-
38	14,3	2	13,00	4,0	4,0	1,30	1	0	-
39	12,4	1	10,91	4,0	4,0	1,49	1	0	-
40	15,3	2	11,25	4,0	4,0	4,05	1	0	-
41	17,2	2	6,50	1,0	1,0	10,70	1	0	-
42	14,0	2	5,08	5,0	5,0	8,92	1	0	-
43	20,4	2	11,91	1,0	1,0	8,49	1	0	-
44	15,1	1	5,25	0,5	0,5	9,85	1	0	-
45	6,8	1	3,83	4,0	4,0	2,97	1	0	-
46	6,6	2	3,75	1,0	1,0	2,85	1	0	-
47	13,1	1	2,50	3,0	3,0	10,60	1	0	-
48	19,6	1	6,41	-	0,0	13,19	1	0	-
49	4,5	1	3,16	6,0	6,0	1,34	1	0	-
50	10,7	2	4,00	4,0	4,0	6,70	1	0	-

Continua

PLANILHA DE DADOS DOS PACIENTES COM DM-1

continuação

Nº	IDADE	SEXO	INIC DM	LEIT MAT	INIC GLUT	DURA DM	IgA	EMA	BIÓ PSIA
51	10,2	1	7,25	1,0	1,0	2,95	1	0	-
52	14,4	1	12,91	6,0	6,0	1,49	1	1	4
53	13,5	2	8,00	-	0,0	5,50	1	1	1
54	19,2	2	8,00	4,0	4,0	11,20	2	1	4
55	15,0	1	4,75	3,0	3,0	10,25	1	0	-
56	13,0	2	7,25	-	0,0	5,75	1	0	-
57	16,3	2	9,25	4,0	4,0	7,05	1	0	-
58	13,4	2	7,16	0,5	0,5	6,24	1	0	-
59	10,5	1	5,50	4,0	4,0	5,00	1	0	-
60	12,9	1	11,40	-	0,0	1,50	1	0	-
61	7,7	2	6,66	3,0	3,0	1,04	1	0	-
62	10,6	1	1,83	0,5	0,5	8,77	1	0	-
63	17,4	2	12,00	3,0	3,0	5,40	1	0	-
64	15,1	1	13,66	3,0	3,0	1,44	1	0	-
65	15,5	2	11,91	2,0	2,0	3,59	1	1	1
66	14,4	2	11,66	6,0	6,0	2,80	1	1	0
67	15,8	1	13,91	5,0	5,0	1,89	1	0	-
68	17,6	1	14,00	1,0	1,0	3,60	2	1	1
69	11,9	2	11,16	0,5	0,5	0,74	2	1	0
70	15,8	2	12,91	5,0	5,0	2,89	1	0	-
71	11,0	2	6,00	1,0	1,0	5,00	1	1	4
72	12,3	2	11,00	6,0	6,0	1,30	1	0	-
73	11,1	2	10,00	-	0,0	1,10	1	0	-
74	5,2	1	3,75	2,0	2,0	1,45	1	0	-
75	10,5	2	7,50	2,0	2,0	3,00	1	0	-
76	10,2	2	4,83	0,5	0,5	5,37	1	0	-
77	13,8	2	6,08	5,0	5,0	7,72	1	0	-
78	6,2	1	6,00	6,0	6,0	0,20	1	1	0
79	16,3	1	6,00	3,0	3,0	10,30	1	0	-
80	14,5	2	2,75	1,0	1,0	11,75	1	0	-
81	14,3	1	3,66	2,0	2,0	10,64	1	0	-
82	11,2	2	1,50	2,0	2,0	9,70	1	0	-
83	15,9	2	2,33	0,5	0,5	13,57	1	0	-
84	14,2	1	0,66	1,0	1,0	13,54	1	0	-
85	17,4	2	6,00	3,0	3,0	11,40	1	0	-
86	15,3	2	3,00	0,5	0,5	12,30	1	0	-
87	16,5	1	4,66	3,0	3,0	11,84	1	1	5
88	15,7	2	8,66	6,0	6,0	7,04	1	0	-
89	17,7	1	3,50	1,0	1,0	14,20	2	1	6
90	10,5	1	8,50	-	0,0	2,00	1	0	-
91	17,0	1	6,58	4,0	4,0	10,42	1	0	-
92	17,4	2	7,00	3,0	3,0	10,40	1	0	-
93	21,1	1	7,25	7,0	7,0	13,85	1	0	-
94	22,5	1	0,75	-	0,0	21,75	1	1	4
95	9,9	2	8,00	6,0	6,0	1,90	1	0	-
96	12,2	2	6,08	3,0	3,0	6,12	1	0	-
97	15,8	1	8,58	6,0	6,0	7,22	1	0	-
98	10,9	1	3,33	4,0	4,0	7,57	1	0	-
99	14,6	2	7,00	7,0	7,0	7,60	1	1	4
100	12,5	1	2,00	3,5	3,5	10,50	1	0	-

Continua

PLANILHA DE DADOS DOS PACIENTES COM DM-1

continuação

Nº	IDADE	SEXO	INIC DM	LEIT MAT	INIC GLUT	DURA DM	IgA	EMA	BIO PSIA
101	13,7	2	4,00	0,5	0,5	9,70	1	1	4
102	16,2	1	12,83	0,5	0,5	3,37	1	1	4
103	16,0	1	12,00	-	0,0	4,00	1	0	-
104	18,0	2	14,00	4,0	4,0	4,00	1	0	-
105	17,3	1	2,25	0,5	0,5	15,05	1	1	1
106	12,0	1	6,25	0,5	0,5	5,75	1	1	1
107	10,0	2	7,83	4,0	4,0	2,17	1	0	-
108	7,0	1	3,91	-	0,0	3,09	1	0	-
109	12,3	1	9,75	5,0	5,0	2,55	1	0	-
110	11,3	2	8,00	2,0	2,0	3,30	1	0	-
111	16,8	1	13,00	5,0	5,0	3,80	1	0	-
112	5,8	2	3,00	-	0,0	2,80	1	1	5
113	4,7	1	1,75	-	0,0	2,95	1	0	-
114	7,6	1	5,50	4,0	4,0	2,10	1	0	-
115	10,7	1	8,75	6,0	6,0	1,95	1	0	-
116	8,9	2	6,75	3,0	3,0	2,15	1	0	-
117	5,5	2	0,25	5,0	5,0	5,25	1	0	-
118	10,5	2	8,33	3,0	3,0	2,17	1	1	4
119	8,7	1	3,66	1,0	1,0	5,04	1	1	4
120	13,5	1	11,83	1,0	1,0	1,67	1	0	-
121	15,3	2	10,16	7,0	7,0	5,14	1	1	1
122	13,2	1	8,00	-	0,0	5,20	1	0	-
123	9,5	1	0,91	5,0	5,0	8,59	1	0	-
124	14,6	1	8,00	1,0	1,0	6,60	2	1	1
125	19,2	2	3,00	-	0,0	16,20	1	1	4
126	12,2	1	10,91	6,0	6,0	1,29	1	0	-
127	18,1	1	6,00	3,0	3,0	12,10	1	0	-
128	11,8	1	3,33	5,0	5,0	8,47	1	0	-
129	4,8	2	2,66	2,0	2,0	2,14	1	1	1
130	9,3	2	9,00	2,0	2,0	0,30	1	1	1
131	15,9	1	5,00	2,0	2,0	10,90	1	0	-
132	15,6	2	3,60	0,5	0,5	12,00	1	1	2
133	8,9	2	5,70	0,5	0,5	3,20	1	0	-
134	9,6	1	7,50	3,0	3,0	2,10	1	0	-
135	7,7	1	5,00	8,0	8,0	2,70	1	0	-
136	16,0	1	11,33	3,0	3,0	4,67	1	0	-
137	3,6	1	3,41	-	0,0	0,19	1	0	-
138	7,9	1	3,75	1,0	1,0	4,15	1	0	-
139	18,6	2	7,58	3,0	3,0	11,02	1	0	-
140	8,5	1	2,33	4,0	4,0	6,17	1	0	-
141	6,5	1	3,50	-	0,0	3,00	1	1	6
142	13,7	1	7,41	-	0,0	6,29	1	0	-
143	11,8	2	5,00	6,0	6,0	6,80	2	1	6
144	17,1	2	13,16	3,0	3,0	3,94	1	1	6
145	17,1	2	13,91	3,0	3,0	3,19	1	0	-
146	18,7	1	6,00	0,5	0,5	12,70	1	1	1
147	11,1	2	8,91	5,0	5,0	2,19	1	0	-
148	13,3	2	11,10	1,0	1,0	2,20	1	1	5
149	7,8	2	5,00	-	0,0	2,80	1	1	0

