

FLÁVIA RAPHAELA NASS

**ANÁLISE SOROLÓGICA E CLÍNICO-LABORATORIAL DE AUTO-ANTICORPOS
EM FAMILIARES DE PACIENTES COM DOENÇA CELÍACA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Shirley Ramos da Rosa Utiyama

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Iara Taborda de Messias-Reason

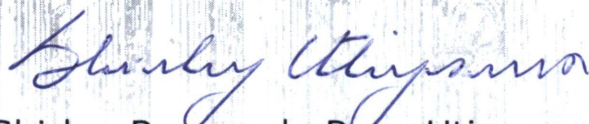
**CURITIBA
2008**

TERMO DE APROVAÇÃO

FLÁVIA RAPHAELA NASS

Título: "Análise sorológica e clínico-laboratorial de auto-anticorpos em familiares de pacientes com doença celíaca"

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre no Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná, área de concentração Análises clínicas.



Profa. Dra. Shirley Ramos da Rosa Utiyama
Orientadora



Profa. Dra. Dorina Barbieri
Universidade de São Paulo



Prof. Dr. Silvio Marques Zanata
Universidade Federal do Paraná

Curitiba, 05 de março de 2008.

AOS MEUS PAIS, meus verdadeiros amigos para todas as horas, pela minha existência, pelo esforço e honestidade em minha educação, por acreditarem em mim e principalmente pelo amor e carinho em todos os momentos.....

Minha eterna gratidão.....

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por sempre guiar meus caminhos e abençoar minha vida;

A todos os familiares de pacientes com doença celíaca que acreditaram em nossos estudos e sem os quais este trabalho não se realizaria;

À Professora Dr^a Shirley Ramos da Rosa Utiyama, pela orientação deste estudo com imensa sabedoria e dedicação, assim como pelo seu incansável esforço de aprimoramento em todas as etapas do mesmo. Agradeço também pela amizade, carinho, e conselhos, os quais certamente ficarão em meu coração e nunca esquecerei;

À Professora Dr^a Iara José Taborda de Messias Reason, pela sabedoria na co-orientação e correção deste trabalho, assim como pelas palavras de fé, otimismo e incentivo;

À Dr^a Lorete M. Kotze, pela seleção e dados dos familiares, além da contribuição com importantes sugestões e correções;

À ACELPAR (Associação dos Celíacos do Paraná) pela valiosa contribuição e disponibilização de dados importantes para este estudo;

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas e à Regina Montrezol, secretária do programa;

À Ângela da Matta, pelas sugestões e contribuição na análise estatística deste estudo;

À Dr^a Flávia Shibata, do Setor de Hormônios do Hospital de Clínicas, pela contribuição na pesquisa dos anticorpos anti-peroxidase;

Ao Prof Marco Randi, Laboratório de Fotomicroscopia, do Setor de Ciências Biológicas;

Ao Farmacêutico Bioquímico Renato Nisihara, por toda ajuda e colaboração desde o início deste trabalho, além da paciência e amizade no decorrer desses anos;

Aos Farmacêuticos Elisandra e Altair, pela cooperação na obtenção das amostras, assim como pela amizade;

Ao Farmacêutico Bioquímico Valmir Mocelim, pela contribuição nos experimentos laboratoriais e sugestões;

Aos técnicos Ery e Luiz, funcionários do Laboratório de Imunopatologia, pelo apoio constante;

As colegas do laboratório Angélica, Paola, Melissa, Vera e Regina, pelos momentos compartilhados e em especial à Isabela, pela ajuda, companheirismo e amizade;

Carinhosamente agradeço ao Eduardo, meu noivo, pelo apoio, paciência e amor durante todos esses anos;

À Andréa, minha irmã, pela amizade, cumplicidade, conselhos e todo amor;

De forma muito especial agradeço aos meus pais, meus exemplos de seres humanos, pela ajuda nas dificuldades, pelos conselhos diante das indecisões, pelas comemorações frente a cada vitória e acima de tudo, pelo eterno amor;

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE GRÁFICOS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS	xiv
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 OBJETIVO GERAL.....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
3 REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1 ASPECTOS GERAIS DA DOENÇA CELÍACA.....	5
3.2 ETIOPATOGENIA DA DOENÇA CELÍACA.....	6
3.2.1 O Glúten e a Doença Celíaca.....	6
3.2.2 Associações Genéticas da Doença Celíaca.....	7
3.2.3 Imunopatogenia da Doença Celíaca.....	8
3.3 ASPECTOS CLÍNICOS DA DOENÇA CELÍACA.....	12
3.4 PREVALÊNCIA DA DOENÇA CELÍACA.....	14
3.5 PATOLOGIA DA DOENÇA CELÍACA.....	16
3.6 DIAGNÓSTICO DA DOENÇA CELÍACA.....	18
3.6.1 Anticorpos Anti-Gliadina (AGA-IgA).....	20
3.6.2 Auto-Anticorpos.....	20
3.6.2.1 Anticorpos anti-reticulina (ARA-IgA).....	21
3.6.2.2 Anticorpos anti-endomísio (EmA-IgA).....	21
3.6.2.3 Anticorpos anti-transglutaminase tecidual (anti-tTG-IgA).....	22
3.7 AUTOIMUNIDADE NA DOENÇA CELÍACA.....	24
3.8 TRATAMENTO DA DOENÇA CELÍACA.....	26
3.9 FAMILIARES DE PACIENTES CELÍACOS.....	27
3.9.1 Sorologia em Familiares de Pacientes com Doença Celíaca.....	28

4	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4.1	CASUÍSTICA.....	32
4.1.1	Familiares de Celíacos - Etapa I.....	32
4.1.2	Familiares de Celíacos - Etapa II.....	33
4.1.3	Não Familiares de Celíacos.....	34
4.2	METODOLOGIA.....	35
4.2.1	Obtenção das Amostras.....	35
4.2.2	Pesquisa de Auto-Anticorpos.....	35
4.2.3	Anticorpos Anti-Endomísio (EmA-IgA).....	36
4.2.3.1	Preparo do cordão umbilical humano.....	36
4.2.3.2	Reação de imunofluorescência indireta para pesquisa do EmA-IgA.....	37
4.2.4	Anticorpos Anti-Transglutaminase (anti-tTG-IgA).....	38
4.2.4.1	Validação do ensaio.....	40
4.2.5	Pesquisa de Outros Auto-Anticorpos.....	40
4.2.5.1	Preparo dos substratos.....	40
4.2.5.2	Reação de imunofluorescência indireta para a pesquisa de auto-anticorpos.....	41
4.2.6	Determinação da Concentração Sérica de IgA.....	45
4.2.7	Correlação Clínico-Laboratorial.....	46
4.2.8	Análise Estatística.....	46
5	RESULTADOS.....	47
5.1	ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍSIO E ANTI-TRANSGLUTAMINASE TECIDUAL.....	47
5.1.1	Positividade Total do EmA-IgA e anti-tTG-IgA em Familiares de Celíacos e Não-familiares.....	47
5.1.2	Positividade do EmA-IgA e anti-tTG-IgA nos Diferentes Grupos de Familiares em Estudo.....	47
5.1.2.1	Familiares da etapa I.....	47
5.1.2.2	Familiares da etapa II.....	48
5.1.2.3	Familiares da etapa II – recoleta.....	49
5.1.2.4	Familiares da etapa II – novos familiares.....	50
5.1.3	Distribuição dos Títulos de EmA-IgA e anti-tTG-IgA nos Grupos de Familiares em Estudo.....	50

5.1.4	Análise da Concordância entre as Metodologias Utilizadas no Estudo...	52
5.1.4.1	Familiares da etapa I.....	52
5.1.4.2	Familiares da etapa II.....	52
5.1.4.3	Familiares da etapa II – recoleta e novos familiares.....	54
5.1.5	Análise do Desempenho dos <i>kits</i> de ELISA empregados na Identificação do anti-tTG-IgA.....	56
5.1.6	Positividade do EmA-IgA e anti-tTG-IgA nos Familiares de Celíacos em Relação ao Sexo.....	57
5.1.7	Positividade do EmA-IgA e anti-tTG-IgA nos Familiares de Celíacos em Relação à Faixa Etária.....	59
5.1.8	Positividade do EmA-IgA e anti-tTG-IgA nos Familiares de Celíacos em Relação ao Grau de Parentesco.....	60
5.1.9	Análise da Evolução Sorológica do EmA-IgA e anti-tTG-IgA em Familiares no Período de 6-7 anos.....	61
5.1.9.1	Evolução no perfil sorológico dos familiares em estudo (N=91).....	62
5.1.10	Correlação Clínico-Laboratorial nos Familiares de Celíacos em Relação ao EmA-IgA e anti-tTG-IgA.....	64
5.2	ANÁLISE PARA OS DEMAIS AUTO-ANTICORPOS.....	65
5.2.1	Positividade Total dos Auto-Anticorpos em Familiares de Celíacos e Não-Familiares.....	65
5.2.2	Positividade Total dos Auto-Anticorpos nos Grupos de Familiares de Pacientes Celíacos em Estudo.....	65
5.2.3	Positividade dos Auto-Anticorpos AAM, CGP, AML, LKM e AMA nos Familiares de Celíacos.....	66
5.2.4	Positividade dos Auto-Anticorpos nos Familiares de Celíacos em Relação ao Sexo.....	67
5.2.5	Positividade dos Auto-Anticorpos nos Familiares de Celíacos em Relação à Faixa Etária.....	68
5.2.6	Positividade dos Auto-Anticorpos nos Familiares de Celíacos em Relação ao Grau de Parentesco.....	70
5.2.7	Evolução Sorológica dos Auto-Anticorpos em Familiares de Celíacos no Período de 6 a 7 anos.....	71
6	DISCUSSÃO	74

6.1	ANÁLISE DA POSITIVIDADE DO EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DE CELÍACOS E NÃO FAMILIARES.....	75
6.2	ANÁLISE DO DESEMPENHO DOS <i>KITS</i> DE ANTI-tTG-IgA.....	77
6.3	ANÁLISE DA EVOLUÇÃO SOROLÓGICA E CORRELAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NOS FAMILIARES DE CELÍACOS.....	81
6.4	ANÁLISE DA POSITIVIDADE DO EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM RELAÇÃO AOS DADOS DEMOGRÁFICOS.....	84
6.5	ANÁLISE DA POSITIVIDADE DO EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM RELAÇÃO AO GRAU DE PARENTESCO.....	86
6.6	ANÁLISE DA POSITIVIDADE PARA OS DEMAIS AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS.....	87
7	CONCLUSÕES.....	92
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	94
	APÊNDICES.....	111
	ANEXOS.....	132

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1	SUBSTRATOS DAS REAÇÕES DE IFI PARA PESQUISA DE AUTO-ANTICORPOS.....	41
QUADRO 2	EVOLUÇÃO SOROLÓGICA DOS FAMILIARES EM ESTUDO.....	63
QUADRO 3	EVOLUÇÃO SOROLÓGICA DE AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS.....	73

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	RESPOSTA IMUNOLÓGICA NA DC.....	10
FIGURA 2	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA DC: O <i>ICEBERG</i>	12
FIGURA 3	CORTE HISTOLÓGICO DE MUCOSA DUODENAL.....	17
FIGURA 4	CRIOSTATO (REICHERT HISTOSTAT, USA).....	36
FIGURA 5	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA O ANTICORPO ANTI-ENDOMÍSIO.....	37
FIGURA 6	REAÇÃO DE ELISA PARA O ANTI-tTG-IgA.....	39
FIGURA 7	PREPARO DOS SUBSTRATOS DE TECIDO MURINO.....	42
FIGURA 8	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA O ANTICORPO ANTI-MÚSCULO LISO.....	43
FIGURA 9	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA O ANTICORPO ANTI-MITOCONDRIAL.....	43
FIGURA 10	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA O ANTICORPO ANTI-MICROSSOMAL DE FÍGADO E RIM.....	44
FIGURA 11	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA O ANTICORPO ANTI-CÉLULA GÁSTRICA PARIETAL.....	44
FIGURA 12	IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA O ANTICORPO ANTI-MICROSSOMAL TIREOIDIANO.....	44
FIGURA 13	TURBIDÍMETRO DADE BEHERING, USA.....	45
FLUXOGRAMA 1	DISTRIBUIÇÃO DOS FAMILIARES DE CELÍACOS.....	34

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	DADOS DEMOGRÁFICOS DOS FAMILIARES DAS ETAPAS I E II E NÃO-FAMILIARES.....	33
TABELA 2	RESULTADO DAS AMOSTRAS DE SOROS PARA O ANTI-TTG-IGA DE ACORDO COM AS UNIDADES OBTIDAS.....	39
TABELA 3	POSITIVIDADE DO EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM RELAÇÃO ÀS CONCENTRAÇÕES DE ANTICORPOS.....	51
TABELA 4	FREQÜÊNCIA DE AUTO-ANTICORPOS EM FAMILIARES DE CELÍACOS E NÃO-FAMILIARES.....	67

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	POSITIVIDADE TOTAL DE EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM FAMILIARES DE CELÍACOS E NÃO-FAMILIARES.....	48
GRÁFICO 2	POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM FAMILIARES DA ETAPA I.....	48
GRÁFICO 3	POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM FAMILIARES DA ETAPA II.....	49
GRÁFICO 4	POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DA RECOLETA.....	50
GRÁFICO 5	POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS NOVOS FAMILIARES.....	51
GRÁFICO 6	CONCORDÂNCIA ENTRE EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DA ETAPA I (N=186).....	52
GRÁFICO 7	ANÁLISE DA CONCORDÂNCIA E DISCORDÂNCIA PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA ENTRE OS FAMILIARES DA ETAPA I.....	53
GRÁFICO 8	CONCORDÂNCIA ENTRE EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DA ETAPA II (N=138).....	53
GRÁFICO 9	ANÁLISE DA CONCORDÂNCIA E DISCORDÂNCIA PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA ENTRE OS FAMILIARES DA ETAPA II.....	54
GRÁFICO 10	CONCORDÂNCIA ENTRE EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DA RECOLETA (N=91).....	54

GRÁFICO 11	CONCORDÂNCIA ENTRE EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA ENTRE OS NOVOS FAMILIARES (N=47).....	55
GRÁFICO 12	ANÁLISE DA CONCORDÂNCIA E DISCORDÂNCIA PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA ENTRE OS FAMILIARES DA RECOLETA.....	55
GRÁFICO 13	ANÁLISE DA CONCORDÂNCIA E DISCORDÂNCIA PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA ENTRE OS NOVOS FAMILIARES.....	55
GRÁFICO 14	CORRELAÇÃO EmA-IgA vs ANTI-tTG-IgA EM FAMILIARES DE CELÍACOS – ETAPA I.....	56
GRÁFICO 15	CORRELAÇÃO EmA-IgA vs ANTI-tTG-IgA EM FAMILIARES DE CELÍACOS – ETAPA II.....	57
GRÁFICO 16	POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DE CELÍACOS EM RELAÇÃO AO SEXO.....	58
GRÁFICO 17	PROPORÇÃO DE FAMILIARES POSITIVOS PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM RELAÇÃO AO SEXO.....	58
GRÁFICO 18	POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DE CELÍACOS EM RELAÇÃO À FAIXA ETÁRIA.....	59
GRÁFICO 19	POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DE CELÍACOS EM RELAÇÃO AO GRAU DE PARENTESCO.....	60
GRÁFICO 20	POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DAS ETAPAS I E II EM RELAÇÃO AO PARENTESCO..	61
GRÁFICO 21	EVOLUÇÃO NA POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM FAMILIARES NO PERÍODO DE 6-7 ANOS.....	62
GRÁFICO 22	POSITIVIDADE TOTAL DOS DEMAIS AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS E NÃO-FAMILIARES.....	65
GRÁFICO 23	POSITIVIDADE TOTAL DOS AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS	66
GRÁFICO 24	POSITIVIDADE PARA OS AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS EM RELAÇÃO AO SEXO.....	68
GRÁFICO 25	PROPORÇÃO DE FAMILIARES POSITIVOS PARA OS AUTO-ANTICORPOS EM RELAÇÃO AO SEXO.....	69
GRÁFICO 26	POSITIVIDADE DE AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS EM RELAÇÃO À FAIXA ETÁRIA.....	69
GRÁFICO 27	POSITIVIDADE PARA OS AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS EM RELAÇÃO AO GRAU DE PARENTESCO.....	70

GRÁFICO 28	POSITIVIDADE DE AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS DAS ETAPAS I E II EM RELAÇÃO AO PARENTESCO.....	71
GRÁFICO 29	EVOLUÇÃO NA POSITIVIDADE PARA OS AUTO-ANTICORPOS EM FAMILIARES NO PERÍODO DE 6-7 ANOS.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS

AAM	Anticorpo anti-microssomal tireoideo
ACELPAR	Associação de Celíacos da Paraná
AGA-IgA	Anticorpo anti-gliadina da classe IgA
AGA-IgG	Anticorpo anti-gliadina da classe IgG
AMA	Anticorpo anti-mitocôndria
AML	Anticorpo anti-músculo liso
APC	Células apresentadoras de antígenos
ARA-IgA	Anticorpo anti-reticulina da classe IgA
CGP	Anticorpo anti-célula gástrica parietal
DAI	Doenças auto-imunes
DC	Doença celíaca
ELISA	Ensaio de imunoadsorção ligado à enzima
EmA-IgA	Anticorpo anti-endomísio da classe IgA
EmA-IgG	Anticorpo anti-endomísio da classe IgG
ESPGAN	Sociedade Européia de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição
HC-UFPR	Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná
HLA	Antígeno leucocitário humano
ICA	Anticorpo anticélulas das ilhotas
IFI	Imunofluorescência indireta
IFN- γ	Interferon gama
IL-4	Interleucina 4
IL-15	Interleucina 15
IgA	Imunoglobulina do tipo A
IgG	Imunoglobulina do tipo G
LES	Lúpus eritematoso sistêmico
LIE	Linfócitos intra-epiteliais
LKM	Anticorpo anti-microssomal de fígado e rim
MMPs	Metaloproteinases
NK	<i>Natural killer</i>
PR	Paraná
TCR	Receptor de células T
TGF- β	Fator de transformação do crescimento β
TMB	Tetrametilbenzidina
TNF- α	Fator de necrose tumoral α
tTG	Transglutaminase tecidual
tTG-IgA	Anticorpo anti-transglutaminase da classe IgA
tTG-IgG	Anticorpo anti-transglutaminase da classe IgG

RESUMO

A doença celíaca (DC) consiste em uma enteropatia auto-imune decorrente da resposta anormal ao glúten em indivíduos geneticamente susceptíveis, com prevalência elevada (8%-18%) entre familiares de pacientes celíacos. O presente estudo teve por objetivo realizar um amplo perfil de auto-anticorpos em familiares de celíacos do sul do Brasil, visando detectar formas monossintomáticas, silenciosas e latentes da DC e outras doenças auto-imunes (DAI) nesses indivíduos, bem como associá-las com o grau de parentesco, dados demográficos e clínicos dos mesmos. A evolução sorológica por um período de 6-7 anos, bem como o desempenho de diferentes kits de ELISA para detecção dos anticorpos anti-transglutaminase tecidual (anti-tTG-IgA) foram também avaliados. Foram analisadas amostras de soro de 233 familiares (100♂ e 133♀; 2-83 anos), sendo 186 coletadas entre 1997-2000 (etapa I) e 138 entre 2006-2007 (etapa II= 91 da evolução sorológica e 47 novos familiares). Como grupo de comparação foram avaliados 100 indivíduos sem parentesco com celíacos. Os anticorpos anti-endomísio (EmA-IgA), anti-músculo liso (AML), anti-mitocôndria (AMA), anti-microsomal de fígado e rim (LKM), anti-célula gástrica parietal (CGP) e anti-microsomal tireoidiano (AAM) foram testados por imunofluorescência indireta (IFI), e o anti-tTG-IgA por ELISA. Os resultados obtidos mostraram aumento significativo do EmA-IgA/anti-tTG-IgA (22,32%), bem como dos demais auto-anticorpos (10,3%) nos familiares de celíacos em relação aos não familiares ($p < 0,001$ e $p = 0,0064$, respectivamente). A positividade dos anticorpos foi mais elevada no sexo feminino, com proporções significantes em relação ao masculino, tanto para o EmA-IgA/anti-tTG-IgA (2,4:1 e 2,7:1; $p = 0,039$ e $p = 0,089$) na etapa II, como para os demais auto-anticorpos (4:1 a 3:1; $p \leq 0,041$) em ambas as etapas. A elevada frequência dos anticorpos nos familiares de 1º e 2º grau, com destaque para o EmA-IgA/anti-tTG-IgA em irmãos (~18,81%), evidencia o risco para o desenvolvimento de DC e outras DAI nesses indivíduos. A distribuição do EmA-IgA/anti-tTG-IgA por faixas etárias sugere ainda que a DC pode ocorrer em qualquer idade nos familiares, com tendência à significância ($p = 0,0657$) nos novos familiares acima de 60 anos, similar aos demais auto-anticorpos, que também predominaram nessa faixa etária (>60 anos; $p = 0,083$) nos familiares da etapa II. A concordância significativamente superior entre o EmA-IgA/anti-tTG-IgA na etapa II ($p = 0,0035$), aliada à forte correlação entre os métodos ($r = 0,86196$), demonstrou melhor desempenho para os kits de ELISA com tTG humana. A análise da evolução sorológica após 6-7 anos no grupo de 91 familiares indicou tanto a necessidade de mais de uma triagem nesses indivíduos, assim como a falta de adesão ao tratamento ao destacar altos títulos de EmA-IgA/anti-tTG-IgA entre familiares positivos desde a etapa I. Dentre os outros auto-anticorpos avaliados, demonstrou-se frequência significativamente aumentada para o AAM e o anti-CGP nas 2 etapas do estudo ($p \leq 0,0117$ e $p \leq 0,0635$, respectivamente). Até o momento, confirmou-se o diagnóstico clínico em 14 familiares, sendo 13 para a DC e 1 para gastrite auto-imune. Concluindo, esses resultados ressaltam a importante predisposição ao desenvolvimento de DC e outras DAI em familiares de celíacos e o valor da triagem sorológica como instrumento de rastreamento dessas afecções.

ABSTRACT

Celiac disease (CD) is an autoimmune enteropathy resulting from an abnormal response to gluten in genetically susceptible individuals with high prevalence (8%-18%) among relatives of celiac patients. In the present study a broad spectrum of autoantibodies was assessed in relatives of celiac patients from southern Brazil, with the aim to detect monosymptomatic, silent and latent forms of CD and other autoimmune diseases (AID) as well as to associate it with the degree of parentage and with demographic and clinical data of the individuals. A serological follow up of a period of 6-7 years and the performance of different ELISA kits to detect anti-tissue transglutaminase antibodies (IgA-tTG) were also evaluated. Serum samples of 233 relatives (100♂ and 133♀; 2-83 years old), being 186 collected between 1997-2000 (phase I) and 138 between 2006-2007 (phase II= 91 of the follow up group and 47 new relatives) were analysed. As a comparison group, 100 unrelated individuals from CD patients were also evaluated. Anti-endomysial (IgA-EmA), anti-smooth muscle (SMA), antimitochondrial (AMA), anti-liver-kidney microsome (LKM), anti-parietal cell (PCA) and anti-thyroid microsome (ATM) antibodies were tested by indirect immunofluorescence, and IgA-tTG by ELISA. The results showed significant increase of IgA-EmA/IgA-tTG (22.32%) and of the others auto-antibodies (10.3%) in relatives when compared to the non-relatives individuals ($p < 0.001$; $p = 0.0064$, respectively). The positivity of antibodies was higher in the female sex, with a female/male proportion of 2.4:1 and 2.7:1 for IgA-EmA/IgA-tTG in phase II ($p = 0.039$ and $p = 0.089$), and 4:1 to 3:1 for other auto-antibodies in both phases ($p \leq 0.041$). The high frequency of antibodies in 1st and 2nd degree relatives, specially of IgA-EmA/IgA-tTG among siblings (~18.81%), highlights the risk to the development of CD and others AID in these individuals. The distribution of the IgA-EmA/IgA-tTG by age also suggests that CD can occur at any age in celiac relatives, with trend to the significance ($p = 0.0657$) in new relatives older than 60 years, similarly to the other auto-antibodies at this age group in relatives of phase II (>60 years; $p = 0.083$). The increased concordance between IgA-EmA/IgA-tTG in phase II ($p = 0.0035$), added to the high correlation between the methods ($r = 0.86196$), demonstrated a best performance for ELISA kits with human tTG. The serological follow up of 6-7 years in 91 relatives indicated the importance of more than one screening in these individuals, as well as lack of adhesion to the treatment, considering the high titres of IgA-EmA/IgA-tTG in relatives positive since phase I. Amongst the other evaluated auto-antibodies, an increased frequency for the anti-ATM and anti-PCA in the 2 phases of the study ($p \leq 0.0117$ and $p \leq 0.0635$, respectively) was detected. At the present, clinical diagnosis was confirmed in 14 relatives, 13 for CD and one for auto-immune gastritis. In conclusion, these results emphasize the predisposition of celiac relatives to develop CD and other AID and the value of serological screening as an instrument for identifying these affections.

1 INTRODUÇÃO

A doença celíaca (DC) é considerada enteropatia imuno-mediada conseqüente à ingestão do glúten do trigo, centeio, cevada (e aveia), em indivíduos geneticamente susceptíveis, e afeta principalmente o trato gastrointestinal. Caracteriza-se pela inflamação crônica da mucosa do intestino delgado que pode resultar em atrofia das vilosidades intestinais, levando a má absorção e aparecimento de sintomas clássicos como diarreia, distensão e dor abdominal. Atualmente a única possibilidade terapêutica é a exclusão total e permanente do glúten mencionado, por toda a vida do paciente (KAGNOFF, 2005).

Estudos a nível mundial têm demonstrado que a prevalência da DC é consideravelmente maior do que se presumia, variando entre 1:100 a 1:300 indivíduos na população adulta saudável da maior parte do mundo (BAI, 2005). No Brasil, em decorrência da alta e variada miscigenação racial observada nas diferentes regiões do país, foram descritas diferentes prevalências entre doadores de sangue, sendo detectada a ocorrência de 1:681 na população de Brasília (GANDOLFI et al., 2000), 1:417 na de Curitiba (PEREIRA et al., 2006), 1:273 na de Ribeirão Preto (MELO et al., 2006) e 1:214 na de São Paulo (OLIVEIRA et al., 2007).

Uma mudança significativa foi observada no conceito da DC a partir da utilização de marcadores sorológicos de alta sensibilidade e especificidade, tanto no que se refere ao conhecimento de sua história natural como no de sua prevalência. Estudos têm revelado, de forma crescente, a aplicabilidade desses testes na seleção de pacientes para a posterior realização da biópsia intestinal, visando confirmação do diagnóstico. Recomenda-se que esta avaliação seja conduzida em indivíduos assintomáticos de possíveis grupos de risco, como familiares de celíacos (FASANO et al., 2003; HÖGBERG et al., 2003), pacientes com síndrome de Down (NISHIHARA et al., 2005) e pacientes com outras doenças auto-imunes (DAI) (MÄKI et al., 2003).

O anticorpo anti-endomísio (EmA-IgA) é considerado o marcador de eleição para a triagem da DC, pelo elevado grau de sensibilidade e especificidade que apresenta nas várias fases da doença (90-100%), de acordo com estudos realizados em diferentes populações (KOTZE et al., 2001a). A identificação da transglutaminase tecidual (tTG) como principal antígeno reconhecido pelo EmA, assim como o importante papel dessa enzima na patogênese da DC, conduziram ao

desenvolvimento de métodos imunoenzimáticos (ELISA) para detecção de anticorpos anti-tTG-IgA, utilizando inicialmente como antígeno a tTG extraída de fígado de cobaia (TRONCONE et al., 1999). A disponibilidade da tTG humana recombinante melhorou o desempenho dessas análises, atingindo elevada sensibilidade e especificidade (99%; ~100%, respectivamente) (TESEI et al., 2003).

A DC apresenta bases genéticas, requerendo a presença de alelos HLA específicos que codificam para DQ2 e DQ8 (GREEN; JABRI, 2003a). Sendo assim, a doença ocorre mais freqüentemente em familiares de celíacos (FASANO et al., 2003). Estudos evidenciam que, independente dos familiares serem de primeiro ou segundo grau, constituem o grupo de maior risco para o desenvolvimento da afecção, podendo-se detectar os anticorpos marcadores até mesmo na ausência de sintomas (DOLINSEK et al., 2004; DUBE et al., 2005;).

De acordo com DUBE et al. (2005), a prevalência da DC varia entre 2,8%-17,2% em familiares de primeiro grau e entre 2,6%-19,5% em familiares de segundo grau. Corroborando esse aspecto, pesquisas têm demonstrado que o risco estimado para DC em famílias com múltiplos afetados é aproximadamente três vezes maior, sendo detectada uma positividade de 21,3%-26,3% entre irmãos e 12,9% entre pais (BOOK; ZONE; NEUHAUSEN, 2003; GUDJONSDOTTIR et al., 2004). Ainda nesse contexto, tem-se revelado a importância do seguimento sorológico nesses indivíduos, visto que muitos familiares negativos em um primeiro momento podem vir a positivar no decorrer de alguns anos, sugerindo-se que uma única avaliação seria insuficiente para detectar todos aqueles que poderão apresentar a doença (NIVELONI et al., 2000; GOLDBERG et al., 2007).

Considerando que o atraso no diagnóstico para DC pode estar associado a um padrão aumentado de complicações, tais como osteoporose, anemia, infertilidade e aparecimento de outras DAI, a triagem sorológica em familiares de pacientes com DC constitui-se num importante instrumento para diagnóstico precoce da doença nesses indivíduos (GUDJONSDOTTIR et al., 2004). Ainda são escassos relatos envolvendo familiares de celíacos da população brasileira, especialmente aqueles voltados ao seguimento sorológico e à avaliação da ocorrência de novos casos nas famílias, assim como pesquisas relacionadas ao aparecimento de outras DAI nesses indivíduos. Tais considerações justificam os objetivos do presente estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Realizar uma triagem sorológica, com amplo perfil de auto-anticorpos, para doença celíaca (DC) e outras doenças auto-imunes (DAI) em familiares de pacientes celíacos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar a presença de anticorpos anti-endomísio (EmA-IgA) e anti-transglutaminase (anti-tTG-IgA) em familiares de pacientes com DC, buscando detectar formas monossintomáticas, silenciosas ou latentes da doença nesses indivíduos.

- Avaliar a prevalência desses anticorpos em familiares de celíacos de primeiro e segundo grau, como também em relação aos dados demográficos desses indivíduos.

- Analisar a evolução sorológica no período de 6-7 anos de um grupo de familiares.

- Investigar a ocorrência de novos casos de DC em outros membros das famílias em estudo.

- Verificar o desempenho dos *kits* de ELISA para detecção dos anticorpos anti-tTG-IgA utilizando antígeno de fígado de cobaia (*guinea pig*) ou antígeno humano.

- Investigar a presença dos auto-anticorpos anti-músculo liso, anti-mitocôndria, anti-microsomal de fígado e rim, anti-célula gástrica parietal e anti-microsomal tireoidiano em familiares de pacientes com DC.

- Correlacionar os achados positivos de auto-anticorpos com dados clínicos visando diagnóstico dos indivíduos em estudo.
- Comparar a frequência dos auto-anticorpos nos familiares de celíacos com um grupo composto por indivíduos sem parentesco com pacientes celíacos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ASPECTOS GERAIS DA DOENÇA CELÍACA

A doença celíaca (DC), conhecida também como *sprue* celíaco, foi reconhecida inicialmente na segunda metade do século II por Aretaeus de Capadocia, sendo descrita como uma síndrome de má absorção. Verificou-se que indivíduos desnutridos pioravam diante da ingestão de trigo, um dos alimentos base da alimentação da humanidade (PAVELEY, 1989). A palavra grega *Koiliakos*, que significa “os que sofrem do intestino”, foi empregada para identificar os pacientes, originando assim o termo celíaco.

No século XIX, GEE¹, citado por AURICCHIO e TRONCONE (1996), fez a segunda descrição clássica dessa afecção, relatando-a como uma indigestão crônica encontrada em pessoas de todas as idades, especialmente em crianças entre 1 e 5 anos, cujos sintomas clássicos correspondiam à diarreia e incapacidade de desenvolvimento. Em 1950 DICKE², um pediatra holandês citado por SCHUPPAN (2000), fez a associação entre a diminuição da incidência do *sprue* celíaco durante a Segunda Guerra Mundial, com o período em que o pão esteve escasso na Europa, comprovando assim sua teoria elucidativa do papel do glúten na provocação da doença, bem como os efeitos deletérios de certos tipos de cereais (BERGE-HENEGOUWEN; MULDER, 1993).

As anormalidades histopatológicas encontradas em biópsias de pacientes celíacos, tais como atrofia de vilosidades e denso infiltrado de células inflamatórias crônicas foram descritas por PAULLEY, em 1954. Posteriormente, o surgimento da biópsia intestinal peroral revolucionou o diagnóstico da DC, comprovando as características histológicas clássicas e facilitando a obtenção de amostras de mucosa intestinal (DEWAR; CICLITIRA, 2005).

¹GEE, S. On the celiac affection. St. Bartholomeus Hosp Rep, v. 24, p. 17-20, 1888.

²DICKE, W. K. **Investigation of the harmful effects of certain types of cereal on patients with celiac disease**. Netherlands, 1950. (Doctoral thesis). University of Utrecht.

3.2 ETIOPATOGENIA DA DOENÇA CELÍACA

Certamente a DC é uma doença complexa que resulta de uma associação intrincada entre vários fatores imunológicos, genéticos e ambientais, com muitos aspectos ainda a serem elucidados (HAMER, 2005).

3.2.1 O Glúten e a Doença Celíaca

Glúten é a fração protéica que se encontra combinada com o amido na semente de muitos cereais e pode ser fracionado em gluteninas (insolúveis em etanol) e prolaminas (solúveis em etanol), sendo essa última predominantemente a porção tóxica para os pacientes celíacos (KOTZE, 2006a). Em geral as prolaminas representam 50% da quantidade total do glúten e diferem de acordo com o tipo de cereal, sendo conhecidas como gliadina no trigo, secalina no centeio, hordeína na cevada e avenina na aveia (ANAND; PIRIS; TRUELOVE, 1978). Estudos com as prolaminas mais solúveis são comumente realizados, porém dados atuais sugerem que as gluteninas também podem estar envolvidas com o dano na mucosa intestinal (SCHUPPAN, 2000).

Uma propriedade comum entre as prolaminas do trigo, centeio e cevada consiste no alto conteúdo em glutamina (>30%) e prolina (15%), enquanto as prolaminas não tóxicas do arroz e do milho apresentam baixo teor dos mesmos, predominando os aminoácidos alanina e leucina (SCHUPPAN, 2000).

O alto conteúdo em prolina garante a essas proteínas relativa resistência à digestão proteolítica por enzimas gástricas, pancreáticas e intestinais (SOLLID; JABRI, 2005). O exato mecanismo pelo qual ocorre sensibilização inicial às frações tóxicas ainda não é conhecido. No entanto, sabe-se que em uma resposta dose-dependente estas proteínas induzem um processo inflamatório no intestino e, quando retiradas, tem-se a regressão do mesmo (MARSH, 1992). A aveia possui uma composição intermediária de glutamina e prolina, tendo por isso a toxicidade de suas prolaminas questionada, sendo prejudicial somente uma ingestão excessiva deste cereal (VADER et al., 2002).

A ingestão diária máxima de glúten permitida ao paciente celíaco constitui um tema polêmico. Além desse fato, deve-se levar em conta a sensibilidade individual

ao glúten, assim como outros fatores que possam iniciar ou manter a doença. Um consumo diário menor que 50 mg de glúten, comparado a uma média de 13 g na maioria dos países ocidentais, é considerado mais seguro por muitos especialistas. Além do glúten alguns fatores poderiam contribuir para o desencadeamento da doença, tais como redução do tempo de amamentação, infecções virais promotoras da secreção de interferon- α e o tabagismo (GREEN, JABRI; 2003a). Contudo, a interação dos fatores ambientais na DC ainda é pobremente compreendida.

3.2.2 Associações Genéticas da Doença Celíaca

A genética possui um importante papel na patogênese da DC, com estudos indicando 5-15% de prevalência de múltiplos casos da doença dentro de famílias afetadas, e 70-75% de concordância para a DC entre gêmeos monozigóticos (GRECO et al., 2002), comparado com 20% entre gêmeos dizigóticos (CLOT; BABRON, 2000).

A DC é uma afecção poligênica associada com o HLA-DQ2, codificado pelos alelos DQA1*05/DQB1*02, ou com o HLA-DQ8, codificado pelos alelos DQA1*0301/DQB1*0302. O HLA-DQ2 está presente em mais de 90% das pessoas com DC, entretanto, a expressão dessas moléculas HLA-DQ2 ou HLA-DQ8 é necessária, mas não suficiente para o desenvolvimento da doença, visto que cerca de 20% da população sadia carrega o mesmo gene (GREEN; JABRI, 2003a).

Apesar dos inúmeros avanços nos conhecimentos da imunopatogenia da DC, ainda não se explica exatamente quais pessoas com o alelo DQ2 vão desenvolver a doença e por que a maioria dos indivíduos com tal marcador não a desenvolvem (ALDERSLEY et al., 2000). A tipagem HLA para o DQ2 ou DQ8 torna-se útil especialmente em pacientes com resultados duvidosos de biópsias, com testes sorológicos negativos, ou para aqueles que já estão em uma dieta isenta de glúten. Pessoas que não expressam esses alelos são improváveis candidatos a desenvolverem DC (KAUKINEN et al., 2002a; BONAMICO et al., 2006).

Aliado a esses aspectos tem-se a afirmação de diferentes autores de que a DC não resulta do defeito de um só gene, e sim do efeito combinado de diferentes produtos gênicos, normalmente funcionantes, aliado à forte influência dos fatores ambientais (HORVATH; MEHTA, 2000; MOLBERG; Mc ADAM; SOLLID, 2000). A

predisposição genética para DC envolve genes HLA e não-HLA. A região cromossômica não-HLA mais consistentemente ligada com esta enteropatia é a localizada no braço longo do cromossomo 5, 5q31-33 (LIU et al., 2002). Outras regiões potencialmente interessantes para susceptibilidade encontram-se no cromossoma 11q (NALUAI et al., 2001).

Segundo SOLLID (2000), muitos genes predisponentes à DC ainda estão para ser identificados. A existência de um verdadeiro espectro de estágios patológicos observados na DC é compatível com sua natureza poligênica, visto que diferentes genes de susceptibilidade podem contribuir nos diferentes estágios para o desenvolvimento final da doença. É possível que esses aspectos estejam diretamente envolvidos na diversidade de expressão da doença tanto entre indivíduos não relacionados, assim como dentro de uma mesma família. A heterogeneidade clínica, histológica e imunológica, além da concomitância ou não com outras DAI, observada tanto nos pacientes como nos familiares de celíacos, reforçam tais observações e salientam a força da influência genética na doença e a importância de se estudar esses indivíduos (COLLIN; KAUKINEN; MÄKI, 1999; UTIYAMA; KOTZE; MESSIAS-REASON, 2005).

3.2.3 Imunopatogenia da Doença Celíaca

Nos últimos anos obteve-se significativo progresso na identificação do mecanismo de toxicidade na DC. Nesse processo vários passos importantes puderam ser identificados. No entanto, o mecanismo pelo qual o glúten exerce sua ação tóxica ainda não se encontra totalmente esclarecido. A presença de células T produtoras de citocinas na lesão celíaca ativa, e a estreita associação com antígenos HLA, sugerem que o sistema imunológico celular tem importante papel no desenvolvimento da doença (SOLLID; THORSBY, 1993).

A DC está associada à resposta auto-imune altamente específica ao endomísio, que faz parte da estrutura da matriz celular do tecido conjuntivo do músculo liso, sendo que o antígeno endomisial foi recentemente identificado como a transglutaminase tecidual (tTG) (DIETERICH et al., 1997). A tTG está largamente distribuída nos órgãos humanos, sendo secretada por vários tipos de células. Sua função ainda não é bem definida, mas há evidências de que a tTG possa ter um

papel importante na formação e estabilização da matriz extracelular. Esta enzima pertence à família das enzimas dependentes de cálcio e catalisa a ligação cruzada entre os resíduos de glutamina e lisina em substratos protéicos (ROMALDINI; BARBIERI, 1999).

Peptídeos imunogênicos específicos, presentes exclusivamente nas proteínas do glúten da dieta, são responsáveis pelo desencadeamento da DC. Esses peptídeos são resistentes à digestão por enzimas gástricas e pancreáticas, e penetram na lâmina própria no intestino delgado, presumivelmente após algumas mudanças ocorridas nas junções firmes intercelulares que resultam no aumento da permeabilidade intestinal (SHAN et al., 2002).