ANEXO 5 : PLANILHA COM OS DADOS DOS PACIENTES DE ACORDO COM O RESULTADO DO EMA (NEGATIVO OU POSITIVO) E DE ACORDO COM A BIÓPSIA (DC OU NORMAL)

Nº	SITUAÇÃO EMA	IDADE ANOS	SX	Nº	SITUAÇÃO EMA	IDADE ANOS	SX	Nº	SITUAÇÃO EMA POSITIVO BIÓPSIA	IDADE	SE-XO
1	Negativo	12,1	1	136	Negativo	16,0	1	52	B - Doença	14,4	1
3	Negativo	12,1	1	137	Negativo	3,6	1	87	B - Doença	16,5	1
8	Negativo	16,1	1	138	Negativo	7,9	1	94	B - Doença	22,5	1
11	Negativo	16,7	1	140	Negativo	8,5	1	102	B - Doença	16,2	1
15	Negativo	4,7	1	142	Negativo	13,7	1	119	B - Doença	8,7	1
18	Negativo	8,5	1	2	Negativo	8,6	2	54	B - Doença	19,2	2
19	Negativo	11,7	1	4	Negativo	9,3	2	71	B - Doença	11,0	2
22	Negativo	7,4	1	5	Negativo	15,6	2	99	B - Doença	14,6	2
23	Negativo	13,1	1	6	Negativo	10,1	2	101	B - Doença	13,7	2
25	Negativo	12,2	1	7	Negativo	16,2	2	112	B - Doença	5,8	2
26	Negativo	9,9	1	9	Negativo	12,9	2	118	B - Doença	10,5	2
28	Negativo	13,6	1	12	Negativo	11,2	2	125	B - Doença	19,2	2
29	Negativo	4,4	1	13	Negativo	12,9	2	148	B - Doença	13,3	2
30	Negativo	12,0	1	16	Negativo	12,7	2	10	B - Normal	12,4	1
32	Negativo	15,6	1	17	Negativo	4,8	2	68	B - Normal	17,6	1
33	Negativo	9,5	1	20	Negativo	6,3	2	78	B - Normal	6,2	1
34	Negativo	11,2	1	24	Negativo	17,1	2	105	B - Normal	17,3	1
37	Negativo	13,4	1	27	Negativo	15,3	2	106	B - Normal	12,0	1
39	Negativo	12,4	1	31	Negativo	8,5	2	124	B - Normal	14,6	1
44	Negativo	15,1	1	35	Negativo	14,7	2	146	B - Normal	18,7	1
45	Negativo	6,8	1	36	Negativo	16,3	2	14	B - Normal	1,7	2
47	Negativo	13,1	1	38	Negativo	14,3	2	53	B - Normal	13,5	2
48	Negativo	19,6	1	40	Negativo	15,3	2	65	B - Normal	15,5	2
49	Negativo	4,5	1	41	Negativo	17,2	2	66	B - Normal	14,4	2
51	Negativo	10,2	1	42	Negativo	14,0	2	69	B - Normal	11,9	2
55	Negativo	15,0	1	43	Negativo	20,4	2	121	B - Normal	15,3	2
59	Negativo	10,5	1	46	Negativo	6,6	2	129	B - Normal	4,8	2
60	Negativo	12,9	1	50	Negativo	10,7	2	130	B - Normal	9,3	2
62	Negativo	10,6	1	56	Negativo	13,0	2	132	B - Normal	15,6	2
64	Negativo	15,1	1	57	Negativo	16,3	2	149	B - Normal	7,8	2
67	Negativo	15,8	1	58	Negativo	13,4	2	21	Sem Biópsia	11,8	1
74	Negativo	5,2	1	61	Negativo	7,7	2	89	Sem Biópsia	17,7	1
79	Negativo	16,3	1	63	Negativo	17,4	2	141	Sem Biópsia	6,5	1
81	Negativo	14,3	1	70	Negativo	15,8	2	143	Sem Biópsia	11,8	2
84	Negativo	14,2	1	72	Negativo	12,3	2	144	Sem Biópsia	17,1	2
90	Negativo	10,5	1	73	Negativo	11,1	2				
91	Negativo	17,0	1	75	Negativo	10,5	2				
93	Negativo	21,1	1	76	Negativo	10,2	2				
97	Negativo	15,8	1	77	Negativo	13,8	2				
98	Negativo	10,9	1	80	Negativo	14,5	2				
100	Negativo	12,5	1	82	Negativo	11,2	2				
103	Negativo	16,0	1	83	Negativo	15,9	2				
108	Negativo	7,0	1	85	Negativo	17,4	2				
109	Negativo	12,3	1	86	Negativo	15,3	2				
111	Negativo	16,8	1	88	Negativo	15,7	2				
113	Negativo	4,7	1	92	Negativo	17,4	2				
114	Negativo	7,6	1	95	Negativo	9,9	2				
115	Negativo	10,7	1	96	Negativo	12,2	2				
120	Negativo	13,5	1	104	Negativo	18,0	2				
122	Negativo	13,2	1	107	Negativo	10,0	2				
123	Negativo	9,5	1	110	Negativo	11,3	2				
126	Negativo	12,2	1	116	Negativo	8,9	2				
127	Negativo	18,1	1	117	Negativo	5,5	2				
128	Negativo	11,8	1	133	Negativo	8,9	2				
131	Negativo	15,9	1	139	Negativo	18,6	2				
134	Negativo	9,6	1	145	Negativo	17,1	2				
135	Negativo	7,7	1	147	Negativo	11,1	2				