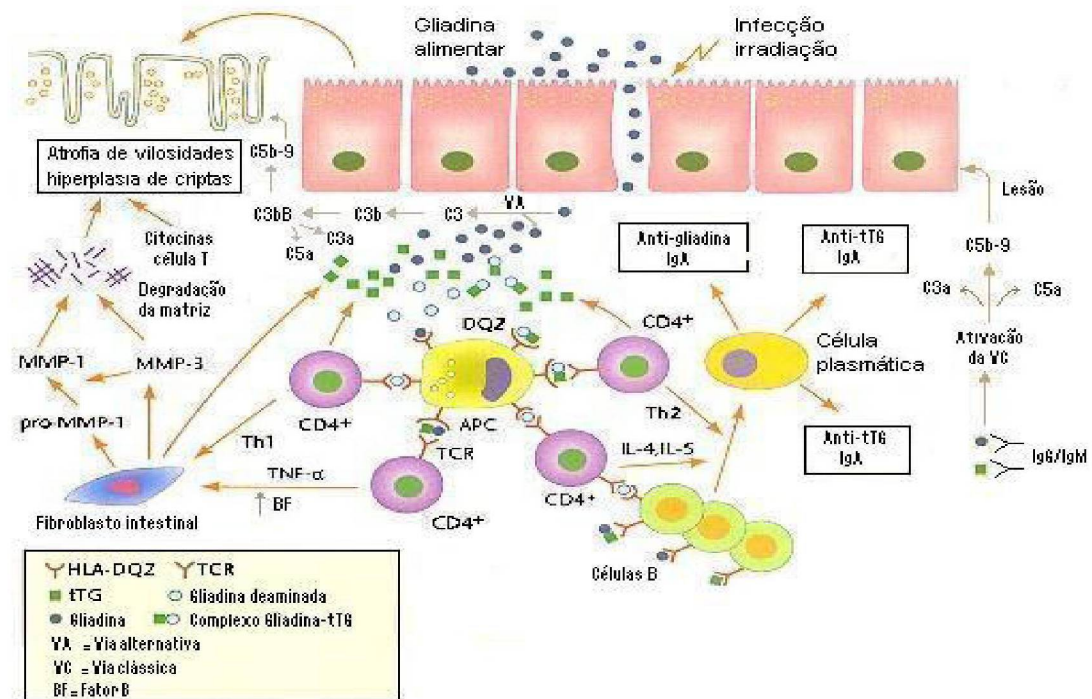
A gliadina, a fração deletéria do glúten, é rica em resíduos de glutamina e possui poucos resíduos de lisina, sendo excelente substrato para a tTG. Os resíduos de glutamina são convertidos em moléculas de ácido glutâmico, carregadas negativamente, através de um processo de desaminação mediado pela tTG. Esses resíduos, devido à sua carga negativa, são eficientemente reconhecidos pelas células apresentadoras de antígenos (APC) que expressam HLA-DQ2 ou DQ8, provocando, desse modo, a reação auto-imune da DC (BRUCE; BJARNASON; PETERS, 1985).

A subsequente infiltração da lâmina própria por linfócitos T $CD4^+$ e do epitélio intestinal por células T $CD8^+$ e $CD4^+CD8^-$ é característica da DC na sua forma ativa (SHAN et al., 2002). Células T $CD4^+$, na lâmina própria, reconhecem predominantemente os peptídeos de glúten desaminados apresentados por moléculas HLA-DQ2 ou DQ8 presentes na superfície das APC, tais como células B, macrófagos e células dendríticas, com consequente secreção de citocinas (SCHUPPAN; DIETERICH; RIECKEN, 1998).

As citocinas da resposta Th2 direcionam a ativação e expansão clonal de células B para a produção de anticorpos IgA e IgG contra a gliadina, tTG e complexos gliadina-tTG, enquanto as de resposta Th1 promovem a remodelação do tecido e vários mecanismos inflamatórios, incluindo a secreção de metaloproteinases da matriz (MMP) (PENDER et al., 1997). As células de resposta Th1 liberam primeiramente citocinas conhecidas como fator de necrose tumoral ($TNF-\alpha$), que estimulam fibroblastos intestinais a secretarem MMP-1 e MMP-3, que causam a destruição da mucosa pela dissolução do tecido conjuntivo (DAUM et al.,

1999). A MMP-3 exerce papel central na remodelação tecidual visto que degrada vários componentes da matriz não colagenosa, glicoproteínas e proteoglicanos, além de ativar a MMP-1, responsável pela degradação do colágeno fibrilar (SCHUPPAN, 2000) (Figura 1).

FIGURA 1 – RESPOSTA IMUNOLÓGICA NA DC



FONTE: Adaptado de SCHUPPAN, DIETERICH E RIECKEN (1998)

A tTG também tem sido associada a várias outras doenças, incluindo distúrbios neuronais, câncer, infecção por HIV, doenças inflamatórias intestinais, diabetes *mellitus*, cirrose hepática, catarata e várias DAI (MOLBERG; McADAM; SOLLID, 2000).

Achados prévios sugerem que a tTG é requerida para a ativação do fator de transformação do crescimento β (TGF- β), envolvido na diferenciação de células epiteliais (NUNES et al., 1997). Os anticorpos específicos anti-tTG contribuem na patogênese da doença ao comprometerem a diferenciação do epitélio das vilosidades intestinais. Apesar desse fato e do seu grande valor no diagnóstico da DC, é possível que seu papel não seja absolutamente decisivo na patogenia da doença, já que esses são encontrados com grande frequência na DC latente, nos familiares de primeiro grau de pacientes celíacos, além da ocorrência da DC em

indivíduos com deficiência de IgA ou com hipogamaglobulinemia (WEBSTER et al., 1981; RITTMEYER; RHOADS, 1996).

Tem-se ainda alguns relatos sobre a ativação e o modo de ação de células T intraepiteliais, mediados pelo sistema imune inato. A expressão da interleucina-15 (IL-15) parece exercer um papel central no direcionamento de vários processos que conduzem ao aumento do número de linfócitos intra-epiteliais (LIE), como também nos processo de destruição de células epiteliais e danos na mucosa (MAIURI et al., 2003).

No epitélio intestinal, as células T CD8⁺ expressam receptores celulares *natural killer* (NK), tais como NKG2D, que parecem ser tóxicos aos enterócitos (JABRI et al., 2000). As células T intra-epiteliais, através da regulação do NKG2D, podem destruir enterócitos que expressam moléculas MIC, ou por redução do limiar de ativação do receptor TCR, ou por destruição direta. O glúten pode induzir a expressão de NKG2D e MIC pela estimulação da expressão da IL-15.

Uma pequena porcentagem desses linfócitos são CD4⁺/CD8⁻ e expressam receptor para células T γ/δ , as quais não diminuem com a retirada de glúten. Estudos propõem que esses linfócitos γ/δ fazem parte preferencialmente da resposta imune inata (DEWAR; CICLITIRA, 2005) e são considerados patognomônicos na DC, sendo encontrados nas superfícies de mucosa, particularmente vias aéreas e intestino, residindo dentro da camada epitelial. Até 41% dos familiares de primeiro grau de pacientes celíacos têm níveis altos de linfócitos γ/δ relacionados com HLA DQ2 ou DQ8 (TRONCONE et al., 1996a).

Uma vez ativadas, células T γ/δ secretam quimiocinas que atraem e estimulam células de resposta imune inespecífica. Entretanto, modulam a resposta imune antígeno-específica pela secreção de interleucina 4 (IL-4), que enfraquece a reatividade de Th1 em favor de Th2. Por isso, células T γ/δ parecem proteger a mucosa intestinal da exposição crônica a agentes prejudiciais, tais como o glúten para indivíduos intolerantes e sua presença contínua em pacientes celíacos parece ser causada por uma freqüente ingestão de glúten inadvertidamente (SCHUPPAN, 2000).

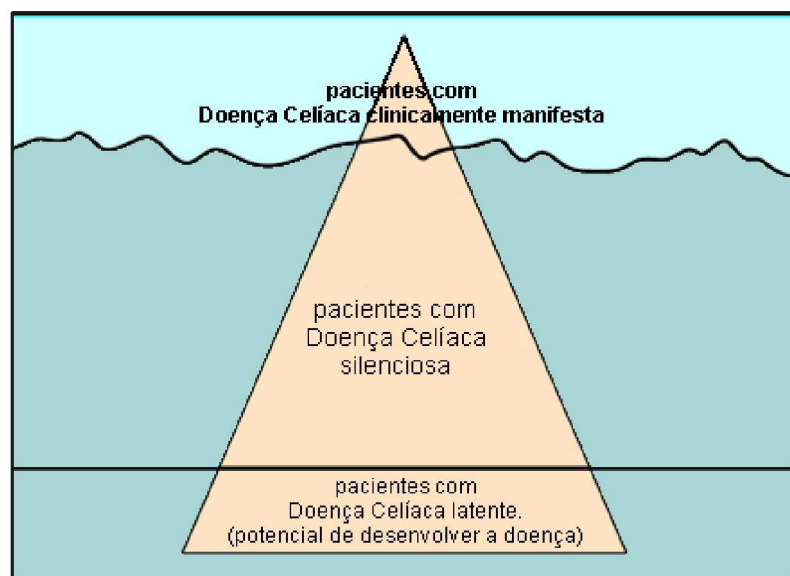
3.3 ASPECTOS CLÍNICOS DA DOENÇA CELÍACA

A DC apresenta expressão clínica altamente variável e sua classificação baseia-se na presença de sintomas gastrointestinais, sendo a maioria deles ocasionados por má absorção de nutrientes e vitaminas (DEWAR, CICLITIRA, 2005).

Em 1991 a distribuição das várias formas da DC foi comparada a um *iceberg*, sendo a apresentação sintomática a porção visível, enquanto a assintomática corresponderia à porção submersa do mesmo. Dessa maneira a DC pode apresentar-se na forma clássica, não-clássica, assintomática e latente (CATASSI; GIORGI, 1996a; Figura 2).

A doença *ativa ou clássica* constitui a forma de apresentação mais freqüente e geralmente inicia nos primeiros anos de vida, manifestando-se com quadro de diarréia crônica, vômitos, irritabilidade, falta de apetite, déficit de crescimento, distensão abdominal, diminuição do tecido celular subcutâneo e atrofia da musculatura glútea (DEWAR, CICLITIRA, 2005). Histologicamente caracteriza-se por apresentar hiperplasia de criptas, atrofia das vilosidades e aumento do número de LIE (KOTZE, 1988).

FIGURA 2 – MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA DC: O ICEBERG



FONTE: Adaptado de MÄKI E COLLIN (1997)

Na forma *não-clássica* ou *atípica* da doença os sintomas gastrointestinais podem estar ausentes ou menos pronunciados, com características extraintestinais mais proeminentes. Esta forma apresenta-se mais tardiamente na infância. Nessa época da vida o diagnóstico da DC está relacionado a outras condições, tais como desnutrição, baixa estatura, anemia ferropriva refratária ao tratamento, artralgia ou artrite, constipação intestinal, alterações do esmalte dentário, osteoporose, esterilidade e menarca tardia (GREEN; JABRI, 2003a).

A DC *assintomática* ou *silenciosa* caracteriza-se por dano de mucosa entérica com ausência de sintomatologia (TRONCONE et al., 1996a; KOTZE, 2001b). É comprovada fundamentalmente entre familiares de primeiro grau de pacientes celíacos e vem sendo reconhecida com maior frequência nas últimas décadas após o desenvolvimento de marcadores sorológicos específicos (CATALDO et al., 1995; HOGBERG et al., 2003).

FERGUSON, ARRANZ e O' MAHONY (1993), levando em consideração os diferentes padrões histológicos e dinamicamente inter-relacionados presentes na DC, acrescentaram além das formas ativa e silenciosa, as formas latentes da doença.

O termo *latente* é empregado para a forma em que os indivíduos apresentam biópsia intestinal normal frente ao consumo de glúten e que, anterior ou posteriormente desenvolvem atrofia parcial ou total de vilosidades, retornando ao normal após a isenção do glúten da dieta (PICARELLI et al., 1996a; KOTZE, 2005). Esses pacientes não apresentam obrigatoriamente contagem elevada de LIE, porém, a presença de marcadores sorológicos já é preditiva de progressão para atrofia de vilosidades (TRONCONE et al., 1996a; COLLIN; KAUKINEN; MÄKI, 1999; KOTZE, 2001b).

No adulto a DC não tratada pode estar relacionada à menopausa precoce, esterilidade e abortos de repetição (KOTZE, 2004), além de estomatites aftosas (LAHTEENOJA et al., 1998), depressão, indefinido mal-estar geral, demências, neuropatias, sintomatologia neurológica progressiva (ALAEDINI et al., 2002), sendo principalmente a ataxia e a epilepsia associadas a calcificações cerebrais. O paciente celíaco pode ainda apresentar associação com uma variedade de outras doenças, incluindo diabetes *mellitus* tipo I (BAPTISTA et al., 2005), doenças da tireóide (KOTZE et al., 2006b), intolerância à lactose (HAMER, 2005), síndrome de

Down (GALE et al., 1997; NISHIHARA et al., 2005), síndrome de Turner, síndrome de Sjögren, urticária e doenças neoplásicas, em especial as gastrointestinais (CLOT; BABRON, 2000; SOLLID, 2000; COLLIN et al., 2002).

Está bem documentada a associação da DC com outras enfermidades, como a dermatite herpetiforme (OTLEY; HALL, 1990) e a deficiência de IgA (CATALDO et al., 1997). A dermatite herpetiforme, considerada uma variante da DC, é definida como uma doença crônica e benigna, que se caracteriza por uma sensação de queimadura intensa e prurido. Apresenta-se comumente como uma erupção pruriginosa, ou seja, corresponde à manifestação cutânea da intolerância ao glúten (HAMER, 2005). Atinge tanto mulheres quanto homens, na proporção 1:100.000, iniciando seu aparecimento com maior frequência no fim da segunda e quarta década de vida, sendo os cotovelos, joelhos, nuca, couro cabeludo, parte superior e posterior do tronco e nádegas as regiões mais afetadas do corpo. A maioria dos pacientes com dermatite herpetiforme apresenta alterações da mucosa intestinal histologicamente semelhante àsquelas encontradas na DC, embora estes pacientes sejam frequentemente assintomáticos do ponto de vista digestivo (MARSH, 1992).

A deficiência seletiva de IgA ocorre em 1,7%-2,6% dos pacientes com DC. É uma condição mais frequentemente associada à DC na infância, podendo ocorrer numa taxa 10 a 16 vezes maior do que na população em geral (CATALDO et al., 1998).

Como se deduz, a DC pode cursar com diferentes sintomas ou sinais, tornando muitas vezes difícil o diagnóstico. Uma outra possibilidade para identificação da doença seria através do reconhecimento dos sinais de atrofia de vilosidades durante a endoscopia de pacientes com sintomas gastro-intestinais (GREEN et al., 2000; KOTZE, 2006a).

3.4. PREVALÊNCIA DA DOENÇA CELÍACA

A DC é descrita como uma afecção de distribuição mundial, tendo sido relatada na Europa, América do Norte, América do Sul, Índia, Austrália e Nova Zelândia. Ocorre com maior frequência nos países anglo-saxônicos e nórdicos, em indivíduos de origem caucasóide, e raramente afeta nativos africanos, japoneses ou chineses (HOULSTON; FORD, 1996). A doença atinge todas as idades,

especialmente crianças de seis meses a cinco anos, acometendo tanto indivíduos do sexo masculino como feminino, sendo mais freqüente nas mulheres na proporção de 2:1 (ELLIOTT; MURRAY; WEINSTOCK, 1998).

Por volta de 1950 a prevalência da DC era estimada em 1:8000 na população geral, sendo que os indivíduos afetados eram diagnosticados baseados somente nos sintomas clínicos (DAVIDSON; FOUNTAIN, 1950). No final dos anos 90 essa estimativa passou por grande modificação frente à disponibilidade da pesquisa dos anticorpos característicos para a afecção. Foram realizadas novas pesquisas, não apenas com pacientes clinicamente sugestivos, mas também com a população de risco para desenvolvimento da DC. Estes estudos permitiram a descoberta de formas assintomáticas ou atípicas da doença tanto na população geral, como entre os indivíduos de risco, representados muitas vezes pelos familiares de pacientes celíacos, subestimando assim a prevalência da DC no passado (BRANSKI; TRONCONE, 1998).

Em 1996, um estudo multicêntrico promovido pela Sociedade Européia de Gastroenterologia e Nutrição (ESPGAN), envolvendo 22 países, mostrou que a incidência média encontrada para a DC era de 1:1000 nascidos vivos (TRONCONE; GRECO; AURICCHIO, 1996b), não apresentando diferença significativa entre os diversos países estudados, sendo inclusive este resultado comparável ao obtido na América do Sul (POLANCO; JASINSKI; DE ROSA, 1992).

Os estudos de triagem para DC entre doadores de sangue de diversos países iniciaram na década de 90, tendo como modelo a pesquisa realizada na Suécia no ano de 1991, na qual para obtenção de uma taxa de prevalência de 1:256, os pesquisadores utilizaram dados da sorologia e da biópsia intestinal dos voluntários (GRODZINSKY et al., 1992). Nessa mesma linha de investigação foram obtidas as prevalências de 1:250 nos Estados Unidos (NOT et al., 1998), 1:400 na Itália (TREVISOL et al., 1999), 1:300 na Holanda (ROSTAMI et al., 1999), 1:157 em Israel (SHAMIR et al., 2002), e 1:166 no Irã (SHAHBAZKHANI et al., 2003).

No Brasil, em decorrência da alta miscigenação racial, esta doença já foi descrita inclusive em afro-brasileiros (KOTZE, 1989). Fica evidente, porém, maior prevalência nas regiões Sul e Sudeste do país, onde além de haver a maior densidade de população de origem caucasóide, há também uma maior oferta de recursos diagnósticos (KOTZE, 2005). O primeiro estudo epidemiológico brasileiro

utilizando marcadores sorológicos, demonstrou uma prevalência de 1:681 em doadores de sangue da população de Brasília (GANDOLFI et al., 2000). Estudos posteriores indicaram prevalência de 1:214 na população de São Paulo (OLIVEIRA et al., 2007), 1:273 na de Ribeirão Preto, interior do Estado de São Paulo (MELO et al., 2006) e de 1:417 na de Curitiba, Estado do Paraná (PEREIRA et al., 2006).

Determinados grupos apresentam elevado risco para o desenvolvimento dessa afecção, tais como familiares de pacientes celíacos (BOOK; ZONE; NEUHAUSEN, 2003; PITTSCHIELER; GENTILI; NIEDERHOFER, 2003), pacientes com diabetes *mellitus* tipo I (TALAL et al., 1997; BAPTISTA et al., 2005), síndrome de Down (GALE et al., 1997; NISHIHARA et al., 2005), e doenças crônicas do fígado, especialmente cirrose biliar primária (DICKEY; McMILLAN, 1998).

3.5 PATOLOGIA DA DOENÇA CELÍACA

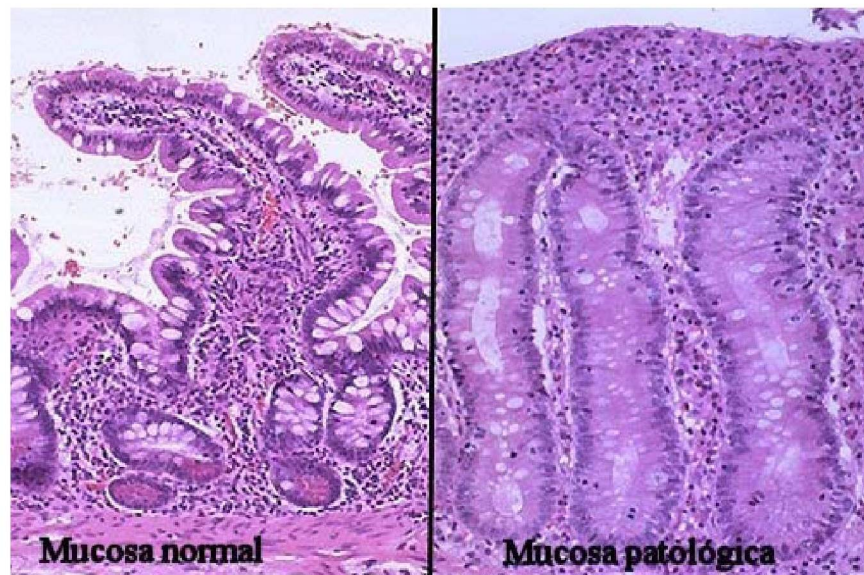
A DC acomete principalmente a região proximal do intestino delgado, com dano mais intenso no duodeno e jejuno proximal, porém, em alguns indivíduos pode envolver todo o intestino (KOTZE, 2001b). A gravidade dos sintomas não é necessariamente proporcional à extensão das lesões da mucosa, sendo que pacientes com atrofia total de vilosidade podem ser assintomáticos ou apresentarem sintomas subclínicos. Em alguns casos podem ser observadas anormalidades na mucosa gástrica e retal (BAI et al., 2005).

Áreas nobres de absorção poderão ser afetadas devido à localização da lesão, ocorrendo assim má absorção de ferro, ácido fólico, cálcio e vitaminas lipossolúveis, culminando em deficiência destes componentes e redução da densidade óssea (DEWAR; CICLITIRA, 2005). Atrofia das vilosidades, hiperplasia e alongamento das criptas, infiltração linfocítica no epitélio e aumento da densidade de células inflamatórias na lâmina própria corresponde as anormalidades histopatológica clássica na DC, sendo tal aumento decorrente da presença de plasmócitos, linfócitos, eosinófilos e polimorfonucleares (KOTZE, 1988; Figura 3).

Segundo a classificação proposta por MARSH (1992), a mucosa na DC apresenta vários estágios evolutivos, com aspectos diversos. A lesão infiltrativa (Marsh I) é caracterizada pelo aumento do número de LIE, sendo o primeiro e o mais sensível indicador que traduz os efeitos imunológicos desencadeados pelo glúten na

mucosa do trato gastrointestinal. Porém, essa linfocitose intraepitelial não é específica da DC e pode ser encontrada também no *sprue* tropical, giardíase, doença de Crohn e várias outras DAI. A lesão hiperplástica (Marsh II) é identificada quando a mucosa apresenta linfocitose intraepitelial acompanhada de hiperplasia e, finalmente, a lesão destrutiva é reconhecida (Marsh III) frente à moderada ou intensa redução da altura vilositária, e constitui a mais grave alteração da mucosa intestinal.

FIGURA 3 – CORTE HISTOLÓGICO DE MUCOSA DUODENAL



FONTE: Adaptado de: <http://www.down21.org/salud/salud/celiaca.htm>

Por apresentar aspectos histológicos de maior facilidade na hora da interpretação, alguns centros no Brasil seguem os padrões descritos por BARBIERI et al. (1970). Os autores identificaram cinco padrões histológicos principais. O padrão I corresponde à morfologia normal, com vilosidades altas e cilíndricas presentes em toda extensão dos cortes. O padrão II corresponde a uma enteropatia inflamatória difusa, na qual as vilosidades estão presentes, porém, podem estar reduzidas em altura, além do nítido aumento da celularidade linfoplasmocitária na lâmina própria. O padrão III é caracterizado pela presença de grupamentos reduzidos intercalados com áreas de atrofia total. O padrão IV ou atrófico mostra a típica mucosa plana, com vilosidades e criptas ausentes, revelando o máximo grau de involução da mucosa. A presença de diferentes padrões histológicos distribuídos na mucosa caracteriza o padrão V ou misto.

3.6 DIAGNÓSTICO DA DOENÇA CELÍACA

Embora a DC seja diagnosticada tipicamente na infância após o aparecimento dos sintomas, tem-se observado início mais tardio da apresentação dos mesmos, às vezes retardado até a vida adulta do indivíduo (TRONCONE; GRECO; AURICCHIO, 1996b; FARRELL; KELLY, 2002). Atualmente a associação de dados clínicos, histológicos e sorológicos confere o diagnóstico da DC (KOTZE, 2003; BAI et al., 2005).

Em 1969, a ESPGAN recomendava três biópsias intestinais para o diagnóstico de DC, sendo a primeira realizada no momento do diagnóstico, a segunda durante a dieta isenta de glúten, visando avaliação da normalização da biópsia, e a terceira após a reintrodução do glúten na dieta para verificar se ocorria reaparecimento da atrofia vilositária (MEUWISSE, 1970). Após 20 anos, WALKER-SMITH et al. (1990) revisaram e reconsideraram tais critérios, passando a considerar fundamental para o diagnóstico da DC a presença de atrofia vilositária com hipertrofia críptica, e superfície anormal do epitélio diante da ingestão de quantidades normais de glúten, com recuperação clínica total após sua retirada da dieta.

Desde então se estabeleceu que para o diagnóstico da DC era imprescindível à realização da biópsia de intestino delgado, sendo a amostra obtida preferencialmente da junção duodeno-jejunal (POLANCO, 1995). Dessa forma, uma biópsia intestinal pode ser realizada em diferentes circunstâncias, como diante de resultados sorológicos sugestivos de DC, ou frente à sorologia negativa, mas com importante suspeita clínica (HAMER, 2005).

Antigamente, por definição, a DC era excluída em pacientes sob dieta normal que apresentassem morfologia normal da mucosa intestinal. Entretanto, a sensibilidade ao glúten não é apenas restrita a atrofia de vilosidades, pois os danos da mucosa intestinal se desenvolvem gradualmente, indo morfológicamente de mucosa normal, até atrofia declarada com hiperplasia de criptas (MARSH, 1992). Indivíduos que ingerem quantidades normais de glúten e têm arquitetura intestinal normal, com vilosidades íntegras, podem ainda ser sensíveis ao glúten, ou seja, podem ter a DC na forma latente e posteriormente, com o decorrer do processo, virem a apresentar atrofia das vilosidades intestinais, assim como hiperplasia das

criptas (MÄKI et al., 1990). Tais aspectos são observados em familiares de celíacos, entre outros.

Cerca de 75% dos pacientes com dermatite herpetiforme apresentam atrofia das vilosidades intestinais com hiperplasia das criptas, sendo visualizadas apenas mudanças mínimas na mucosa dos demais pacientes. Portanto, critérios de sensibilidade ao glúten não podem ser definidos em termos de um padrão específico, visto que alguns indivíduos não seriam diagnosticados desta maneira (REUNALA et al., 1984).

Apesar de a biópsia intestinal ser um importante instrumento para o diagnóstico dessa afecção, vários estudos imunológicos vêm sendo realizados, ao longo dos últimos anos, não só em relação à patogênese da lesão celíaca, mas também na busca contínua de testes sorológicos simples, não invasivos, de alta sensibilidade e custo efetivo para triagem da DC.

Com a introdução e amplo uso dos testes sorológicos de diagnóstico e triagem, formas clinicamente silenciosas e latentes da DC têm sido detectadas em número crescente na população geral, assim como em familiares de pacientes celíacos (CATALDO et al., 1995; VAZQUEZ et al., 1996; HOGBERG et al., 2003). Atualmente sabe-se que a mucosa normal não exclui o diagnóstico de DC (PICARELLI et al., 1996a; KAUKINEN et al., 2001).

Diante da grande variabilidade das formas de apresentação da DC e sua associação com outras enfermidades, os testes sorológicos tornaram-se importantes marcadores da doença e imprescindíveis antes da realização obrigatória da biópsia intestinal para firmar o seu diagnóstico (ROMALDINI; BARBIERI, 1999). O emprego de testes sorológicos revelou um aumento na prevalência da DC pela maior detecção de formas silenciosas, seja em crianças, adultos ou familiares de celíacos, como também pelo esclarecimento de formas monossintomáticas (TUTHILL et al., 1999).

Pacientes com sintomas leves ou atípicos, bem como familiares de celíacos, indivíduos com deficiência seletiva de IgA, pacientes com diabetes *mellitus* insulino-dependente, pacientes com síndrome de Down e os casos de DC latente ou silenciosa, contam atualmente com os testes sorológicos de triagem para a DC, bem menos invasivos do que as biópsias intestinais (CATALDO et al., 1995; VAZQUEZ et al., 1996; TALAL et al., 1997; BARDELLA et al., 2001; NISHIHARA et al., 2005).

Os principais marcadores sorológicos descritos até o momento correspondem aos anticorpos anti-gliadina (AGA), anti-reticulina (ARA), anti-endomísio (EmA), e anti-transglutaminase tecidual (anti-tTG) (SEAH et al., 1971; CHORZELSKI et al., 1983; CHALLACOMBE, 1995; DIETERICH et al., 1997).

3.6.1 Anticorpos Anti-Gliadina (AGA-IgA)

Os anticorpos circulantes AGA foram os primeiros marcadores sorológicos descritos na DC e são dirigidos contra a proteína do cereal absorvida pela mucosa intestinal. São predominantemente das classes IgA e IgG, detectados por meio da técnica imunoenzimática (ELISA) (BERGER, 1991). São de fácil execução e baixo custo, porém têm sensibilidade (50-60%) e especificidade (60-70%) reduzidas para o diagnóstico da DC. Níveis elevados destes anticorpos podem ser encontrados em pacientes com outras doenças gastrointestinais como também em indivíduos normais (UNSWORTH; WALKER-SMITH; HOLBOROW, 1983). Títulos positivos de AGA também são relatados em outras doenças não relacionadas ao trato gastrointestinal, como na síndrome de Sjögren e na artrite reumatóide (O'FARRELLY; MARTEN; MELCHER, 1988). De maneira geral, para a triagem da DC, há um consenso entre autores evidenciando maior especificidade para a classe IgA desse anticorpo e maior sensibilidade para a classe IgG (ROMALDINI; BARBIERI, 1999). Recentemente, a utilização de anti-gliadina desaminada em testes sorológicos tem-se revelado um importante instrumento na detecção da DC (SUGAI et al., 2006; NIVELONI et al., 2007).

3.6.2 Auto-Anticorpos

Em decorrência do grande interesse na identificação do anticorpo ideal para a realização de uma triagem sorológica para a DC, especulou-se a possibilidade de existência de outros auto-anticorpos que não reagissem com antígenos exógenos como a gliadina. Auto-anticorpos reagentes contra elementos próprios das camadas musculares do intestino, tais como a reticulina, endomísio e mais recentemente a transglutaminase tecidual foram descritos.

3.6.2.1 Anticorpos anti-reticulina (ARA-IgA)

Os anticorpos anti-reticulina começaram a ser investigados na DC no início dos anos 70, representando provavelmente a formação de anticorpos contra componentes do tecido conjuntivo. Quando comparados ao AGA, os ARA apresentam baixa sensibilidade e especificidade, e podem ser detectados na doença de Crohn e ocasionalmente em outras doenças gastrointestinais (UNSWORTH; WALKER-SMITH; HOLBOROW, 1983; KOTZE et al., 1999). Os ARA-IgG apresentam um valor diagnóstico limitado para a DC (SCOTT et al., 1992).

3.6.2.2 Anticorpos anti-endomísio (EmA-IgA)

Em 1983, CHORZELSKY et al. demonstraram no soro de pacientes com DC ou dermatite herpetiforme a presença dos anticorpos EmA. Esses anticorpos são principalmente da classe IgA e reagem contra a substância que envolve as miofibrilas da musculatura lisa (endomísio), a qual pode corresponder a uma estrutura semelhante à reticulina ou a um componente da superfície das miofibrilas.

Os EmA foram inicialmente detectados por IFI nos cortes de tecido congelado do esôfago de macaco, mas em razão das dificuldades de obtenção de espécimes daquele tecido, estudos demonstraram que o cordão umbilical humano possuía qualidades semelhantes àsquelas do esôfago de macaco. Atualmente recomenda-se a utilização do cordão umbilical humano como substrato, tendo como antígeno alvo as fibrilas de reticulina (endomísio) que contornam as fibras de músculo liso na parede da veia e das duas artérias umbilicais (VOLTA et al., 1995).

Esses auto-anticorpos, ou os antígenos por eles reconhecidos, estariam envolvidos diretamente na patogênese da DC (PICARELLI et al., 1996b), e a sua detecção tem-se tornado um dos testes mais específicos no auxílio diagnóstico e na monitorização da adesão da dieta sem glúten. Em pacientes não tratados a sensibilidade do EmA varia de 90% a 100% (BARDELLA et al., 2001; KOTZE et al., 2001a) e a especificidade de 97% a 100% (ROSSI et al., 1988; HALLSTROM, 1989; CHAN et al., 1994). O teste apresenta limitações inerentes a de qualquer teste cujo resultado depende do escore subjetivo do examinador.

A investigação do EmA-IgA em 340 crianças celíacas não tratadas, com idade variando de 4 meses a 18 anos, demonstrou que a sensibilidade desse anticorpo é inferior em comparação à encontrada para o AGA-IgA em crianças menores de dois anos (BURGIN-WOLFF et al, 1991). Para a triagem em familiares de pacientes celíacos, o EmA-IgA tem demonstrado uma positividade variando entre 6%-18%. Os estudos histológicos nesses indivíduos revelam graus variáveis de alterações na mucosa intestinal, com predomínio da presença de LIE (KORPONAY-SZABO et al., 1998; KOTZE et al., 2003).

A determinação do EmA-IgA é particularmente útil na triagem da DC entre os familiares dos pacientes, nas formas atípicas da doença e nos casos duvidosos, como os que apresentam títulos de AGA-IgA normal e AGA-IgG alto. A avaliação do EmA-IgA também se faz importante no rastreamento da DC entre os pacientes portadores de enfermidades mais freqüentemente associadas.

Apesar dos auto-anticorpos da classe IgG serem detectáveis, são os auto-anticorpos da classe IgA do AGA, ARA e EmA que refletem a lesão de mucosa na DC (VON BLOMBERG et al., 1996). Alguns testes falso-negativos poderiam refletir a deficiência seletiva de IgA, a qual acomete cerca de 2% dos pacientes com DC (SDEPANIAN; MORAIS; FAGUNDES-NETO, 1999). Nesses casos a quantificação de IgA sérica é recomendada e facilitaria a interpretação do teste negativo, existindo ainda a possibilidade de detecção dos auto-anticorpos investigados da classe IgG. Amostras que resultarem numa combinação de teste IgG positivo e deficiência de IgA, devem ser encaminhadas para biópsia (CATALDO et al., 2000).

3.6.2.3 Anticorpos anti-transglutaminase tecidual (anti-tTG-IgA)

A descoberta em 1997, por DIETERICH e colaboradores, de que a tTG é o principal, se não o único auto-antígeno endomisial alvo envolvido no processo auto-imune da DC permitiu esclarecer os principais aspectos da fisiopatogenia da doença, além de transformar a pesquisa dos anticorpos anti-tTG-IgA em grande avanço diagnóstico. O uso do método ELISA na investigação desses anticorpos tornou-o acessível aos diversos laboratórios, possibilitando estudos em larga escala, isentos das dificuldades de estrutura laboratorial e de variações de leitura inter-observadores (DIETERICH; LAAG; SCHOPPER, 1998).

O anti-tTG-IgA apresenta alta sensibilidade e especificidade para a DC. Quando em altos títulos estão intimamente associados ao diagnóstico da doença, embora baixos títulos nem sempre possam ser considerados doença específicos (LOCK et al., 1999; KOTZE et al., 2003). A primeira geração de testes para pesquisa de anti-tTG-IgA apresentava como substrato tTG extraída de fígado de cobaia (*guinea pig*), sendo menos sensível e específica quando comparada aos novos testes, que utilizam tTG humana como substrato (LEON et al., 2001a; SCHUPPAN; HAHN, 2001; WONG et al., 2002). Pelo fato de haver diferenças na qualidade dos diferentes *kits* para pesquisa de anticorpos contra tTG, resultados fortemente falsos positivos foram relatados na prática clínica (FREEMAN, 2004).

A soroconversão do anti-tTG-IgA após o início de uma dieta isenta de glúten não é necessariamente acompanhada de recuperação morfológica da mucosa. Após um ano em dieta, um número substancial de pacientes com DC tornou-se negativo para o anti-tTG-IgA ou EmA-IgA, mas ainda apresentavam atrofia de vilosidade (KAUKINEN et al., 2002b; TURSI; BRANDIMARTE; GIORGETTI, 2003). A normalização da mucosa pode requerer anos. Por outro lado, alguns pacientes podem apresentar anti-tTG-IgA positivo, mas uma mucosa completamente normal, portanto, após o início de uma dieta isenta de glúten, testes de pesquisa de anticorpos nem sempre esclarecem sobre a condição da mucosa (FABIANI; CATASSI; 2001).

Nos últimos anos têm sido realizados alguns estudos comparando a pesquisa do EmA-IgA, por IFI, com o anti-tTG-IgA, por ELISA (DIETERICH et al., 1997; LOCK et al., 1999; UTIYAMA et al., 2002). Esses evidenciaram uma excelente correlação entre o anti-tTG-IgA e o EmA-IgA nos aspectos de sensibilidade, com melhores resultados para o EmA-IgA em termos de especificidade (CHAN; BUTZER; MCKENNA, 2001). SARDY et al (2000), em um estudo com 120 pacientes, demonstraram que, apesar da equivalência nos resultados, a pesquisa de anti-tTG-IgA é recomendável pela simplicidade na realização do teste, além da possibilidade de análise de um grande número de amostras pelo método ELISA.

3.7 AUTOIMUNIDADE NA DOENÇA CELÍACA

O risco para desenvolvimento de outras DAI apresenta-se elevado tanto entre indivíduos com DC, bem como entre seus familiares, sendo 3 a 10 vezes maior nos pacientes e 6 vezes maior nos familiares, quando comparado a população em geral (CATALDO; MARINO, 2003; GREEN; JABRI, 2003a). Essas doenças incluem DAI da tireóide (SATEGNA-GUIDETTI et al., 2001; ANSALDI et al., 2003; KOTZE et al., 2006b), diabetes *mellitus* insulino dependente (TALAL et al., 1997), hepatite auto-imune (VOLTA et al., 2002; LAWSON et al., 2005), cirrose biliar primária (DICKY; McMILLAN; CALLENDER, 1997), síndrome de Sjögren's (ILTANEN et al., 1999), doença de Addison's (O'LEARY et al., 2002), neuropatia periférica e psoríase (OJETTI et al., 2003), entre outras.

Na tentativa de explicar a ocorrência dessas comorbidades surgiram duas teorias. A primeira sugere que a DC não tratada conduz ao início de outras DAI em indivíduos geneticamente susceptíveis, e a outra propõe que essa associação é secundária ao desequilíbrio de ligação de genes que predispõe tanto a DC quanto outras DAI relacionadas (FASANO; CATASSI, 2001).

A primeira hipótese é apoiada pela evidência de que a tTG, reconhecida como o auto-antígeno envolvido na patogênese da DC, parece ser somente um dos antígenos envolvidos nas reações auto-imunes glúten-dependente. Outros auto-antígenos, normalmente oclusos, podem ser expostos e causar uma resposta imunológica agressiva contra o próprio organismo, dando continuidade ao processo inflamatório iniciado pela gliadina (FASANO; CATASSI, 2001). A estimulação persistente por algumas citocinas pró-inflamatórias como o interferon- γ (IFN- γ) e o TNF- α favorecem o processamento dos auto-antígenos e apresentação dos mesmos às células imunocompetentes. Além disso, a associação entre DAI e DC envolve compartilhamento genético de alelos HLA e mecanismo imunológico comum entre ambas.

VENTURA, MAGAZZU e GRECO (1999) verificaram associação de DAI com DC em 35% dos pacientes cuja DC foi diagnosticada aos 20 anos ou mais, contrastando com apenas 5% dos pacientes que foram diagnosticados precocemente e tratados adequadamente com dieta isenta de glúten desde a infância. Os autores concluíram que essa associação está relacionada com o tempo

de exposição ao glúten, ou seja, a idade de diagnóstico da doença, revelando ainda que crianças diagnosticadas aos dois anos de idade não apresentaram aumento na frequência de DAI. Entretanto, estudos recentes contestam essa idéia (SATEGNA GUIDETTI et al., 2001; VILIJAMAA et al., 2005).

Em geral, ao diagnóstico pacientes com DC apresentam alta taxa de auto-anticorpos órgão específicos, quando comparados aos indivíduos que estão sob dieta isenta de glúten (TOSCANO et al., 2000). Anticorpos relacionados a diabetes e doenças da tireóide podem desaparecer quando presentes em crianças celíacas que se mantêm em dieta livre de glúten (VENTURA et al., 2000). Quando ambas, DAI e DC, ocorrem em um paciente, a DC se apresenta freqüentemente na forma silenciosa, sendo a DAI diagnosticada primeiramente (GREEN; JABRI, 2003a).

No Brasil, UTIYAMA et al. (2001) realizaram um amplo perfil de auto-anticorpos em pacientes celíacos e familiares, enfatizando a avaliação clínica e o seguimento dos indivíduos sorologicamente positivos, para esclarecer a relevância dos achados. Alguns auto-anticorpos, como os avaliados no estudo citado, mostram uma importante associação com determinadas DAI. Dentre esses, tem-se os anticorpos anti-músculo liso na hepatite crônica auto-imune do tipo I; anticorpos anti-mitocôndria na cirrose biliar primária; anticorpos anti-LKM na hepatite crônica auto-imune do tipo II; anticorpos anti-células gástricas parietais na gastrite atrófica e na anemia perniciosa; anticorpos anti-peroxidase nas tireoidites auto-imunes; anticorpos anti-células das ilhotas (ICA) no diabetes *mellitus* insulino-dependente; anticorpos anti-nucleares e anti-DNA no lúpus eritematoso sistêmico (LES), entre outros (RIZZETTO; SWANA; DONIACH, 1973; BIGAZZI; ROSE, 1984; FIKE, 1997a, 1997b; DELLAVANCE et al., 2003). Ainda KOTZE et al. (2006b) demonstraram a alta prevalência de DAI da tireóide em pacientes brasileiros com DC.