1 Masculino 2 Feminino

ANEXO 6: PLANILHA DOS DADOS DOS PACIENTES COM DigA

Nº	EMA	AGA	CLÍNICA DC	CLÍN DigA	IgA	BIÓ PSIA	IDADE	SEXO	INIC DM	LEIT MAT	INIC GLUT	DURA DM
10	2	1	1	1	2	0	12,4	1	10,66	3,0	3,0	1,74
21	2	1	1	1	2	6	11,8	1	11,08	5,0	5,0	0,72
54	2	1	1	1	2	4	19,2	2	8,00	4,0	4,0	11,20
68	2	1	1	1	2	1	17,6	1	14,00	1,0	1,0	3,60
69	2	1	1	1	2	0	11,9	2	11,16	0,5	0,5	0,74
89	2	1	1	1	2	6	17,7	1	3,50	1,0	1,0	14,20
124	2	1	1	1	2	1	14,6	1	8,00	1,0	1,0	6,60
143	2	1	1	1	2	6	11,8	2	5,00	6,0	6,0	6,80
	8	8	8	8	0	2	8	5	8	8	8,0	8
	0	0	0	0	8	2	14,625	3	8,925	2,688	2,7	5,700
	0	0	0	0	0	0	3,107	0	3,484	2,120	2,1	4,986
						0	11,8		3,5	0,5	0,5	0,7
						1	19,2		14,0	6,0	6,0	14,2
						0	13,5		9,33	2,0	2,0	5,10
						3	21,2		39,0	78,9	78,9	87,5

ANEXO 8: ESTATURA ALVO DOS PACIENTES COM DM-1

TABELA 3 - VARIACÃO ENTRE O PERCENTIL SDS ALVO E HSDS ATUAL EM RELAÇÃO AO RESULTADO DO ANTICORPO

VARIACÃO DO PERCENTIL	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Abaixo da Estatura Alvo	27	23,7	17	48,6	44	29,5
Acima da Estatura Alvo	44	38,6	06	17,1	50	33,6
Dentro da Estatura Alvo	40	35,1	12	34,3	52	34,9
TOTAL	⁽¹⁾ 111	97,4	35	100,0	146	98,0

NOTA: (1) Não foram relatados a altura do pai em três casos do grupo com anticorpo negativo. O percentual foi calculado em razão do número total de casos (114 e 149, respectivamente).

TABELA 6 - VARIACÃO ENTRE O PERCENTIL SDS ALVO E HSDS ATUAL NO GRUPO COM BIÓPSIA

VARIACÃO DO PERCENTIL	NORMAL		DOENÇA		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Abaixo da Estatura Alvo	06	35,3	09	69,2	15	50,0
Acima da Estatura Alvo	04	23,5	01	7,7	05	16,7
Dentro da Estatura Alvo	07	41,2	03	23,1	10	33,3
TOTAL	17	100,0	13	100,0	30	100,0

TABELA 9 - VARIACÃO ENTRE O PERCENTIL SDS ALVO E HSDS ATUAL NO GRUPO COM ANTICORPO NEGATIVO E DOENÇA CONFIRMADA

VARIACÃO DO PERCENTIL	NEGATIVO		DOENÇA		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Abaixo da Estatura Alvo	27	23,7	09	69,2	36	28,3
Acima da Estatura Alvo	44	38,6	01	7,7	45	35,4
Dentro da Estatura Alvo	40	35,1	03	23,1	43	33,9
TOTAL	⁽¹⁾ 111	97,4	13	100,0	124	97,6

NOTA: (1) Não foram relatados a altura do pai em três casos do grupo com anticorpo negativo. O percentual foi calculado em razão do número total de casos (114 e 127, respectivamente).

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. *Imunodeficiências Congênitas e Adquiridas.*

In: **Imunologia Celular e Molecular.** Rio de Janeiro: Revinter, 1995. p. 401-422.

AMMANN, A J.; HONG, R. Selective IgA deficiency and autoimmunity. **Clin. Exp.**

Immunol., v. 7, p. 833-838, 1970.

AMMANN, A .J.; HONG, R. Selective IgA deficiency presentation of 30 cases and a review of the literature. **Medicine**, v. 60, p. 223-236, 1971.

ATWATER, J.S.; TOMASI, T.B. Suppressor cells and IgA deficiency. **Clin. Immunol.**

Immunopathol., v.9, p. 379-382, 1978.

BACHMANN, R. Studies o the serum gamma A-globulin level III. The frequency of A-gamma-A-globulinemia. **Scand. J. Clin. Lab. Invest.**, v.17, p.316-320, 1965.

BAO, M. Z.; WANG, J. X.; DORMAN, J. S.; TRUCCO, M. HLA-DQ beta non-Asp-57 allele and incidence of diabetes in China and USA. **Lancet**, v. II, p. 497-498, 1989.

BARDANA, E.J.; GARBOUREL, J.D.; DAVIES, G.H.; CRAIG, S. Effects of phenytoin in man's immunity. **Am. J. Med.**, v. 74, p. 289-291, 1983.

BARERA, G; BIANCHI, C; CALISTI, L; CERUTTI, F; DAMMACCO, F; FREZZA, E; ILLENI, MT; MISTURA, L; POCECCO, M; PRISCO, F. Screening of diabetic children for coeliac disease with antigliadin antibodies and HLA typing. **Arch. Dis. Child.**, v. 66, p. 491-494, 1991.

- BARROS, M.D.; PORTO, M.H.O.; LESER, P.G.; GRUMACH, A.S.; CARNEIRO-SAMPAIO, M.M.S. Study of colostrum of a patient with selective IgA deficiency. **Allergol. Immunopathol. (Madr)**, v. 13, p. 331-334, 1985.
- BLOM, L.; PERSSON, L.A.; DAHQUIST, G. A high linear growth is associated with a increased risk of childhood diabetes mellitus. **Diabetologia**, v. 35, p. 528-533, 1992
- BODÉ, S.; WIELLE, B.; KRASILNIKOFF, P.A.; GUDMAND-HOYER, H. The diagnostic value of the gliadin antibody test in celiac disease in children: a prospective study. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 17, p. 260-264, 1993.
- BRANDTZAEG, P.; KARLSSON, G.; HANSON, G.; PETRUSON B., BJOKANDER, J.; HANSON, L.A. . The clinical condition of IgA-deficient patients is related to the proportion of IgD and IgM-producing cells in their nasal mucosa. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 67, p. 626-636, 1986.
- BRANSKI, D.; TRONCONE, R. Celiac disease: A reappraisal. **J. Pediatr.**, v. 133, p. 181-187, 1998.
- BUCKLEY, R.H.; DEES, S.C. Correlation of milk precipitins with IgA deficiency. **N. Engl. J. Med.**, v. 281, p. 465-469, 1969.
- BUCKLEY R.H. Clinical and immunologic features of selective IgA deficiency. **Birth Defects**, v. 11, p. 134-141, 1975.
- BURGIN-WOLFF, A.; BERTELE, R.M.; BERGER, R.; GAZE, H.; HARMS, H.K.; JUST M. A reliable screening test for childhood celiac disease: Fluorescent immunosorbent test for gliadin antibodies. **J. Pediatr.**, v. 102, p. 655-660, 1983.