O achado isolado de positividade para um auto-anticorpo não implica necessariamente no diagnóstico de uma DAI, apenas direciona o clínico mediante o histórico do paciente, exames complementares e outras manifestações clínicas (BUREK, 1995). Alguns auto-anticorpos, por representarem marcadores precoces de doenças, podem preceder em anos qualquer manifestação clínica. Outros auto-anticorpos constituem indicadores de prognóstico, ou permitem ainda o monitoramento da doença ou da resposta ao tratamento (VOLTA et al., 1995; FIKE, 1997a; KOTZE et al., 2001a).

3.8 TRATAMENTO DA DOENÇA CELÍACA

O tratamento para DC constitui-se na adesão de uma dieta livre de glúten por toda a vida, tanto nos indivíduos sintomáticos, quanto assintomáticos (SOLLID, 2000). Os pacientes precisam evitar permanentemente todos os tipos de produtos alimentícios que contenham trigo, centeio, cevada e aveia. Estes cereais podem ser substituídos pelo milho, arroz, batata e mandioca (RODRIGO, 2006).

Produtos lácteos não deverão ser consumidos por pacientes celíacos que estejam iniciando a dieta, pois a deficiência secundária da lactase está freqüentemente associada à DC (OJETTI et al., 2005). Após a retirada do glúten da dieta a recuperação começa imediatamente, embora as vilosidades digitiformes possam demorar meses para aparecer. A resposta clínica é rápida havendo desaparecimento dos sintomas gastrointestinais em alguns dias ou semanas (POLANCO et al., 1996; KOTZE, 2001b).

Na presença de anemia grave por deficiência de ferro, é recomendada a administração de preparações ricas em ferro, através de via endovenosa ou intramuscular (CELLIER et al., 2000). Medicamentos são utilizados apenas para a correção de carências (vitaminas, sais minerais e proteínas), como coadjuvantes para facilitar a digestão de gorduras (enzimas pancreáticas) e para tratamento de infecções concomitantes (antimicrobianos) (KOTZE, 2001b).

No Brasil, em virtude das dificuldades em se praticar a dieta isenta de glúten, foi promulgada, em 1992, a Lei Federal número 8.543, que determina a impressão da advertência “*contém glúten*” nos rótulos e embalagens de alimentos industrializados que apresentem em sua composição derivados do trigo, centeio, cevada e aveia (SDEPANIAN; MORAIS; FAGUNDES-NETO, 1999).

A DC só se torna fatal quando esta não é reconhecida e o paciente chega à desnutrição muito grave, ocorrendo hemorragias, infecções recorrentes ou insuficiência supra-renal. Portanto, a DC não tratada resulta em significativa morbidade e está associada a um aumento de risco de linfoma intestinal, anemia, osteoporose e infertilidade (HOLMES et al., 1989; HOLMES, 2002; MUSTALAHTI et al., 2002a; KOTZE, 2003).

3.9 FAMILIARES DE PACIENTES CELÍACOS

Inúmeros estudos de triagem de DC deixaram evidente que familiares de pacientes constituem o grupo de risco de maior prevalência da doença (DUBE et al., 2005). Em uma abordagem atual, não cabe apenas se referir ao paciente celíaco, e sim, à família celíaca. O sul do Brasil, pela característica altamente miscigenada de sua população, com forte ascendência européia, apresenta grande prevalência da DC (KOTZE et al., 2001b; NISIHARA et al., 2005; UTIYAMA; KOTZE; MESSIAS-REASON, 2005), sendo portanto, pertinentes estudos com familiares de celíacos nessa população.

As pesquisas com familiares de celíacos são de grande importância na detecção de formas brandas ou latentes da DC, bem como na caracterização de múltiplos casos da doença dentro de uma mesma família (MUSTALAHTI et al., 2002b). Tem-se demonstrado, ainda, diferença na prevalência da doença conforme o grau de parentesco (BOOK, ZONE, NEUHAUSEN, 2003).

Tais aspectos são relevantes não apenas sob o ponto de vista genético, mas principalmente por permitirem diagnóstico precoce. A introdução de uma dieta isenta de glúten nesses indivíduos previne comprometimentos tardios da DC como problemas gineco-obstétricos, osteoporose e malignidades (KORPONAY SZABO et al., 1998; ASKLING et al., 2002; HERVONEN et al., 2002; MUSTALAHTI et al., 2002a; KOTZE, 2004; KOTZE, 2005). Diferentes estudos, mostrando a evolução de pacientes e familiares com formas latentes da doença, corroboram tais observações (COLLIN et al., 1993; NIVELONI et al., 2000; HOGBERG et al., 2003).

VITORIA et al. (1994) ressaltam o elevado risco de DC entre familiares, tendo detectado a presença de anticorpos específicos em 5%-13% destes, mesmo na ausência de sintomas (VAZQUEZ et al., 1995). De acordo com DUBE et al. (2005), a prevalência da DC varia entre 2,8%-17,2% em familiares de primeiro grau e entre 2,6%-19,5% em familiares de segundo grau. A variação de positividade entre os familiares, observada nos vários estudos, pode resultar não somente da heterogeneidade genética e ambiental entre as populações, como na seleção das famílias e critério diagnóstico utilizado (HOULSTON; FORD, 1996).

Dessa forma, estudos envolvendo familiares vêm ganhando maior espaço na pesquisa da DC.

3.9.1 Sorologia em Familiares de Pacientes com Doença Celíaca

Os avanços nos métodos sorológicos para diagnóstico da DC nos últimos anos trouxeram benefícios e segurança tanto para os pacientes como para os médicos, sendo que a viabilização de métodos não invasivos veio favorecer o diagnóstico precoce da doença (BAI et al., 2005).

Um estudo sorológico baseado em familiares de celíacos da Suécia e Noruega revelou um alto risco de desenvolvimento da DC nessas populações, visto que a prevalência encontrada no grupo foi de 26,3%. A importância desses achados levaram diferentes pesquisadores a sugerirem um *screening* sorológico em todos os familiares de primeiro grau (GUDJONSDOTTIR et al.; 2004). Outro estudo semelhante na Itália revelou positividade de 20% entre familiares de primeiro grau de celíacos, sugerindo importante associação com formas subclínicas ou silenciosas da DC (CATALDO; MARINO, 2003).

Em contrapartida, dados obtidos na Eslovênia, através da pesquisa do EmA, revelaram baixa prevalência da DC entre familiares (4,72%) (DOLINSEK et al.; 2004). Já nos Estados Unidos, uma pesquisa similar demonstrou que familiares de segundo grau apresentaram prevalência de 19,5% para a DC, comparado a 17,2% entre os de primeiro grau, relacionado provavelmente ao compartilhamento de genes (BOOK; ZONE; NEUHAUSEN, 2003).

DOLINSEK et al. (2004), ressaltam a maior prevalência da DC entre os familiares de pacientes celíacos em relação à população geral. Relatam que, aliado à pesquisa sorológica efetiva, a tipagem HLA tem provado ser um valioso instrumento diagnóstico. Ao avaliarem os familiares para o EmA-IgA e AGA-IgA, o diagnóstico de DC foi confirmado por biópsia apenas naqueles que eram positivos para ambos os testes e que apresentavam o alelo HLA de maior risco para a doença. Todos eram assintomáticos ou apresentavam discretas manifestações gastrointestinais. Dentre os dados discordantes do estudo, destacaram-se 8.5% (9/106) dos familiares positivos apenas para o AGA e 0.94% (1/106) apenas para o EmA-IgA.

Neste contexto, SJOBERG e CARLSSON, 2004, ressaltam o papel do anti-tTG-IgA e do EmA-IgA na triagem de familiares e salientam o grande número de

reações falso-positivas para o AGA-IgA em situações como doença crônica do fígado, diabetes, doenças da tireóide e Síndrome de Down, entre outras. Por outro lado, os autores destacam o AGA-IgA como o melhor teste de triagem em casos de crianças abaixo de dois anos de idade.

Embora alguns estudos demonstrem 100% de concordância para o EmA-IgA e anti-tTG-IgA (MILLER et al., 1999; REEVES et al., 2000), outros autores (PALACIOS et al., 2000; SUGAI et al., 2000) obtiveram 84% e 87% de concordância em soros de pacientes sob uso de glúten. Os autores não fazem referências a ensaios em familiares de celíacos.

De acordo com DAHELE et al (2001), a quantidade de glúten consumida pelos pacientes alterará os resultados das análises sorológicas, assim como o uso de imunossupressores. Contar apenas com o EmA-IgA ou anti-tTG-IgA como um único teste ou teste isolado subestimaria a prevalência da DC em pelo menos 20%. Soma-se a esse aspecto o fato de que, apesar da tTG ser o auto-antígeno para EmA, não é sempre que ocorre concordância nos resultados de pesquisa para os dois anticorpos (DICKEY; McMILLAN; HUGHES, 2001; GREEN; BARRY; MATSUTANI, 2003b). Com base nesses dados, tem sido sugerido o uso combinado dos dois testes, considerando que um terço dos pacientes apresenta apenas um desses anticorpos (DICKEY; McMILLAN; HUGHES, 2001).

Estudos recentes têm dado ênfase à prevalência da DC entre os familiares de segundo grau e ressaltam ainda o maior risco para a doença nas situações em que já existem dois irmãos afetados na família, possivelmente devido ao compartilhamento de genes associados à DC (FASANO et al., 2003; GUDJONSDOTTIR et al., 2004).

Diferentes estudos revelaram ainda que aproximadamente 10%-15% dos familiares de primeiro grau de pacientes celíacos exibem um achatamento da mucosa intestinal, característico dos próprios celíacos e que, mais de 50% do restante dos familiares sem atrofia apresentaram traços patológicos e imunológicos sutis, interpretados como marcadores de sensibilização ao glúten (AURICCHIO et al., 1988; MARSH, 1992).

Tendo em vista que esses traços podem progredir para uma expressão plena da DC, NIVELONI et al. (2000) ressaltam a necessidade de uma reavaliação dos familiares que tenham sido negativos numa triagem inicial. No entanto, a

progressão para uma enteropatia grave só foi observada pelos autores em familiares que apresentaram alguma evidência de sensibilidade ao glúten e HLA DQ2.

Os estudos de PITTSCHIELER et al. (2003) com 92 crianças e adolescentes, familiares de celíacos, demonstraram que, além daqueles sorológica e histologicamente positivos na primeira triagem (N=6), cinco tornaram-se positivos para o EmA-IgA, após um período de dois a cinco anos, com atrofia total de mucosa em quatro desses e parcial em um. HOGBERG et al. (2003) em um estudo com familiares de 32 pacientes celíacos, realizou uma reavaliação desses, vinte e cinco anos após o primeiro estudo, revelando oito novos casos na família. Dois desses tinham discretas alterações de mucosa no primeiro estudo e seis eram filhos de celíacos, nascidos após a realização do estudo prévio. Não foi detectado pelos autores nenhum caso novo entre aqueles familiares que apresentavam biópsia completamente normal na primeira fase.

Embora os familiares de pacientes celíacos constituam uma população esclarecida em relação à apresentação clínica da afecção, um estudo realizado por MUSTALAHTI et al. (2002b), cujo principal objetivo era avaliar a frequência da DC não detectada entre familiares de primeiro grau, de famílias com dois ou mais pacientes celíacos diagnosticados previamente, evidenciou a dificuldade na adesão ao uso de alimentos isentos de glúten, revelando que 9,7% dos familiares sadios apresentaram positividade para o EmA-IgA, e que pelo menos 6,2% deles demonstraram ter a doença. Os dados permitem observar que a DC tanto na sua forma clássica, quanto na clinicamente silenciosa, é uma doença comum até mesmo em famílias com muitos casos já confirmados.

No Brasil, são raros os relatos com familiares de celíacos. KOTZE et al, (2001a) em um estudo com familiares de celíacos do sul do Brasil, demonstrou 15,65% (18/115) de positividade para o EmA-IgA. A diferença em relação à população sadia foi estatisticamente significativa. A biópsia intestinal em sete desses familiares caracterizou atrofia total de vilosidades em um deles. Os outros seis indivíduos, embora, com arquitetura preservada, apresentaram número elevado de LIE. O estudo caracterizou 100% de sensibilidade e 99,3% de especificidade para o EmA-IgA. UTIYAMA, KOTZE e MESSIAS-REASON (2005), ao ampliarem esse grupo de familiares caracterizaram 13,3% (20/150) de positividade nos mesmos, e

puderam demonstrar significativa associação entre variantes do fator B do sistema complemento e a susceptibilidade genética a DC nos familiares de celíacos.

Dessa forma, a alta positividade para DC detectada entre familiares, o aparecimento de novos casos nas famílias, bem como a escassez de resultados comparativos entre ensaios laboratoriais, tornam pertinentes novos estudos sorológicos em familiares de pacientes com doença celíaca.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo constitui uma ampla investigação de caráter imunológico em familiares de pacientes com Doença Celíaca e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR) (Anexo 1). Envolveu um total de 333 indivíduos, entre familiares de pacientes com DC e não-familiares, conforme descrito a seguir e detalhado na Tabela 1.

Dentre os familiares, as amostras coletadas entre os anos de 1997 a 2000 foram designadas como Familiares de Celíacos – Etapa I, e aquelas obtidas nos anos de 2006 e 2007, como Familiares de Celíacos – Etapa II.

As informações dos familiares das etapas I e II, relativas ao número, nome, idade, sexo, grau de parentesco, anticorpos anti-endomísio, anticorpos anti-transglutaminase, outros auto-anticorpos e concentração de IgA, encontram-se nos Apêndices 1 e 2.

No aspecto laboratorial, o estudo foi integralmente desenvolvido no Laboratório de Imunopatologia do HC-UFPR.

4.1 CASUÍSTICA

4.1.1 Familiares de Celíacos - Etapa I

Foram estudadas amostras de soros de 186 familiares de pacientes com DC, voluntários, pertencentes a 61 famílias. Essas amostras foram coletadas no período de 1997 a 2000. Entre os familiares, 58,06% (108/186) eram do sexo feminino e 41,94% (78/186) do sexo masculino, com faixa etária entre 02 a 79 anos e média de 33,68 anos. A média de familiares investigados foi de 3,05 (186/61) por família. Por ocasião da coleta de sangue todos responderam a um questionário, no qual declararam fazer uso normal de alimentos contendo glúten.

Dentre os indivíduos, 86,56% (161/186) correspondiam a familiares de primeiro grau (pais, irmãos e filhos), e 13,44% (25/186) a familiares de segundo grau (avós, netos, tios e sobrinhos) (Tabela 1).

4.1.2 Familiares de Celíacos – Etapa II

Fazem parte desse grupo, 138 familiares de celíacos cujas amostras de soros foram obtidas entre os anos de 2006 e 2007. Entre essas, 65,94% (91/138) correspondem a familiares da etapa I, que prosseguiram no estudo (recoleta), e 34,06% (47/138) representam novos membros das mesmas famílias, anteriormente não incluídos na pesquisa. Dentre os 91 familiares da recoleta, nove tiveram o diagnóstico de DC confirmado ainda na etapa I, porém foram mantidos no estudo visando-se o seguimento sorológico e monitoramento da dieta nos mesmos, passando a constituir um subgrupo da recoleta (familiares com diagnóstico). Os demais (N=82) foram designados familiares sem diagnóstico. No total, 57,97% (80/138) eram do sexo feminino e 42,03% (58/138) do sexo masculino, com faixa etária entre 02 a 83 anos e média de 35,26 anos. Por ocasião da coleta de sangue todos os familiares responderam a um questionário, no qual declararam fazer uso normal de alimentos contendo glúten, com exceção de quatro familiares do subgrupo com diagnóstico.

Dentre os indivíduos dessa etapa, 67,39% (93/138) correspondiam a familiares de primeiro grau e 32,61% (45/138) a familiares de segundo grau (Tabela 1).

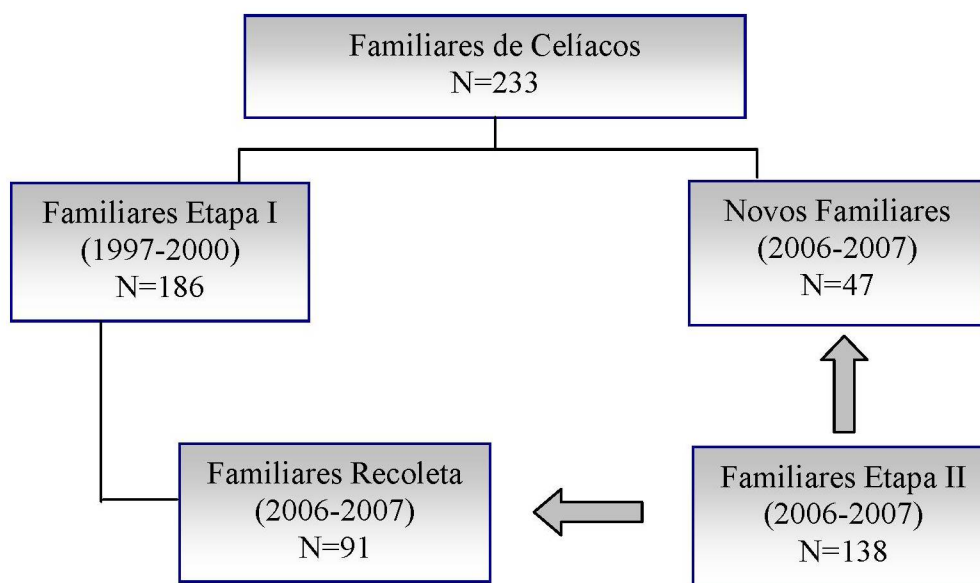
TABELA 1 – DADOS DEMOGRÁFICOS DOS FAMILIARES DAS ETAPAS I E II E NÃO-FAMILIARES

GRUPOS DE ESTUDO	NÚMERO	SEXO	IDADE MÉDIA (FAIXA ETÁRIA)	MEDIANA
FAMILIARES - ETAPA I	186	108F; 78M	33,68 (02-79)	34
Familiares 1º grau	161	97F; 64M	35,40 (02-79)	36
Familiares 2º grau	25	11F; 14M	22,64 (02-68)	18
FAMILIARES - ETAPA II	138	80F; 58M	35,26 (02-83)	32
RECOLETA	91	55F; 36M	40,64 (10-82)	40
Familiares 1º grau	79	50F; 29M	43,02 (10-82)	46
Familiares 2º grau	12	05F; 07M	24,92 (11-42)	24
NOVOS FAMILIARES	47	25F; 22M	24,85 (02-83)	22
Familiares 1º grau	14	08F; 06M	38,00 (03-83)	36
Familiares 2º grau	33	17F; 16M	19,27 (02-71)	17
NÃO-FAMILIARES	100	63F; 37M	33,05 (02-78)	29

NOTA: F= feminino; M=masculino

No Fluxograma 1 está representada a distribuição dos familiares de celíacos nos diferentes grupos, de acordo com a época de coleta das amostras.

FLUXOGRAMA 1 – DISTRIBUIÇÃO DOS FAMILIARES DE CELÍACOS



4.1.3 Não Familiares de Celíacos

Como grupo de comparação, foram estudadas amostras de soros de 100 indivíduos voluntários e sadios, que declararam não ter familiares com DC. Esses eram de origem euro-brasileira, oriundos da mesma área geográfica dos familiares de pacientes celíacos e apresentavam a maior proximidade possível em relação ao sexo e idade da população de familiares em estudo.

A idade dos não-familiares variou de 02 a 78 anos, com média de 33,05 anos, sendo 63 (63%) indivíduos do sexo feminino e 37 (37%) do masculino.

Os dados do grupo de não-familiares de celíacos como número, nome, idade, sexo, anticorpos anti-endomísio, anticorpos anti-transglutaminase e presença de outros auto-anticorpos, podem ser verificados no Apêndice 3.

4.2 METODOLOGIA

4.2.1 Obtenção das Amostras

Foi coletada uma amostra de 10 ml de sangue venoso, sem anticoagulante, de todos os familiares de celíacos, bem como dos indivíduos do grupo de comparação (não-familiares). Após a centrifugação a 4°C (Centrífuga refrigerada Haraeus, Germany), as amostras de soros foram aliquotadas e armazenadas à temperatura de -80°C (Freezer GFL, Germany), até serem utilizadas nos ensaios laboratoriais.

As 186 amostras de soros de familiares de celíacos obtidas entre os anos de 1997–2000 (familiares da etapa I) fazem parte da soroteca do Laboratório de Imunopatologia do HC e foram utilizadas nas determinações necessárias no presente estudo.

Para a obtenção das amostras dos familiares da etapa II, os 186 familiares da etapa I foram convidados a prosseguirem no estudo, através de correspondência via correio ou *e-mail*. Todos os procedimentos foram previamente agendados. Os familiares foram informados dos dias e horários que poderiam comparecer na Associação de Celíacos do Paraná (ACELPAR) e, posteriormente, no setor de coleta do HC, para que a coleta do sangue fosse realizada.

Ao se apresentarem, foi sempre explicado aos mesmos o objetivo da pesquisa. Todos os voluntários assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 5), sendo a seguir encaminhados para uma entrevista na qual respondiam um questionário relacionado aos dados necessários ao estudo (Apêndice 6). Após essa etapa, os familiares de celíacos eram submetidos à coleta do sangue.

4.2.2 Pesquisa de Auto-Anticorpos

Todas as amostras de soros de familiares e não-familiares foram analisadas para a presença dos anticorpos anti-endomísio (EmA-IgA), anti-transglutaminase (anti-tTG-IgA), bem como para os auto-anticorpos anti-músculo liso (AML), anti-

mitocôndria (AMA), anti-microsomal de fígado e rim (LKM), anti-célula gástrica parietal (CGP) e anti-microsomal tireodiano (AAM).

4.2.3 Anticorpos Anti-Endomísio (EmA-IgA)

O EmA-IgA foi investigado nas amostras de soros dos grupos em estudo, por técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI), utilizando como substrato cortes criostáticos de cordão umbilical humano, conforme descrito por VOLTA et al (1995).

Parte das amostras de soros de familiares da etapa I já se encontravam previamente analisadas para a presença do EmA-IgA, decorrente de estudos anteriores (UTIYAMA et al., 2001; UTYAMA et al., 2005).

4.2.3.1 Preparo do cordão umbilical humano

O cordão umbilical foi obtido de gestantes saudáveis e normotensas, no momento do parto, atendidas no Centro Obstétrico do Hospital de Clínicas da UFPR. Após a excisão do cordão, um pequeno fragmento do mesmo era mergulhado em solução salina 0,9% e transportado ao Laboratório de Imunopatologia, onde era seccionado transversalmente em pequenos blocos. Esses eram imersos em meio de congelamento (OCT-Tissue Freezing Medium, Nussloch, Alemanha), e rapidamente, congelados em nitrogênio líquido, sendo então mantidos em freezer à -80°C. Foram realizados cortes criostáticos de 3µm de espessura (Reichert Histostat, USA; Figura 4), colocados sob lâmina de vidro e mantidos à temperatura de -20°C até o momento do uso nas reações de IFI.

FIGURA 4 – CRIOSTATO (REICHERT HISTOSTAT, USA)

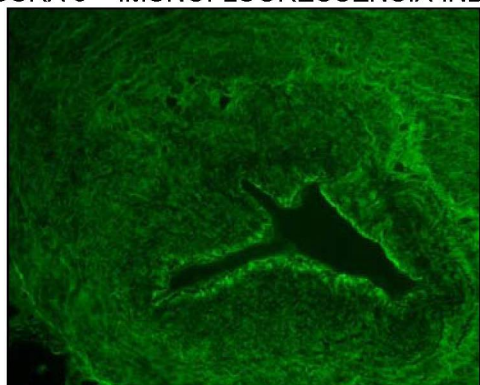


4.2.3.2 Reação de imunofluorescência indireta para a pesquisa do EmA-IgA

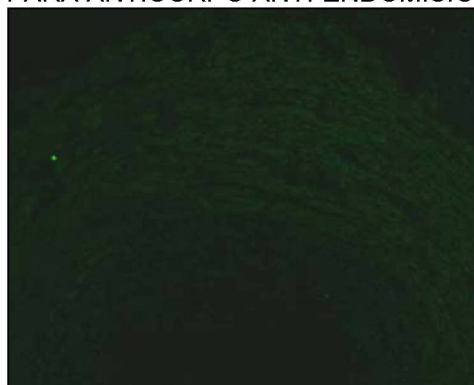
As amostras de soro foram submetidas a diluições iniciais de triagem (1/2.5, 1/5 e 1/10), em tampão fosfato salina (PBS), pH 7.2, e aplicadas em lâminas contendo o substrato. Após incubação em câmara úmida (30 minutos, temperatura ambiente) e lavagem das lâminas com PBS (3 vezes, 5 minutos cada vez), os cortes foram cobertos com o conjugado fluorescente anti-IgA humano (GMK, Porto Alegre, RS). Procedeu-se nova incubação e lavagem das lâminas, e a seguir a montagem com glicerina alcalina.

As leituras foram realizadas em microscópio de fluorescência (Olympus/Tokyo, Japan), sendo consideradas positivas as amostras que caracterizaram fluorescência a partir da diluição 1/2.5, no tecido de endomísio (substância intermiofibrilar) que contorna as fibras de músculo liso na parede dos vasos e artérias do cordão umbilical (Figura 5).

FIGURA 5 – IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA ANTICORPO ANTI-ENDOMÍSIO



NOTA: Reação Positiva



Reação Negativa

Todos os soros positivos nas diluições iniciais de triagem foram retestados para definição do título final de EmA-IgA. Controles positivos e negativos foram incluídos em cada bateria de testes.

4.2.4 Anticorpos Anti-Transglutaminase (anti-tTG-IgA)

A pesquisa de anticorpos anti-tTG-IgA foi realizada através de ensaio imunoenzimático (ELISA), conforme descrito por DIETERICH et al (1997), utilizando-se *kits* comerciais (INOVA, San Diego, CA, USA). Basicamente tem-se a reação do anticorpo com o antígeno purificado de transglutaminase tecidual, fixado nas escavações da placa de poliestireno. Os familiares da etapa I foram avaliados com *kit* contendo a tTG extraída de fígado de cobaia (*guinea pig*), e os da etapa II com tTG de tecido humano recombinante.

Todas as amostras de soros foram diluídas na proporção de 1:101, em tampão de diluição (solução tampão salina Tris, Tween 20, estabilizadores protéicos e conservante). Os controles do *kit*, baixo positivo, alto positivo e negativo não requeriam prévia diluição.

Adicionou-se 100 µl dos soros controles do *kit*, bem como dos soros diluídos dos familiares e grupo de comparação nas escavações de placas contendo o antígeno. Incubou-se por 30 minutos à temperatura ambiente, em superfície plana. Nesta etapa, os anticorpos anti-tTG-IgA presentes se ligam ao antígeno imobilizado.

A seguir, através de 3 lavagens com tampão de lavagem específico (solução tampão salina Tris e Tween 20), removeu-se da placa todo o material em excesso. Adicionou-se à reação 100 µl do conjugado (anticorpo anti-IgA ligado à peroxidase) e procedeu-se nova incubação por 30 minutos, à temperatura ambiente.

O conjugado que não se ligou ao anticorpo primário foi removido através de 3 lavagens da placa com o tampão de lavagem. Na seqüência, acrescentou-se às escavações 100 µl do cromógeno tetrametilbenzidina (TMB), fornecedor de hidrogênio para a reação do substrato peróxido de hidrogênio (H₂O₂) com a peroxidase. Esta reação também foi realizada com incubação de 30 minutos, à temperatura ambiente e proteção da luz. Nesta etapa, devido à adição do TMB, a atividade da enzima remanescente é mensurada, levando ao desenvolvimento de cor com intensidade diretamente proporcional à concentração de anti-tTG-IgA presente nas amostras.

Por último, adicionou-se 100 µl da “Solução Stop” (Ácido Sulfúrico 0.344M) em cada escavação da placa, para que a leitura fosse efetuada (Figura 6). A leitura

da absorbância foi realizada a 450 nm, em leitor de ELISA (Organon Teknika Reader 530 version 1,24).



O cálculo da concentração de anti-tTG-IgA foi realizado por comparação da cor desenvolvida nas amostras, em relação à cor obtida nos controles do *kit*, conforme orientação do fornecedor. A reatividade para cada amostra foi calculada pela divisão da média da absorbância da amostra pela média da absorbância do controle baixo positivo. O resultado foi multiplicado pelo número de unidades encontradas no controle baixo positivo.

$$\text{Valor da amostra (unidades)} = \frac{\text{absorbância amostra}}{\text{absorbância controle baixo positivo}} \times \text{valor do controle baixo positivo (unidades)}$$

Os resultados das amostras foram classificados como negativo, baixo positivo ou como moderado a alto positivo, de acordo com os dados sugeridos pelo fornecedor, conforme especificado na Tabela 2.

TABELA 2 - RESULTADO DAS AMOSTRAS DE SOROS PARA O ANTI-tTG-IgA DE ACORDO COM AS UNIDADES OBTIDAS

RESULTADO	UNIDADES
Negativo	< 20
Baixo Positivo	20 – 30
Moderado a Alto Positivo	> 30

FONTE: *kit* INOVA QUANTA Lite™ tTG ELISA (San Diego, USA)

4.2.4.1 Validação do ensaio

Para que os resultados da pesquisa do anti-tTG-IgA (kit INOVA QUANTA Lite™) possam ser considerados válidos, devem ser cumpridos todos os critérios definidos pelo fornecedor: A absorbância do controle alto positivo pré-diluído do *kit* deve ser superior à do controle baixo positivo, que deve ser superior à do controle negativo. O controle alto positivo deve ter uma absorbância superior a 1.0, enquanto o controle negativo não pode ter uma absorbância superior a 0.2. Por sua vez, a absorbância do controle baixo positivo deve ser mais do dobro da absorbância do controle negativo ou superior a 0.25.

4.2.5 Pesquisa de Outros Auto-Anticorpos

Todas as amostras de soros foram investigadas, por técnica de IFI, para a presença dos auto-anticorpos anti-músculo liso (AML), anti-mitocôndria (AMA), anti-microsomal de fígado e rim (LKM), anti-célula gástrica parietal (CGP) e anti-microsomal tireoidiano (AAM), conforme metodologia previamente descrita (RIZZETO; SWANA; DONIACH, 1973; BIGAZZI; ROSE, 1984).

As amostras de soros de familiares da etapa I do presente estudo encontravam-se parcialmente analisadas para a presença desses auto-anticorpos, constituindo estudos prévios (UTIYAMA et al., 2001; UTYAMA et al., 2005).

4.2.5.1 Preparo dos substratos

Para determinação dos auto-anticorpos citados foram utilizados substratos antigênicos adequados, tendo como fonte cortes criostáticos de tecidos murino e tecido humano, conforme especificado no Quadro 1.

QUADRO 1 – SUBSTRATOS DAS REAÇÕES DE IFI PARA PESQUISA DE AUTO-ANTICORPOS

AUTO-ANTICORPOS	SUBSTRATOS ^(1,2)
Anti-músculo liso (AML)	Estômago de rato
Anti-mitocôndria (AMA)	Rim de rato
Anti-microsoma de fígado e rim (LKM)	Fígado e rim de rato
Anti-célula gástrica parietal (CGP)	Estômago de rato
Anti-microsomal tireoidiano (AAM)	Tireóide humana

FONTE: (1) RIZZETTO, SWANA e DONIACH (1973); (2) BIGAZZI e ROSE (1984);

Para obtenção dos órgãos de rato foi necessária a aquisição de um animal adulto, de aproximadamente 4 meses, preferencialmente fêmea, fornecido pelo biotério do Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná.

Após o sacrifício do rato, procedeu-se a dissecação dos órgãos (estômago, fígado e rim) e a lavagem exaustiva dos mesmos em soro fisiológico. Os órgãos foram clivados em pequenos fragmentos, sendo imersos em OCT e imediatamente congelados em nitrogênio líquido (Figura 7). Esses blocos foram mantidos em freezer a -80°C até serem realizados os cortes criostáticos de 3µm de espessura. As lâminas contendo os cortes foram conservadas em freezer a -20°C até o momento de uso nas reações de IFI.

Foi realizado procedimento semelhante de congelamento e preservação com pequenos fragmentos de tireóide humana.

4.2.5.2 Reação de imunofluorescência indireta para a pesquisa de auto-anticorpos

Para a pesquisa dos anticorpos AML, AMA, LKM, CGP e AAM, todas as amostras de soros foram diluídas a 1/10, 1/20 e 1/40 em tampão PBS, pH 7.2. Os soros testes diluídos, assim como os soros controles positivos e negativos, foram aplicados nas lâminas contendo os cortes criostáticos dos substratos específicos para cada auto-anticorpo e incubados em câmara úmida durante 30 minutos, à temperatura ambiente.

Após lavagem das lâminas com tampão PBS (3 vezes, 5 minutos cada vez), os tecidos foram incubados com conjugado fluorescente anti-imunoglobulina humana total (DAKO, Denmark; GMK, Porto Alegre, RS e ZYMED, San Francisco, CA, USA), por 30 minutos, à temperatura ambiente, seguida de nova lavagem. A montagem das lâminas foi feita com glicerina alcalina e a leitura realizada em microscópio de fluorescência (Olympus/Japan), por dois profissionais de forma independente.

Foram consideradas positivas as reações onde os tecidos utilizados apresentaram fluorescência com títulos iguais ou superiores a 1/40 para os anticorpos AML e CGP; iguais ou superiores a 1/10 para os anticorpos AAM e iguais ou superiores a 1/20 para os demais auto-anticorpos.

Todos os soros positivos nas diluições iniciais de triagem também foram retestados para a definição do título final de cada anticorpo.

Os soros que deram reação positiva para o anticorpo anti-microssomal tireoidiano (AAM) também foram testados pelo método de Quimioluminescência, para a pesquisa específica do anticorpo anti-peroxidase (anti-TPO) (*Kit* DPC - Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA).

FIGURA 7 – PREPARO DOS SUBSTRATOS DE TECIDO MURINO



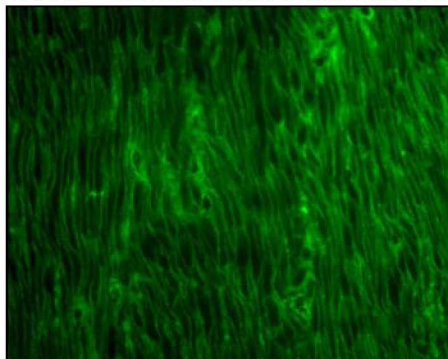
Para a leitura da IFI são considerados alguns critérios, definidos por RIZZETTO, SWANA e DONIACH (1973); BIGAZZI e ROSE (1984); FIKE (1997b). O AML tem como antígeno alvo a actina F do músculo e cora as células da musculatura lisa de maneira uniforme ou granular (Figura 8). O AMA apresenta o complexo da enzima piruvato desidrogenase (70 KDa e 48 KDa) como antígeno alvo e cora intensamente o citoplasma de células epiteliais de túbulos distais (granular fino) e das alças de Henle, e de forma mais fraca os túbulos proximais (Figura 9).

O anticorpo anti-LKM possui como antígeno alvo o retículo endoplasmático liso e rugoso (50 KDa) e no fígado, cora o citoplasma do hepatócito (granular fino difuso), e no rim, cora o epitélio renal tubular proximal (Figura 10).

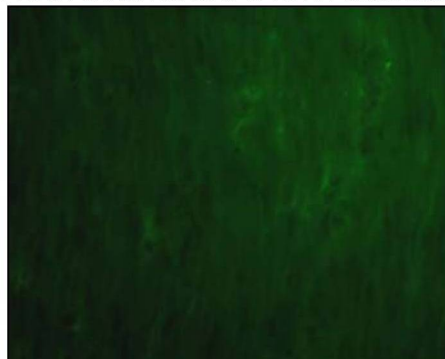
O anticorpo anti-CGP tem como antígeno alvo as subunidades α e β da adenosina trifosfatase gástrica H/K (ATPase) e cora o citoplasma das células parietais da mucosa gástrica fúndica (Figura 11).

O anticorpo anti-AAM cora o citoplasma das células epiteliais da tireóide (Figura 12).

FIGURA 8 – IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA O ANTICORPO ANTI-MÚSCULO LISO

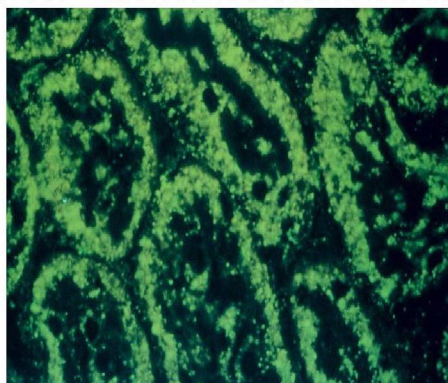


NOTA: Reação Positiva

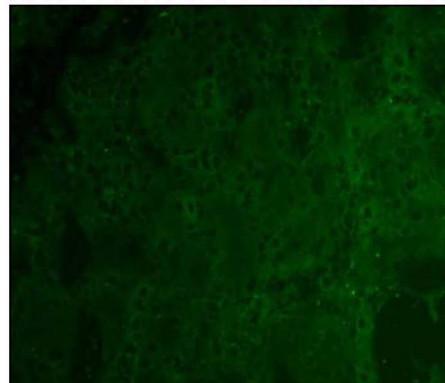


Reação Negativa

FIGURA 9 – IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA O ANTICORPO ANTI-MITOCONDRIAL

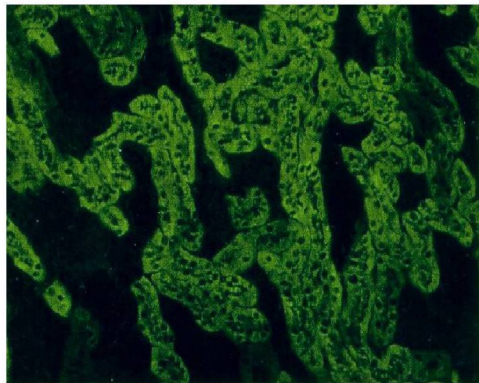


NOTA: Reação Positiva

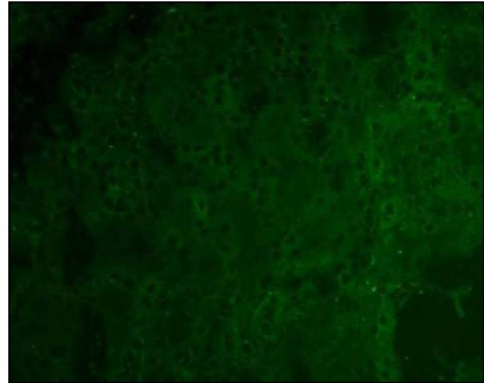


Reação Negativa

FIGURA 10 – IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA O ANTICORPO ANTI-MICROSSOMAL DE FÍGADO E RIM

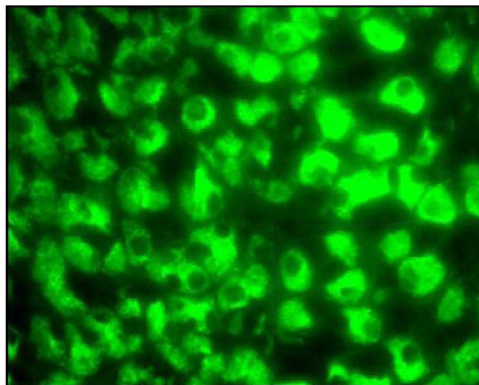


NOTA: Reação Positiva

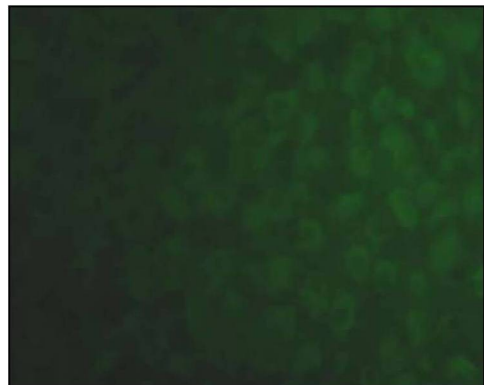


Reação negativa

FIGURA 11 – IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA O ANTICORPO ANTI-CÉLULA GÁSTRICA PARIETAL

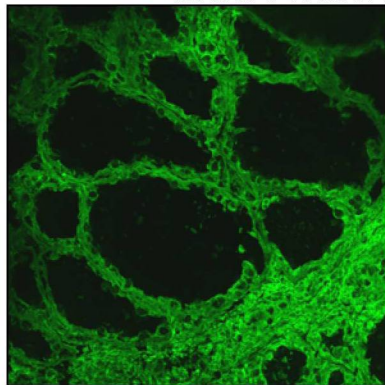


NOTA: Reação Positiva

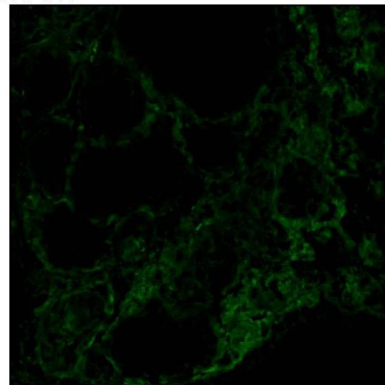


Reação Negativa

FIGURA 12 – IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA O ANTICORPO ANTI-MICROSSOMAL TIREOIDIANO



NOTA: Reação Positiva



Reação Negativa

4.2.6 Determinação da Concentração Sérica de IgA

A concentração sérica total de IgA em todas as amostras de soros de familiares de pacientes com DC foi determinada por turbidimetria, utilizando-se *kit* comercial (Dade Behring Inc., Newark, DE 19714, USA). Esse procedimento teve por objetivo evitar resultados falso-negativos na determinação do EmA-IgA e anti-tTG-IgA em situações de deficiência dessa imunoglobulina.

A turbidimetria baseia-se na diminuição da intensidade da luz transmitida em relação à incidente, através da precipitação de IgA, presente nas amostras de soro com os anticorpos anti-IgA humano, devido à reflexão, absorção ou espalhamento. As leituras são realizadas em unidades de absorbância, as quais refletem a relação entre a luz incidente e a transmitida. Os analisadores utilizam um sistema de agitação constante para evitar concentrações localizadas de antígeno ou de anticorpo, que podem afetar o resultado (CHANG et al., 1998).

Realizou-se a leitura da curva de referência, que se encontra anexa a cada bula do *kit*, através do código de barras, conforme descrição no manual de utilização do sistema TurbTime (Turbidímetro Dade Behring, USA; Figura 13). As amostras de soros foram diluídas em solução isotônica de cloreto de sódio 0,9% na proporção de 1:21, e 50µl dessas amostras diluídas foram adicionados à cubeta de reação, sob agitação, assim que o aparelho sinalizou, acrescentando-se, na sequência, 500 µl do reagente previamente inserido no canal do sistema TurbTime.

A medição efetua-se automaticamente em g/l ou numa unidade volumétrica derivada, a selecionar pelo usuário.

Foram considerados deficientes níveis inferiores a 5 mg% (RITTMAYER; RHOADS, 1996; CATALDO et al., 1997).

FIGURA 13 – TURBIDÍMETRO DADE BEHERING, USA



4.2.7 Correlação Clínico-Laboratorial

Todos os indivíduos que apresentaram reações positivas para um ou mais anticorpos investigados foram comunicados dos resultados e orientados a procurar um profissional capacitado que direcionará aos exames complementares, visando à correlação clínico-laboratorial dos dados obtidos no estudo.

4.2.8 Análise Estatística

Recorreu-se à análise descritiva dos dados através de tabelas e gráficos. Para a comprovação do objetivo desse trabalho foi utilizado o Coeficiente de Correlação de Pearson e os testes não-paramétricos “Comparação entre duas Proporções” (através do *software “Primer of Biostatistics”*), “Qui-Quadrado com correção de Yates” e “Exato de Fisher” (pelo Epi-Info). O nível de significância (probabilidade de significância) adotado foi menor que 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

Os resultados obtidos na pesquisa dos anticorpos EmA-IgA, anti-tTG-IgA e demais auto-anticorpos nos familiares de pacientes com DC, assim como a concentração sérica de IgA nos mesmos, encontram-se nos Apêndices 1 e 2. Os dados referentes aos não-familiares estão demonstrados no Apêndice 3.

5.1 ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO E ANTI-TRANSGLUTAMINASE TECIDUAL

5.1.1 Positividade Total do EmA-IgA e anti-tTG-IgA em Familiares de Celíacos e Não-familiares

Os resultados obtidos na determinação do EmA-IgA e anti-tTG-IgA, no total dos familiares em estudo, assim como no grupo de não-familiares, podem ser observados no Gráfico 1. A positividade total de anticorpos detectada nos familiares foi de 22,32% (52/233), e nos não-familiares 0% (0/100), revelando uma diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,001$). Dentre os não-familiares, os resultados negativos para o EmA-IgA e anti-tTG-IgA simultaneamente (100/100) mostraram uma concordância de 100% entre as duas metodologias nessa população.

Dois familiares analisados (0,86%) apresentaram deficiência de IgA e foram avaliados para o EmA-IgG, no entanto, nenhum dos indivíduos demonstrou positividade para esse anticorpo.

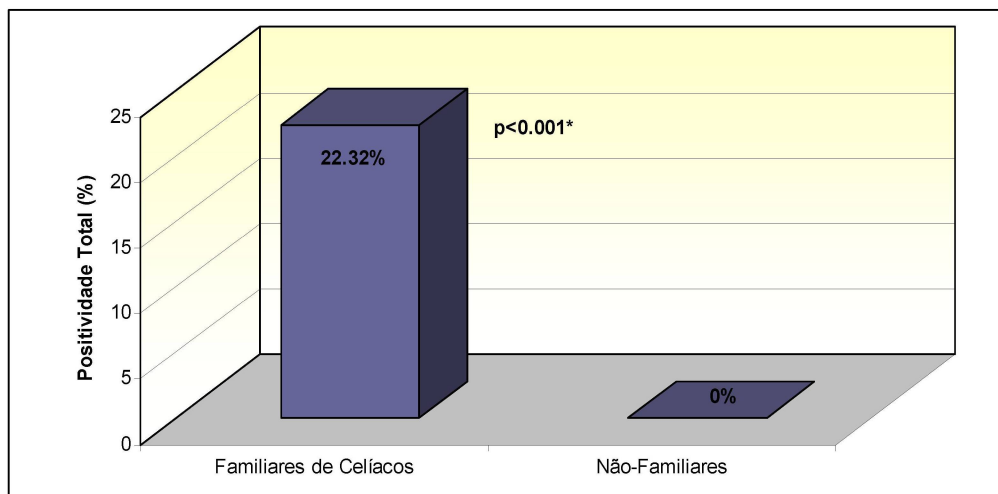
5.1.2 Positividade do EmA-IgA e anti-tTG-IgA nos Diferentes Grupos de Familiares em Estudo

5.1.2.1 Familiares da etapa I

A análise sorológica dos 186 familiares de pacientes com DC, pertencentes à etapa I da pesquisa, revelou positividade de 23,12% (43/186) para pelo menos um dos anticorpos investigados. Entre esses familiares, 12,90% (24/186) foram positivos para o EmA-IgA e 17,20% (32/186) para o anti-tTG-IgA, sendo que dentre esses

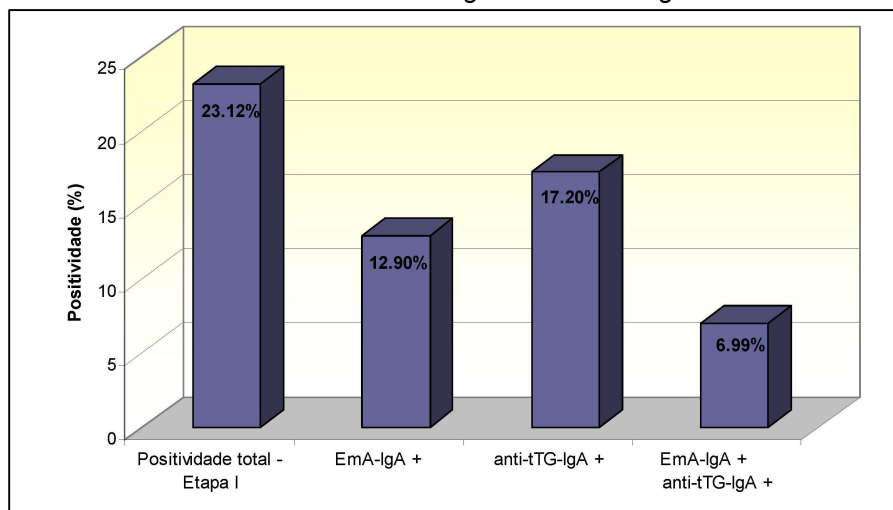
6,99% (13/186) apresentaram resultados positivos concomitantemente para os dois anticorpos (Gráfico 2). No Apêndice 4 tem-se uma relação dos familiares que apresentaram positividade para qualquer um dos auto-anticorpos investigados nas duas etapas da pesquisa

GRÁFICO 1 – POSITIVIDADE TOTAL DE EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM FAMILIARES DE CELÍACOS E NÃO-FAMILIARES



NOTA: * Familiares de Celíacos x Não-familiares: $p < 0,001$
Qui-Quadrado com correção de Yates

GRÁFICO 2 – POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM FAMILIARES DA ETAPA I

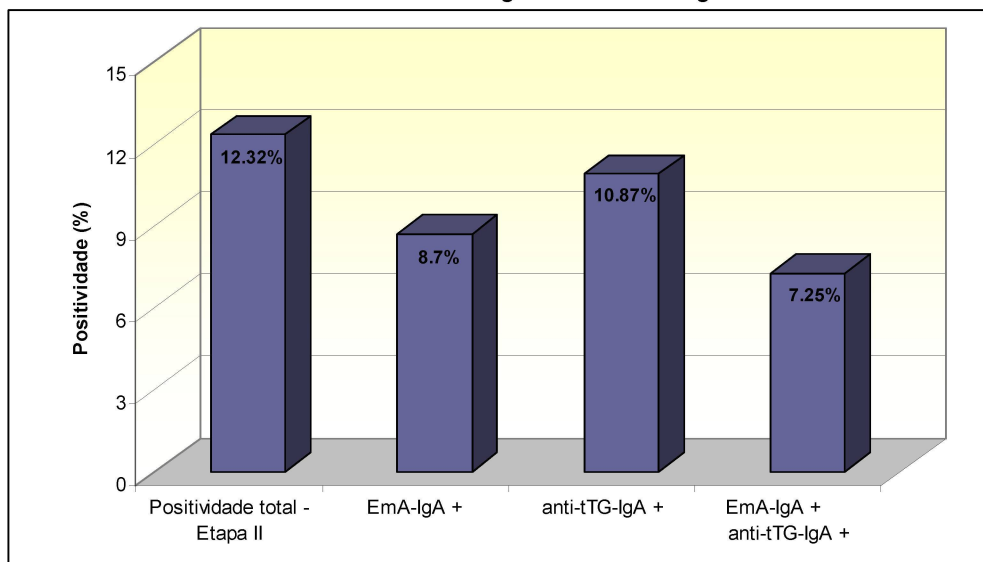


5.1.2.2 Familiares da etapa II

Dentre os 17 (12,32%) familiares positivos da etapa II como um todo, 12 (8,7%) foram positivos para a presença do EmA-IgA e 15 (10,87%) para o anti-tTG-

IgA, sendo que 10 (7,25%) desses familiares apresentaram EmA-IgA e anti-tTG-IgA simultaneamente (Gráfico 3). No Apêndice 4 tem-se uma relação detalhada desses familiares positivos.

GRÁFICO 3 – POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM FAMILIARES DA ETAPA II



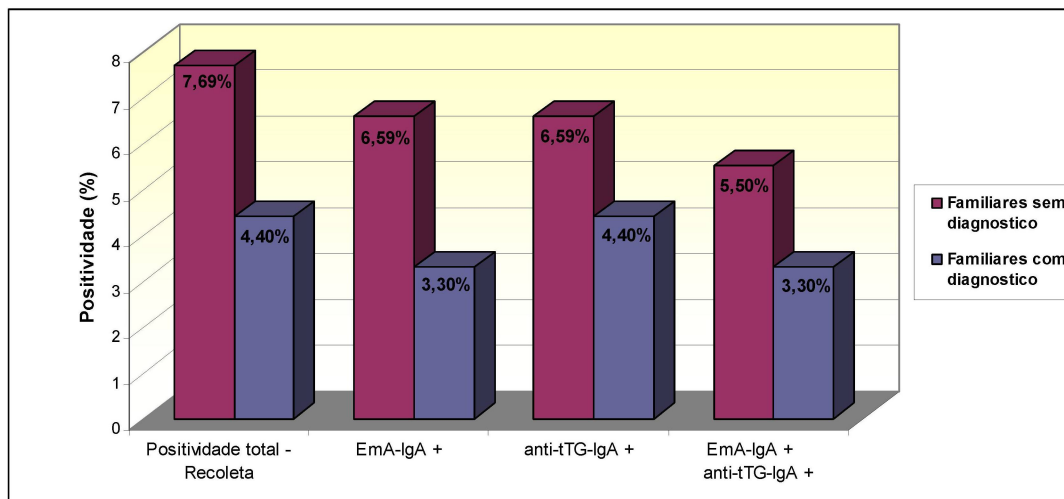
5.1.2.3 Familiares da etapa II – recoleta

Dentre os 186 familiares da etapa I avaliados entre 1997-2000, 48,92% (91/186) compareceram para a recoleta em 2006. A pesquisa de EmA-IgA e anti-tTG-IgA nessas amostras revelou positividade em 11 desses indivíduos (11/91; 12,09%), sendo que 4 fazem parte do subgrupo de familiares com diagnóstico e 7 sem diagnóstico. Dessa forma, a pesquisa de EmA-IgA e anti-tTG-IgA revelou positividade total de 7,69% (7/91) no subgrupo de familiares sem diagnóstico e 4,40% (4/91) nos familiares com diagnóstico. Dentre esses, obteve-se 6,59% (6/91) e 3,30% (3/91) de positividade para o EmA-IgA e 6,59% (6/91) e 4,40% (4/91) para o anti-tTG-IgA, respectivamente, sendo que 5,50% (5/91) e 3,30% (3/91) revelaram concomitância na positividade para ambos os anticorpos investigados, como demonstrado no Gráfico 4.

Do total de 43 familiares que apresentaram resultados positivos na etapa I do estudo, vinte (20/43; 46,51%) compareceram para a recoleta. Entre esses familiares verificou-se que 60% (12/20) tornaram-se negativos, enquanto os demais (8/20) permaneceram positivos para algum dos anticorpos, com títulos variando de 1:2.5 a

1:40 para o EmA-IgA e uma variação de 28 a 216 unidades para anti-tTG-IgA. Dos familiares negativos que retornaram (71/91; 78,02%), três tornaram-se positivos nesse período (3/71; 4,22%), com título de 1:2.5 para o EmA e o anti-tTG-IgA variando de 23 a 132 unidades.

GRÁFICO 4 – POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DA RECOLETA



5.1.2.4 Familiares da etapa II – novos familiares

De acordo com o Gráfico 5 verifica-se que a determinação de anticorpos para DC nos soros dos novos familiares resultou em uma positividade total de 12,77% (6/47). Três (6,38%) familiares apresentaram positividade para o EmA-IgA e 5 (10,64%) para o anti-tTG-IgA, sendo que 2 desses (4,26%) foram positivos concomitantemente para os dois anticorpos.

5.1.3 Distribuição dos Títulos de EmA-IgA e anti-tTG-IgA nos Grupos de Familiares em Estudo

A positividade do EmA-IgA caracterizou uma variação de títulos na faixa de diluição de 1:2.5 até 1:80 no total das amostras em análise, assim como o anti-tTG-IgA variou de 20 a 277 unidades.

A Tabela 3 mostra a distribuição dos indivíduos positivos em relação aos títulos do EmA-IgA ($\leq 1:5$ e $\geq 1:10$) e às unidades de anti-tTG-IgA (20-30 unidades e

>30 unidades), destacando um aumento significativo no número de familiares da etapa II com reação moderada a forte positiva para o anti-tTG-IgA ($p=0,003$), mais especificamente aqueles submetidos à coleta ($p=0,025$).

Nesse contexto, a média dos valores das unidades obtidas entre as amostras positivas na pesquisa desse anticorpo foi de 61,31 unidades para a etapa I e de 95,4 unidades para a etapa II, com variação de 20 a 195 e de 23 a 277 unidades, respectivamente.

GRÁFICO 5 – POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS NOVOS FAMILIARES

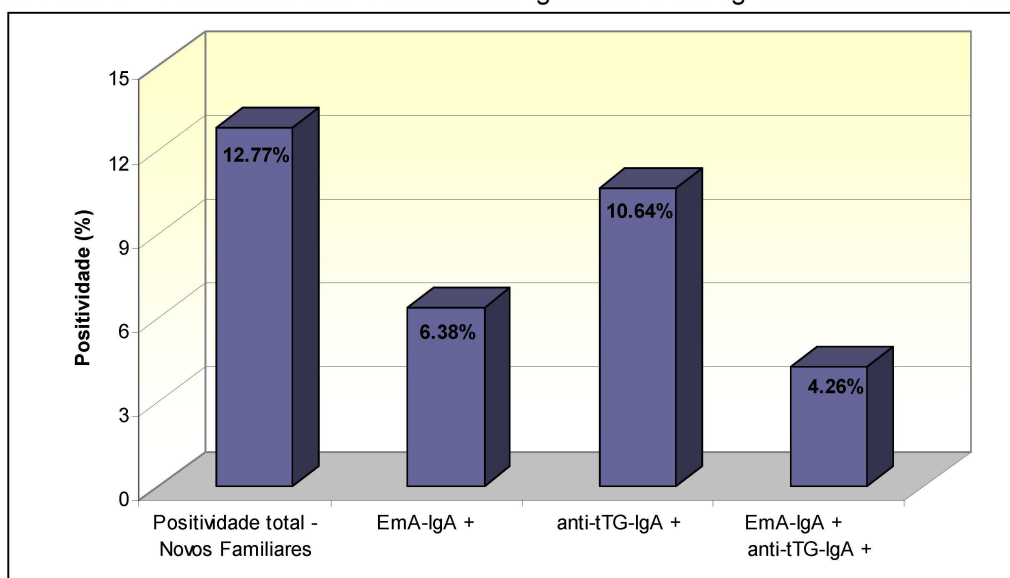


TABELA 3 – POSITIVIDADE DO EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM RELAÇÃO ÀS CONCENTRAÇÕES DE ANTICORPOS

GRUPOS DE ESTUDO	EmA-IgA		P ⁽¹⁾	Anti-tTG-IgA		P ⁽²⁾
	Título ≤ 1:5	Título ≥ 1:10		20-30 unidades	>30 unidades	
	N (%)	N (%)		N (%)	N (%)	
FAMILIARES - ETAPA I	15/24 (62,5)	9/24 (37,5)	NS	14/32 (43,75)	18/32 (56,25)	NS
FAMILIARES - ETAPA II	7/12 (58,33)	5/12 (41,67)	NS	3/15 (20)	12/15 (80)	0,003
RECOLETA	5/9 (55,56)	4/9 (44,44)	NS	2/10 (20)	8/10 (80)	0,025
NOVOS FAMILIARES	2/3 (66,67)	1/3 (33,33)	NS	1/5 (20)	4/5 (80)	NS

NOTAS: N=número de indivíduos positivos nos grupos em estudo;

p⁽¹⁾ = EmA-IgA ≤ 1:5 x EmA-IgA ≥ 1:10

p⁽²⁾ = Anti-tTG-IgA 20-30 unidades x Anti-tTG-IgA >30 unidades

NS=não significativa a nível de 0,05;

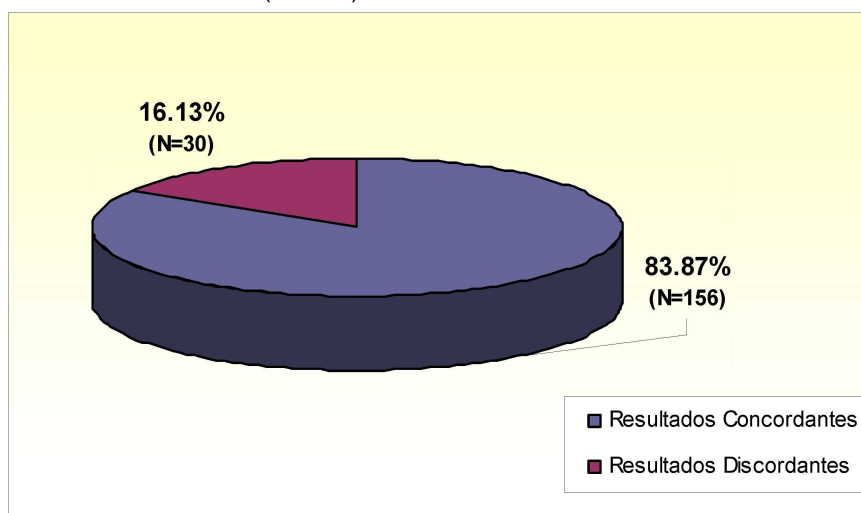
Proporções

5.1.4 Análise da Concordância entre as Metodologias Utilizadas no Estudo

5.1.4.1 Familiares da etapa I

Dentre os 186 familiares estudados na etapa I, 156 (83,87%) apresentaram resultados concordantes entre os dois métodos utilizados, enquanto 30 indivíduos (16,13%) foram discordantes, como pode ser observado no Gráfico 6. Dentre os concordantes, 91,67% (143/156) eram negativos para o EmA-IgA e anti-tTG-IgA, enquanto 8,33% (13/156) eram positivos para ambos (Gráfico 7a). No grupo de casos discordantes (N=30; Gráfico 7b), onze familiares apresentaram o EmA-IgA positivo e o anti-tTG-IgA negativo (11/30; 36,67%). Por outro lado, dezenove foram EmA-IgA negativo e anti-tTG-IgA positivo (19/30; 63,33%). Nas situações de discordância, o EmA-IgA teve variação de títulos de 1:2.5 a 1:40, enquanto o anti-tTG-IgA variou de 20 a 106 unidades, respectivamente.

GRÁFICO 6 – CONCORDÂNCIA ENTRE EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DA ETAPA I (N=186)

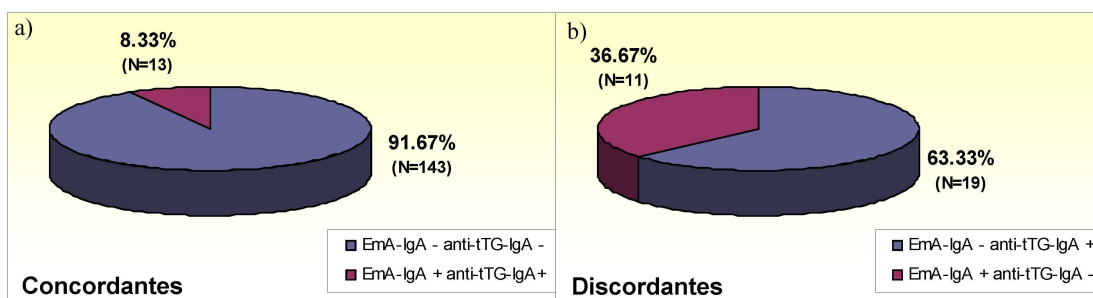


5.1.4.2 Familiares da etapa II

A concordância observada entre os métodos empregados foi de 94,93% (131/138) para todos os indivíduos dessa etapa e a discordância foi de 5,07% (7/138), como demonstra o Gráfico 8. Ao se comparar a concordância obtida entre os métodos para os familiares da etapa I com os da etapa II (83,87%; 156/186 x

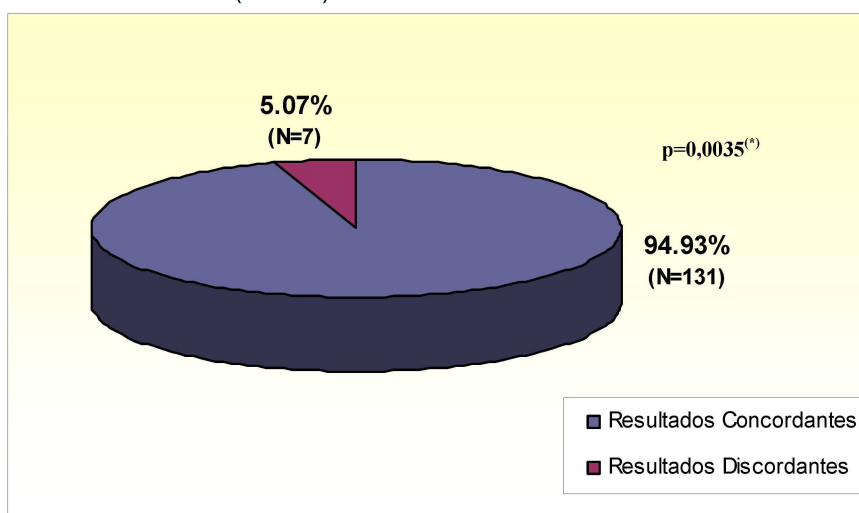
94,93%; 131/138, respectivamente), observa-se aumento significativo no último grupo ($p=0,0035$).

GRÁFICO 7 – ANÁLISE DA CONCORDÂNCIA E DISCORDÂNCIA PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA ENTRE OS FAMILIARES DA ETAPA I



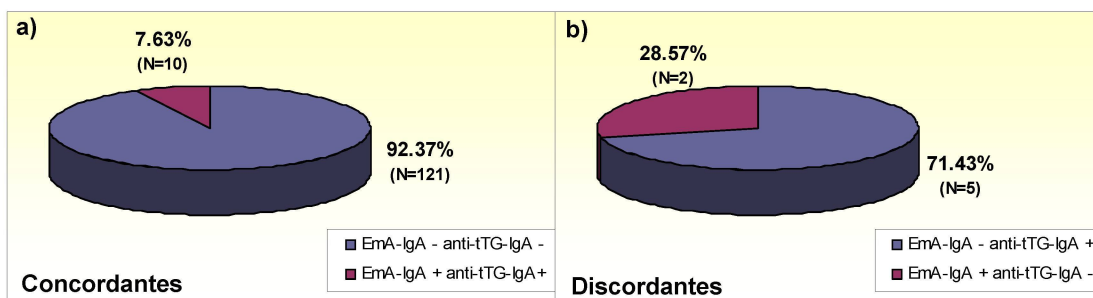
Dentre os 131 (94,93%) familiares que apresentaram resultados concordantes, 121(92,37%) eram negativos para os dois métodos empregados, enquanto 10 (7,63%) eram positivos para ambos (Gráfico 9a). Por sua vez, dos 5,07% (7/138) discordantes nos resultados, dois (28,57%) mostraram positividade apenas para o EmA-IgA e cinco (71,43%) apenas para a pesquisa de anti-tTG-IgA (Gráfico 9b). Nas discordâncias, o EmA-IgA evidenciava título de 1:2.5, enquanto o anti-tTG-IgA variou de 23 a 61 unidades, respectivamente.

GRÁFICO 8 – CONCORDÂNCIA ENTRE EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DA ETAPA II (N=138)



NOTAS: $(*)$ Concordância Etapa I x Concordância Etapa II: $p=0,0035$
Qui-Quadrado com correção de Yates

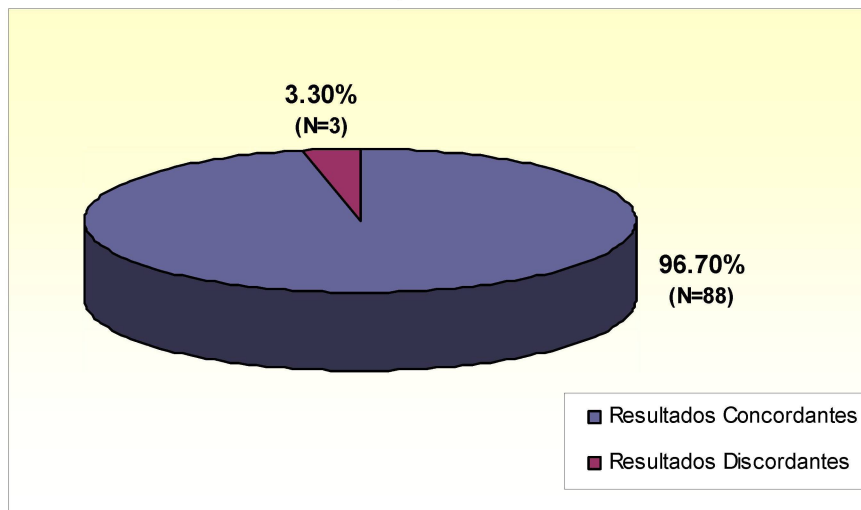
GRÁFICO 9 – ANÁLISE DA CONCORDÂNCIA E DISCORDÂNCIA PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA ENTRE OS FAMILIARES DA ETAPA II



5.1.4.3 Familiares da etapa II – recoleta e novos familiares

Dentre os 91 familiares que tiveram suas amostras de sangue recoletadas, a concordância foi de 96,70% (88/91) e a discordância de 3,30% (3/91; Gráfico 10), enquanto entre os novos familiares a concordância foi 91,49% (43/47) e a discordância de 8,51% (4/47; Gráfico 11).

GRÁFICO 10 – CONCORDÂNCIA ENTRE EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DA RECOLETA (N=91)



Os Gráficos 12(a) e 13(a) ilustram a análise dos resultados concordantes obtidos entre os familiares da recoleta (88/91) e os novos familiares (43/47). Destacam-se 90,91% (80/88) e 95,35% (41/43) dos indivíduos como negativos para o EmA-IgA e anti-tTG-IgA, em contraste a 9,09% (8/88) e 4,65% (2/43) com positividade para ambos, nos grupos acima referidos, respectivamente. Entre os resultados discordantes da recoleta (3/91) e dos novos familiares (4/47), 33,33%

(1/3) e 25% (1/4) foram positivos apenas para o EmA-IgA , enquanto 66,67% (2/3) e 75% (3/4) apenas para o anti-tTG-IgA respectivamente, como evidenciam os Gráficos 12(b) e 13(b).

GRÁFICO 11 – CONCORDÂNCIA ENTRE EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA ENTRE OS NOVOS FAMILIARES (N=47)

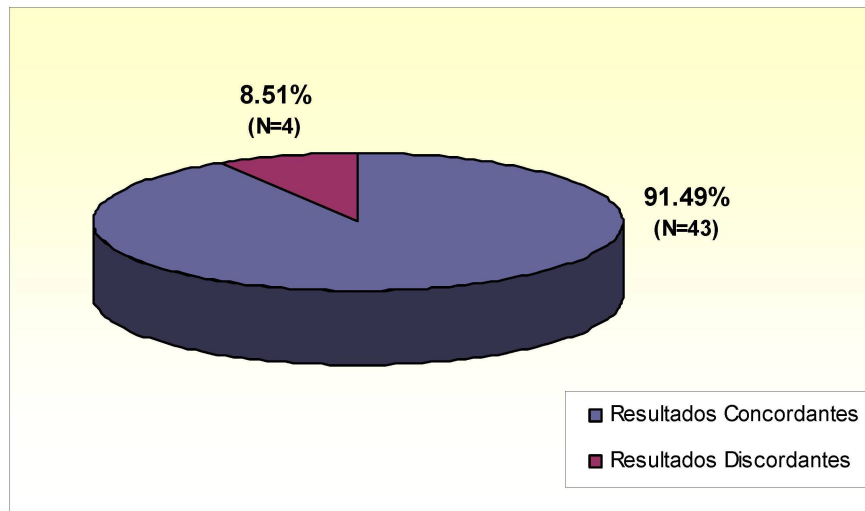


GRÁFICO 12 – ANÁLISE DA CONCORDÂNCIA E DISCORDÂNCIA PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA ENTRE OS FAMILIARES DA RECOLETA

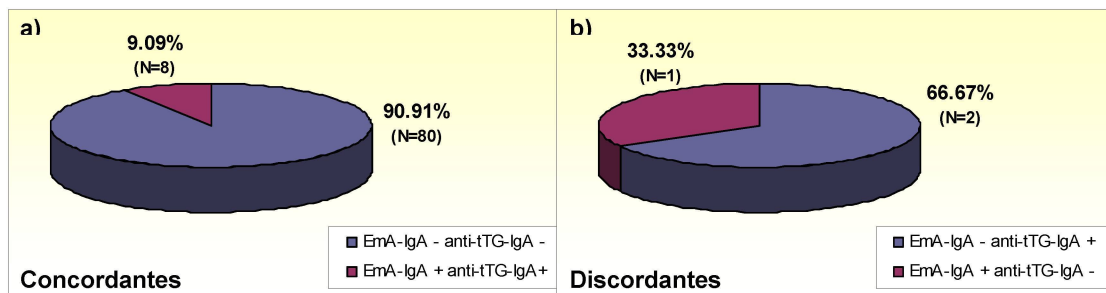
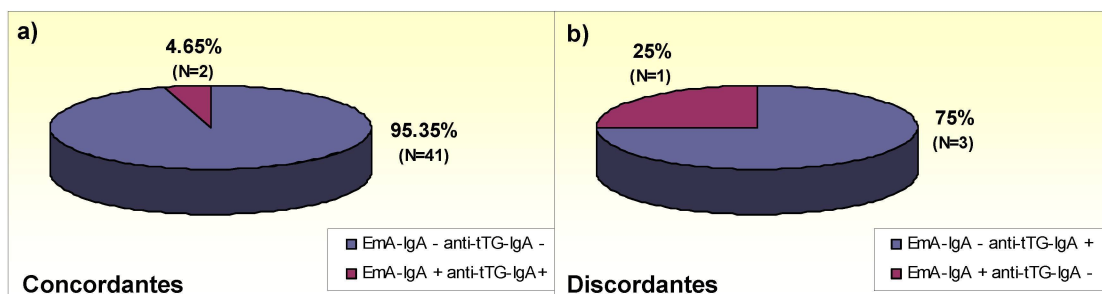


GRÁFICO 13 – ANÁLISE DA CONCORDÂNCIA E DISCORDÂNCIA PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA ENTRE OS NOVOS FAMILIARES



5.1.5 Análise do Desempenho dos *Kits* de ELISA empregados na Identificação do anti-tTG-IgA

Os Gráficos 14 e 15 caracterizam, através da correlação de Pearson, os coeficientes de relação obtidos entre os títulos do EmA-IgA e as unidades do anti-tTG-IgA. Enquanto nas amostras da etapa I, utilizando como antígeno tTG de *guinea pig*, obteve-se um $r=0,60708$ ($p<0,00001$), para a etapa II, com tTG humana, o coeficiente de relação (r) foi de $0,86196$ ($p<0,00001$).

A análise entre os métodos demonstrou uma concordância significativamente superior ($p=0,0035$) ao utilizar tTG humana (etapa II; 94,93%; 131/138) em relação à tTG de *guinea pig* (etapa I; 83,87%; 156/186) (Gráficos 6 e 8).

Resultados concomitantemente negativos para os anticorpos EmA-IgA e anti-tTG-IgA foram observados em 76,88% (143/186) dos familiares da etapa I e 87,68% (121/138) da etapa II, com variação de 5 a 19 unidades (média 13,16 unidades) e de 3 a 19 unidades (média 7,03 unidades) para o anti-tTG-IgA, respectivamente. A concordância entre os métodos, para as amostras negativas, mostrou-se significativamente superior na etapa II, com uso de tTG humana ($p=0,009$) em relação à etapa I, com tTG de *guinea pig*.

GRÁFICO 14 – CORRELAÇÃO EmA-IgA vs ANTI-tTG-IgA EM FAMILIARES DE CELÍACOS – ETAPA I

Correlação: $r=0,60708$ ($p<0,00001$)

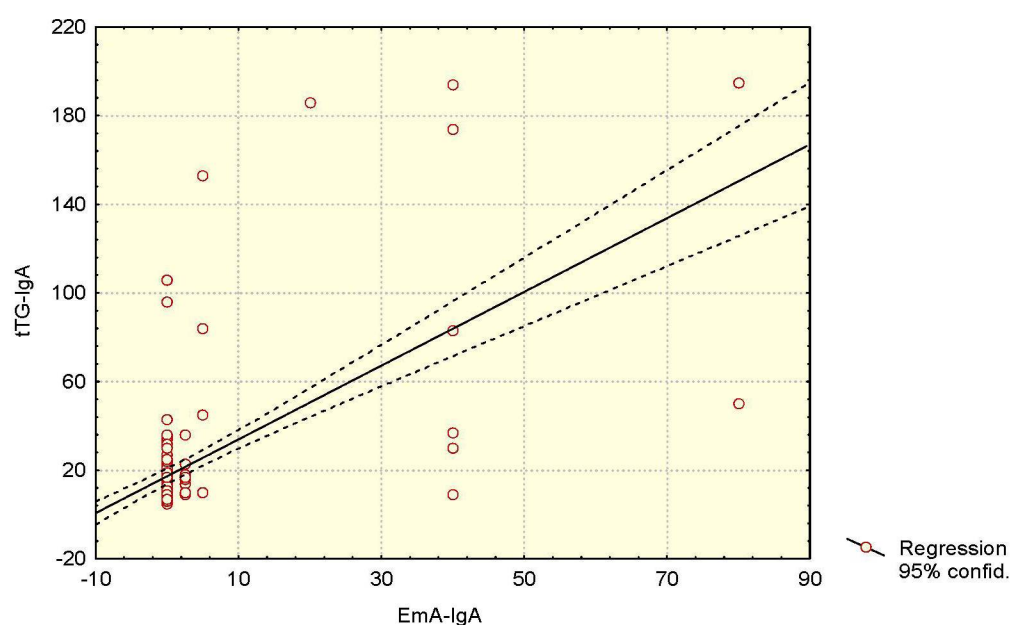
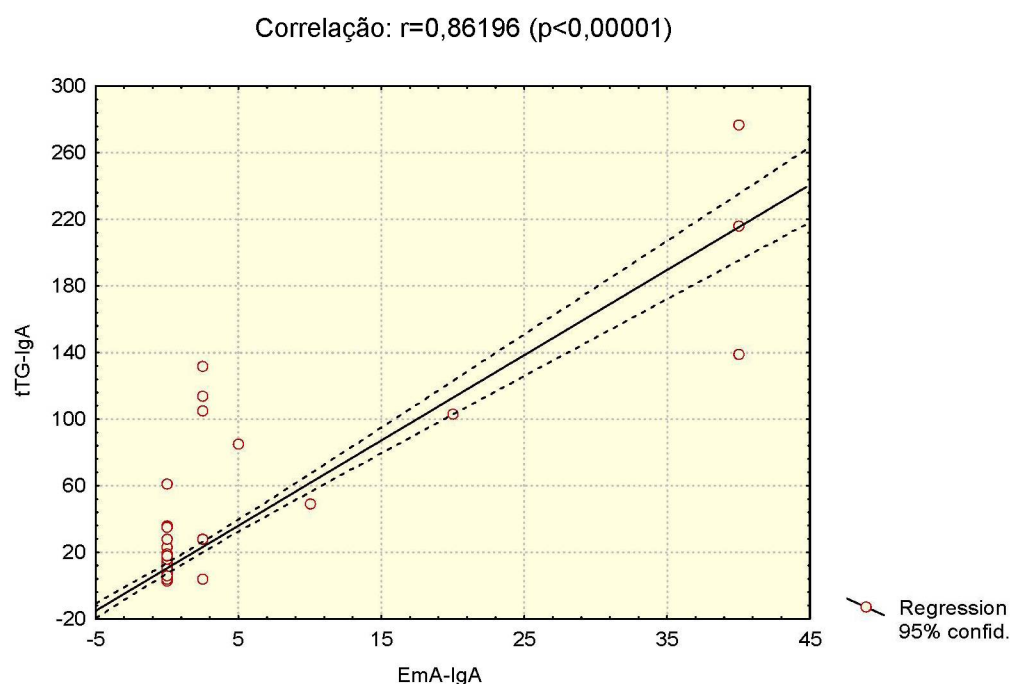


GRÁFICO 15 – CORRELAÇÃO EmA-IgA vs ANTI-tTG-IgA EM FAMILIARES DE CELÍACOS – ETAPA II



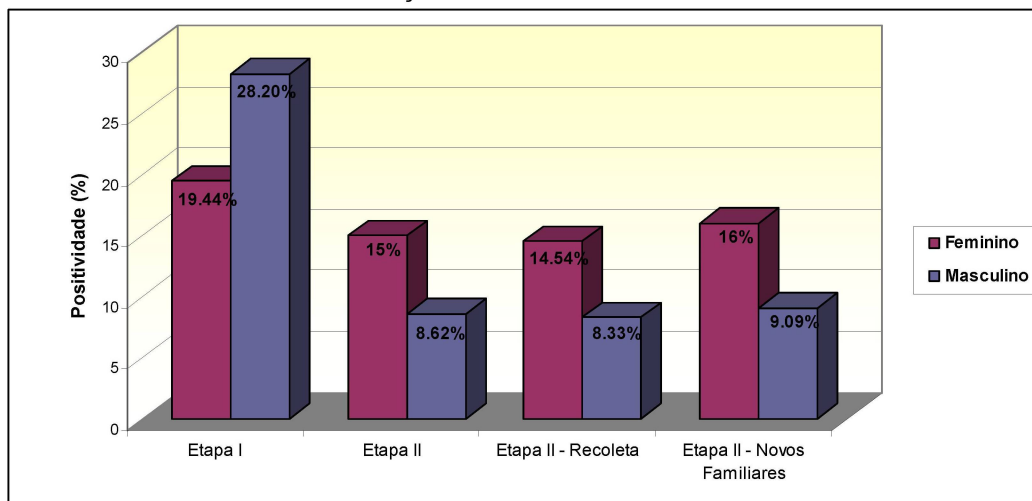
5.1.6 Positividade do EmA-IgA e anti-tTG-IgA nos Familiares de Celíacos em Relação ao Sexo

A investigação dos anticorpos EmA-IgA e anti-tTG-IgA em relação ao sexo nas populações em estudo evidenciou uma frequência diferenciada para cada grupo (Gráfico 16). Entre os indivíduos da etapa I, predominaram familiares positivos do sexo masculino (28,20%; 22/78) em relação ao feminino (19,44%; 21/108), porém sem alcançar significância estatística. Nos familiares da etapa II, obteve-se 15% (12/80) de positividade no sexo feminino e 8,62% (5/58) no masculino, sendo entre os familiares da recoleta, 14,54% (8/55) e 8,33% (3/36), e entre os novos familiares, 16% (4/25) e 9,09% (2/22), respectivamente. As diferenças detectadas entre esses grupos não foram significativas estatisticamente.