- BURGIN-WOLFF, A.; GAZE, H.; HADZISELIMOVIC, F.; HUBER, H.; LENTZE, M.J.; NUSSLÉ, D.; REYMOND-BERTHET, C. Antigliadin and antiendomysium antibody determination for celiac disease. **Arch. Dis. Child.**, v.66, p. 941-947, 1991.
- BURKS, A.W.; STELLE, R.W. Selective IgA Deficiency. **Ann. Allergy**, v. 57, p. 3-8, 1986.
- CACCIARI, E.; SALARDI, S.; BIASCO, G.; VOLTA, U., LAZZARI, R.; CORAZZA, G.R.; FELICIANI, M.; CICOGNANI A. Can antigliadin antibody detect symptomless coeliac disease in children with short stature? **Lancet**, v. i, p. 1469-1471, 1985.
- 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.**, v. 23, p.29-33, 1996.
- CARNEIRO SAMPAIO, M.M.S.; CARBONARE, S.B.; ROZENTRAUB, R.B.; DE ARAÚJO, M.V.; RIBEIRO, M.A.; PORTO, M.H.O. Frequency of selective IgA deficiency among Brazilian blood donors and health pregnant women. **Allergol. Immunopathol.**, v. 17, p. 213-216, 1989.
- CARNEIRO-SAMPAIO, M.M.S. Primary Immunodeficiencies in Latin America. **ACI International**, v. 11, p.157-161, 1999.
- CARRASCO, E; LÓPEZ, G; GARCIA DE LOS RIOS, M; VARGAS, N; STAAB, K; GUERRERO, M; ESPINOZA, F; AGUIRRE, E .Incidencia de diabetes mellitus insulino-dependente en la region metropolitana. **Rev. Med. Chile**, v. 119, p. 709-714, 1991.

- CASSIDY, J.T.; NORDBY, G.L. Human serum immunoglobulin concentrations: prevalence of immunoglobulin deficiencies. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 55, p. 35-48, 1975.
- CASSIDY, J.T.; OLDHAM, G.; PLATTS-MILLS, T.A.E. Functional assessment of a B cell defect in patients with selective IgA deficiency. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 35, p.296-299, 1979.
- CATALDO, F.; MARINO, V.; BOTTARO, G.; GRECO P.; VENTURA A. Celiac disease and selective immunoglobulin A deficiency. **J. Pediatr.**, v. 131, p. 306-308, 1997.
- CATASSI, C.; RATSCH, I.M.; FABIANI, E.; ROSSINI, M.; BORDICCHIA, F.; CANDELA, F.; COPPA, G.V.; GIORGI, P.L. Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. **Lancet**, v. 343, p. 200-203, 1994.
- CATASSI, C.; FABIANI, E.; RÄTSCH, I.M.; COPPA, G.V.; GIORGI, P.L.; e cols. The coeliac iceberg in Italy. A multicentre antigliadin antibodies screening for celiac disease in school-age subjects. **Acta. Paediatr. Suppl.**, v. 412, p. 29-35, 1996.
- CHAN, K.N.; PHILLIPS, A.D.; MIRAKIAN, R.; WALKER-SMITH J.A . Endomysial antibody screening in children. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 18, p. 316-320, 1994.
- CHORZELSKI, T.P.; SULEJ, J.; TCHORZEWSKA, H.; JABLONSKA, S.; BEUTNER, E.H.; KUMAR, V. IgA class endomysium antibodies in dermatitis herpetiformis in coeliac disease. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 420, p. 325-334, 1983.
- CLERICI, V.; FERNANDEZ, M.; SAIZ, I.; SAINZ T.; POLANCO I. Human leukocyte antigen alleles and haplotypes associated with selective immunoglobulin A deficiency in Spanish pediatric patients. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 16, p.381-386, 1993.

- COLLIN, P.; SALMI, J.; HALLSTROM, O.; OKSA, H.; OKSALA, H.; MAKI, M.; REUNALA T. High frequency of coeliac disease in adults with type 1 diabetes. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 24, p. 81-84, 1989.
- COLLIN, P.; HÄLLSTRÖM, O.; MAKI, M. VIANDER, M. ; KEYRILAINEN, O. Atypical coeliac disease found with serological screening. **Scand J. Gastroenterol.**, v. 25, p. 245-50, 1990.
- COLLIN, P; MAKI, M.; KEYRILÄINEN, O.; HÄLLSTRÖM, O.; REUNALA, T.; PASTERNAK, A. Selective IgA deficiency and coeliac disease. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 27, p. 367-371, 1992.
- CONLEY, M.E.; COOPER, M.D. Immature IgA B cells in IgA deficient patients. **N. Engl. J. Med.**, v. 305, p. 495-497, 1981.
- CORRAO, G.; CORAZZA, G.R.; ANDREANI, M.L. TORCHIO P., VALENTINI R.A., GALATOLA G. Serological screening of celiac disease : choosing the optimal procedure according to various prevalence values. **Gut**, v. 35, p.771-775, 1994.
- CRABBÉ, P.A.; CARBONARA, A.O.; HEREMANS, J.F. The normal human intestinal mucosa as a major source of plasma cells containing gamma-A immunoglobulin. **Lab. Invest.** v. 14, p. 235-248, 1965.
- CRABBÉ, P.A; HEREMANS, J.F.; Selective IgA deficiency with steatorrhea. A new syndrome. **Am. J. Med.** , v. 42, p. 319-26, 1967.
- CRONIN, C.C.; SHANAHAN, F. Insulin-dependent diabetes and coeliac disease. **Lancet**, v. 349, p. 1096-1097,1997.

CRONIN, C.C.; FEIGHERY, A.; FERRISS, B.; LIDDY, C.; SHANAHAN, F.; FEIGHERY, C. High prevalence of celiac disease among patients with insulin-dependent (Type 1) diabetes mellitus. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 92, p. 2210-2212, 1997.

CUDWORTH, A. The etiology of diabetes mellitus. **Brit. J. Hospital Med.**, v. 16, p. 207-216, 1976.

CUNNINGHAM-RUNDLES, C.; BRANDEIS, W.E.; GOOD, R.A.; DAY, V.K. Bovine antigens and the formation of circulating immune complexes in selective IgA deficiency. **J. Clin. Invest.**, v. 64, p. 270-272, 1979.

DEL ROSÁRIO, M.A.; FITZGERALD, J.F.; CHONG, S.K.; CROFFIE, J.M.; GUPTA, S.K. Further studies of anti-endomysium and anti-gliadin antibodies in patients with suspected celiac disease. **J. Pediatr, Gastroenterol. Nutr.**, v. 27, p. 191-195, 1998

DIABETES EPIDEMIOLOGY RESEARCH INTERNATIONAL GROUP. Secular trends in incidence of childhood IDDM in 10 countries. **Diabetes**, v. 39, p. 858-864, 1990.

DIETRICH, W.; EHNIS, T.; BAUER, M.; DONNER, P.; VOLTA, U.; RIECKEN, E.O. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen in celiac disease. **Nature**, v. 3, p. 797-801, 1997.

DORMAN JS; LAPORTE RE; STONE RA; TRUCCO M . Worldwide differences in the incidence of type I diabetes are associated with amino acid variation at position 57 of the HLA-DQ beta chain. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A**, v. 87, p. 7370-7374, 1990

ELAMIN, A.; OMER, M. I. A.; ZEIN, K.; TUVIMO, T. Epidemiology of childhood type I diabetes in Sudan, 1987-1990. **Diabetes Care**, v. 15, p. 1556-59, 1992.