Em relação à proporção, dentre os 43 familiares positivos da etapa I, 51,16% (22/43) eram do sexo masculino e 48,84% (21/43) do feminino, caracterizando uma proporção de 1,05 homens para 1 mulher, não se obtendo diferença significativa. Por outro lado, entre os demais familiares, a proporção de mulheres foi superior a de

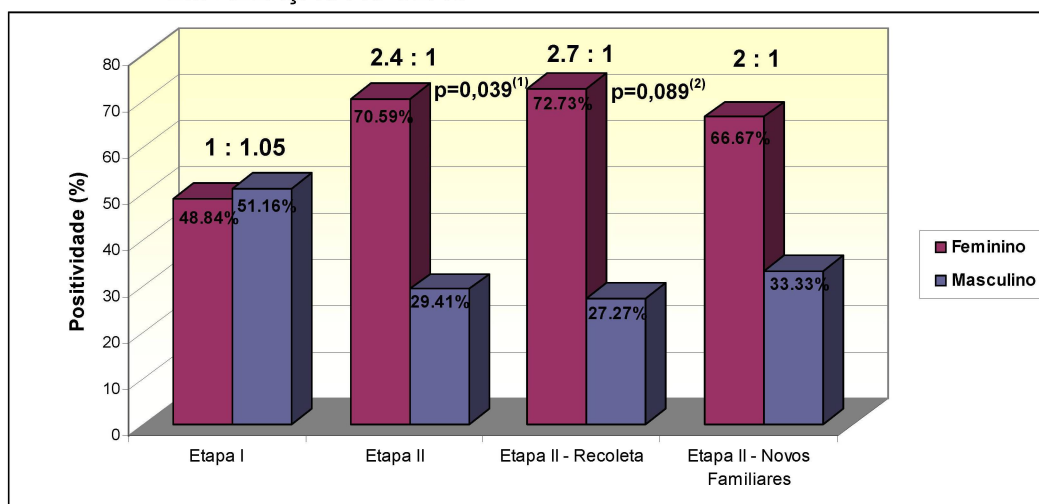
homens, sendo 2,4:1 (70,59%/29,41%; $p=0,039$) entre os familiares da etapa II, com 2,7:1 (72,73%/27,27%; $p=0,089$) entre os familiares da recoleta e 2:1 (66,67%/33,33%; $p=NS$) entre os novos familiares (Gráfico 17).

GRÁFICO 16 – POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DE CELÍACOS EM RELAÇÃO AO SEXO



NOTA: Feminino x Masculino; $p=NS$ para todos os grupos
Qui-Quadrado com correção de Yates; Fisher

GRÁFICO 17 – PROPORÇÃO DE FAMILIARES POSITIVOS PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM RELAÇÃO AO SEXO

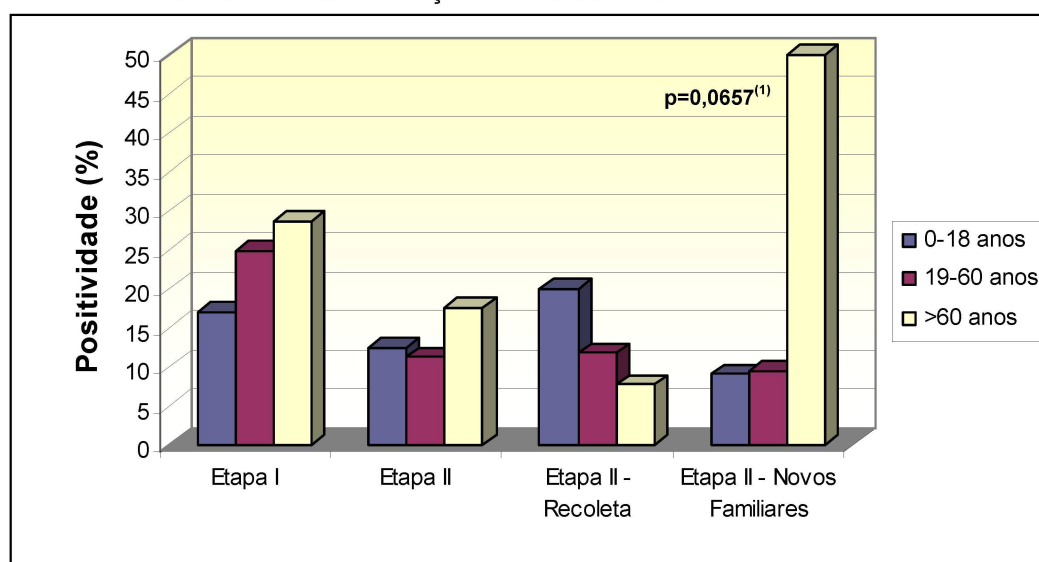


NOTAS: ⁽¹⁾Feminino x Masculino Etapa II: $p=0,039$
⁽²⁾Feminino x Masculino Recoleta: $p=0,089$
Proporções

5.1.7 Positividade do EmA-IgA e anti-tTG-IgA nos Familiares de Celíacos em Relação à Faixa Etária

O Gráfico 18 permite verificar a distribuição da frequência dos anticorpos ao analisar a positividade nas faixas etárias de 0-18, 19-60 e acima de 60 anos. Uma maior frequência de familiares positivos para o EmA-IgA e/ou anti-tTG-IgA da etapa I (28,57%; 4/14) encontrou-se na faixa etária acima de 60 anos, seguida de 24,80% (31/125) entre 19-60 anos e 17,02% (8/47) entre 0-18 anos. A análise desses dados não demonstrou diferença significativa. Os familiares da etapa II positivos para esses anticorpos compreendem 12,50% (4/32) entre 0-18 anos, 11,24% (10/89) entre 19-60 anos e 17,65% (3/17) acima de 60 anos. Dentre esses, a distribuição dos familiares positivos da recoleta e dos novos familiares é de 20% (2/10) e 9,09% (2/22) para os indivíduos entre 0-18 anos, de 11,76% (8/68) e 9,52% (2/21) para aqueles entre 19-60 anos e de 7,69% (1/13) e 50% (2/4) para os acima de 60 anos, respectivamente. Uma probabilidade limítrofe com tendência à significância estatística ($p=0,0657$) foi observada apenas entre os indivíduos >60 anos no grupo dos novos familiares.

GRÁFICO 18 – POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DE CELÍACOS EM RELAÇÃO À FAIXA ETÁRIA

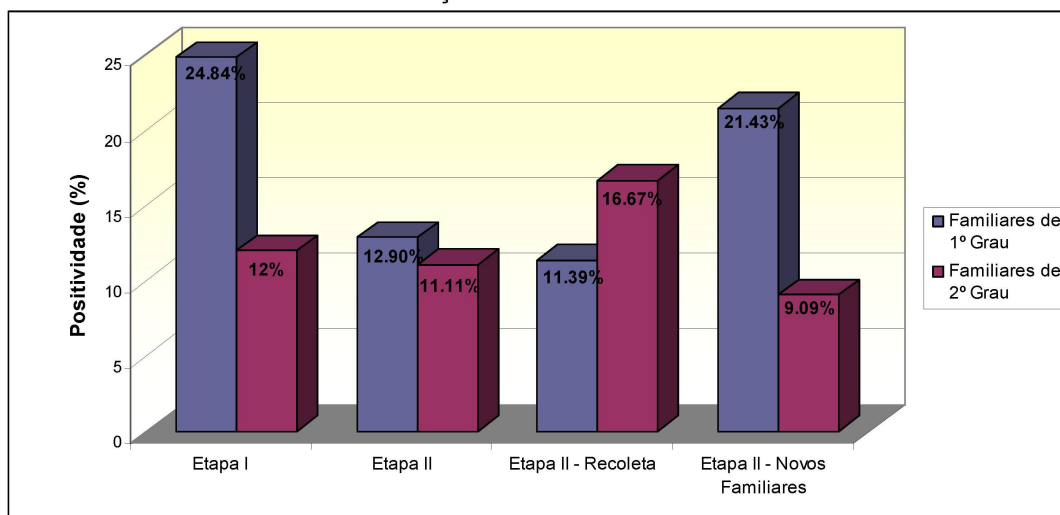


NOTA: ⁽¹⁾Faixa >60 anos Novos Familiares x 0-18anos; 19-60 anos Novos Familiares Qui-Quadrado com correção de Yates

5.1.8 Positividade do EmA-IgA e anti-tTG-IgA nos Familiares de Celíacos em Relação ao Grau de Parentesco

A análise dos anticorpos EmA-IgA e anti-tTG-IgA em relação ao grau de parentesco, demonstrou variação na positividade para cada população (Gráfico 19), porém sem atingir diferença estatística significativa. Avaliando-se os familiares de primeiro (N=161) e de segundo grau (N=25) entre os indivíduos da etapa I, observa-se uma positividade de 24,84% (40/161) e 12% (3/25), respectivamente. Em relação aos familiares de primeiro (N=93) e segundo grau (N=45) da etapa II, a porcentagem de positividade entre ambos foi bastante próxima (12,90% e 11,11% respectivamente). Dentre os familiares da recoleta, 13,19% (12/91) eram de segundo grau, e 86,81% (79/91) de primeiro grau, sendo a positividade de anticorpos de 16,67% (2/12) e 11,39% (9/79) respectivamente. Nos novos familiares, obteve-se 21,43% (3/14) de positividade entre os de primeiro grau e 9,09% (3/33) entre os de segundo grau.

GRÁFICO 19 – POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DE CELÍACOS EM RELAÇÃO AO GRAU DE PARENTESCO



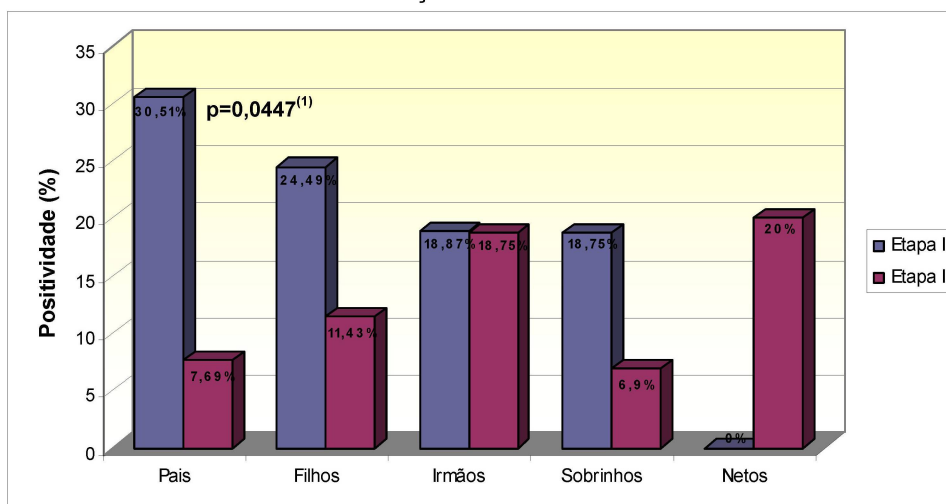
NOTA: p=NS para todos os grupos

No Gráfico 20 tem-se a distribuição da positividade para o EmA-IgA e anti-tTG-IgA observada em pais, filhos, irmãos, sobrinhos e netos de pacientes com DC nas duas etapas. Nos familiares da etapa I, obteve-se 30,51% (18/59) de positividade entre pais, 24,49% (12/49) entre filhos, 18,87% (10/53) entre irmãos e 18,75% (3/16) entre os sobrinhos, não resultando em diferença significativa entre os

mesmos. Por sua vez, dentre os familiares da etapa II, a positividade foi de 7,69% (2/26) em pais de pacientes com DC, 11,43% (4/35) em filhos, 18,75% (6/32) em irmãos, 6,90% (2/29) em sobrinhos e 20% (3/15) em netos, também não apresentando diferença significativa entre os mesmos.

A comparação da positividade entre as classificações de parentesco das duas etapas evidenciou uma diminuição significativa de anticorpos EmA-IgA e/ou anti-tTG-IgA positivos somente para os pais da etapa II (7,69%) quando analisados em relação aos pais da etapa I (30,51%; $p=0,0447$) (Gráfico 20).

GRÁFICO 20 – POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DAS ETAPAS I E II EM RELAÇÃO AO PARENTESCO



NOTA: ⁽¹⁾Pais Etapa I x Pais Etapa II: $p=0,0447$
Qui-Quadrado com correção de Yates

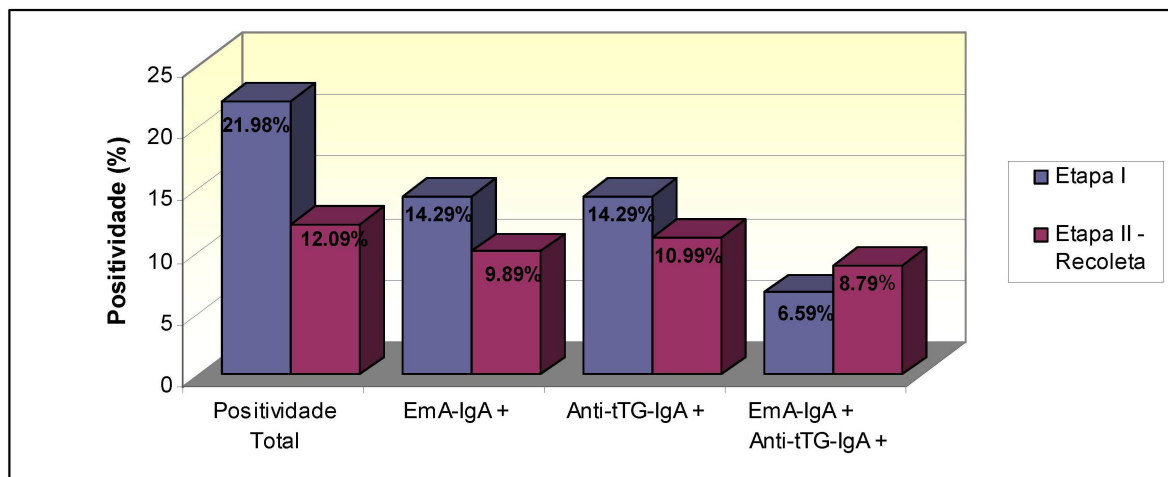
5.1.9 Análise da Evolução Sorológica do EmA-IgA e anti-tTG-IgA em Familiares no Período de 6-7 anos

Dentre os 186 familiares que fizeram parte da etapa I da pesquisa 48,92% (91/186) retornaram para a coleta da etapa II, possibilitando um estudo da evolução sorológica dos mesmos.

A análise das amostras de 91 familiares, realizada na etapa I demonstrou positividade total de 21,98% (20/91) para os anticorpos EmA-IgA e/ou anti-tTG-IgA, comparada à positividade de 12,09% (11/91) obtida na coleta da etapa II (Gráfico 21). Na etapa I, 14,29% (13/91) foram positivos para o EmA-IgA e 14,29% (13/91) para o anti-tTG-IgA isoladamente, enquanto na etapa II, 9,89% (9/91) e 10,99%

(10/91) apresentaram positividade para esses anticorpos, respectivamente. Seis familiares da etapa I (6,59%) e oito da etapa II (8,79%) apresentaram resultados positivos concomitantemente para ambos os anticorpos.

GRÁFICO 21 – EVOLUÇÃO NA POSITIVIDADE PARA O EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM FAMILIARES NO PERÍODO DE 6 - 7 ANOS



Dentre os 91 familiares estudados obteve-se uma concordância significativamente superior entre o EmA-IgA e anti-tTG-IgA na etapa II (96,70%) em relação à etapa I (84,91%; $p=0,0109$). Consequentemente, a discordância obtida entre os métodos foi de 15,38% (14/91) para os familiares da etapa I e 3,30% (3/91) para etapa II, respectivamente ($p=0,0109$).

5.1.9.1 Evolução no perfil sorológico dos familiares em estudo (N=91)

O Quadro 2 caracteriza detalhadamente a sorologia dos familiares de celíacos que participaram das duas etapas do estudo e que apresentaram positividade em pelo menos uma dessas.

Do total de 91 familiares avaliados, 25,28% (23/91) apresentaram alguma mudança em seu perfil sorológico de uma etapa para outra, ou permaneceram positivos para algum dos anticorpos previamente investigados.

Na primeira etapa, 20 desses familiares apresentavam-se positivos para o EmA-IgA e/ou anti-tTG-IgA, enquanto 3 eram negativos para ambos. No entanto, ao serem avaliados após um período médio de 6-7 anos (etapa II), apenas 11 desses

permaneceram positivos para algum dos anticorpos, enquanto 12 se encontravam negativos para ambos.

QUADRO 2 – EVOLUÇÃO SOROLÓGICA DOS FAMILIARES EM ESTUDO

Nº.	Iniciais	ID	Sexo	Etapa I		Etapa II	
				EmA-IgA	Anti-tTG-IgA	EmA-IgA	Anti-tTG-IgA
1	IL	78	F	Pos1/2,5	16	Neg	11
2	NS	39	M	Pos1/2,5	09	Neg	08
3	AF	25	F	Pos1/2,5	10	Pos1/2,5	04
4	SF	47	F	Pos1/2,5	09	Neg	05
5	JAM	15	F	Neg	17	Pos1/2,5	28
6	CM	46	F	Neg	27	Neg	06
7	AM	52	M	Neg	34	Neg	15
8	FB	33	M	Pos1/5	10	Neg	06
9	OBW	63	F	Neg	14	Neg	23
10	TP	50	F	Pos1/2,5	18	Neg	06
11	CSS	48	F	Pos1/80	195	Pos1/20	103
12	SSS	53	M	Neg	96	Pos1/5	85
13	OSS	60	M	Neg	36	Neg	10
14	DSS	32	F	Neg	12	Pos1/2,5	132
15	PJA	26	F	Pos1/80	50	Pos1/10	49
16	MM	50	F	Pos1/5	84	Pos1/2,5	114
17	PLRS	82	M	Neg	21	Neg	05
18	AS	31	F	Neg	32	Neg	10
19	SAS	40	M	Pos1/40	194	Pos1/40	139
20	EC	57	F	Neg	27	Neg	09
21	RMV	50	F	Pos1/40	09	Neg	11
22	ACMF	16	M	Pos1/20	186	Neg	36
23	CVK	23	F	Pos1/40	83	Pos1/40	216

NOTAS: EmA-IgA = positivo para títulos $\geq 1/2,5$
 Anti-tTG-IgA = positivo para ≥ 20 unidades
 F=feminino; M=masculino; ID=idade
 Pos=positivo; Neg=negativo

Dentre os 20 familiares positivos na etapa I, 35% (7/20) eram positivos apenas para o EmA-IgA, 35% (7/20) apenas para o anti-tTG-IgA e 30% (6/20) positivos concomitantemente para os dois anticorpos. Na etapa II, dos 7 familiares EmA-IgA positivos, 6 tornaram-se negativos e 1 permaneceu positivo com o mesmo título (1:2,5). Entre os 6 familiares que negativaram, 4 apresentavam anteriormente o EmA-IgA com título 1:2,5, 1 com título 1:5 e 1 com título 1:40. Entre 7 familiares anti-tTG-IgA positivos, 6 tornaram-se negativos, sendo que o único familiar que permaneceu positivo para esse anticorpo, veio a apresentar positividade também para o EmA-IgA (título 1:5). Os 6 familiares que na etapa II foram anti-tTG-IgA negativos, já apresentavam na etapa I baixa positividade (21 a 36 unidades), enquanto aquele que permaneceu positivo apresentava 96 unidades. Por outro lado, entre os 6 familiares positivos simultaneamente para ambos os anticorpos na etapa

I, 5 assim se mantiveram, enquanto 1 continuou positivo apenas para o anti-tTG-IgA. Nesse último grupo, os títulos do EmA-IgA eram $\geq 1:5$ em todos os familiares, sendo um indivíduo 1:5, um 1:20, dois 1:40 e dois 1:80, enquanto o anti-tTG-IgA variou de 49 a 216 unidades.

Em relação aos 3 familiares anteriormente negativos para qualquer um dos anticorpos, 2 positivaram para ambos os anticorpos, com títulos de 1:2.5 para o EmA-IgA e 28 e 132 unidades para o anti-tTG-IgA, enquanto o outro apresentou apenas o anti-tTG-IgA positivo com 23 unidades.

5.1.10 Correlação Clínico-Laboratorial nos Familiares de Celíacos em Relação ao EmA-IgA e anti-tTG-IgA

Até o presente momento, entre os 52 familiares de celíacos que apresentaram positividade para o EmA-IgA e/ou anti-tTG-IgA no estudo, apenas 14 indivíduos concordaram em se submeter à avaliação histológica por biópsia, tendo-se confirmado o diagnóstico de DC em 13 desses até o momento. Dos 38 familiares positivos restantes, 20 não compareceram para o seguimento sorológico na etapa II, outros 7 apresentaram sorologia negativa com o passar dos anos, não sendo encaminhados para a biópsia, 6 se recusam a realizar a endoscopia e biópsia, apesar de permanecerem sorologicamente positivos com títulos elevados para os anticorpos, 3 ainda aguardam resultados, 1 foi a óbito e o outro por se tratar de uma criança e apresentar baixos títulos de anticorpos está sendo acompanhado clinicamente.

Dos 13 familiares diagnosticados com DC, 7 (53,85%) eram do sexo feminino e 6 (46,15%) do masculino, sendo 10 (76,92%) de primeiro grau e 3 (23,08%) de segundo grau, entre eles quatro pais, três irmãos, três filhos, dois sobrinhos e um neto. Dois familiares (15,38%) encontravam-se na faixa etária de 0-18 anos, 9 (69,23%) entre 19-60 anos e 2 (15,38%) acima dos 60 anos.

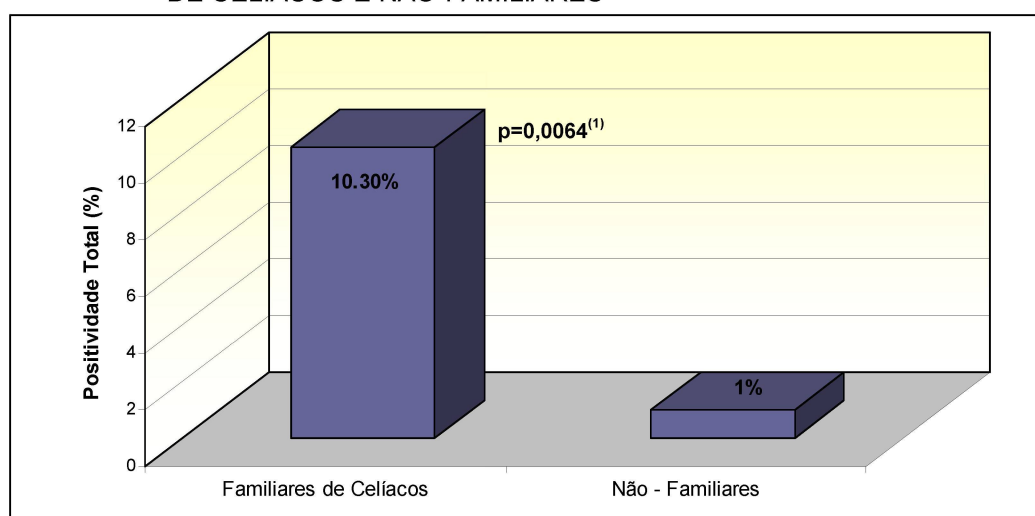
5.2 ANÁLISE PARA OS DEMAIS AUTO-ANTICORPOS

5.2.1 Positividade Total dos Auto-Anticorpos em Familiares de Celíacos e Não-Familiares

Os resultados obtidos na pesquisa dos anticorpos AML, AMA, LKM, CGP e AAM nos familiares e não familiares de celíacos encontram-se nos Apêndices 1, 2 e 3.

Dentre os familiares de pacientes com DC, 10,30% (24/233) foram positivos para pelo menos um dos auto-anticorpos analisados, caracterizando significativa diferença ($p=0,0064$) em relação à positividade de 1% (1/100) obtida no grupo de não-familiares (Gráfico 22).

GRÁFICO 22 – POSITIVIDADE TOTAL DOS DEMAIS AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS E NÃO-FAMILIARES

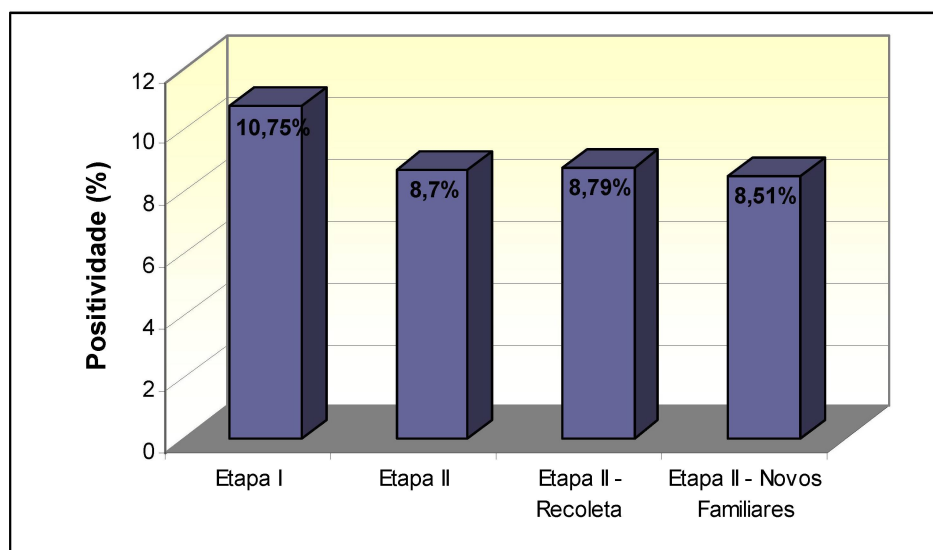


NOTA: * Familiares de Celíacos x Não-familiares: $p=0,0064$
Qui-Quadrado com correção de Yates

5.2.2 Positividade Total dos Auto-Anticorpos nos Grupos de Familiares de Pacientes Celíacos em Estudo

A positividade total de auto-anticorpos nos familiares foi de 10,75% (20/186) na etapa I e 8,70% (12/138) na etapa II, sendo 8,79% (8/91) no grupo da coleta e 8,51% (4/47) para os novos familiares. A comparação da positividade para os auto-anticorpos em cada etapa não resultou em diferença significativa (Gráfico 23).

GRÁFICO 23 – POSITIVIDADE TOTAL DOS AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS



NOTA: p=NS para todas as comparações

Do total de 20 familiares que apresentaram resultados positivos para auto-anticorpos na etapa I do estudo, sete (7/20; 35%) compareceram para a recoleta. Entre esses familiares verificou-se que 42,86% (3/7) tornaram-se negativos, enquanto os demais (4/7) permaneceram positivos para algum dos auto-anticorpos, com títulos variando de 1:40 à 1:160 para AAM e 1:80 à 1:160 para o anti-CGP. Dos familiares negativos que retornaram (84/91; 92,31%), quatro tornaram-se positivos nesse período (4/84; 4,76%).

5.2.3 Positividade dos Auto-Anticorpos AAM, CGP, AML, LKM e AMA nos Familiares de Celíacos

Os anticorpos AAM foram detectados em 6,45% (12/186) dos familiares da etapa I e 5,80% (8/138) da etapa II, sendo 6,59% (6/91) da recoleta e 4,26% (2/47) dos novos familiares. Os anticorpos anti-CGP tiveram uma positividade de 3,76% (7/186) nos familiares da etapa I e 3,62% (5/138) nos da etapa II, com 3,30% (3/91) no grupo da recoleta e 4,26% (2/47) nos novos familiares. Para o AML houve positividade de 1,08% (2/186) somente entre os familiares da etapa I. Os anticorpos AMA e LKM não foram detectados nas amostras de familiares de pacientes celíacos.

Nenhuma das comparações demonstrou diferença significativa na positividade dos auto-anticorpos entre esses grupos (Tabela 4).

Comparando-se com o grupo de não-familiares, obteve-se significativa diferença na positividade para o AAM entre os familiares da etapa I e etapa II ($p=0,0050$ e $p=0,0117$, respectivamente), como também para o anti-CGP nos familiares da etapa I ($p=0,0473$), sendo que a diferença de positividade para esse anticorpo foi próxima da significância ($p=0,0635$) nos familiares da etapa II. As reações positivas para os auto-anticorpos apresentaram títulos que variaram de 1:10 à 1:160 (AAM), 1:40 à 1:320 (CGP) e 1:40 (AML). Dois indivíduos, um da etapa I e um da etapa II apresentavam mais de um auto-anticorpo simultaneamente (AAM e anti-CGP).

TABELA 4 – FREQUÊNCIA DE AUTO-ANTICORPOS EM FAMILIARES DE CELÍACOS E NÃO-FAMILIARES

AUTO-ANTICORPOS	Etapa I	Etapa II		Não Familiares	p*	p*	p*
		Recoleta	Novos Familiares		Familiares Etapa I x Não Familiares	Familiares Etapa II x Não Familiares	Familiares Etapa I x Familiares Etapa II
	(n=186)	(n=91)	(n=47)	(n=100)			
N(%)							
AAM	12(6,45)	6(6,59)	2(4,26)	0(0)	0,0050	0,0117	NS
CGP	7(3,76)	3(3,30)	2(4,26)	0(0)	0,0473	0,0635	NS
AML	2(1,08)	0(0)	0(0)	1(1)	NS	NS	NS
LKM	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	-	-	-
AMA	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	-	-	-
TOTAL	20(10,75)	8(8,79)	4(8,51)	1(1)	0,0055	0,0220	NS

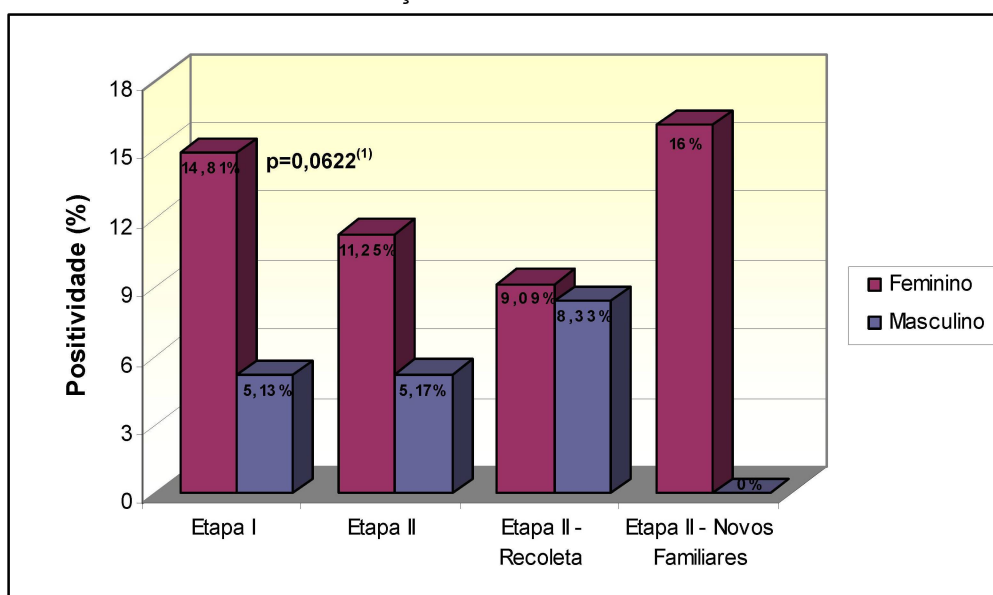
NOTAS: AAM=anti-microsomal tireoidiano; CGP=anti-célula gástrica parietal; AML=anti-músculo liso; LKM=anti-microsomal de fígado e rim; AMA=anti-mitocondrial
NS=não significativa a nível de 0,05
Fisher; Qui-Quadrado com correção de Yates

5.2.4 Positividade dos Auto-Anticorpos nos Familiares de Celíacos em Relação ao Sexo

A análise da frequência de auto-anticorpos entre os indivíduos do sexo feminino e masculino demonstrou tendência à significância ($p=0,0622$) apenas entre os familiares da etapa I, na qual a positividade foi de 14,81% (16/108) para as

mulheres e 5,13% (4/78) para os homens. Dentre os familiares positivos da etapa II, 11,25% (9/80) correspondiam a mulheres, enquanto 5,17% (3/58) a homens, sendo entre os indivíduos da recoleta e novos familiares, 9,09% (5/55) e 16% (4/25) do sexo feminino, e 8,33% (3/36) e 0% (0/22) do sexo masculino, respectivamente (Gráfico 24).

GRÁFICO 24 – POSITIVIDADE PARA OS AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS EM RELAÇÃO AO SEXO



NOTAS: ⁽¹⁾Feminino Etapa I x Masculino Etapa I: $p=0,0622$
Qui-Quadrado com correção de Yates; Fisher

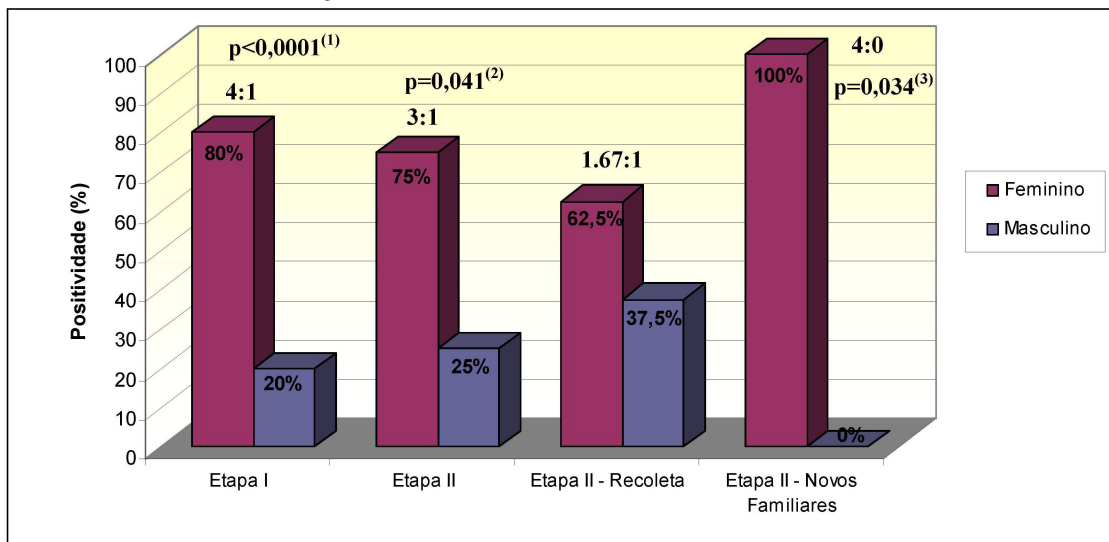
Entre os indivíduos com auto-anticorpos positivos, a proporção do sexo feminino para o masculino foi de 4:1 (16♀; 4♂; $p<0,0001$) na etapa I, 3:1 (9♀; 3♂; $p=0,041$) na etapa II, 1,67:1 (5♀; 3♂. $p=NS$) na recoleta e 4:0 (4♀; 0♂; $p=0,034$) nos novos familiares (Gráfico 25).

5.2.5 Positividade dos Auto-Anticorpos nos Familiares de Celíacos em Relação à Faixa Etária

O Gráfico 26 mostra a distribuição da positividade dos auto-anticorpos nas faixas etárias de 0-18 anos, 19-60 anos e >60 anos nos familiares em estudo, não sendo observada diferença significativa entre os indivíduos da etapa I. Uma probabilidade limítrofe de significância estatística foi observada entre os familiares

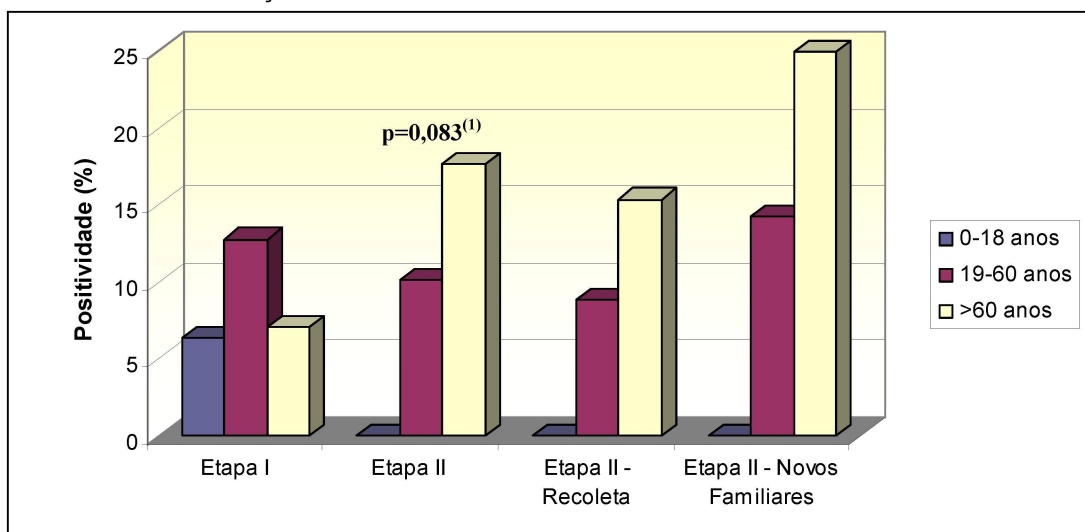
da etapa II, demonstrando maior distribuição de auto-anticorpos para faixa etária >60 anos (17,65%; $p=0,083$) em relação às faixas de 0-18 anos (0%) e 19-60 anos (10,11%).

GRÁFICO 25 – PROPORÇÃO DE FAMILIARES POSITIVOS PARA OS AUTO-ANTICORPOS EM RELAÇÃO AO SEXO



NOTAS: ⁽¹⁾Feminino x Masculino Etapa I: $p<0,0001$
⁽²⁾Feminino x Masculino Etapa II: $p=0,041$
⁽³⁾Feminino x Masculino Novos Familiares: $p=0,034$
 Proporções

GRÁFICO 26 – POSITIVIDADE DE AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS EM RELAÇÃO À FAIXA ETÁRIA

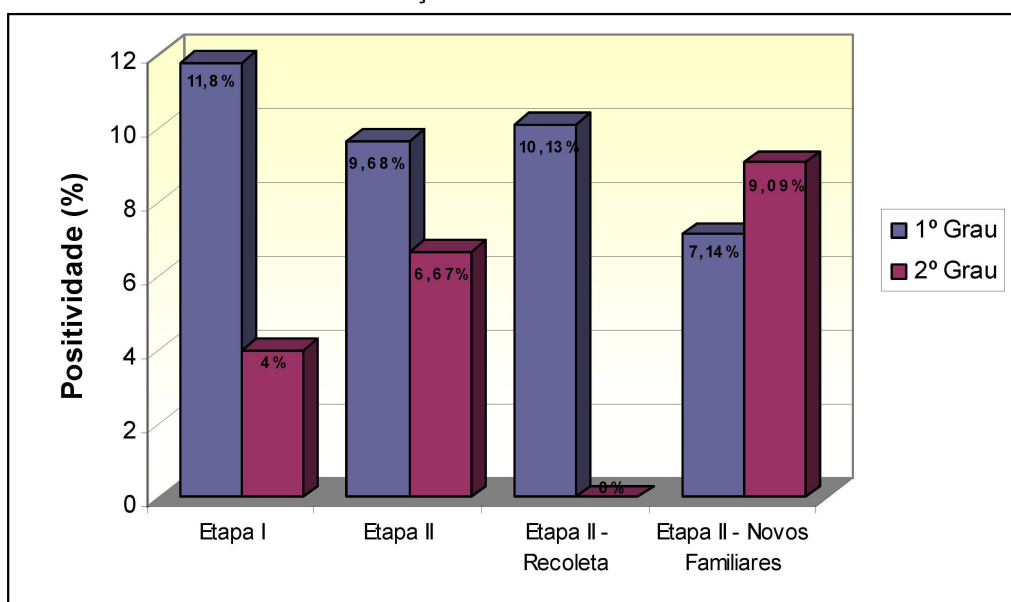


NOTA: ⁽¹⁾Faixa >60 anos Etapa II x 0-18 anos e 19-60 anos Etapa II: $p=0,083$
 Qui-Quadrado com correção de Yates

5.2.6 Positividade dos Auto-Anticorpos nos Familiares de Celíacos em Relação ao Grau de Parentesco

A frequência de auto-anticorpos nos indivíduos de primeiro e segundo grau nos grupos em estudo foi de 11,80% (19/161) e 4% (1/25) entre os familiares da etapa I, 9,68% (9/93) e 6,67% (3/45) nos da etapa II, 10,13% (8/79) e 0% (0/12) para os da recoleta e 7,14% (1/14) e 9,09% (3/33) entre os novos familiares, respectivamente (Gráfico 27). Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os mesmos.

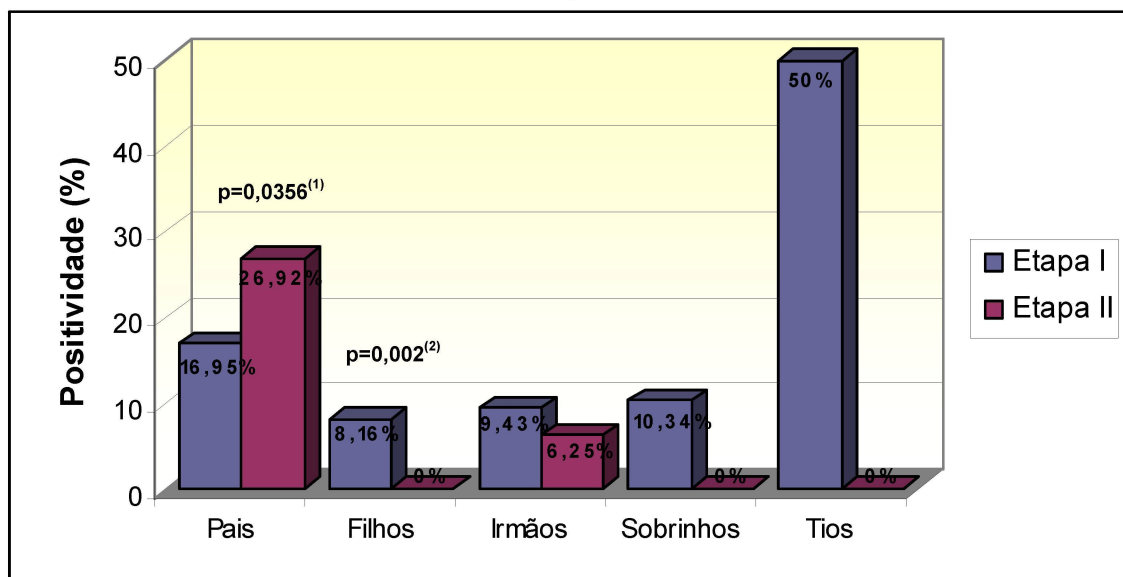
GRÁFICO 27 – POSITIVIDADE PARA OS AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS EM RELAÇÃO AO GRAU DE PARENTESCO



NOTA: p=NS para todas as comparações

No Gráfico 28 tem-se a distribuição da positividade observada em pais, irmãos, filhos, tios e sobrinhos de pacientes com DC nas duas etapas. As comparações entre os grupos destacaram aumento significativo na frequência de auto-anticorpos nos pais de celíacos (26,92%; 7/26) em relação aos irmãos (6,25%; 2/32; $p=0,0356$) e filhos (0%; 0/35; $p=0,002$) da etapa II. As demais análises não evidenciaram diferença significativa.

GRÁFICO 28 – POSITIVIDADE DE AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS DAS ETAPAS I E II EM RELAÇÃO AO PARENTESCO



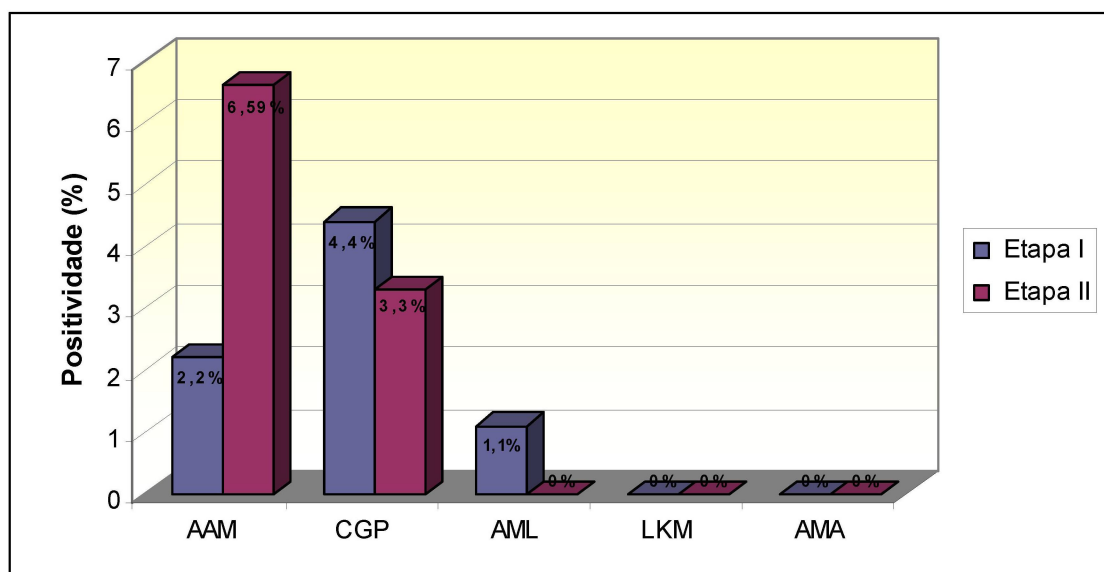
5.2.7 Evolução Sorológica dos Auto-Anticorpos em Familiares de Celíacos no Período de 6 a 7 anos

O Gráfico 29 demonstra a evolução sorológica em relação à positividade para os demais auto-anticorpos dos 91 familiares que tiveram suas amostras investigadas nas duas etapas da pesquisa. A positividade obtida entre os familiares da etapa I foi de 2,20% (2/91) para o AAM, 4,40% (4/91) para o anti-CGP e de 1,10% (1/91) para o AML. Entre os familiares da etapa II, detectou-se uma positividade de 6,59% (6/91) para o AAM e 3,30% (3/91) para o anti-CGP. Os anticorpos AMA e LKM não foram detectados nas amostras de familiares de pacientes celíacos. Nenhuma das análises revelou diferença significativa na evolução da positividade desses auto-anticorpos.

A análise do Quadro 3 permite verificar as mudanças na sorologia dos familiares de celíacos que participaram das duas etapas do estudo e que apresentavam positividade em uma dessas ou em ambas.

Dos 91 familiares avaliados nas duas etapas, 12,09% (11/91) apresentaram alguma mudança de perfil sorológico em relação aos auto-anticorpos, ou permaneceram positivos para algum deles.

GRÁFICO 29 – EVOLUÇÃO NA POSITIVIDADE PARA OS AUTO-ANTICORPOS EM FAMILIARES NO PERÍODO DE 6-7 ANOS



NOTA: p=NS para todas as comparações

Na etapa I, 63,64% (7/11) dos familiares apresentavam positividade para algum auto-anticorpo, enquanto 36,36% (4/11) eram negativos. Ao serem reavaliados após um período de aproximadamente 6-7 anos, 42,86% (3/7) daqueles previamente positivos tornaram-se negativos e 57,14% (4/7) permaneceram positivos. Por outro lado, os 4 familiares anteriormente negativos tornaram-se positivos para o AAM com títulos variando de 1:10 à 1:80.

Dentre os 7 familiares positivos na etapa I, 4 apresentavam positividade para o anti-CGP, 2 para o AAM e 1 para o AML. Dos 4 familiares positivos para o anti-CGP, 3 permaneceram positivos com títulos variando de 1:80 à 1:160 e 1 tornou-se negativo. Entre os que permaneceram positivos para o anti-CGP, 1 veio a positivar para o AAM simultaneamente, com título de 1:40. Já dentre os 2 familiares positivos para AAM, 1 continuou positivo, com elevação do título de 1:20 para 1:160, enquanto o outro tornou-se negativo. Similarmente, o único familiar AML positivo tornou-se negativo.

QUADRO 3– EVOLUÇÃO SOROLÓGICA DE AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS

Nº.	INICIAIS	ID	Sexo	Etapa I			Etapa II		
				AAM	CGP	AML	AAM	CGP	AML
1	MLW	67	F	Neg	Neg	Neg	Pos1/80	Neg	Neg
2	FG	25	F	Neg	Neg	Pos1/40	Neg	Neg	Neg
3	JLL	75	M	Neg	Pos1/40	Neg	Neg	Neg	Neg
4	SF	47	F	Pos1/40	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
5	CF	48	M	Neg	Pos1/80	Neg	Neg	Pos1/80	Neg
6	VLV	46	F	Neg	Neg	Neg	Pos1/40	Neg	Neg
7	SSS	56	F	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	Neg	Neg
8	JC	60	M	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	Neg	Neg
9	TDB	52	F	Neg	Pos1/160	Neg	Pos1/40	Pos1/160	Neg
10	FS	66	M	Neg	Pos1/160	Neg	Neg	Pos1/80	Neg
11	CS	60	F	Pos1/20	Neg	Neg	Pos1/160	Neg	Neg

NOTAS: AAM (anticorpo anti-microsomal tireoidiano) = positivo para títulos $\geq 1/10$

CGP (anticorpo anti-célula gástrica parietal) = positivo para títulos $\geq 1/40$

AML (anticorpo anti-músculo liso) = positivo para títulos $\geq 1/40$

F=feminino; M=masculino; ID=idade

Pos=positivo; Neg=negativo

6 DISCUSSÃO

Os avanços dos últimos anos na compreensão dos aspectos clínicos, epidemiológicos, genéticos e imunológicos da DC transformaram-na em um tema de investigação científica de interesse crescente. Alguns aspectos foram fundamentais para que esse avanço ocorresse. O desenvolvimento de testes sorológicos precisos, inicialmente com destaque para o EmA-IgA, foi um marco na história da doença. A introdução de *screenings* sorológicos trouxe uma real noção da prevalência da DC nas mais diversas populações e do grande número de indivíduos assintomáticos (BAI et al., 2005). Aliado a esse aspecto, a gradual elucidação da imunopatogênese da doença e o reconhecimento da transglutaminase tecidual como o auto-antígeno alvo, levou à padronização de um teste quantitativo, por ELISA, para a pesquisa do anti-tTG-IgA, de especificidade similar ao EmA-IgA, que tornou tal investigação acessível aos laboratórios clínicos.

Famíliares de pacientes celíacos são importantes candidatos à triagem de DC, tendo em vista que as investigações com esses indivíduos mostram que uma grande proporção apresenta alguma evidência de sensibilidade ao glúten, mesmo diante de uma biópsia intestinal normal (NIVELONI et al., 2000).

Os estudos de triagem de familiares de celíacos têm demonstrado, com frequência, o uso isolado de apenas um método sorológico, ou a associação de métodos como o EmA-IgA e o AGA-IgA, utilizando muitas vezes o anti-tTG-IgA apenas na confirmação dos casos positivos (BOOK; ZONE; NEUHAUSEN, 2003; FASANO et al., 2003). Por outro lado, embora o EmA-IgA seja amplamente utilizado, dificuldades técnicas no preparo do substrato e as diferenças inter-observadores na leitura, aliados aos aspectos de custo, têm gradualmente levado os laboratórios a uma maior aceitação no uso do anti-tTG-IgA por ELISA. No entanto, estudos comparativos entre os ensaios são escassos, principalmente em familiares de celíacos, e em geral, não esclarecem qual seria o teste mais adequado. Questionamentos sobre a concordância entre os métodos, aspectos de reações falso positivas ou falso negativas, ou ainda os títulos ou concentrações detectados freqüentemente não são relatados.

Nesse contexto, o presente estudo apresenta uma característica pioneira ao avaliar familiares de celíacos da população brasileira, tanto pela ampla análise

sorológica realizada em um número expressivo de indivíduos, quanto pelo seguimento dos mesmos e correlação clínico-laboratorial dos dados.

6.1 ANÁLISE DA POSITIVIDADE DO EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA NOS FAMILIARES DE CELÍACOS E NÃO FAMILIARES

Considerando que em indivíduos com deficiência de IgA pode-se ter um resultado falso negativo tanto para o EmA-IgA quanto para o anti-tTG-IgA, é recomendada uma verificação prévia de rotina para IgA em estudos sorológicos para DC (GILLET; FREEMAN, 2000). Dessa forma, do total de familiares em estudo, os dois que apresentaram deficiência de IgA (2/233; 0,86%) foram avaliados também para anticorpos EmA-IgG, sendo que nenhum apresentou resultado positivo para o mesmo. Embora sejam inúmeros os relatos de deficiência de IgA em pacientes celíacos (CATALDO et al., 1998), não foram encontrados dados na literatura com familiares que permitissem comparar com a deficiência detectada.

Considerando os aspectos recém colocados, a positividade total de 22,32% para os anticorpos EmA-IgA e anti-tTG-IgA detectada entre os 233 familiares avaliados nesse estudo foi significativamente superior em relação aos não familiares de celíacos ($p < 0.001$; Gráfico 1) e ressalta a importância dos estudos sorológicos envolvendo esses indivíduos. Considerando ser a população do sul do Brasil miscigenada, com importante ascendência européia, é possível que essa positividade esteja relacionada às próprias características étnicas da população estudada (GUDJONSDOTTIR et al., 2004; DOLINSEK et al., 2004), mostrando-se coerente com a alta prevalência para a doença (1:417), recentemente descrita para essa região do país (PEREIRA et al., 2006). Ainda em relação às características genéticas da DC, ressalta-se que indivíduos da mesma região geográfica, pertencentes ao grupo de não familiares (N=100) foram totalmente negativos para o EmA-IgA e anti-tTG-IgA. De forma similar, RIBAS (2007) não caracterizou positividade para o EmA-IgA em 180 indivíduos sadios (2-81 anos) também dessa região.

Ao se analisar separadamente os dados obtidos nas duas etapas do estudo, foi possível verificar para a etapa I que embora a positividade total tenha sido de

23,12% (43/186), apenas 6,99% (13/186) dos indivíduos foram positivos simultaneamente para o EmA-IgA e anti-tTG-IgA (Gráfico 2). Tal fato sugere que, nesse caso, o uso isolado de uma só metodologia falharia na detecção de indivíduos sorologicamente positivos a serem encaminhados para a biópsia intestinal. As diferenças observadas na prevalência do EmA-IgA (12,90%) e anti-tTG-IgA (17,20%) isoladamente, em relação aos casos simultâneos corroboram tal afirmação. Por sua vez, na etapa II, ao se utilizar tTG humana como substrato para pesquisa do anti-tTG-IgA, os resultados evidenciaram claramente maior uniformidade entre os dois métodos, consistente inclusive com a frequência menor de positividade total de anticorpos (12,32%) em relação à etapa I do estudo (23,12%; Gráficos 2 e 3). Tal diminuição da positividade de uma etapa para outra tanto pode ser explicada em parte pelo fato de que apenas 46,51% (20/43) dos familiares positivos na etapa I retornaram para a pesquisa após alguns anos, assim como pela maior especificidade na reação com tTG humana, como tem sido demonstrado na literatura (SBLATTERO et al., 2000) e será discutido no item 6.2.

Através do seguimento de familiares de pacientes com DC (etapa II; recoleta), foi possível observar que ao reavaliar os mesmos, em um intervalo de aproximadamente 6-7 anos (Gráfico 4), a prevalência do EmA-IgA manteve-se similar à etapa anterior, apesar da diminuição do número de amostras analisadas. Enquanto na etapa I do estudo haviam sido avaliados 186 indivíduos, com 12,90% (24/186) de positividade para o EmA-IgA, na etapa II foram obtidas novas amostras de 91 familiares, e a positividade para esse anticorpo, como um todo, foi de 9,89% (9/91), diferindo em apenas um familiar para o anti-tTG-IgA (10,99%; 10/91). Demonstrou-se, dessa forma, que na recoleta a positividade obtida para ambos os anticorpos concomitantemente (8,79%; 8/91) aproximou-se da positividade total das amostras (12,09%; 11/91), sugerindo maior confiabilidade nesses resultados, possivelmente pelo melhor desempenho do *kit* de anti-tTG empregado na etapa II.

Os estudos com familiares de pacientes celíacos têm ainda ressaltado as situações de múltiplos casos dentro das famílias e a importância de avaliações sistemáticas de novos membros das mesmas (MUSTALAHTI et al., 2002b). Dessa forma, a inclusão de 47 novos familiares no presente estudo, que não haviam sido previamente avaliados, caracterizou positividade total de anticorpos em 12,77% (6/47; Gráfico 5), evidenciando que, mesmo esse grupo sendo formado por

aproximadamente metade dos indivíduos que compõem o grupo da recoleta (N=91), a positividade total detectada entre os dois grupos manteve-se muito semelhante, independentemente do número de amostras avaliadas (12,77% e 12,09% respectivamente). Tais dados estão de acordo com as prevalências observadas mundialmente para familiares de celíacos, variando de 2,6 a 19,5% (DUBE et al., 2005) e sugerem que a maior frequência de anticorpos detectada nos familiares na etapa I, como um todo (23,12%; 43/186), decorre da menor especificidade do *kit* com tTG de *guinea pig* utilizado, considerando a similaridade da frequência do EmA-IgA isoladamente (12,90%; 24/186) em relação ao grupo da recoleta e novos familiares.

6.2 ANÁLISE DO DESEMPENHO DOS KITS DE ANTI-tTG-IgA

Após DIETERICH et al (1997) demonstrarem que a tTG era o principal, senão o único, auto-antígeno reconhecido pelo EmA-IgA em pacientes celíacos, a utilização de métodos imunoenzimáticos para pesquisa de tTG foi proposta e amplamente aceita na investigação diagnóstica de pacientes com suspeita de DC. No entanto, grande parte dos estudos investigou a presença desse anticorpo em grupos pré-selecionados, com um diagnóstico já conhecido (SULKANEN et al., 1998; TRONCONE et al., 1999).

Pela facilidade de utilização, potencial para automação, objetividade na interpretação dos resultados, além da redução do treinamento requerido, nota-se atualmente grande interesse no uso de ELISA, para investigação de anticorpos anti-tTG-IgA, como método alternativo para a IFI, realizada na pesquisa do EmA-IgA (WONG et al., 2002).

Apesar do conhecimento de que familiares próximos eventualmente tendem a evitar o uso de alimentos com glúten, com o objetivo de estimular e apoiar o paciente na adesão à dieta, e que esse fato pode levar a reações sorológicas falso-negativas, no presente estudo exclui-se tal possibilidade considerando que todos declararam estar fazendo uso normal de alimentos contendo glúten, com exceção de quatro familiares.

Dos 186 familiares avaliados na etapa I, 156 (83,87%) apresentaram resultados concordantes para o EmA-IgA e anti-tTG-IgA, enquanto os demais 30

familiares, que constituem 16,13% do total, foram discordantes nos resultados (Gráfico 6). Em contrapartida, verificou-se que na etapa II, a concordância entre as metodologias foi significativamente superior (94,93%; $p=0,0035$), e apenas 5,07% dos resultados foram discordantes (Gráfico 8). Tais dados corroboram os coeficientes de relação obtidos entre os métodos empregados nas duas etapas do estudo ($r= 0,60708$; $r= 0,86196$ respectivamente) e ressaltam a correlação de alta significância entre os mesmos ($p<0,00001$; Gráficos 14 e 15), conforme já demonstrado em estudos prévios com pacientes celíacos (UTIYAMA et al., 2002; KOTZE et al., 2003). Nesse contexto, TRONCONE et al (1999) ao realizarem testes comparativos entre anti-tTG-IgA e EmA-IgA, encontraram concordância de 95% e sugerem que a especificidade do primeiro teste foi superior à do segundo, recomendando a utilização do mesmo, principalmente durante o período de provocação com glúten. Por outro lado, CATALDO et al (2000) obtiveram resultados menos satisfatórios para esses anticorpos no monitoramento de dieta isenta de glúten.

No entanto, observa-se que o emprego de um único método de análise nos familiares de celíacos, nas duas etapas do presente estudo, poderia incorrer em um risco de reação sorológica falso-negativa em ambos os casos. O uso somente do EmA-IgA na triagem deixaria de detectar positividade em 19 familiares da etapa I e cinco familiares da etapa II. A utilização apenas do anti-tTG-IgA deixaria de detectar positividade em 11 indivíduos na etapa I e em dois indivíduos na etapa II. Em ambas as situações, tais indivíduos deixariam de estar sendo encaminhados à biópsia intestinal para confirmação do diagnóstico de DC, embora seja evidente a melhor performance atingida na etapa II ao se utilizar tTG humana ($r= 0,86196$; $p<0,00001$).

Chama a atenção que dentre os casos positivos concordantes das etapas I e II desse estudo (13 e 10 familiares, respectivamente; Gráficos 7a e 9a), predominaram títulos mais elevados para o EmA-IgA ($\geq 1:5$) e anti-tTG-IgA (>35 unidades) na maioria das amostras. Por outro lado, na maior parte das amostras discordantes, são nitidamente predominantes os títulos baixos naquelas reações positivas apenas para o EmA-IgA ($\leq 1:5$), assim como nas positivas apenas para o anti-tTG-IgA (<35 unidades). Dentre os 11 familiares da etapa I e seis familiares da etapa II com baixo título de EmA-IgA ($<1:5$), apresentaram-se negativos para o anti-tTG-IgA, nove e dois familiares, respectivamente. Cabe ainda ressaltar que na etapa

II como um todo assim como no grupo da recoleta, com a utilização de tTG humana, os resultados positivos para o anticorpo anti-tTG-IgA classificados como moderado a alto positivo (>30 unidades) foram significativamente superior em relação àqueles classificados como baixo positivo (20-30 unidades) ($p=0,003$; $p=0,025$, respectivamente; Tabela 3), evidenciando dessa forma uma positividade mais fidedigna para esse anticorpo em relação aos *kits* que utilizam como substrato tTG de *guinea pig*.

Os resultados do presente estudo demonstraram que em familiares de celíacos com altos títulos de anticorpos há uma excelente correlação entre os anticorpos EmA-IgA e anti-tTG-IgA, diminuindo o risco de resultados falso-negativos. Entretanto, como já relatado por outros autores, baixas concentrações de anti-tTG-IgA fazem superposição com outras doenças, especialmente as hepáticas, podendo incorrer em resultados falso-positivos (KOOP et al., 2000; REEVES et al., 2000). Dessa forma a detecção do EmA-IgA oferece maior confiabilidade em situações passíveis de baixos títulos de anticorpos, como no diagnóstico de crianças menores de dois anos de idade, triagem de familiares e/ou monitoramento da dieta isenta de glúten. Tais aspectos já foram previamente relatados em estudos com pacientes com DC (KOTZE et al., 2003), porém ainda não haviam sido abordados com familiares de celíacos do Brasil.

Embora algumas pesquisas sugiram que a investigação do anti-tTG-IgA apresente um desempenho comparável ao do EmA-IgA, estudos descrevem resultados falso negativos para o anti-tTG-IgA em indivíduos celíacos não tratados com EmA-IgA positivo (KOOP et al., 2000; BASSO et al., 2001; LEON et al., 2001b) e resultados falso positivos na ausência de EmA-IgA e DC (DAHELE et al., 2001; SALMASO et al., 2001). Entretanto, muitos desses estudos utilizaram tTG de *guinea pig*, a qual apresenta apenas 81% de homologia com a tTG humana (GENTILE et al., 1991). Em contrapartida, a utilização de tTG humana tem sido relacionada com menor frequência de resultados falso negativos ou falso positivos e com um desempenho geral comparável ou até mesmo igual àquele apresentado pelo padrão ouro da sorologia, ou seja, o EmA-IgA (BONAMICO et al., 2001). As concordâncias entre os resultados da etapa II (recoleta e novos familiares), que utilizaram tTG humana e revelaram-se significativamente aumentadas (96,70%; 91,49%; Gráficos 10 e 11) quando comparadas àquela obtida para os familiares da etapa I (83,87%;

Gráfico 8), na qual foram empregados *kits* com tTG de *guinea pig*, corroboram tais aspectos e permitem atribuir aos resultados do anti-tTG-IgA com *guinea pig* (17,20%; 32/186) a elevação na prevalência total de anticorpos detectados nos familiares da etapa I (23,12%; 43/186). A evolução sorológica (grupo recoleta) e a correlação clínico-laboratorial abordados no item 6.3 respaldarão tal afirmação.

WONG e colaboradores (2002), ao compararem a performance de 13 *kits* de ELISA, que apresentavam como substrato tTG de *guinea pig* e tTG humana, demonstraram que os *kits* de tTG humana apresentaram desempenho superior em relação aos outros. No entanto, os autores ressaltam que o uso isolado de tTG humana não foi suficiente para conferir igual performance àquela obtida pelo EmA-IgA por IFI, tendo em vista que apenas com dois *kits* alcançou-se resultados comparáveis ao EmA-IgA. Utilizando valores de corte estabelecidos pelo fabricante, resultados falso positivos foram detectados em três dos seis *kits* que utilizaram tTG humana, e em seis dos sete *kits* que apresentavam tTG de *guinea pig* como substrato. Este fato destaca a influência de possíveis contaminantes no substrato de tTG de *guinea pig* (LEON et al., 2001b), o qual pode conter outras proteínas hepáticas (LEON et al., 2001a)

Ainda no estudo citado, foram detectados resultados falso negativos tanto para *kits* de tTG de *guinea pig* como para os de tTG humana. O método utilizado para extrair e purificar a tTG derivada do tecido, a produção e o processamento da tTG recombinante, podem conduzir a alterações na estrutura terciária da tTG. Por isso, epítomos conformacionais podem ser perdidos ou formados, sendo que a perda dos mesmos levará a redução da habilidade da tTG se ligar a anticorpos anti-tTG-IgA, presentes no soro do indivíduo, justificando assim alguns dos resultados falso negativos. Além disso, a formação de neoepítomos conformacionais pode também resultar em resultados falso positivos (KOOP et al., 2000).

Dessa forma, embora a maioria dos relatos citados reflita predominantemente uma experiência adquirida em investigações com pacientes com DC, os resultados obtidos no presente estudo com familiares de celíacos demonstram um padrão de desempenho sorológico semelhante e permitem sugerir que apesar da tTG humana apresentar desempenho superior ao de *guinea pig*, seu uso isolado pode ainda levar a resultados falso positivos ou falso negativos na triagem sorológica desses indivíduos.

6.3 ANÁLISE DA EVOLUÇÃO SOROLÓGICA E CORRELAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NOS FAMILIARES DE CELÍACOS

A realização periódica de triagens sorológicas em familiares de pacientes celíacos tem sido sugerida por diversos autores, porém não há estudos evidenciando com que frequência nem como tais triagens devam ser realizadas (FRASER et al., 2006). GOLDBERG et al. (2007) informam que a realização de apenas uma única triagem é insuficiente, e a mesma deve ser repetida periodicamente, independentemente da presença de sintomas. Através da genotipagem HLA uma grande proporção de familiares de pacientes celíacos poderia ser poupada de investigações posteriores, porém tal metodologia é ainda pouco utilizada devido ao seu alto custo (KARINEN et al., 2006).

No presente estudo, apesar de nem todos os familiares da etapa I compareceram na etapa II para a realização de um seguimento sorológico, obteve-se alta porcentagem de amostras recuperadas (48,92%; 91/186) em relação a um estudo semelhante, no qual apenas 30,30% (40/132) dos familiares aceitaram participar de uma segunda triagem (BIAGI et al., 2006).

As análises sorológicas realizadas nesses 91 familiares de pacientes celíacos demonstraram positividade para ambos os anticorpos nas duas fases do trabalho (Gráfico 21). No entanto, a positividade mais elevada na etapa II (8,79%) para esses anticorpos concomitantemente, assim como a maior uniformidade entre os resultados para o EmA-IgA e anti-tTG-IgA isoladamente refletem a maior concordância (96,70%) entre as metodologias utilizadas nesta fase em relação à etapa I (84,61%), evidenciando a melhor performance no uso da tTG humana nas reações de ELISA, conforme já exposto anteriormente.

Nesse contexto, todos os familiares da etapa I com positividade simultânea para ambos os anticorpos (N=6), apresentaram reações fortemente positivas, com altos títulos para o EmA-IgA e elevadas unidades para o anti-tTG-IgA (Quadro 2). Dentre esses, no decorrer da etapa II, cinco ainda permaneceram positivos para os dois anticorpos, enquanto um negativou apenas para o EmA-IgA. A correlação clínico-laboratorial realizada demonstrou, até o momento, a confirmação do diagnóstico de DC em quatro desses familiares. Os outros dois indivíduos, apesar de

permanecerem sorologicamente positivos, com títulos elevados para ambos os anticorpos no decorrer desses anos, se recusam a fazer a biópsia para confirmação do diagnóstico, mesmo já apresentando alguns sintomas da DC. Os resultados refletem a alta especificidade para esses anticorpos, principalmente quando em altos títulos, como já demonstrado em outros estudos (KOTZE et al., 2003). Além disso, ressaltam a resistência na adesão à dieta totalmente isenta de glúten, mesmo dentro da família, que constitui uma população esclarecida sobre a doença e as complicações da ausência de tratamento.

Os dados do seguimento sorológico permitiram observar ainda que dos sete familiares positivos com baixos títulos para o EmA-IgA, seis negativaram na avaliação da etapa II, sendo que o único familiar que ainda permaneceu positivo apresentou título 1:2,5 para esse anticorpo. Em relação ao anti-tTG-IgA, todos os seis familiares classificados como fraco a moderado positivos na etapa I também negativaram ao retornarem na etapa II. No entanto, dentre os sete familiares EmA-IgA positivos da etapa I, cinco tiveram o diagnóstico de DC confirmado ainda nessa fase, e possivelmente devido a diminuição de ingestão de glúten houve a negatificação do EmA-IgA, considerando todos declararem não fazer a dieta rigidamente. Por sua vez, os familiares fraco a moderadamente positivos só para o anti-tTG-IgA com *guinea pig* (N=6), não foram encaminhados para a biópsia na ocasião, visando principalmente o seguimento sorológico dos mesmos, pelo conhecimento que já se tinha da menor especificidade do kit e possibilidade de reação falso positiva, como se confirmou posteriormente ao negativarem com o uso de tTG humana. Corroborando esse aspecto, CARROCIO et al. (2002) encontraram resultados falso positivos para o anti-tTG-IgA (*guinea pig*) em pacientes que apresentavam doença de Crohn, intolerância alimentar múltipla (intolerância ao leite e seus derivados, peixe, tomate e chocolate), hepatite crônica atribuída à infecção pelo vírus da hepatite C, colite colagenosa e psoríase.

Ainda REEVES et al (2000) ao avaliarem pacientes com DAI sistêmica, encontraram resultados falso positivos (25%) para a DC pela pesquisa do anti-tTG-IgA. Tais dados evidenciam que, embora o anti-tTG-IgA em altos títulos só seja observado na DC e apresente uma excelente correlação com o EmA-IgA, títulos baixos não podem ser considerados doença específicos.

Como a triagem sorológica permite caracterizar formas monossintomáticas, silenciosas ou latentes da DC, é possível que a ausência de manifestações clínicas acentuadas nos familiares no momento do exame torne mais difícil a adesão ao tratamento. Nesse aspecto, é fundamental o seguimento sorológico desses indivíduos, visando principalmente observar a dinâmica de flutuação dos anticorpos nas situações de ausência da dieta (FASANO et al., 2003; DUBE et al., 2005). De acordo com NIVELONI et al (2000), a sensibilidade ao glúten é um processo dinâmico e mesmo familiares com resultados negativos para DC numa triagem inicial devem ser monitorados, pois esse processo pode progredir em alguns, regredir em outros, ou até permanecer intacto. Segundo DOLINSEK et al. (2004), a triagem sorológica é recomendada para todos os familiares de primeiro grau de pacientes, devendo-se ainda proceder a tipagem HLA para detectar aqueles que tenham um fenótipo consistente com DC. Essa conduta já contribuiria em excluir indivíduos que não necessitariam de procedimentos diagnósticos posteriores para a doença.

No presente estudo, dentre todos os familiares sorologicamente negativos que retornaram, dois passaram a apresentar ambos os anticorpos positivos na reavaliação, enquanto um familiar positivou apenas para o anti-tTG-IgA. Também um familiar previamente positivo apenas para o anti-tTG-IgA (etapa I), tornou-se positivo para os dois anticorpos na etapa II. Dentre esses familiares, três aguardam resultados da biópsia e um se recusa proceder à confirmação. A positividade para o EA positividade para o EmA-IgA e anti-tTG-IgA encontrada entre familiares anteriormente negativos que fizeram o acompanhamento sorológico (3,30%; 3/91) está em acordo com o estudo realizado por GOLDBERG et al. (2007), no qual verificou-se a positividade de 3,5% dos familiares de celíacos em uma reavaliação sorológica após aproximadamente um ano e meio. Tais dados reforçam a hipótese que a realização de uma única triagem sorológica para DC em indivíduos que constituam grupos de risco, tais como os familiares, é insuficiente para identificar todos aqueles que têm ou possam vir a desenvolver a doença.

Entre os novos membros das famílias avaliados (N=47), seis apresentaram positividade sorológica, um para o EmA-IgA, três para o anti-tTG-IgA e dois para ambos anticorpos simultaneamente, com altos títulos nas reações. A correlação clínico-laboratorial, até o momento, permitiu a confirmação de DC em um desses familiares que apresentavam positividade isolada para o anti-tTG-IgA (sexo feminino;

05 anos), implicando efetivamente no melhor desempenho no uso da tTG humana em relação ao de *guinea pig*, e diminuição dos resultados falso positivos. Dois familiares positivos aguardam ainda resultados, um foi a óbito, um não aceitou se submeter à realização da biópsia, enquanto o outro estará sendo acompanhado clínica e sorologicamente por se tratar de uma criança, não demonstrar sintomatologia alguma e apresentar baixos títulos de anticorpos.

Os dados obtidos no seguimento sorológico dos familiares de celíacos, aliados à correlação clínico-laboratorial realizada no presente estudo, ressaltam índices de formas silenciosas e latentes da DC nesses familiares e reforçam a importância dos testes sorológicos de triagem, visando o encaminhamento desses indivíduos para confirmação do diagnóstico através da biópsia intestinal. Embora seja inquestionável o melhor desempenho com *kits* de TTG humana, ainda o uso dos 2 métodos simultaneamente na triagem de familiares de celíacos é recomendado.

6.4 ANÁLISE DA POSITIVIDADE DO EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM RELAÇÃO AOS DADOS DEMOGRÁFICOS

Embora a DC, de maneira geral, afete mais mulheres do que homens (ELLIOTT; MURRAY; WEINSTOCK, 1998), um aspecto que se observa na etapa I desse estudo foi o predomínio de familiares do sexo masculino com reação sorológica positiva (28,20%; 22/78) em relação ao feminino (19,44%; 21/108), porém sem alcançar significância estatística (Gráfico 16). GUDJONSDOTTIR et al. (2004), em estudos com familiares de pacientes celíacos da Suécia e Noruega, observaram preponderância do sexo masculino no diagnóstico de novos casos de DC entre familiares. Os autores colocam o achado como inesperado e inexplicado, e afirmam não poder sequer atribuí-lo a existência de mais doenças auto-imunes silenciosas no sexo masculino do que no feminino. Por outro lado, em todos os grupos da etapa II houve um predomínio de mulheres positivas em relação aos homens (Gráfico 16), sendo esse dado concordante com aqueles revelados em diferentes países (BOTTARO et al., 1999; GOMEZ et al., 2001).

Em relação à proporção de indivíduos afetados de um sexo ou outro, na DC não são caracterizadas diferenças tão elevadas como aquelas observadas em

outras DAI como o LES e tireoidite de Hashimoto (FIKE, 1997a, 1997b). Na etapa I desse estudo, a proporção de familiares do sexo masculino com sorologia positiva foi superior em relação ao feminino (1,05:1), porém sem atingir significância, contudo, na etapa II como um todo a proporção de mulheres positivas foi estatisticamente mais elevada quando comparada à dos homens (2,4:1; $p=0,039$, Gráfico 17) e com tendência à significância no grupo da recoleta (2,7:1; $p=0,089$). Tal aspecto também está em acordo com relatos da literatura que demonstram um predomínio da DC em mulheres, com uma variação de proporção de 2:1 até 2,9:1 (BAI et al., 2005; GREEN, 2005).

A correlação clínico-laboratorial dos dados do presente estudo permitiu observar que do total de familiares com sorologia positiva, até o momento foi confirmado o diagnóstico de DC em 7 mulheres e 6 homens, corroborando assim com a literatura mundial, inclusive na triagem de familiares.

Em relação à faixa etária, a ausência de diferenças significantes na frequência de anticorpos entre as idades de 0-18, 19-60 e > 60 anos nos familiares das duas etapas (Gráfico 18) vem reforçar a afirmação de que a DC pode se apresentar em qualquer idade (ELLIOTT; MURRAY; WEINSTOCK, 1998). No entanto, observou-se em ambas as etapas, positividade para EmA-IgA e anti-tTG-IgA mais elevada entre os familiares com idade acima de 60 anos, com tendência à significância entre os novos familiares ($p=0,0657$). Por um lado, tais dados podem estar relacionados à facilidade atual nos recursos diagnóstico, que tem possibilitado a detecção mais precoce da doença, que não era usualmente investigada em indivíduos de maior faixa etária.

Sabe-se que o número, bem como a função de linfócitos B₁, aumentam com a idade dos indivíduos, através de uma proliferação independente de células T (WEKSLER et al., 1990). O aumento da concentração de anticorpos com a idade, produzidos por linfócitos B₁, assim como o fato desses linfócitos serem estimulados por auto-antígenos específicos, contribuem para o aumento do aparecimento de auto-anticorpos com a idade (HU et al., 1993). MAC-KAY (1972) relatou aumento de auto-anticorpos e diminuição de anticorpos antígenos específicos com a idade. Estudos subsequentes demonstraram ainda que o aumento da idade é acompanhado por elevação de auto-anticorpos órgão-específicos e não órgão-específicos, sendo que os primeiros apresentam-se elevados até mesmo em

indivíduos saudáveis, enquanto os demais aparecerão mais freqüentemente associados com alguma doença crônica (RUFFATI et al., 1990).

A correlação clínico-laboratorial realizada no estudo vem diretamente ao encontro dessas observações ao evidenciar, até o momento, a confirmação do diagnóstico de DC em dois familiares de 0-18 anos, nove de 19-60 e dois acima de 60 anos. Os dados, além de mostrar que também em familiares de celíacos o aparecimento da doença pode se dar em qualquer época da vida, ressaltam que mesmo tendo-se maior freqüência de anticorpos em indivíduos com mais idade (> 60 anos), a confirmação da doença se dá predominantemente em indivíduos mais jovens. Corroborando, tem-se um familiar que só veio a apresentar sorologia positiva para o anti-tTG-IgA ao fazer a transição da faixa etária de 19-60 anos para >60 anos.

6.5 ANÁLISE DA POSITIVIDADE DO EmA-IgA E ANTI-tTG-IgA EM RELAÇÃO AO GRAU DE PARENTESCO

Em geral observou-se preponderância de positividade para os anticorpos EmA-IgA e anti-tTG-IgA entre familiares de primeiro grau em relação aos de segundo grau (Gráfico 19), porém sem significância estatística. Apesar do grupo de familiares de primeiro grau da etapa I (N=161) ser aproximadamente seis vezes maior que o de segundo grau (N=25), a positividade detectada entre esses (24,84%; 40/161) apresentou apenas o dobro do valor quando comparada à dos familiares de segundo grau (12%; 3/25). Na etapa II, embora apenas 32,61% (N=45) dos familiares fossem de segundo grau, em relação a 67,39% (N=93) de primeiro grau, a porcentagem de positividade entre ambos foi bastante próxima (12,90% e 11,11% respectivamente). Respalando ainda a alta prevalência para a DC revelada entre familiares de segundo grau, verificou-se que no grupo da coleta a positividade entre os mesmos (16,67%; 2/12) foi superior àquela dos familiares de primeiro grau (11,39%; 9/79), ainda que constituíssem apenas 13,19% do grupo.

BOOK, ZONE e NEUHAUSEN (2003), em estudo com famílias com um par de irmãos afetados, relataram prevalência de 21,3% entre irmãos, 14,7% em filhos de celíacos, 17,2% nos demais familiares de primeiro grau, 19,5% nos de segundo grau

e 17,8% no total dos familiares. Embora o presente trabalho não seja especificamente em famílias com pares de irmãos afetados, verificou-se elevado risco para DC entre os familiares. Dentre os indivíduos positivos para as etapas I (N=43) e II (N=17), observa-se que a frequência encontrada entre os vários membros das famílias apresentou-se bastante flutuante, chegando a atingir diferença significativa com o decorrer dos anos entre os pais ($p=0,0447$; Gráfico 20). A constância na positividade de anticorpos observada entre os irmãos de celíacos nas etapas I e II se destaca (18,87% e 18,75% respectivamente), ressaltando a importância de triagem frequente nesses indivíduos, que possivelmente constituem os de maior risco ao desenvolvimento da doença dentro da família. Os raros estudos de seguimento de familiares não apresentam dados que permitam comparar com os presentes (NIVELONI et al., 2000; PITTSCHIELER; GENTILI; NIEDERHOFER, 2003), embora os relatos de múltiplos casos da doença dentro da mesma família destaquem a alta frequência de DC entre irmãos (GUDJONSDOTTIR et al., 2004). A correlação clínico-laboratorial dos dados dentre os indivíduos sorologicamente positivos já permitiu a confirmação do diagnóstico de DC em três irmãos de celíacos, além de quatro pais, três filhos, dois sobrinhos e um neto.