- ELFENBEIN, G.J.; ANDERSON, P.V.; HUMPHREY, R.L. Immune system reconstitution following allogeneic bone marrow transplantation in man: a multiparameter analysis. **Transplant. Proc.**, v. 8, p. 641-644, 1976
- FASTH, A. Primary Immunodeficiency Disorders in Sweden: cases among children, 1974-1979. **J. Clin. Immunol.** , v. 2, p. 86-92, 1982.
- FISHBEIN, H. A.; LAPORTE, R. E.; ORCHARD, T. J.; DRASH, A .L.; KULLER, L.H.; WAGENER. D.K. The Pittsburg insulin-dependent diabetes mellitus registry: Seasonal incidence. **Diabetologia**, v. 23, p. 83-85, 1982.
- FREEMAN, H.J.; WEINSTEIN, W.M.; SHNITKA, T.K. PIERCEY, J.R.; WENSEL, R.H. Primary abdominal lymphoma. Presenting manifestations of coeliac sprue or complicating dermatitis herpetiformis. **Am. J. Med.**, v. 63, p. 585-594, 1977.
- FREEMAN, H.J.; CHIU, B.K. Multifocal small bowel lymphoma and latent coeliac sprue. **Gastroenterology**, v. 90, p. 1992-1997, 1986.
- FROMMEL, D. MOULLEC, J. LAMBIN, P., FINE, J.M. Selective IgA deficiency: frequency among 15.200 French blood donors. **Vox. Sang.**, v.25, p. 513-518, 1973.
- GAMBLE, D. R. The epidemiology of insulin-dependent diabetes, with particular reference to diabetes the relationship of virus infection to its etiology. **Epidemiologic. Rev.**, v. 2 , p.49-70, 1980.
- GRABAR, P.; WILLIAMS, C.A . Méthode permettant d'étude conjuguée des propriétés électrophorétique et immunochemiques d'un mélange de protein: application au serum sanguin. **Biochem. Biophys. Acta.**, v. 10, p. 193-194, 1953.

- GREY, H.J.; RABELLINO, E.; PIROFSKY, B. Immunoglobulins on the surface of lymphocytes. IV. Distribution in hypogammaglobulinemia, cellular immune deficiency, and chronic lymphocyte leukemia. **J. Clin. Invest.**, v. 50, p. 2368-2372, 1971.
- GRODZINSKY, E; FRANZEN, L; HED, J; STRÖM, M. High prevalence of coeliac disease in healthy adults revealed by antigliadin antibodies. **Ann. Allergy**, v. 69, p. 66-70, 1991.
- GRODZINSKY, E.; HED, J.; SKOGH, T. IgA anti-endomysium antibodies have a high positive predict value for coeliac disease in asymptomatic patients. **Allergy**, v. 49, p. 593-597, 1994.
- GRODZINSKY, E.; JANSSON, G.; SKOGH, T.; STENHAMMAR L., MAGNUSSON F. Anti-endomysium and anti-gliadin antibodies as serological markers for celiac disease in childhood: A clinical study to develop a practical routine. **Acta. Pediatr.** v. 84, p. 294-298, 1995.
- GROLL A; CANDY, DC; PREECE, MA; TANNER, JM; HARRIES, JT Short stature as the primary manifestation of coeliac disease. **Lancet**, v. 2, p. 1097-1099, 1980.
- GRUMACH, A .S.; JACOB, C.M.A.; PASTORINO A .C. Deficiência de IgA: avaliação clínico-laboratorial de 60 pacientes do Instituto da Criança. **Rev. Ass. Med. Brasil.**, v. 44, p. 277-282, 1998.
- GRUNDBACHER, F.J. Genetic aspects of selective immunoglobulin A deficiency. **J. Med. Genet .**, v. 9, p. 344-347,1972.

HALSTENSEN, T.S.; SCOTT, H.; BRANDTZAEG, P. Intraepithelial T cells of the TCR $\gamma\delta$ CD8- and V δ 1/J δ 1+ phenotypes are increased in coeliac disease. **Scand. J. Immunol.**, v. 30, p. 665-672, 1989.

HALSTENSEN, T.S.; BRADTZAEG, P. Activated T lymphocytes in the celiac lesion: nonproliferative activation (CD25) of CD4⁺ $\alpha\beta$ cells in the lamina propria but proliferation of $\alpha\beta$ and $\gamma\delta$ cells in the epithelium. **Eur. J. Immunol.**, v. 23, p. 505-510, 1993.

HANSON, L.A. Selective IgA deficiency. In CHANDRA, R.K. **Primary and Secondary Immunodeficiency Disorders**. New York: Churchill Livingstone, 1983, p.62-84.

HENEGHAN, M.A.; STEVENS, F.M.; CRYAN, E.M.; WARNER, R.H.; McCARTHY, C.F. Celiac sprue and immunodeficiency states: a 25 year review. **J. Clin. Gastroenterol.**, v. 25, p. 421-25, 1997.

HEREMANS, J.F. Immunoglobulin A . In SELA M. **The antigens**. London: Academic Press, 1974, p.365-522.

HERRMANN, R.P.; CHIPPER, L.; BELL, S. Chromosome studies in health blood donors with IgA deficiency. **Clin. Genet.**, v. 22, p. 231-233, 1982.

HILL, P.G.; THOMSON, S.P.; HOLMES, G.K.T. IgA antigliadin antibodies in adult coeliac disease. **Clin. Chem.**, v. 37, p. 647-50, 1991.

HOLMES, G.K.T.; PRIOR, P.; LANE, M.R.; POPE, D.; ALLAN, R.N. Malignancy in coeliac disease effect of a gluten free diet. **Gut**, v. 30, p. 333-338, 1989.

HONG, R.; AMMANN, R.J. Disorders of the IgA system. In STHIEM, E.R. **Immunologic Disorders of Infants and Children**. Philadelphia: W B Saunders, 1989. p. 329-342.

INOUE, T.; OKUBO, H; KUDO, J; IKUTA, T.; HACHIMINE, K.; SHIBATA, R.; YOSHINARI, D.; FUKADA, K.; RANASE, T. Selective IgA deficiency: analysis of Ig production in vitro. **J. Clin. Immunol.**, v. 4, p. 235-241, 1984.

JONER, G. ; SOVIK, L. O. Increasing incidence of diabetes mellitus in Norwegian children 0-14 years of age 1973-1982. **Diabetologia**, v. 32, p.79-83, 1989.

KANO, T.; MIZUMOTO, T.; YASUDA, N.; KOYA, M.; OHNO, Y.; UCHINO, H.; YOSHIMURA, K.; OHKUBO, Y.; YAMAGUCHI, H. Selective IgA deficiency in Japanese blood donors: frequency and statistical analysis. **Vox. Sang.**, v. 50, p. 81-86. 1986.

KERR, M.A. The structure and function of human IgA. **J. Biochem.**, v. 271, p. 285-296, 1990.

KING, M.A.; WELLS, J.V.; NELSON, D.S. IgA synthesis by peripheral blood mononuclear cells from normal and selectively IgA deficient subjects **Clin. Exp. Immunol.**, v. 38, p. 306-310, 1979.

KLEMOLA, T. Deficiency of immunoglobulin A. **Ann Clin. Res.**, v.19, p.248-257, 1987.

KLEMOLA, T. Immunohistochemical findings in the intestine of IgA deficiency persons. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v.7, p.537-543, 1988a.

KLEMOLA, T.; SAVILAHTI, E.; KOSKIMIES, S.; PELKONEN P. HLA antigens in IgA deficient paediatric patients. **Tissue Antigens**, v. 32, p.218-23, 1988b.

KOISTINEN, J.; Selective IgA deficiency in blood donors. **Vox, Sang.**, v. 29, p. 192-202, 1975.

KOLETZKO, S.; BURNIN-WOLF, A.; KOLETZKO, B.; KNAPP, M.; BURGER W.
Prevalence of coeliac disease in diabetic children and adolescents. **Eur. J. Pediatr.**, v. 148,
p.113-7,1988.

KOLHO, K.L.; FÄRKKILLÄ, M.A.; SAVILAHTI, E. Undiagnosed coeliac disease is
common in finnish adults. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 33, p. 1280-1283, 1998.

KONTAKOU, M.; STURGERS, R.; PRZEMIOSLO, R.; LIMB, G.; NELUFER, J.;
CICLITIRA, P.J. Detection of interferon γ m RNA in the mucosa of patients with coeliac
disease by in situ hybridization. **Gut**, v. 35, p. 1037-1040,1994.

KONTAKOU, M.; PRZEMIOSI, R.T.; STURGERS, R.P.; LIMB, G.; CICLITIRA, P.J.
Expression of tumor necrosis factor α , interleukin 6 and interleukin 2 mRNA in the
jejunum of patients with coeliac disease. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 30, p. 456-463,
1995.

KONTIAINEN, S; SCHLENZKA, A; KOSKIMIES, S; RILVA, A; MÄENPÄ, J
Autoantibodies and autoimmune diseases in young diabetics. **Diab. Res.**, v. 13, p.151-
56,1990.

KORPONAY-SZABÓ, I.R.; KOVÁCS, J.B.; LORINCZ, M.; GORÁCZ, G.; SZABADOS,
K.; BALOGH, M. Prospective significance of antiendomysium antibody positivity in
subsequently verified coeliac disease. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v.25, p. 56-63,
1997.

- KORPONAY-SZABÓ, I.R.; KOVÁCS, J.B.; CZINNER, A.; GORÁCZ, G.; VÁMOS, A.; SZABÓ T. High prevalence of silent celiac disease in preschool children screened with IgA/IgG antiendomysium antibodies. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 28, p. 26-30, 1999.
- KUMAR, V.; LERNER, A.; VALESKI, J.E.; BEUTNER, E.H.; CHORZELSKI, T.P. ROSSI, T. Endomysial antibodies in the diagnosis of celiac disease and the effect to gluten on antibody titers. **Immunol. Invest.**, v. 18, p. 533-544, 1989.
- KWITKO, A. O., ROBERTS-THOMAS, P.J.; SHEARMAN, D.J.C. Low molecular weight IgM in selective IgA deficiency. **Clin. Exp. Immunol.**, v.50, p. 198-202, 1982.
- LANCASTER-SMITH, M.J. Coeliac disease and autoimmunity. **Postgrad. Med.**, v. 50, p. 45-8, 1974.
- LAPORTE, R.E.; TAJIMA, V.; DORMAN, J.S.; CRUICKSHANKS, K.J.; EBERHARDT, M.S. Differences between blacks and whites in the epidemiology of insulin-dependent diabetes mellitus in Allegheny County, Pennsylvania. **Am. J. Epidemiol.**, v. 123, p. 592-602, 1986.
- LAWTON, A.R.; ROYAL, S.A.; SELF, K.S.; COOPER, M.D. IgA determinations on B lymphocytes in patients with deficiency of circulating IgA. **J. Lab. Clin. Med.**, v.80, p. 26-33, 1972.
- LAZZARI, R.; VOLTA, U.; BIANCHI, F.B.; COLLINA, A.; PISI, E. RI reticulín antibodies: markers of celiac disease in children on a normal diet and on gluten challenge. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.** v. 3, p. 516-519, 1984.

- LEICKLY, R.E; BUCKLEY, R.H. Development of IgA and IgG 2 subclass deficiency after sulfasalazine therapy. **J. Pediatr.**, v.108, p. 481-482, 1986.
- LERNER, A.; LEBENTHAL, E. The controversy of the use of antigluten antibody (AGA) as a diagnostic tool in coeliac disease. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 12, p. 407-9, 1991.
- LERNER, A.; KUMAR, V.; IANCU, T.C. Immunological diagnosis of coeliac disease : comparison between antigliadin, antireticulin, and endomysial antibodies. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 95, p. 78-82, 1994.
- LEWKONIA, R.M.; LIN, C.C.; HASLAN, R.H.A . Selective IgA deficiency with 18q⁺ and 18q- karyotypic anomalies. **J. Med. Genet.**, v.17, p. 453-456,1980.
- LINDQUIST, B.L.; ROGOZINSKI, T.; MOI, H.; DANIELSSON, D.; OLCÉN P. Endomysium and gliadin antibodies in children with coeliac disease. **Scand J. Gastroenterol.**, v. 29, p. 452-456, 1994.
- LOGAN, R.F.; RIFKIND, E.A.; TURNER, I.D.; FERGUSON, A. Mortality in celiac disease. **Gastroenterology**, v. 97, p. 265-71,1989.
- LORINI, R.; SCOTTA, M.; CORTONA, L. AVANZINI M.A., VITALI L., DE GIACOMO C. SCARAMUZZA A ., SEVERI F. Coeliac disease and (Type I) insulin-dependent diabetes mellitus in childhood: follow-up study. **J. Diab. Complications**, v. 10, p. 154-9, 1996.

LUNDIN, K.E.; SCOTT, H.; HANSEN, T.; PAULSEN, G.; HALSTENSEN, T.S.; FAUSA, O. Gliadin specific, HLA-DQ restricted T cells isolated from the small intestinal mucosa of celiac disease patients. **J. Exp. Med.**, v. 178, p. 187-196, 1993.

LUZY, G.; PESCE A .M.; RINALDI S. Primary Immunodeficiencies in Italy. Data revised from the Italian Register of Immunodeficiencies - IRID (1977-1988). **Immunol. Clin.**, v. 8, p. 45-54, 1989.

MAIURI, L.; TRONCONE, R.; MAYER, M.; CLETA, S.; PICARELLI, A.; DE VINCENZI, M. In vitro activities of A-gliadin related synthetic peptides. Damaging effect on the atrophic coeliac mucosa and activation of mucosal immune response in the treated coeliac mucosa. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 31, p. 247-253, 1996.

MAKI, M.; HALLSTROM, O.; HUUPPONEN, T. Increased prevalence of coeliac disease in diabetes. **Arch. Dis. Child**, v. 59, p. 739-742, 1984.

MÄKI, M.; HALLSTROM, O.; MARTTINEN, A. A reaction of human non-collagenous polypeptides with celiac disease autoantibodies. **Lancet**, v.338, p. 724-725, 1991.

MÄKI, M. The humoral immune system in coeliac disease. **Baillieres Clin Gastroenterol** v. 9, p. 231-249, 1995.

MÄKI M; COLLIN P Coeliac disease. **Lancet**, v. 349, p. 1755-9, 1997.

MATSH, M.V. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ("celiac sprue"). **Gastroenterology**, v. 102, p. 330-334, 1992.