6.6 ANÁLISE DA POSITIVIDADE PARA OS DEMAIS AUTO-ANTICORPOS NOS FAMILIARES DE CELÍACOS

De acordo com VENTURA et al. (2000), pacientes com DC não tratada, bem como seus familiares, apresentam prevalência elevada de auto-anticorpos órgãos específicos e não órgãos específicos. Ainda não está esclarecido se a DC é uma doença inflamatória com reações auto-imunes secundárias, ou se ela é uma doença auto-imune (DAI) primária induzida por fatores externos conhecidos. Sabe-se, no entanto, que as DAI aparecem dez vezes mais frequentemente em pacientes celíacos adultos que na população geral (BAI et al., 2005), fato que destaca a importância da pesquisa de auto-anticorpos não só nesses indivíduos como também em seus familiares. Os dados do presente trabalho, aliados aos poucos relatos existentes (UTIYAMA et al., 2001), sustentam alta prevalência de auto-anticorpos nesses indivíduos. A positividade total obtida entre os familiares (10,30%; 24/233) foi

significativamente superior em relação aos não-familiares (1%; 1/100; $p=0,0064$; Gráfico 22), mostrando-se elevada e constante nas duas etapas da pesquisa (Gráfico 23), apesar de apenas sete dos 20 familiares positivos da etapa I terem retornado na etapa II (Tabela 4). Embora o grupo de novos familiares seja constituído por um número menor de indivíduos ($N=47$), a positividade dos demais auto-anticorpos (8,51%) apresentou-se muito próxima daquela obtida para o grupo da coleta (8,79%), da etapa II como um todo (8,70%) e mesmo da etapa I (10,75%), sugerindo ser uma característica própria desses indivíduos, independente do número de amostras. Corroborando, essa constância na frequência de auto-anticorpos nesse grupo também pode ser observada nitidamente para o EmA-IgA e anti-tTG-IgA em relação aos demais grupos (Gráficos 5, 3 e 4). VENTURA, MAGAZZU e GRECO (1999) demonstraram frequências significativamente elevadas de DAI em pacientes celíacos (14%) em relação a controles (2,8%). Os autores não fazem referências a ensaios em familiares de celíacos.

Estudos revelam que as DAI da tireóide estão entre as doenças endócrinas que mais apresentam associação com a DC. Com base nesse dado, observa-se no perfil de auto-anticorpos desse estudo, que os anticorpos anti-microssomal tireoidiano (AAM) foram os de maior prevalência (Tabela 4), mostrando aumento significativo nos familiares das etapas I e II, em relação aos não familiares ($p=0,0050$ e $p=0,0117$ respectivamente), seguido pelos anticorpos anti-célula gástrica parietal ($p=0,0473$ e $p=0,0635$, respectivamente). Cabe enfatizar que dentre os familiares sorologicamente negativos que retornaram (84/91), os 4 que se tornaram positivos foram especificamente para o AAM (Quadro 3). Todos os familiares que apresentaram positividade foram orientados a realizarem exames complementares para avaliar o valor diagnóstico dos achados, considerando que muitos auto-anticorpos podem estar presentes anos antes de qualquer manifestação clínica da doença (CATALDO; MARINO, 2003). Até o momento, a avaliação clínico-laboratorial desses familiares positivos para o AAM (8/138; etapa II) sugeriu formas subclínicas da doença, que requerem seguimento criterioso, considerando que familiares de celíacos, quando em uso de glúten, podem evoluir com disfunção da tireóide ao longo do tempo (SATEGNA-GUIDETTI, 2001).

ANSALDI et al. (2003) ao estudarem a prevalência de anticorpos tireoideanos em 343 pacientes celíacos italianos encontraram positividade em 26% desses,

sendo que 69% dos indivíduos estavam em dieta isenta de glúten, que possivelmente nesse caso não interferiu na presença desses anticorpos. Em contrapartida, VENTURA et al. (2000), em estudo prospectivo de 90 pacientes celíacos, detectaram altos títulos de anticorpos anti-peroxidase (anti-TPO) em 14,4% dos pacientes ao diagnóstico, porém, com a instituição da dieta, tais índices caíram para 2,2% após 24 meses. Embora não tenham sido encontrados relatos que permitissem comparar com os dados do presente estudo, os resultados obtidos no seguimento sorológico dos familiares permitem sugerir as DAI da tireóide como sendo as de maior prevalência nesses indivíduos.

Os anticorpos anti-CGP, por sua vez, também mostraram aumento significativo nos familiares, em relação aos não familiares (Tabela 4). UTIYAMA et al. (2001), de forma similar, encontraram que 3,6% dos 56 pacientes celíacos investigados, assim como 3,4% de seus familiares de primeiro grau, apresentavam sorologia positiva para esse anticorpo, enquanto VOLTA et al. (1997) detectaram 11% de positivities para o anti-CGP entre 70 pacientes celíacos analisados. Embora a concomitância de DC e anemia perniciosa e/ou gastrite atrófica seja rara (SHEEHAN; STANTON-KING, 1993), nesse estudo, dentre os cinco familiares positivos para o anti-CGP na etapa II, um familiar (sexo feminino; 52 anos) que já realizou a endoscopia com biópsia teve o diagnóstico confirmado para gastrite auto-imune, enquanto os demais aguardam resultados. Cabe ainda enfatizar que apenas o familiar anti-CGP positivo (1:40) veio a negativar na etapa II (Quadro 3) e que dentre os novos familiares positivos para esse anticorpo (2/47; 4,26%), um (sexo feminino, 61 anos) apresenta título muito elevado (1:320).

Embora o AML apresentasse positividade em dois familiares da etapa I (2/186; 1,08%; título 1:40), nenhum desses apresentava manifestações clínicas sugestivas de hepatite auto-imune, sendo que o único que retornou na etapa II mostrou-se negativo para a reação, possivelmente pelo valor limiar que apresentava anteriormente. Os relatos de associação de DC e doenças auto-imunes do fígado não fazem referência a familiares de celíacos (DUGGAN; DUGGAN, 2005; FREEMAN, 2005).

Assim como em outras investigações de DAI e de auto-anticorpos (BONAMICO et al., 2006), as mulheres também apresentaram positividade mais elevada para os auto-anticorpos investigados, com tendência à significância em

relação aos homens na etapa I ($p=0,0622$; Gráfico 24). A proporção de mulheres sorologicamente positivas em relação aos homens variou de 1,67:1 a 4:0, caracterizando a alta prevalência de auto-anticorpos entre familiares de celíacos do sexo feminino (Gráfico 25), corroborando com a maior predisposição ao desenvolvimento de diferentes DAI nesse sexo, inclusive entre os familiares de pacientes (BONACI-NIKOLIC et al., 2007).

De acordo com KAUKINEN et al. (2002b), a ocorrência de DAI em pacientes celíacos que aderem a uma dieta rigorosa sem glúten por cinco anos ou mais é similar àquela da população geral, sendo que os diversos auto-anticorpos órgão específicos, presentes em pacientes não tratados, desaparecem após essa mudança alimentar. Embora nos familiares da etapa I não tenha sido alcançada diferença significativa na frequência de auto-anticorpos nas faixas etárias avaliadas, particularmente entre os familiares da etapa II só foram detectados auto-anticorpos naqueles indivíduos que já apresentavam exposição mais prolongada ao glúten, ou seja, nos maiores de 18 anos. A porcentagem de familiares positivos maiores de 60 anos (17,65%) na etapa II demonstrou tendência à significância em relação aos familiares de 0-18 anos e 19-60 anos (0%; 10,11%, respectivamente; $p=0,083$; Gráfico 26). Esse dado sugere que o consumo persistente de glúten pode representar um gatilho para DAI em pessoas que, como familiares de celíacos, são geneticamente predispostas ao desenvolvimento de DC. Essa hipótese é questionada por alguns autores, que recentemente demonstraram que o tempo de exposição ao glúten em adultos celíacos não se correlaciona com o risco para DAI (SATEGNA-GUIDETTI et al., 2001; BIAGI et al., 2002)

Auto-anticorpos exercem importante papel na patogênese de diversas DAI. De acordo com FRANCESCHI et al. (1995), neoantígenos de células senescentes seriam responsáveis pelo ataque de auto-anticorpos e células auto-agressivas a células e tecidos autólogos.

Em relação ao grau de parentesco, a literatura tem evidenciado uma prevalência acima da esperada para DAI entre familiares de primeiro e segundo grau de pacientes (PETAROS et al., 2002; CATALDO; MARINO, 2003). Os dados obtidos nesse estudo corroboram tal observação, ao demonstrar-se que embora os familiares de celíacos de primeiro grau, de maneira geral, tenham apresentado maior frequência de auto-anticorpos em relação aos de segundo grau (Gráfico 27), não se

obteve diferenças significantes entre os mesmos, sugerindo ambos como grupos de risco para o desenvolvimento de DAI. Destaca-se ainda a importância dessa investigação entre irmãos de pacientes celíacos, pois, embora não represente o grupo em que se detectou maior prevalência de auto-anticorpos, a positividade nos mesmos nas etapas I (9,43%) e II (6,25%) mostrou-se similar, mesmo após 6-7 anos, em contraste à diversidade de frequência observada nos outros familiares (Gráfico 28). O aumento na positividade dos anticorpos dos pais na etapa II (26,92%) em relação à etapa I (16,95%), embora sem significância estatística, reflete o aumento na própria idade dos mesmos, de uma época para a outra, alcançando diferenças estatísticas ao serem comparados aos irmãos e filhos de celíacos ($p=0,0356$; $p=0,002$, respectivamente), fato que também se supõe estar relacionado à faixa etária desses indivíduos e maior tendência ao desenvolvimento de DAI com o passar dos anos.

A associação entre DC e a maior predisposição a outras DAI pode ser atribuída principalmente à presença de fatores genéticos em comum, com destaque para os genes HLA (LARIZZA et al., 2001; STEPNIAK; KONING, 2006). Portanto, a ausência de diagnóstico de DC em familiares de celíacos, ou a presença de formas subclínicas ou silenciosas, aliadas a uma ingestão prolongada de glúten, justificam o aparecimento dos auto-anticorpos detectados no presente estudo. Relatos de PETAROS et al. (2002) corroboram esses achados e a hipótese de que as DAI podem ser adicionadas à longa lista de enfermidades associadas à DC não diagnosticada ou não tratada.

7 CONCLUSÕES

A análise dos dados do presente estudo levou às seguintes conclusões:

A frequência de anticorpos EmA-IgA e anti-tTG-IgA foi significativamente elevada em familiares de pacientes com DC do sul do Brasil (22,32%; $p < 0,001$). Formas silenciosas e/ou latentes da doença com confirmação diagnóstica por biópsia intestinal foram detectados dentre os indivíduos investigados.

A alta frequência do EmA-IgA e anti-tTG-IgA entre os familiares de primeiro e segundo grau destaca-os como grupos de risco para desenvolvimento da DC e a necessidade de triagem sorológica nos mesmos. A elevada frequência desses anticorpos entre irmãos de celíacos nas duas etapas (~18,81%) sugere risco para a doença nesses indivíduos.

O predomínio de positividade do EmA-IgA e anti-tTG-IgA nos familiares do sexo feminino (etapa II) sugere risco aumentado para desenvolvimento de DC dentre as mulheres.

Uma frequência elevada do EmA-IgA e anti-tTG-IgA foi observada nos familiares acima de 60 anos, porém, um maior número de indivíduos com diagnóstico confirmado pela biópsia intestinal foi detectado na faixa de 19-60 anos.

A análise da evolução sorológica de 6-7 anos evidenciou flutuação de anticorpos para DC em familiares, indicando que uma única triagem é insuficiente para identificar os indivíduos que podem desenvolver a doença. A persistência de positividade para o EmA-IgA e anti-tTG-IgA entre familiares nas etapas I e II destaca falta de adesão ao tratamento entre os mesmos.

A positividade de 12,77% (6/47) para o EmA-IgA e/ou anti-tTG-IgA entre os novos membros das famílias ressalta a importância da inclusão constante dos mesmos nos estudos de triagem para DC.

Embora um melhor desempenho dos kits de ELISA com tTG humana tenha sido observado, ainda é recomendável o uso dos 2 métodos simultaneamente na triagem de familiares.

A frequência significativamente elevada dos anticorpos anti-microsomal da tireóide e anti-célula gástrica parietal ($p=0,0117$; $p=0,0635$, respectivamente), em especial nos familiares de 1º grau femininos e com maior tempo de exposição ao glúten (>60 anos), ressalta a necessidade de criterioso seguimento nesses indivíduos para elucidar o significado clínico dos achados.

A correlação clínico-laboratorial levou, até o momento, à confirmação do diagnóstico clínico em 14 familiares, 13 para DC e 1 para gastrite auto-imune. Tais dados, aliados à diferença significativa do EmA-IgA/anti-tTG-IgA e dos outros auto-anticorpos em relação a não familiares de celíacos, ressaltam a importante predisposição ao desenvolvimento de DC e outras DAI nesses indivíduos e demonstram o real valor dos estudos sorológicos como principal instrumento de triagem para essas afecções em familiares de celíacos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAEDINI, A. et al. Ganglioside reactive antibodies in the neuropathy associated with celiac disease. **Journal of Neuroimmunology**, Amsterdam, v. 127, n. 1, p. 145-148, 2002.
- ALDERSLEY, M. A. et al. No polymorphism in the tissue transglutaminase gene detected in celiac disease patients. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, v. 35, n. 1, p. 61-63, 2000.
- ANAND, B. S.; PIRIS, J.; TRUELOVE, S. C. The role of various cereals in coeliac disease. **The Quartely Journal of Medicine**, Oxford, v. 47, n. 185, p. 101-110, 1978.
- ANSALDI, N. et al. Autoimmune thyroid disease and celiac disease in children. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia, v. 37, n. 1, p. 63-66, 2003.
- ASKLING, J. et al. Cancer incidence in a population-based cohort of individuals hospitalized with celiac disease or dermatitis herpetiformis. **Gastroenterology**, New York, v. 123, n. 5, p. 1428-1435, 2002.
- AURICCHIO, S. et al. Celiac disease as a familial condition: Identification of asymptomatic celiac patients within family groups. **Gastroenterology International**, Rome, v. 1, n. 1, p. 25-31, 1988.
- AURICCHIO, S.; TRONCONE, R. History of coeliac disease. **European Journal of Pediatrics**, Berlin, v. 155, n. 6, p. 427-428, 1996.
- BAI, J. et al. Celiac Disease. **World Gastroenterology News**, New York, v. 10, n. 2, supplement: 1-8, 2005.
- BAPTISTA, M. L. et al. Prevalence of celiac disease in Brazilizn children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia, v. 41, n. 5, p. 621-624, 2005.
- BARBIERI, D. et al. A biopsia peroral do intestino delgado na criança. III-Resultados globais. Classificação dos padrões histológicos. Correlação estéreo-histológicas. Síndrome pós-biópsia. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 7, n. 3, p. 141-149, 1970.
- BARDELLA, M. T. et al. Serological markers for coeliac disease: is it time to change? **Digestive and Liver Disease**, Roma, v. 33, n. 5, p. 426-431, 2001.
- BASSO, D. et al. Role of anti-transglutaminase (anti-tTG), anti-gliadin, and anti-endomysium serum antibodies in diagnosing celiac disease: a comparison of four different commercial kits for anti-tTG determination. **Journal Clinical Laboratory Analysis**, v. 15, n. 3, p. 112-115, 2001.

BERGE-HENEGOUWEN, G. P.; MULDER, C. J. J. Pioneer in the gluten free diet: Wille-Karel Dicke 1905-1962, over 50 years of gluten free diet. **Gut**, London, v. 34, n. 11, p. 1473-1475, 1993.

BERGER, E. Zur allergisches pathogenese der coeliakie. *Int Ver Pediatr*, v. 67, p. 1-55, 1958 apud TRONCONE, R; FERGUSON, A. Anti-gliadin antibodies. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia, v. 12, n. 2, p. 150, 1991.

BIAGI, F. et al. Gluten exposure and risk of autoimmune disorders. **Gut**, London, v. 51, n. 1, p. 140-141, 2002.

BIAGI, F. et al. Incidence of celiac disease in first degree relatives. **XII International Celiac Disease Symposium**, New York, Abstracts, p. 86, 2006. Poster D-259.

BIGAZZI, P. E.; ROSE, N. R. Pruebas para anticuerpos contra antígenos tissulares específicos. In: ROSE, N.R.; FRIEDMAN, H. **El laboratorio en inmunología clínica**. 2. ed. Buenos Aires: Editorial Mediaca Pan Americana, 1984. p. 968-979.

BONACI-NIKOLIC, B. et al. Serological and clinical comparison of children and adults with anti-endomysial antibodies. **Journal Clinical Immunology**, v. 27, n. 2, p. 163-171, 2007.

BONAMICO, M. et al. Radioimmunoassay to detect antitransglutaminase autoantibodies is the most sensitive and specific screening method for celiac disease. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 96, n. 5, p. 1536-1540, 2001.

BONAMICO, M. et al. Prevalence and clinical picture of celiac disease in Turner syndrome. **Journal Clinical Endocrinology Metabolism**, v. 87, n. 12, p. 5495-5498, 2002.

BONAMICO, M. et al. Serologic and Genetic Markers of Celiac Disease: A Sequential Study in the Screening of First Degree Relatives. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia, v. 42, n. 2, p. 150-154, 2006.

BOOK, L.; ZONE, J. J.; NEUHAUSEN, S. L. Prevalence of celiac disease among relatives of sib pairs with celiac disease in U.S. families. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v.98, n.2, p.377-381, 2003.

BOTTARO, G. et al. The clinical pattern of subclinical/silent celiac disease: an análisis on 1026 consecutive cases. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 94, p. 691-696, 1999.

BRANSKI, D.; TRONCONE, R. Celiac disease: a reappraisal. **Journal of Pediatrics**, St Louis, v. 133, n. 2, p. 181-187, 1998.

BRUCE, S. E.; BJARNASON, I; PETERS, T. J.; Human jejunal transglutaminase: demonstration of activity, enzyme kinetics and substrate specificity with special

relation to gliadin and celiac disease. **Clinical Science**, London, v. 68, n. 65, p. 573-579, 1985.

BUREK, C. L.; ROSE, N. R. Autoanticorpos. In: COLVIN, R. B.; BHAN, A. K.; McMLUSKEY, R. T. **Diagnostic Immunopathology**. 2ª edição. New York: Raven Press, 1995. p.207-230.

BÜRGIN-WOLFF, A. et al. Antigliadin and antiendomysium antibody determination for celiac disease. **Archives of Disease in Childhood**, London, v. 66, n. 8, p. 941-947, 1991.

CARROCCIO, A. et al. Comparison of anti-transglutaminase ELISAs and an anti-endomysial antibody assay in the diagnosis of celiac disease: a prospective study. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 48, n. 9, p. 1546-1550, 2002.

CATALDO, F. et al. Antiendomysium antibodies and coeliac disease: solved and unsolved questions. An Italian multicentre study. **Acta Paediatrica**, Oslo, v. 84, n. 10, p. 1125-1131, 1995.

CATALDO, F. et al. Celiac disease and selective immunoglobulin A deficiency. **Journal of Pediatrics**, St Louis, v. 131, n. 2, p. 306-308, 1997.

CATALDO, F. et al. Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in celiac disease: an Italian Multicentre study. **Gut**, London, v. 42, n. 3, p. 362-365, 1998.

CATALDO, F. et al. IgG antiendomysium and IgG antitissue transglutaminase (anti-tTG) antibodies in celiac patients with selective IgA deficiency. **Gut**, London, v. 47, n. 3, p. 366-369, 2000.

CATALDO, F.; MARINO, V. Increased prevalence of autoimmune diseases in first-degree relatives of patients with celiac disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia, v. 36, n. 4, p. 470-473, 2003.

CATASSI, C.; GIORGI, P.L. Beyond the iceberg: The present and future of coeliac screening (Preface). **Acta Paediatrica**, Oslo, v. 85 (412):1, 1996.

CELLIER, C. et al. Refractory sprue, celiac disease, and enteropathy-associated T-cell lymphoma. French Coeliac Disease Study Group. **The Lancet**, London, v. 356, n. 9225, p. 203-208, 2000.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL & PREVENTION (CDC). **Epi-Info**. USA, 1997. World Health Organization, Geneva, Switzerland. Epi-Info, Version 6.04b – January 1997 – A Word Processing, Database and Statistics Program for Public Health.

CHALLACOMBE, D. N. Screening tests for Celic Disease. **Archives of Disease in Childhood**, London, v. 73, n. 1, p. 3-7, 1995.

CHAN, K. N. et al. Edomysial antibody screening in children. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia, v. 18, n. 3, p. 316, 1994.

CHAN, A. W.; BUTZER, J. D.; MCKENNA, R. Tissue transglutaminase enzyme-linked immunosorbent assay as a screening test for celiac disease in pediatrics patients. **Pediatrics**, Canada, v. 107, n. 1, p. E8, 2001.

CHANG, J. et al. Evaluation and interference study of haemoglobin A_{1c} measured by turbidimetric inhibition immunoassay. **American Journal of Clinical Pathology**, Philadelphia, v. 109, p. 274-278, 1998.

CHORZELSKI, T. P. et al. IgA antiendomysium antibodies in dermatitis herpetiformis and celiac disease. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 420, p. 325-334, 1983.

CLOT, F.; BABRON, M. C. Genetics of celiac disease. **Molecular Genetics and Metabolism**, Orlando, v. 71, n. 1-2, p. 76-80, 2000.

COLLIN, P. et al. Follow-up of patients positive in reticulin and gliadin antibody tests with normal small-bowel biopsy findings. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, v. 28, n. 7, p. 595-598, 1993.

COLLIN, P.; KAUKINEN, K.; MAKI, M. Clinical features of celiac disease today. **Digestive Disease and Science**, New York, v. 17, n. 2, p. 100-106, 1999.

COLLIN, P. et al. Endocrinological disorders and celiac disease. **Endocrine Reviews**, Baltimore, v. 23, n. 4, p. 464-483, 2002.

DAHELE, A. V. et al. Serum IgA tissue transglutaminase antibodies in celiac disease and other gastrointestinal diseases. **The Quartely Journal of Medicine**, Oxford, v. 94, n. 4, p. 195-205, 2001.

DAUM, S. et al. Increased expression of mRNA for matrix metalloproteinase-1 and -3 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in intestinal biopsy specimens from patients with celiac disease. **Gut**, London, v. 44, n. 1, p. 17-25, 1999.

DAVIDSON, L. S. P.; FOUNTAIN, J. R.: Incidence of sprue syndrome with some observation on natural history. **British Medical Journal**, London, v. 1, n. 4663, p. 1157-1161, 1950.

DELLAVANCE, A. et al. II Consenso Brasileiro de fator antinuclear em células Hep-2. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 43, n. 3, p. 129-141, 2003.

DEWAR, D. H.; CICLITIRA, P. J. Clinical Features and Diagnosis of Celiac Disease. **Gastroenterology**, New York, v.128, n. 4, supplement:1, p.S19-S24, 2005.

DICKEY, W.; McMILLAN, S. A.; CALLENDER, M. E. High prevalence of celiac sprue among patients with primary biliary cirrhosis. **Journal Clinical of Gastroenterology**, v. 25, n. 1, p. 328-329, 1997.

DICKEY, W.; McMILLAN, S. A. Co-screening for primary biliary cirrhosis and celiac disease. **Gut**, London, v. 43, n. 2, p. 3000, 1998.

DICKEY, W; McMILLAN, S. A.; HUGHES, D. F. Sensitivity of serum tissue transglutaminase antibodies for endomysial antibody positive and negative celiac disease. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, v. 36, n. 5, p. 511-514, 2001.

DIETERICH, W. et al. Identification of the tissue transglutaminase as the auto antigen of celiac disease. **Nature Medicine**, New York, v. 3, n. 7, p. 797-801, 1997.

DIETERICH, W.; LAAG, E.; SCHOPPER, H. Auto antibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease. **Gastroenterology**, New York, v. 115, n. 6, p. 1317-1321, 1998.

DOLINSEK, J. et al. The prevalence of celiac disease among family members of celiac disease patients. **Wien Klin Wochenschr**, Slovenia, v. 2, n. 116, p. 8-12, 2004.

DUBE, C. et al. The prevalence of celiac disease in average-risk and at-risk Western European populations: a systematic review. **Gastroenterology**, New York, v. 128, n. 4, p. 57-67, 2005.

DUGGAN, J. M.; DUGGAN, A. E. Systematic review: the liver in celiac disease. **Aliment Pharmacology and Therapy**, v. 21, n. 5, p. 515-518, 2005.

ELLIOT, D. E.; MURRAY, J. A.; WEINSTOCK, J. V. Inflammatory bowel and celiac disease. In: ROSE, N.R.; MACKAY, I.R. **The autoimmune diseases**. 3 ed. San Diego: Academic Press, 1998. p. 477-509.

FABIANI, E; CATASSI, C. The serum IgA class anti-tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis and follow up of celiac disease. Results of an International multi-centre study. International Working Group on Eu-tTG. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, [S.I.], v. 13, n. 6, p. 659-665, 2001.

FARRELL, R. J.; KELLY, C. P. Celiac sprue. **New England Journal of Medicine**, Waltham, Mass, v. 346, n. 3, p. 180-188, 2002.

FASANO, A.; CATASSI, C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. **Gastroenterology**, New York, v. 120, n. 3, p. 636-651, 2001.

FASANO, A. et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. **Archives International Medicine**, v. 163, n. 3, p. 286-292, 2003.

FERGUSON, A.; ARRANZ, E.; O' MAHONY, S. Clinical and pathological spectrum of celiac disease – active, silent, latent, potential. **Gut**, London, v. 34, n. 2, p. 150-151, 1993.

FIKE, D. J. Non organ-specific autoimmune disease. In: SHEEHAN, C. **Clinical Immunology. Principles and Laboratory Diagnosis**. 2. ed. Philadelphia: Lippincott, 1997. p. 283-296 (a).

FIKE, D. J. Organ-specific autoimmune disease. In: SHEEHAN, C. **Clinical Immunology. Principles and Laboratory Diagnosis**. 2. ed. Philadelphia: Lippincott, 1997. p. 297-304 (b).

FRANCESCHI, C. et al. The immunology of exceptional individuals: The lesson of Centenarians. **Immunology Today**, Cambridge, v. 16, p. 12-16, 1995.

FRASER, J. S. et al. An algorithm for family screening for coeliac disease. **World Journal of Gastroenterology**, New York, v. 12, n. 48, p. 7805-7809, 2006.

FREEMAN, H. J. Strongly positive tissue transglutaminase antibody assays without celiac disease. **The Canadian Journal of Gastroenterology**, Oakville, v. 18, n. 1, p. 25-28, 2004.

FREEMAN, H. J. Hepatobiliary and pancreatic disorders in celiac disease. **World Journal of Gastroenterology**, New York, v. 12, n. 10, p. 1503-1508, 2005.

GALE, L. et al. Down's syndrome is strongly associated with celiac disease. **Gut**, London, v. 40, n. 4, p. 492-496, 1997.

GANDOLFI, R. et al. Prevalence of celiac disease among blood donors in Brazil. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 95, n. 3, p. 689-692, 2000.

GENTILE, V. et al. Isolation and characterization of cDNA clones to mouse macrophage and human endothelial cell tissue transglutaminase. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 226, n. 1, p. 478-483, 1991.

GILLET, H. R.; FREEMAN, H. J. Comparison of IgA endomysium antibody and IgA tissue transglutaminase antibody in celiac disease. **The Canadian Journal of Gastroenterology**, Oakville, v. 14, p. 665-666, 2000.

GOLDBERG, D. et al. Screening for Celiac Disease in Family Members: Is Follow-up Testing Necessary? **Digestive Disease and Science**, New York, v. 52, n. 4, p. 1082-1086, 2007.

GOMES, J. C. et al. Prevalence of celiac disease in Argentina: screening of an adult population in the La Plata Area. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 96, p. 2700-2704, 2001.

GRECO, L. et al. The first large population based twin study of celiac disease. **Gut**, London, v. 50, n. 5, p. 624-628, 2002.

GREEN, P. H. et al. Significance of unsuspected celiac disease detected at endoscopy. **Gastrointestinal Endoscopy**, Denver, v. 51, n. 1, p. 60-65, 2000.

GREEN, P. H. R.; JABRI, B. Coeliac disease. **The Lancet**, London, v. 362, n. 2, p. 383-391, 2003 (a).

GREEN, P. H.; BARRY, M.; MATSUTANI, M. Serologic tests for celiac disease. **Gastroenterology**, New York, v. 124, n. 2, p. 585-586, 2003 (b).

GREEN, P. H. The many faces of celiac disease: clinical presentation of celiac disease in the adult population. **Gastroenterology**, New York, v. 128, n. 4, supplement:1, p. S74-78, 2005.

GRODZINSKY, E. et al. High prevalence of celiac disease in healthy adults revealed by antigliadin antibodies. **Annals of Allergy**, Palatine, v. 69, n. 1, p. 66-70, 1992.

GUDJONSDOTTIR, A. H. et al. The risk of celiac disease in 107 families with at least two affected siblings. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia, v. 38, n. 3, p. 338-342, 2004.

HALLSTROM, O. Comparison of IgA class reticulin and endomysium antibodies in celiac disease and dermatitis herpetiformis. **Gut**, London, v. 30, n. 9, p. 1225, 1989.

HAMER, R. J. Coeliac disease: background and biochemical aspects. **Biotechnology Advances**, New York, v. 23, n. 6, p. 401-408, 2005.

HERVONEN, K. et al. First-degree relatives are frequently affected in coeliac disease and dermatitis herpetiformis. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, v. 37, n. 1, p. 51-55, 2002.

HOGBERG, L. et al. Familial prevalence of celiac disease: a twenty-year follow-up study. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, v. 38, n. 1, p. 61-65, 2003.

HOLMES, G. K. T. et al. Malignancy in celiac disease - effect of a gluten free diet. **Gut**, London, v. 30, n. 3, p. 333-338, 1989.

HOLMES, G. K. Coeliac disease and malignancy. **Digestive and Liver Disease**, Roma, v. 34, n. 3, p. 229-237, 2002.

HORVATH, K.; MEHTA, D. I. Celiac disease. A worldwide problem. **Indian Journal of Pediatrics**, New Delhi, v. 67, n. 10, p. 757-763, 2000.

HOULSTON, R. S.; FORD, D. Genetics of celiac disease. **The Quarterly Journal of Medicine**, Oxford, v. 89, n. 10, p. 737-743, 1996.

HU, A. et al. Effect of age on the expressed B cell repertoire: Role of B cell subsets. **Int Immunology**, v. 5, p. 1035-1039, 1993.

ILTANEN, S. et al. Celiac disease and markers of celiac disease latency in patients with primary Sjogren's syndrome. **The American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 94, n. 4, p. 1042-1046, 1999.

JABRI, B. et al. Selective expansion of intraepithelial lymphocytes expressing the HLA-E specific natural Killer receptor CD94. **Gastroenterology**, New York, v. 118, n. 5, p. 867-879, 2000.

KAGNOFF, M. F. Overview and pathogenesis of celiac disease. **Gastroenterology**, New York, v. 128, n. 4, supplement:1, p.S10-S18, 2005.

KARINEN, H. et al. HLA genotyping is useful in the evaluation of the risk for celiac disease in the 1st-degree relatives of patients with celiac disease. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, v. 41, n. 11, p. 1299-1304, 2006.

KAUKINEN, K. et al. Celiac disease without villous atrophy: revision of criteria called for. **Digestive Disease and Science**, New York, v. 46, n. 4, p. 879-887, 2001.

KAUKINEN, K. et al. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 97, n. 3, p. 695-699, 2002 (a).

KAUKINEN, K. et al. Celiac disease in patients with severe liver disease: gluten-free diet may reverse hepatic failure. **Gastroenterology**, New York, v. 122, n. 4, p. 881-888, 2002 (b).

KOOP, I. et al. Detection of autoantibodies against tissue transglutaminase in patients with celiac disease and dermatitis herpetiformis. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 95, n. 8, p. 2009-20014, 2000.

KORPONAY-SZABO, I. et al. Families with multiple cases of gluten-sensitive enteropathy. **Zeitschrift fur Gastroenterologie**, Grafelfing, Germany, v. 36, n. 7, p. 553-558, 1998.

KOTZE, L. M. S. **Padrões histológicos e linfócitos intra-epiteliais da mucosa do intestino delgado nas diarreias crônicas**. Curitiba, 1988. 107f. Dissertação (Mestrado de Medicina Interna)-Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

KOTZE, L. M. S.; FERREIRA, E.; VALARINI S. B. M. Doença Celíaca: Aspectos epidemiológicos e genéticos em pacientes da região Sul do Brasil. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE ENDOSCOPIA DIGESTIVA, 9; CONGRESSO SUL-BRASILEIRO DE GASTROENTEROLOGIA, 2, 1989, Porto Alegre. **Tema Livre**. Porto Alegre, 1989, n. 41.

KOTZE, L. M. et al. Comparison of IgA class reticulín and endomysial antibodies for the diagnosis and dietary control in celiac disease. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 177-184, 1999.

KOTZE, L. M. S. et al. Antiendomysium antibodies in Brazilian patients with celiac disease and their first-degree relatives. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 94-103, 2001 (a).

KOTZE, L. M. S. Distúrbios entéricos da absorção. In: DANI R. **Gastroenterologia Essencial**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001 (b). p. 237-250.

KOTZE, L. M. S. et al. IgA class antiendomysial and anti-tissue transglutaminase antibodies in relation to duodenal mucosa changes in celiac disease. **Pathology**, Sydney, v. 35, n.1, p. 56-60, 2003.

KOTZE, L. M. S. Gynecologic and obstetric findings related to nutritional status and adherence to a gluten-free diet in Brazilian patients with celiac disease. **Journal of Clinical Gastroenterology**, New York, v. 38, n. 7, p. 567-574, 2004.

KOTZE, L. M. S. Doença Celíaca. In:____. **Aparelho Digestivo Clínica e Cirurgia**. 3. ed. São-Paulo: JCU Coelho (ed) Atheneu, 2005. p. 703-724.

KOTZE, L. M. S. Doença Celíaca. In:___Lopes AC & Amato Neto V. **Tratado de Clínica Médica**. 1. ed. São-Paulo: Roca, 2006 (a). p. 1036-1054.

KOTZE, L. M. S. et al. Thyroid disorders in Brazilian patients with celiac disease. **Journal of Clinical Gastroenterology**, New York, v. 40, n. 1, p. 33-36, 2006 (b).

LAHTEENOJA, H. et al. Oral mucosal changes in celiac patients on a gluten-free diet. **European Journal of Oral Sciences**, v. 106, n. 5, p. 899-906, 1998.

LARIZZA, D. et al. Celiac disease in children with autoimmune thyroid disease. **Journal of Pediatrics**, St. Louis, v. 139, n. 5, p. 738-740, 2001.

LAWSON, A. et al. Autoimmune cholestatic liver disease in people with celiac disease: a population based study of their association. **Aliment Pharmacology Therapy**, v. 21, n. 4, p. 401-405, 2005.

LEON, F. et al. Limitations of anti-guinea pig liver transglutaminase IgA in screening of celiac disease. **Gastroenterology**, New York, v. 120, n. 2, p. 586-587, 2001a.

LEON, F. et al. Anti-transglutaminase IgA ELISA: clinical potential and drawbacks in celiac disease diagnosis. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, v. 36, n. 8, p. 849-853, 2001b.

LIU, J. et al. Genomewide linkage analysis of celiac disease in Finnish families. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v.70, p. 51-59, 2002.

LOCK, R. J. et al. Anti-tissue transglutaminase, anti-endomysium and anti-R1-reticulin autoantibodies: the antibody trinity of celiac disease. **Clinical Experimental Immunology**, Oxford, v. 116, n. 2, p. 258-262, 1999.

MAC KAY, I. R. Aging and immunological function in man. **Gerontologia**, Basel, v. 18, p. 285-304, 1972.

MAIURI, L. et al. Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in celiac disease. **The Lancet**, London, v. 362, n. 9377, p. 30-37, 2003.

MÄKI, M. et al. Normal small bowel biopsy followed by celiac disease. **Archives of Disease in Childhood**, London, v. 65, n. 10, p. 1137-1141, 1990.

MÄKI, M.; COLLIN, P. Coeliac disease. **The Lancet**, London, v. 349, n. 9067, p. 1755-1759, 1997.

MÄKI, M. Prevalence of celiac disease among children in Finland. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 348, p. 2517-2524, 2003.

MARSH, M. N. Gluten histocompatibility complex, and the small intestine: A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ("celiac sprue"). **Gastroenterology**, New York, v. 102, n. 1, p. 330-354, 1992.

MELO, S. B. C. et al. Prevalence and demographic characteristics of celiac disease among blood donors in Ribeirão Preto, state of São Paulo, Brazil. **Digestive Diseases and Sciences**, New York, v. 51, n. 5, p. 1020-1025, 2006.

MEUWISSE, G. W. Diagnostic criteria in coeliac disease. **Acta Paediatrica Scandinavica**, Stockholm, v. 59, p. 461-463, 1970.

MILLER, A. et al. Anti-transglutaminase antibodies and celiac disease. **Australian and New Zealand Journal of Medicine**, Sydney, v.29, n.2, p. 239-242, 1999.

MOLBERG, O.; Mc ADAM, S. N.; SOLLID, L. M. Role of tissue transglutaminase in celiac disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia, v. 30, n. 3, p. 232-240, 2000.

MUSTALAHTI, K. et al. Gluten-free diet and quality of life in patients with screen-detected celiac disease. **Effective Clinical Practice**, Philadelphia, v. 5, n. 3, p. 105-113, 2002 (a).

MUSTALAHTI, K. et al. Coeliac disease among healthy members of multiple case coeliac disease families. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, v. 37, n. 2, p. 161-165, 2002 (b).

NALUAI, A. T. et al. Genome-wide linkage analysis of Scandinavian affected sib-pairs supports presence of susceptibility loci for celiac disease on chromosomes 5 and 11. **European Journal of Human Genetics**, Basel, v. 9, n. 12, p. 938-944, 2001.

NISIHARA, R. M. et al. Celiac disease in children and adolescents with Down Syndrome. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 81, n. 5, p. 373-376, 2005.

NIVELONI, S. et al. The natural history of gluten sensitivity: report of two new celiac disease patients resulting from a long-term follow-up of nonatrophic first-degree relatives. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 95, n. 2, p. 463-468, 2000.

NIVELONI, S. et al. Antibodies against synthetic deamidated gliadin peptides as predictors of celiac disease: Prospective assessment in an adult population with a high pretest probability of disease. **Clinical Chemistry**, Baltimore, 2007 (in press).

NOT, T. et al. Celiac disease risk in the USA: high prevalence of antiendomysium antibodies in health blood donors. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, v. 33, n. 5, p. 494-498, 1998.

NUNES, I. et al. Latent transforming growth factor-beta binding protein domains involved in activation and transglutaminase-dependent cross-linking of latent transforming growth factor-beta. **J Cell Biol.**, v. 136, n. 5, p. 1151-1163, 1997.

O' FARRELLY, C.; MARTEN, D.; MELCHER, D. Association between villous atrophy in rheumatoid arthritis and a rheumatoid factor and gliadin specific IgG. **The Lancet**, London, v. 2, n. 8615, p. 819, 1988.

OJETTI, V. et al. High prevalence of celiac disease in psoriasis. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 98, n. 11, p. 2574-2575, 2003.

OJETTI, V. et al. High prevalence of celiac disease in patients with lactose intolerance. **Digestion**, v. 71, n. 2, p. 106-110, 2005.

O' LEARY, C. et al. Coeliac disease and autoimmune Addison's disease: a clinical pitfall. **Quartely Journal of Medicine**, Oxford, v. 95, n. 2, p. 79-82, 2002.

OLIVEIRA, R. P. et al. High prevalence of celiac disease in Brazilian blood donor volunteers based on screening by IgA antitissue transglutaminase antibody. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, [S.I.], v. 19, n. 1, p. 43-49, 2007.

OTLEY, C., HALL, R. P. Dermatitis herpetiformis. **Dermatological Clinical**, v. 8, n. 4, p. 759-769, 1990.

PALACIOS, S. M. et al. The tissue transglutaminase antibody: usefulness in the diagnosis of celiac disease objective. **An Esp Pediatric**, Pamplona, v. 53, n. 6, p. 542-546, 2000.

PAULLEY, L. W. Observation on the aetiology of idiopathic steatorrhoea. **British Medical Journal**, London, v. 2, n. 4, p. 1318-1321, 1954.

PAVELEY, W. F. From Arateus to Crosby: a history of celiac disease. **British Medical Journal**, London, v. 297, n. 6664, p. 1646-1649, 1989.

PENDER, S. L. et al. A major role for matrix metalloproteinases in T cell injury in the gut. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 158, n. 4, p. 1582-1590, 1997.

PEREIRA, M. A. G. et al. Prevalence of celiac disease in an urban area of Brazil with predominantly European ancestry. **World Journal of Gastroenterology**, v. 12, n. 40, p. 6546-6550, 2006.