MAWHINNEY, H.; TOMKIN, G.H. Gluten enteropathy associated with selective IgA deficiency. **Lancet**, v. 2, p.121-124, 1971.

McMILLAN, S.A; HAUGHTON, D.J.; BIGGART, J.D.; EDGARD J.D.; PORTER K.G., MCNEILL T.A . Predictive value for coeliac disease of antibodies to gliadin, endomysium, and jejunum in patients attending for jejunal biopsy. **B.M.J.**, v. 303, p. 1163-1165, 1991.

MEINI, A; PILLAN, N.M.; VILLANACCI, V.; MONAFO, V., UGAZIO, A.G.; PLEBANI, A. Prevalence and diagnosis of celiac disease in IgA deficient children. **Ann. Allergy Asthma Immunol.**, v. 77, p. 333-336, 1996.

MELLANDER, L., BJÖRKANDER, J., CARLSON, B., HANSON, L.A . Secretory antibodies in IgA deficient and immunosuppressed individuals. **J. Clin. Immunol.**, v. 6, p. 284-291, 1986.

MESTECKY, J.; MCGHEE, J.R. Immunoglobulin A (IgA): molecular and cellular interactions involved in IgA biosynthesis and immune response. **Adv. Immunol.**, v. 40, p. 153-245, 1987.

MULDER, C.J.J.; TYTGAT, G.N.J.; GROENLAND, F. Combined coeliac disease and thyroid disease: A study of 17 cases. **J. Clin. Gastroenterol. Nutr.**, v. 19, p. 27-, 1994.

NATIONAL DIABETES DATA GROUP. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. **Diabetes**, v. 28, p.1039-1057, 1979.

NATVIG, J.B., HARBOE, M. FAUSA, O. TVEIT, A . Family studies in individuals with selective absence of A-globulin. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 8, p. 229-236, 1971.

NEWCOMB, R.W.; SUTORIS, C.A. Comparative studies on human and rabbit exocrine IgA antibodies to an albumin. **Immunochemistry**, v. 11, p. 623- 627, 1974.

PAGE, S.R.; LLOYD, C. A.; HILL, P.G.; PEACOCK, I.; HOLMES, G.K.T. The prevalence of coeliac disease in adults diabetes mellitus. **Q. J. Med.**, v. 87, p. 631-637, 1994.

PAULSEN, G.; LUNDIN, K.E.; GJERTSEN, H.A.; HANSEN, T.; SOLLID, L.M.; THORSBY, E. HLA DQ-2 restricted T-cell recognition of gluten-derived peptides in celiac disease. **Hum. Immunol.**, v. 42, p.145-153, 1995.

PEREZ-JIMENEZ, F.; LOPEZ, P.B.; TALLO, E.P.; GUZMAN, J.R.; MOLINA, J.S.; PEREZ-PEREZ, J.A. Selective IgA deficiency and the HLA-B8 antigen. **Arch. Intern. Med.**, v. 141, p. 509-510,1981.

PETTY, R.E.; SHERRY, D.D.; JOHANNSON, J. Anti-IgA antibodies in pregnancy. **N. Engl. J. Med.** , v. 313, p.1620-1625, 1985.

PICARELLI, A.; MAIURI, L.; FRATE, A.; GRECO, M.; AURICCHIO, S.; LONDEI, M. Production of antiendomysial antibodies alter in vitro gliadin challenge of small intestinal biopsy samples from patients with coeliac disease. **Lancet**, v. 348, p. 1065-1067, 1996.

PITTSCHIELER K; LADINSER B Coeliac disease: screened by a new strategy. **Acta Paediatr Suppl**, v. 412, p. 42-5, 1996.

PUCK, J.M. Primary Immunodeficiency Diseases. **JAMA** v. 278, p. 1835-1841, 1997.

RAUTONEN, J.; RAUTONEN, N.; SAVILAHTI E. Antibodies to gliadin in children with coeliac disease. **Acta. Paediatr. Scand.**, v.80, p. 1200-1206, 1991.

RIBES-KONINCKX, C.; PEREDA PEREX, R.A.; PENA, A. S. IgA antigliadin antibodies, a useful screening test for coeliac disease in family members of children with coeliac disease. **J. Clin. Nutr. Gastroenterol.**, v. 6, p.196-202, 1991.

SACCHETTI L., FERRAJOLO A., SALERMO G., ESPOSITO P., LOFRANO M.M., ORIANI G., MICILLO M., PAPARO F., TRONCONE R., AUROCCHIOS., SALVATORE F. Diagnostic value of various serum antibodies detected by diverse methods in childhood celiac disease. **Clin. Chem.** v.42, p.1838-1842, 1996

SATEGNA-GUIDETTI, C.; GROSSO, S.; PULITANO, R.; BENADUCE E.; DANI, F.; CARTA, Q. Coeliac disease and insulin-dependent diabetes mellitus. Screening in an adult population. **Dig. Dis. Sci.**, v. 39, p.1633-1637,1994.

SATEGNA-GUIDETTI, C.; GROSSO, S.; BRUNO, M.; GROSSO, S.B. Comparison of serum anti-gliadin, anti-endomysium, and anti-jejunum antibodies in adult celiac sprue. **J. Clin. Gastroenterol.**, v. 20, p. 17-21, 1995.

SAULSBURY, F.T. Selective IgA deficiency temporally associated with Epstein-Barr virus infection. **J Pediatrics** v. 115, p. 268-271, 1989.

SCHWARTZ, S.A. Heavy chain specific suppression of immunoglobulin synthesis and secretion by lymphocytes from patients with selective IgA deficiency. **J. Immunol.**, v. 124, p. 2034-2038,1980.

SHANAHAN, F.; McKENNA, R.; McCARTHY, C.F., DRURY M.I. Coeliac disease and diabetes mellitus: a study of 24 patients with HLA typing. **Q. J. Med.**, v. 203, p. 329-335, 1982.

SHENK, E.A.; KLIPSTEIN, F.A. A protocol for evaluation of small intestinal biopsies. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 25, p. 1108-1117, 1972.

SIEMIATYCKI, J; COLLE, E; CAMPBELL, S; DEWAR, R; AUBERT, D; BELMONTE, MM. Incidence of IDDM in Montreal by ethnic group and social class and comparisons with ethnic groups elsewhere. **Diabetes**, v. 37, p. 1096-1102, 1988.

SIGURS, V.; JOHANSSON, C.; ELFSTRAND, P.O.; VIANDER, M.; LANNER, A. Prevalence of coeliac disease in diabetic children and adolescents in Sweden. **Acta Paediatr.**, v. 82, p. 748-751, 1993.

SJÖBERG, K.; ALM, R.; IVARSSON, S.A.; LINDSTROM, C.; ERIKSSON, S. Prevalence and clinical significance of gliadin antibodies in healthy children and adults. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 29, p. 248-255, 1994.

SJÖBERG, K.; ERIKSSON, K.F.; BREDBERG, A.; WASSMUTH, R.; ERIKSSON S. screening for coeliac disease in adult insulin-dependent diabetes mellitus. **J. Int. Med.**, v.243, p. 133-140, 1998.

SKEREDE, S.; WINTHER, F.O.; MUNTHE, E.; NORDOY, A. Transitory IgA-deficiency, persistent IgE-deficiency and recurrent respiratory tract infectious disease after splenectomy. **Arch. Oto-Rhino-Laryngol.**, v. 217, p. 423-429, 1977.

SMITH, W.I.; RABIN, B.S.; HUELIMANTEL, A.; VAN THIEL, D.H.; DRASH A. Immunopathology of juvenile-onset diabetes mellitus I: IgA deficiency and juvenile diabetes. **Diabetes** v. 27, p. 1092-1099, 1978.

SOLLID, L.M.; THORSBY, E. HLA susceptibility genes in celiac disease. **Gastroenterology**, v.105, p. 910-922,1993.

SOOTHILL, J.F.; HAYES, K.; DUDGEON, J.A. The immunoglobulins in congenital rubella. **Lancet**, v. 2, p. 1385-1388, 1966.

STAHLBERG, M.R.; SAVILAHTI, E.; TEPPONEN, L. Coeliac disease from childhood-increase risk for malignancy. **Gut**, v. 30, p. 333-8, 1989.

STIEHM, E.R.; FUDENBERG, H.H. The concentrations of IgG, IgM, IgA and total gamma globulin in the serum of normal persons. **Pediatrics**, v. 87, p. 751-754, 1966.

STROBER, W.; BROWN, W.R. The mucosal immune system. In: **Immunological Diseases**, Samter, 1988, p. 79-139.

STROBER, W.; SNELLER, M.C. IgA deficiency. **Ann. Allergy** v. 66, p. 363-375, 1991.

STROTHMAN, R.; WHITE, M.B.; TESTIN, J.; CHEN, S.V.; BALL, M.J. HLA and IgA deficiency in blood donors. **Hum. Immunol.**, v. 16, p. 289-294,1986.

STURGESS, R.; KONTAKOU, M.; SPENCER, J.; HOOPER, L.B.; MAKGOBA, M.W.; CICLITIRA, P.J. Effects of interferon- γ and tumor necrosis factor α on ICAM-1 expression on jejunal mucosal biopsies cultured in vitro. **Gut**, v. 34, p. S31, 1993.

STURGESS, R.; DAY, P.; ELLIS, H.J.; LUNDIN, K.E.A.; GERTSEN, H.A.; KONTAKOU, M. Wheat peptide challenge in coeliac disease. **Lancet**, v. 343, p. 758-761, 1994.

SULKANEN, S.; COLLIN, P.; LAURILA, K.; MÄKI, M. IgA and IgG class antihuman umbilical cord antibody tests in adult coeliac disease. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 33, p. 251-254, 1998.

TANNER, J.M.; GOLDSTEIN, H.; WHITEHOUSE, R.H. Standards for children's height at ages 2-9 years allowing for heights of parents. **Arch. Dis. Child.**, v. 45, p. 755-762, 1970.

THIEFFREY, S.; ARTHIUS, M.; AICARDI, J.; LYON, G. L'ataxie-telangiectasie (7 observations personnelles). **Rev Neurol (Paris)** v. 105, p.390-405, 1961.

TOMASI, T.B.; BIENENSTOCK, J. Secretory immunoglobulins. **Adv. Immunol.**, v. 9, p.1-96, 1968.

TRONCONE, R.; GRECO, L.; AURICCHIO, S. Gluten-sensitive enteropathy. **Ped. Clin. North Am.**, v.43, p.355-373, 1996.

TUOMILEHTO, J.; LOUANAMA, R.; TUOMILEHTO-WOLF, E. Epidemiology of childhood diabetes in Finland - background of a nationwide study of type 1 diabetes mellitus. **Diabetologia**, v. 37, p. 70-76, 1991.

VALDIMARSSON, T.; FRANZEN, L.; GRODZINSKY, E.; SKOGH, T.; STRÖM, M. Is small bowel biopsy necessary in adults with suspected celiac disease and IgA anti-endomysium antibodies? **Dig. Dis. Sci.**, v. 41, p. 83-87, 1996.

VAN THIEL, D.H.; SMITH, W.I.; RABIN, B.S.; FISHER, S.E.; LESTER, R. A syndrome of immunoglobulin A deficiency, diabetes mellitus, malabsorption and a common HLA haplotype immunologic and genetics studies of forty-three family members. **Ann. Intern. Med.**, v.86, p. 10-19, 1977.

VERKASALO, M.; TIILIKAINEN, A.; KUITUNEN, P.; SAVILATHI, E.; BACKMAN, A. HLA antigens and atopy in children with coeliac disease. **Gut**, v. 24, p. 306-310, 1983.

VISAKORPI, J.K. Diabetes and coeliac disease. **Lancet**, v. ii, p. 1192, 1969.

- VOLTA, U.; BONAZZI, C.; PISI, E.; SALARDI, S.; CACCIARI E. Antigliadin and antireticulin antibodies in coeliac disease and at onset of diabetes in children. **Lancet**, v.ii, p. 1034-1035, 1987.
- VOLTA, U.; MOLINARO, N.; DE FRANCESCHI, L.; FRATANGELO, D.; BIANCHI, F.B. IgA anti-endomysial antibodies on human umbilical cord tissue for coeliac disease screening. **Dig Dis Sci**, v. 40, p.1902-1905, 1995.
- VORECHOVSKÝ I; BLENNOW E; NORDENSKJÖLD M; WEBSTER AD; HAMMARSTRÖM L. A putative susceptibility locus on chromosome 18 is not a major contributor to human selective IgA deficiency: evidence from meiotic mapping of 83 multiple-case families. **J Immunol**, v. 163, p. 2236-2242, 1999.
- WALDMANN, T.A.; STROBER, N. Metabolism of immunoglobulins. **Prog. Allergy**, v.13, p. 1-110, 1969.
- WALDMANN, T.A.; BRODER, S.; KRAKAUER, R.; DURM, M.; MEADE, B.; GOLDMAN, C. Defect in IgA secretion and in IgA-specific suppressor cells in patients with selective IgA deficiency. **Trans. Assoc. Am. Physician**, v. 89, p. 219-224, 1976.
- WALKER-SMITH, J.; GUANDALINI, S.; SCHMITZ, J.; SHMERLING, D.H., VISAKORPI, J.K. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. **Arch. Dis. Child.**, v. 65, p. 909-911, 1990.
- WALSH, C.H.; COOPER, B.T.; WRIGHT, A.D.; MALINS, J.M.; COOKE, W.T. Diabetes mellitus and coeliac disease: a clinical study. **Q. J. Med.**, v. 185, p. 89-100, 1978.
- WERTELEKI, W.; GERALD, P.S. Clinical chromosomal studies of the 18q-syndrome. **J. Pediatr.**, v. 78, p. 44-51, 1971.

WIESER, W. The precipitating factor in coeliac disease. **Baillieres Clin. Gastroenterol.**, v. 9, p. 191-207, 1995.

WILSON, M.G.; TOWNER, J.W.; FORSMAN, L.; SIRIS, E. Syndromes associated with the deletion of the long arm of chromosome 18. **Am. J. Med. Genet.**, v.8 , p.155-174,1979.

WORLD HEALTH ORGANIZATION SCIENTIFIC GROUP. Primary Immunodeficiency Diseases. **Clin. Exp. Immunol.**, v.109:1-28 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Expert committee on diabetes mellitus. WHO Technical report series (646:1980:Geneva)

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Expert committee on diabetes mellitus. WHO Technical report series (727:1985:Geneva)