PETAROS, P. et al. Prevalence of autoimmune disorders in relatives of patients with celiac disease. **Digestive Disease and Science**, New York, v. 47, n. 7, p. 1427-1431, 2002.

PICARELLI, A. et al. Gluten sensitive disease with mild enteropathy. **Gastroenterology**, New York, v. 111, n. 3, p. 608-616, 1996 (a).

PICARELLI, A. et al. Production of antiendomysium antibodies after in-vitro gliadin challenge of small intestine biopsy samples from patients with celiac disease. **The Lancet**, London, v. 348, n. 9034, p. 1065-1067, 1996 (b).

PITTSCHIELLER, K.; GENTILI, L.; NIEDERHOFER, H. Onset of celiac disease: a prospective longitudinal study. **Acta Paediatrica**, Oslo, v.92, n.10, p.1149-1152, 2003.

POLANCO, I.; JASINSKI, C.; DE ROSA, S. Coeliac disease in Argentina and Uruguay. **Dyn Nutr Res**, v. 2, p. 57, 1992.

POLANCO, I. Enfermedad celíaca. **Pediatría Integral**, v. 1, n. 2, p. 124, 1995.

POLANCO, I. Enfermedad celiaca. In: ARGÜELLES, F.; POLANCO, I. **Manual de Gastroenterologia Pediátrica**. Granada: Copartgraf, 1996. p. 261-268.

REEVES, G. E. et al. The measurement of IgA and IgG transglutaminase antibodies in celiac disease: a comparison with current diagnostic methods. **Pathology**, Australia, v. 32, n. 3, p. 181-185, 2000.

REUNALA, T. et al. Dermatitis herpetiformis: jejunal findings and skin response to gluten-free diet. **Archives of Disease in Childhood**, London, v. 59, n. 6, p. 517-522, 1984.

RIBAS, J. C. **Investigação sorológica e clínica de auto-anticorpos em indígenas Kaingang e Guarani da Reserva de Mangua, do estado do Paraná**: Curitiba, 2007. 159f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

RITTMAYER, C.; RHOADS, M. IgA deficiency causes false-negative endomysial antibody result in Celiac Disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia, v. 23, n. 4, p. 504-506, 1996.

RIZZETTO, M.; SWANA, G.; DONIACH, D. Microsomal antibodies in active chronic hepatitis and other disorders. **Clinical and Experimental Immunology**, Oxford, v.15, n. 3, p. 331-344, 1973.

RODRIGO, L. Celiac disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 12, n. 41, p. 6585-6593, 2006.

ROMALDINI, C. C.; BARBIERI, D. Celiac disease serum antibodies. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v, 36, n. 4, p. 259-265, 1999.

ROSSI, T. M. et al. Relationship of endomysial antibodies to jejunal mucosal pathology: specificity towards both symptomatic and asymptomatic celiacs. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia, v. 7, n. 6, p. 858-863, 1988.

ROSTAMI, K. et al. High prevalence of celiac disease in apparently healthy blood donors suggest a high prevalence of undiagnosed celiac disease in Dutch population. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Oslo, v. 34, n. 3, p. 276-279, 1999.

RUFFATI, A. et al. Autoantibodies of systemic rheumatic diseases in the healthy elderly. **Gerontoly**, Basel, v. 36, p. 104-111, 1990.

SALMASO, C. et al. Comparison of ELISA for tissue transglutaminase autoantibodies with antiendomysium antibodies in pediatric and adult patients with celiac disease. **Allergy**, Copenhagen, v. 56, n. 6, p. 544-547, 2001.

SARDY, M. et al. Comparison of a tissue transglutaminase ELISA with the endomysium antibody test in the diagnosis of gluten sensitive enteropathy. **Zusammenfassung Gastroenterology**, v.38, n. 5, p. 357-364, 2000.

SATEGNA-GUIDETTI, C. et al. Duration of gluten exposure in adult celiac disease does not correlate with the risk for autoimmune disorders. **Gut**, London, v. 49, n. 4, p. 502-505, 2001.

SBLATTERO, D. et al. Human recombinant tissue transglutaminase ELISA: an innovative diagnostic assay for celiac disease. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 95, n. 5, p. 1253-1257, 2000.

SCHUPPAN, D.; DIETERICH, W.; RIECKEN, E. O. Exposing gliadin as a tasty food for lymphocytes. **Nature Medicine**, New York, v. 4, n. 6, p. 666-667, 1998.

SCHUPPAN, D. Current concepts of celiac disease pathogenesis. **Gastroenterology**, New York, v. 119, n. 1, p. 234-242, 2000.

SCHUPPAN, D; HAHN, E. G. IgA anti-tissue transglutaminase: setting the stage for celiac disease screening. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, [S.I.], v. 13, n. 6, p. 635-637, 2001.

SCOTT, H. et al. The Immune system in celiac disease. In: MARSH, M. **Coeliac disease**. Oxford: Blackwell, 1992. p.239-82.

SDEPANIAN, V. L.; MORAIS, M. B.; FAGUNDES-NETO, U. Doença Celíaca: a evolução dos conhecimentos desde sua centenária descrição original até os dias atuais. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v., 36, n. 4, p. 244-254, 1999.

SEAH, P. P. et al. Antireticulin antibodies in childhood celiac disease. **The Lancet**, London, v. 2, n. 7726, p. 681-682, 1971.

SHAHBAZKHANI, B. et al. High prevalence of celiac disease in apparently healthy Iranian blood donors. **European Journal of Gastroenterology**, [S.l.], v. 15, n. 5, p. 475-478, 2003.

SHAMIR, R. et al. The use of a single serological marker underestimates the prevalence of celiac disease in Israel: A study of blood donors. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 97, n. 10, p. 2589-2594, 2002.

SHAN, L. et al. Strctural basis for gluten intolerance in celiac sprue. **Science**, Washington, v. 297, n. 5590, p. 2275-2279, 2002.

SHEEHAN, N. J.; STANTON-KING, K. Polyautoimmunity in a young woman. **British Journal of Rheumatology**, v. 32, n. 3, p. 254-256, 1993.

SJOBERG, K; CARLSSON, A. Screening for celiac disease can be justified in high-risk groups. **Lakartidningen**, Swedish, v. 101, n. 48, p. 3912, 3915-3916, 13918-3919, 2004.

SOLLID, L. M.; THORSBY, E. HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. **Gastroenterology**, New York, v. 105, n. 3, p. 910-922, 1993.

SOLLID, L. M. Molecular basis of celiac disease. **Annual Review of Immunology**, Palo Alto, v. 18, n. 1, p. 53-81, 2000.

SOLLID, L. M.; JABRI, B. Is celiac disease an autoimmune disorder? **Current Opinion in Immunology**, London, v. 17, n. 6, p. 595-600, 2005.

STANTON A. GLANTZ. **Primer of Biostatistics**. New York, 1997. Version 4.0, McGraw Hill, Fourth Edition – (Manual com 473 páginas).

STEPNIAK, D.; KONING, F. Celiac disease-sandwiched between innate and adaptive immunity. **Human Immunology**, New York, v. 67, n. 6, p. 460-468, 2006.

SUGAI, E. et al. Tissue transglutaminase antibodies in celiac disease: assessment of a commercial Kit. **American Journal of Gastroenterology**, Buenos Aires, v. 95, n. 9, p. 2318-2322, 2000.

SUGAI, E. et al. Accuracy of testing for antibodies to synthetic gliadin-related peptides in celiac disease. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 4, n. 9, p. 1112-1117, 2006.

SULKANEN, S. et al. Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. **Gastroenterology**, New York, v. 115, n. 6, p. 1322-1328, 1998.

TALAL, A. H. et al. Celiac disease in an adult population with insulin-dependent diabetes mellitus: use of endomysial antibody testing. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 92, n. 8, p. 1280-1284, 1997.

TESEI, N. et al. Antibodies to human recombinant tissue transglutaminase may detect celiac disease patients undiagnosed by endomysial antibodies. **Aliment Pharmacology Therapy**, v. 17, n. 11, p. 1415-1423, 2003.

TREVISIOL, C. et al. Screening for celiac disease in healthy blood donors at two immuno-transfusion centers in north-east Italy. **Italian Journal of Gastroenterology and Hepatology**, Padova, v. 31, n. 7, p. 584-586, 1999.

TOSCANO, V. et al. Importance of gluten in the induction of endocrine autoantibodies and organ dysfunction in adolescent celiac patients. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 95, n. 7, p. 1742-1748, 2000.

TRONCONE, R. et al. Latent and potencial coeliac disease. **Acta Paediatrica Supplement**, Oslo, v. 412, p. 10-14, 1996(a).

TRONCONE, R.; GRECO, L.; AURICCHIO, S. Gluten-sensitive enteropathy. **Pediatric Clinics of North America**, Philadelphia, v. 43, n. 2, p. 355-373, 1996(b).

TRONCONE, R. et al. IgA antibodies to tissue transglutaminase: an effective diagnostic test for celiac disease. **The Journal of Pediatrics**, St Louis, v. 134, n. 2, p. 165-171, 1999.

TURSI, A.; BRANDIMARTE, G.; GIORGETTI, G. M. Lack of usefulness of anti-transglutaminase antibodies in assessing histologic recovery after gluten-free diet in celiac disease. **Journal of Clinical Gastroenterology**, New York, v. 37, n. 5, p. 387-391, 2003.

TUTHILL, D. P. et al. The rise of childhood celiac disease following antibody testing introduction. **Eight International Symposium on Coeliac Disease**, Italy, 1999. Poster 062.

UNSWORTH, D. J.; WALKER-SMITH, J. A.; HOLBOROW, E. J. Gliadin and reticulin antibodies in childhood celiac disease. **The Lancet**, London, v. 1, n. 8329, p. 874-875, 1983.

UTIYAMA, S. R. R. et al. Spectrum of autoantibodies in celiac patients and relatives. **Digestive Disease and Science**, New York, v.46, n. 12, p. 2624-2630, 2001.

UTIYAMA, S. R. R. et al. Correlação dos anticorpos anti-endomísio e antitransglutaminase com a doença celíaca. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 34, n.1, p. 39-45, 2002.

UTIYAMA, S. R. R.; KOTZE, L. M. S.; MESSIAS-REASON, I. T. Complement factor B allotypes in the susceptibility and severity of coeliac disease in patients and relatives. **International Journal of Immunogenetics**, Oxford, v.32, p.307-314, 2005.

VADER, L. W. et al. Specificity of tissue transglutaminase explains cereal toxicity in celiac disease. **Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 195, n. 5, p. 643-649, 2002.

VAZQUEZ, H. et al. Screening for asymptomatic celiac sprue in families. **Journal of Clinical Gastroenterology**, New York, v. 21, n. 2, p. 130-133, 1995.

VAZQUEZ, H. et al. Serological markers identify histologically latent coeliac disease among first-degree relatives. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, [S.I.], v. 8, n. 1, p. 15-21, 1996.

VENTURA, A.; MAGAZZU, G; GRECO, L. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. SIGEP Study Group for Autoimmune Disorders in Celiac Disease. **Gastroenterology**, New York, v. 117, n. 2, p. 297-303, 1999.

VENTURA, A. et al. Gluten-dependent diabetes-related and thyroid-related autoantibodies in patients with celiac disease. **The Journal of Pediatrics**, St Louis, v. 137, n. 2, p. 263-265, 2000.

VILIJAMAA, M. et al. Coeliac disease, autoimmune diseases and gluten exposure. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, New York, v. 40, n. 4, p. 437-443, 2005.

VITORIA, J. C. et al. Use of serological markers as a screening test in family members of patients with celiac disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia, v. 19, n. 3, p. 304-309, 1994.

VOLTA, U. et al. IgA anti-endomysial antibodies on human umbilical cord tissue for celiac disease screening. **Digestive Disease and Sciences**, New York, v. 40, n. 9, p. 1902-1905, 1995.

VOLTA, U. et al. Organ-specific autoantibodies in celiac disease: do they represent an epiphenomenon or the expression of associated autoimmune disorders? **Italian Journal of Gastroenterology and Hepatology**, Padova, v. 29, n. 1, p. 18-21, 1997.

VOLTA, U. et al. Celiac disease in autoimmune cholestatic liver disorders. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 97, n. 10, p. 2609-2613, 2002.

VON BLOMBERG, B. M. E. et al. Serological assays for diagnosing celiac disease. **Pediatrics**, v. 16, p. 367, 1996.

WALKER-SMITH, J. A. et al. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. **Archives of Disease in Childhood**, London, v. 65, n. 8, p. 909-911, 1990.

WEBSTER, A. D. et al. Coeliac disease with severe hypogammaglobulinaemia. **Gut**, London, v. 22, n. 2, p. 153-157, 1981.

WEKSLER, M. E. et al. Cellular basis for the age-associated increase in autoimmune reactions. **Int Immunology**, v. 2, p. 329-335, 1990.

WONG, R. C. et al. A comparison of 13 guinea pig and human anti-tissue transglutaminase antibody ELISA kits. **Journal Clinical Pathology**, London, v. 55, n. 7, p. 488-494, 2002.

La Enfermedad Celiaca. La Enfermedad Celíaca En Niños Con Síndrome De Down Disponível em:< <http://www.down21.org/salud/salud/celíaca.html> > Acesso em: 09 nov. 2007.

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1	DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DA ETAPA I: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍCIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA.....	112
APÊNDICE 2	DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DA ETAPA II: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, GRUPO DE FAMILIARES, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍCIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA.....	119
APÊNDICE 3	DADOS REFERENTES AOS NÃO-FAMILIARES: NOME, IDADE, SEXO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍCIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS	124
APÊNDICE 4	DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES COM SOROLOGIA POSITIVA: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ETAPA DO ESTUDO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍCIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA.....	127
APÊNDICE 5	TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	130
APÊNDICE 6	QUESTIONÁRIO APLICADO AOS FAMILIARES DE PACIENTES CELÍACOS.....	131

APÊNDICE 1 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DA ETAPA I: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA

continua

Nº.	NOME	IDADE	SEXO	GP	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM	IgA mg/dl
2200	LHK	39	F	1º	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	197
2866	LHA	38	F	1º	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	278
2867	LH	36	F	1º	Neg	14	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	344
2868	FK	09	M	2º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	153
2219	IT	35	F	1º	Pos1/2,5	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	217
2249	ERF	34	F	1º	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	167
2266	LFF	07	F	1º	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	126
2267	RFF	36	M	1º	Pos1/2,5	14	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	213
3181	ER	57	M	2º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	215
2252	MLW	60	F	1º	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	0
2305	CEG	15	M	1º	Neg	14	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	239
2306	FG	18	F	1º	Neg	09	Pos1/40	Neg	Neg	Neg	Neg	341
2310	JLL	69	M	1º	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Pos1/40	Neg	0
2311	IL	71	F	1º	Pos1/2,5	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	730
2312	JCL	37	M	1º	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	282
2316	PSL	39	M	1º	Neg	18	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	416
2329	MIS	40	F	1º	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/40	146
2328	HS	40	M	1º	Neg	19	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	238
2375	CLS	06	F	1º	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	135
2377	NS	34	M	1º	Pos1/2,5	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	211
2378	LLS	25	F	1º	Neg	11	Pos1/40	Neg	Neg	Neg	Neg	212
2394	THT	60	F	1º	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	165
2396	MTF	65	M	1º	Pos1/2,5	36	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	827
2715	CT	31	F	1º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	394
0142	LRHV	50	F	2º	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	ND
0243	SMT	42	F	1º	Neg	27	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	444
2416	CMN	34	M	1º	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	286
12C	RMN	29	M	1º	Neg	23	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	229
15C	FNM	37	M	1º	Neg	106	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
2562	NP	39	M	1º	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	181

APÊNDICE 1 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DA ETAPA I: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA

continuação

Nº.	NOME	IDADE	SEXO	GP	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM	IgA mg/dl
2493	AF	17	F	1º	Pos1/2,5	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	224
2494	SF	40	F	1º	Pos1/2,5	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/40	280
2496	CF	40	M	1º	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Pos1/80	Neg	180
2497	RF	13	M	1º	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	96.3
2512	FA	13	F	1º	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	142
2513	FA	18	M	1º	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	118
2514	EA	42	F	1º	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	147
2515	FA	21	M	1º	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	136
2533	GF	52	F	1º	Neg	18	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	213
2535	RCV	32	F	1º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	93.8
2540	RPV	06	F	2º	Neg	19	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	97.5
2541	RIV	11	M	2º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	152
2542	LFRM	41	M	1º	Neg	19	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	153
2629	FMJ	42	M	1º	Neg	18	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	279
2630	GAM	10	M	2º	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	202
2631	JAM	07	F	2º	Neg	17	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	111
2721	JMN	44	M	1º	Neg	18	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	244
2565	JM	14	F	1º	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	140
2566	CM	39	F	1º	Neg	27	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	183
2567	AM	45	M	1º	Neg	34	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	316
2606	MC	55	M	1º	Neg	19	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	147
2637	EP	44	F	1º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	123
2638	OS	46	M	1º	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	151
2639	MPS	26	M	1º	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	170
2640	MS	18	M	1º	Neg	14	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	105
2655	LDM	11	M	1º	Neg	35	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	352
2656	GS	13	F	1º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/80	148
2659	BM	34	F	1º	Neg	17	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	115
2660	HM	38	M	1º	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	175
2661	TMM	10	F	1º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	95.7

APÊNDICE 1 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DA ETAPA I: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA

continuação

Nº.	NOME	IDADE	SEXO	GP	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM	IgA mg/dl
2740	LH	16	F	1º	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	96.5
2741	PH	15	F	1º	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	83.5
2819	IW	75	F	1º	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	319
2874	JH	13	M	1º	Pos1/2,5	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	218
2804	DLM	36	F	1º	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	156
2805	JMN	35	M	1º	Pos1/5	153	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	265
2803	ILM	17	F	1º	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	217
2586	FBR	16	F	1º	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	241
2764	RJB	53	M	1º	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	314
2765	FB	24	M	2º	Pos1/5	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	364
2776	JBR	20	M	1º	Pos1/2,5	23	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	455
2845	EBL	63	F	1º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	283
2846	OBW	55	F	1º	Neg	14	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	310
2847	MEBB	63	F	1º	Neg	17	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	378
2848	DBL	27	F	2º	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	242
2882	CBW	26	M	2º	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	383
2919	DBW	24	M	2º	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	256
2888	MABL	35	M	2º	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	180
2889	BTL	05	F	2º	Neg	17	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	69.4
2891	ML	02	F	2º	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	33
2893	JB	15	M	2º	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	101
2916	RB	33	F	2º	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	278
2843	TFS	02	M	2º	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	85.4
2869	TPS	30	M	1º	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	211
2870	SN	43	M	1º	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	256
2900	EN	41	F	1º	Neg	18	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	225
2904	BN	09	M	2º	Neg	19	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	45.5
2876	MT	37	F	1º	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Pos>1/80	Neg	214
2878	NPN	47	F	1º	Neg	18	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	205
2536	JOP	47	M	1º	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	340

APÊNDICE 1 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DA ETAPA I: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA

continuação

Nº.	NOME	IDADE	SEXO	GP	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM	IgA mg/dl
2537	TP	43	F	1º	Pos1/2,5	18	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	157
3055	JVB	15	F	1º	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	406
3057	VLVB	38	F	1º	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	274
3145	MB	38	M	1º	Neg	19	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	459
2723	MU	43	F	1º	Neg	17	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	107
3079	SSS	49	F	1º	Neg	19	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	308
3080	CSS	40	F	1º	Pos1/80	195	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	501
3081	SSS	46	M	1º	Neg	96	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	486
3082	AS	26	F	1º	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	501
3083	OSS	53	M	1º	Neg	36	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	>634
3084	WSS	44	M	1º	Pos1/5	45	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	634
3089	DSS	25	F	1º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	634
3157	PJA	21	F	1º	Pos1/80	50	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	445
3204	MJ	17	F	1º	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	343
3205	LJ	11	F	1º	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	319
3202	UJ	58	F	2º	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	55.3
4013	IA	49	F	1º	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	127
4016	MMS	19	F	1º	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	51.7
3381	JCG	22	F	1º	Neg	17	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	241
4144	IC	44	F	1º	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	151
4145	JC	53	M	1º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	151
4141	CC	24	F	1º	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	150
4143	EC	11	M	1º	Neg	17	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	33
9904	GG	10	M	1º	Neg	20	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
9905	PG	69	M	1º	Neg	19	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
9906	IG	69	F	1º	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
9907	SG	40	F	1º	Neg	22	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	333
9915	CBC	24	M	1º	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
9916	EBC	21	M	1º	Neg	17	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
9920	BDR	02	F	1º	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	150

APÊNDICE 1 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DA ETAPA I: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA

continuação

Nº.	NOME	IDADE	SEXO	GP	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM	IgA mg/dl
9921	ADR	02	F	1º	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	157
0005	FR	34	F	1º	Neg	22	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	245
0006	LR	06	M	1º	Neg	14	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	>634
0007	WR	36	M	1º	Neg	17	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	167
0029	MM	45	F	1º	Pos1/5	84	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	287
0055	CRL	16	F	1º	Neg	17	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	266
0056	RRL	14	F	1º	Neg	22	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	216
46C	PLRS	79	M	1º	Neg	21	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	332
47C	IRS	74	F	1º	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	306
0233	CL	23	F	1º	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Pos1/160	Neg	ND
0047	NF	79	M	1º	Pos1/40	37	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
0038	FF	18	M	1º	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	238
0039	DF	08	F	1º	Neg	14	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	70.5
0040	AAF	45	M	1º	Neg	18	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	220
0046	JNF	49	M	1º	Neg	17	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	203
0049	LF	72	F	1º	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	175
0048	PFC	53	F	1º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	105
0153	JPF	19	M	1º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	142
0026	ACM	25	F	1º	Neg	18	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	146
0028	KPT	70	F	1º	Neg	18	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	344
0032	FE	25	F	1º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	130
0008	JV	30	M	1º	Neg	18	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	218
0072	EBP	51	F	1º	Pos1/2,5	17	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	237
0073	LRP	59	M	1º	Neg	17	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	224
0074	RP	29	M	1º	Neg	18	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	157
5162	BS	04	F	2º	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	200
5163	AS	25	F	1º	Neg	32	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	154
5164	RS	36	F	1º	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	199
5166	RS	30	F	1º	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	78.7
0362	SAS	34	M	1º	Pos1/40	194	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND

APÊNDICE 1 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DA ETAPA I: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA

continuação

Nº.	NOME	IDADE	SEXO	GP	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM	IgA mg/dl
0079	EC	52	F	1º	Neg	27	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	208
0086	MCD	33	F	1º	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	224
0087	ICC	71	F	1º	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	486
0088	ICG	25	F	1º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	177
0089	JCG	23	F	1º	Neg	14	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	194
0105	RMV	45	F	1º	Pos1/40	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	224
0146	EVA	23	F	1º	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	182
0147	ACMF	11	M	1º	Pos1/20	186	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	110
0145	GVM	24	M	2º	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	179
0144	CVK	18	F	2º	Pos1/40	83	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	199
18C	JBN	36	M	1º	Pos1/40	174	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	427
24C	JFS	32	F	1º	Neg	30	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	92.9
09C	AMCA	20	F	1º	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	123
10C	MCS	17	F	1º	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	117
11C	SCS	22	F	1º	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	152
01-27	GC	65	F	1º	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	68.4
0232	LFBF	42	M	1º	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	33
01-97	NS	45	F	1º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Pos1/320	Pos1/10	240
0404	DA	29	F	1º	Pos1/40	30	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	222
0403	JA	31	M	1º	Neg	19	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	467
0318	AAFJ	38	M	1º	Neg	43	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
0315	MVMPF	37	F	1º	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	180
0316	MMF	10	F	1º	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	92.5
0387	CB	44	F	1º	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	192
0389	MAB	47	M	1º	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	232
0411	ERF	39	F	1º	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	216
0413	GF	05	F	1º	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	129
0410	CJF	47	M	1º	Neg	24	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	332
0322	TDGB	47	F	1º	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Pos1/160	Neg	176
0352	FAB	26	M	1º	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	236

APÊNDICE 1 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DA ETAPA I: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA

conclusão

Nº.	NOME	IDADE	SEXO	GP	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM	IgA mg/dl
0293	CZ	29	F	1º	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	151
0289	ILZ	35	M	2º	Neg	17	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	250
0290	IZ	68	M	2º	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	294
0150	PP	07	F	2º	Neg	25	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	164
2872	FS	58	M	1º	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Pos1/160	Neg	259
2877	CS	52	F	1º	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/20	115

NOTAS: GP= grau de parentesco

AML= anticorpo anti-músculo liso; AMA= anticorpo anti-mitocôndria; LKM= anticorpo anti-microsoma de fígado e rim;

CGP= anticorpo anti-célula gástrica parietal; AAM= anticorpo anti-microsomal tireoidiano

Pos= positivo

Neg= negativo

ND= não determinado

APÊNDICE 2 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DA ETAPA II: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, GRUPO DE FAMILIARES, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA

continua

Nº.	NOME	IDADE	SEXO	GP	GRUPO	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM	IgA mg/dl
01	OSS	60	M	1º	RC	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	>364
02	MMS	26	F	1º	RC	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	51.7
05	BM	42	F	1º	RC	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	115
06	HM	47	M	1º	RC	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	175
07	TMM	17	F	1º	RC	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	95.7
08	MLW	67	F	1º	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/80	0
09	CM	46	F	1º	RC	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	183
10	JM	22	F	1º	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	140
11	AM	52	M	1º	RC	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	316
13	MC	62	M	1º	RC	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	147
14	AS	34	F	1º	RC	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	501
17	SSS	56	F	1º	RC	Neg	19	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	308
21	TPS	38	M	1º	RC	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	211
22	SSS	53	M	1º	RC	Pos1/5	85	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	486
25	LFRM	49	M	1º	RC	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	153
26	DSS	32	F	1º	RC	Pos1/2,5	132	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	634
0565	PJ	26	F	1º	RC	Pos1/10	49	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	445
31	EP	51	F	1º	RC	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	123
32	FMJ	50	M	1º	RC	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	279
33	JAM	15	F	2º	RC	Pos1/2,5	28	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	111
34	GAM	18	M	2º	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	202
35	EC	57	F	1º	RC	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	208
36	ICC	76	F	1º	RC	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	486
40	LJ	18	F	1º	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	319
41	JMN	52	M	1º	RC	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	244
42	CVK	23	F	2º	RC	Pos1/40	216	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	199
43	GVM	28	M	2º	RC	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	179
45	TP	50	F	1º	RC	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	157
46	JOP	54	M	1º	RC	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	340
47	MJ	24	F	1º	RC	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	343

APÊNDICE 2 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DA ETAPA II: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, GRUPO DE FAMILIARES, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA

continuação

Nº.	NOME	IDADE	SEXO	GP	GRUPO	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM	IgA mg/dl
48	JCL	42	M	1º	RC	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	282
49	IL	78	F	1º	RC	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	730
50	JCN	60	M	1º	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	151
51	CC	31	F	1º	RC	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	150
52	IGC	50	F	1º	RC	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	151
53	JC	29	F	1º	RC	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	241
55	RMV	50	F	1º	RC	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	224
56	ACMF	16	M	1º	RC	Neg	36	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	110
57	EVA	28	F	1º	RC	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	182
58	PSL	46	M	1º	RC	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	416
59	MCD	38	F	1º	RC	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	224
60	JLL	75	M	1º	RC	Neg	03	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	0
62	AMCA	23	F	1º	RC	Neg	03	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	123
63	MCS	20	F	1º	RC	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	117
64	SCSL	25	F	1º	RC	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	152
65	MM	50	F	1º	RC	Pos1/2,5	114	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	287
67	FBR	23	F	1º	RC	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	241
68	FS	66	M	1º	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Pos1/80	Neg	259
69	CCLS	60	F	1º	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/60	115
75	FG	25	F	1º	RC	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	341
77	CSS	48	F	1º	RC	Pos1/20	103	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	501
79	CF	48	M	1º	RC	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Pos1/80	Neg	180
80	SF	47	F	1º	RC	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	280
84	ASC	31	F	1º	RC	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	154
85	RF	20	M	1º	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	96.3
86	SAS	40	M	1º	RC	Pos1/40	139	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
88	BS	11	F	2º	RC	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	200
89	RSC	43	F	1º	RC	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	199
95	AFK	25	F	1º	RC	Pos1/2,5	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	224
98	JB	23	F	1º	RC	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	406

APÊNDICE 2 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DA ETAPA II: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, GRUPO DE FAMILIARES, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA

continuação

Nº.	NOME	IDADE	SEXO	GP	GRUPO	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM	IgA mg/dl
99	VLV	46	F	1º	RC	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/40	274
103	BDR	10	F	1º	RC	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	150
104	ADR	10	F	1º	RC	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	157
106	TDGB	52	F	1º	RC	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Pos1/160	Pos1/40	176
107	FAB	31	M	1º	RC	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	236
108	JCG	29	F	1º	RC	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	194
109	ICGA	31	F	1º	RC	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	177
110	IRS	76	F	1º	RC	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	306
111	PLRS	82	M	1º	RC	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	332
112	CRSL	22	F	1º	RC	Neg	14	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	266
114	EBC	29	M	1º	RC	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
115	CBMC	32	M	1º	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
117	PF	56	F	1º	RC	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	105
118	LF	78	F	1º	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	175
121	JPF	24	M	2º	RC	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	142
123	AAF	50	M	1º	RC	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	220
124	DF	13	F	1º	RC	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	70.5
125	JNF	54	M	1º	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	203
126	FF	23	M	1º	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	238
128	RJB	62	M	1º	RC	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	314
129	JB	24	M	2º	RC	Neg	03	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	101
130	FB	33	M	2º	RC	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	364
131	RB	42	F	2º	RC	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	278
134	DAW	32	M	2º	RC	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	256
137	OGBW	63	F	1º	RC	Neg	23	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	310
138	MEBB	72	F	1º	RC	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	378
139	HBL	70	F	1º	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	283
140	DBLJ	35	F	2º	RC	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	242
142	SN	48	M	1º	RC	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	256
143	BN	14	M	2º	RC	Neg	14	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	45.5

APÊNDICE 2 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DA ETAPA II: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, GRUPO DE FAMILIARES, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA

continuação

Nº.	NOME	IDADE	SEXO	GP	GRUPO	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM	IgA mg/dl
144	NSJ	39	M	1º	RC	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	211
03	NSB	13	F	2º	NF	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	102
04	FMS	31	F	1º	NF	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	93.4
12	TM	04	M	1º	NF	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	57.3
16	MS	02	F	2º	NF	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	41.3
20	NAL	09	F	2º	NF	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	110
24	IGB	05	F	2º	NF	Neg	35	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	124
0564	AJ	17	F	1º	NF	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	33
27	GSS	03	M	2º	NF	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	103
28	RCML	44	F	1º	NF	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	155
29	ALL	11	F	2º	NF	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	184
30	JPL	09	M	2º	NF	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	94.2
37	MPS	34	F	2º	NF	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/20	253
38	PPSS	36	F	2º	NF	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	206
39	BSS	08	M	2º	NF	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	136
66	MM	83	F	1º	NF	Pos1/2,5	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	76.8
70	CMS	17	F	2º	NF	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	131
71	TMSO	35	F	1º	NF	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	191
72	ASO	03	F	2º	NF	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	42.5
73	LS	06	M	2º	NF	Neg	28	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	97.7
74	CE	67	F	1º	NF	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	326
76	LSR	56	M	1º	NF	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	57.2
78	NAL	71	F	2º	NF	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	135
83	RR	31	F	2º	NF	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	206
87	TC	19	M	2º	NF	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	115
90	RSC	17	M	2º	NF	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	110
91	ALSF	08	F	2º	NF	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	154
92	ASF	31	F	2º	NF	Pos1/2,5	105	Neg	Neg	Neg	Pos1/40	Neg	244
94	GFSF	06	M	2º	NF	Neg	19	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	123
96	LBG	03	M	2º	NF	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	82.6

APÊNDICE 2 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DA ETAPA II: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, GRUPO DE FAMILIARES, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA conclusão

Nº.	NOME	IDADE	SEXO	GP	GRUPO	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM	IgA mg/dl
97	BB	10	M	1º	NF	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	172
100	MMZ	35	M	2º	NF	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	138
101	MMZJ	11	M	2º	NF	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	108
102	FDZ	05	M	2º	NF	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	123
105	FB	26	M	1º	NF	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	175
113	MEL	53	F	1º	NF	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	233
116	DF	30	M	2º	NF	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	143
119	TF	22	F	2º	NF	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	167
120	EF	27	M	2º	NF	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	235
122	EF	26	M	2º	NF	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	229
127	LDC	34	M	2º	NF	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	250
132	GCB	32	F	2º	NF	Neg	18	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/80	178
133	RBO	02	F	2º	NF	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	77.4
135	AHB	28	M	2º	NF	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	264
136	JHBP	67	F	1º	NF	Neg	61	Neg	Neg	Neg	Pos1/320	Neg	328
141	SCBL	42	F	2º	NF	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	82
145	MZ	36	M	1º	NF	Pos1/40	277	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
146	MZ	03	M	1º	NF	Neg	06	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND

NOTAS: GP= grau de parentesco

AML= anticorpo anti-músculo liso; AMA= anticorpo anti-mitocôndria; LKM= anticorpo anti-microsoma de fígado e rim;

CGP= anticorpo anti-célula gástrica parietal; AAM= anticorpo anti-microsomal tireoidiano

Pos= positivo

Neg= negativo

ND= não determinado

Grupo de Familiares: RC= recoleta

NF= novo familiar

APÊNDICE 3 – DADOS REFERENTES AOS NÃO FAMILIARES: NÚMERO, IDADE, SEXO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS

continua

Nº.	IDADE	SEXO	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM
1	26	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
2	38	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
3	40	F	Neg	5	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
4	23	F	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
5	30	F	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
6	31	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/20
7	39	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
8	32	M	Neg	3	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
9	33	F	Neg	7	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
10	54	M	Neg	5	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
11	47	M	Neg	8	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
12	22	F	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
13	26	M	Neg	3	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
14	28	F	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
15	22	F	Neg	5	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
16	26	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
17	33	F	Neg	8	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
18	51	F	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
19	56	F	Neg	9	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
20	24	F	Neg	7	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
21	30	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
22	25	M	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
23	42	F	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
24	34	F	Neg	8	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
25	23	M	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
26	37	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
27	24	M	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
28	30	F	Neg	7	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
29	29	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
30	36	F	Neg	3	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
31	28	F	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
32	32	F	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
33	36	M	Neg	7	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
34	29	M	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
35	41	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
36	45	F	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
37	40	F	Neg	8	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
38	44	M	Neg	7	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
39	34	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
40	24	F	Neg	7	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
41	19	F	Neg	5	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
42	16	M	Neg	8	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
43	56	F	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
44	64	F	Neg	9	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
45	65	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
46	71	F	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
47	70	M	Neg	6	Pos1/40	Neg	Neg	Neg	Neg
48	14	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
49	12	M	Neg	7	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg

APÊNDICE 3 – DADOS REFERENTES AOS NÃO FAMILIARES: NÚMERO, IDADE, SEXO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍCIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS

continuação

Nº.	IDADE	SEXO	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM
50	7	M	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
51	17 ^a 6m	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
52	16	M	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
53	17	F	Neg	7	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
54	19	M	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
55	19	M	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
56	21	M	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
57	17	M	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
58	13	M	Neg	7	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
59	17	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
60	20	M	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
61	41	F	Neg	3	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
62	37	M	Neg	5	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
63	17	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
64	8	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
65	9	F	Neg	7	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
66	14	F	Neg	3	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
67	15	F	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
68	2	F	Neg	8	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
69	10	F	Neg	5	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
70	8	F	Neg	8	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
71	13	F	Neg	11	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
72	5	F	Neg	3	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
73	16	F	Neg	9	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
74	17	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
75	7	F	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
76	19	M	Neg	7	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
77	10	M	Neg	5	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
78	9	M	Neg	9	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
79	10	M	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
80	11	M	Neg	7	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
81	9	M	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
82	14	M	Neg	8	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
83	8	M	Neg	3	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
84	18	M	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
85	72	F	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
86	52	F	Neg	7	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
87	61	M	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
88	75	M	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
89	62	F	Neg	7	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
90	78	F	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
91	74	F	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
92	53	F	Neg	3	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
93	70	M	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
94	69	F	Neg	4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
95	54	F	Neg	5	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
96	56	F	Neg	13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
97	58	F	Neg	6	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
98	69	M	Neg	8	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg

APÊNDICE 3 – DADOS REFERENTES AOS NÃO FAMILIARES: NÚMERO, IDADE, SEXO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍCIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS

conclusão

Nº.	IDADE	SEXO	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM
99	72	M	Neg	5	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
100	73	M	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg

NOTAS: AML= anticorpo anti-músculo liso; AMA= anticorpo anti-mitocôndria;
 LKM= anticorpo anti-microsoma de fígado e rim; CGP= anticorpo anti-célula gástrica parietal; AAM= anticorpo anti-microsomal tireoidiano
 Pos= positivo
 Neg=negativo

APÊNDICE 4 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES COM SOROLOGIA POSITIVA: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ETAPA DO ESTUDO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA

continua

Nº.	NOME	ID	SEXO	GP	ETAPA	GF	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM	IgA mg/dl
2200	LHK	39	F	1º	I	-	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	197
2219	IT	35	F	1º	I	-	Pos1/2,5	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	217
2249	ERF	34	F	1º	I	-	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	167
2267	RFF	36	M	1º	I	-	Pos1/2,5	14	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	213
2306	FG	18	F	1º	I	-	Neg	09	Pos1/40	Neg	Neg	Neg	Neg	341
2310	JLL	69	M	1º	I	-	Neg	08	Neg	Neg	Neg	Pos1/40	Neg	0
2311	IL	71	F	1º	I	-	Pos1/2,5	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	730
2329	MIS	40	F	1º	I	-	Neg	15	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/40	146
2377	NS	34	M	1º	I	-	Pos1/2,5	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	211
2378	LLS	25	F	1º	I	-	Neg	11	Pos1/20	Neg	Neg	Neg	Neg	212
2396	MTF	65	M	1º	I	-	Pos1/2,5	36	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	827
2715	CT	31	F	1º	I	-	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	394
0142	LRHV	50	F	2º	I	-	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	ND
0243	SMT	42	F	1º	I	-	Neg	27	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	444
12C	RMN	29	M	1º	I	-	Neg	23	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	229
15C	FNM	37	M	1º	I	-	Neg	106	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
2493	AF	17	F	1º	I	-	Pos1/2,5	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	224
2494	SF	40	F	1º	I	-	Pos1/2,5	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/40	280
2496	CF	40	M	1º	I	-	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Pos1/80	Neg	180
2566	CM	39	F	1º	I	-	Neg	27	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	183
2567	AM	45	M	1º	I	-	Neg	34	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	316
2655	LDM	11	M	1º	I	-	Neg	35	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	352
2656	GS	13	F	1º	I	-	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/80	148
2740	LH	16	F	1º	I	-	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	96.5
2874	JH	13	M	1º	I	-	Pos1/2,5	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	218
2805	JMN	35	M	1º	I	-	Pos1/5	153	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	265
2765	FB	24	M	2º	I	-	Pos1/5	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	364
2776	JBR	20	M	1º	I	-	Pos1/2,5	23	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	455
2876	MT	37	F	1º	I	-	Neg	10	Neg	Neg	Neg	Pos>1/80	Neg	214
2537	TP	43	F	1º	I	-	Pos1/2,5	18	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	157

APÊNDICE 4 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES COM SOROLOGIA POSITIVA: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ETAPA DO ESTUDO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA

continuação

Nº.	NOME	ID	SEXO	GP	ETAPA	GF	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM	IgA mg/dl
3080	CSS	40	F	1º	I	-	Pos1/80	195	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	501
3081	SSS	46	M	1º	I	-	Neg	96	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	486
3083	OSS	53	M	1º	I	-	Neg	36	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	>634
3084	WSS	44	M	1º	I	-	Pos1/5	45	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	634
3157	PJA	21	F	1º	I	-	Pos1/80	50	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	445
9904	GG	10	M	1º	I	-	Neg	20	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
9907	SG	40	F	1º	I	-	Neg	22	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	333
0005	FR	34	F	1º	I	-	Neg	22	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	245
0029	MM	45	F	1º	I	-	Pos1/5	84	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	287
0056	RRL	14	F	1º	I	-	Neg	22	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	216
46C	PLRS	79	M	1º	I	-	Neg	21	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	332
0233	CL	23	F	1º	I	-	Neg	16	Neg	Neg	Neg	Pos1/160	Neg	ND
0047	NF	79	M	1º	I	-	Pos1/40	37	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
0072	EBP	51	F	1º	I	-	Pos1/2,5	17	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	237
5163	AS	25	F	1º	I	-	Neg	32	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	154
0362	SAS	34	M	1º	I	-	Pos1/40	194	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
0079	EC	52	F	1º	I	-	Neg	27	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	208
0105	RMV	45	F	1º	I	-	Pos1/40	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	224
0147	ACMF	11	M	1º	I	-	Pos1/20	186	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	110
0144	CVK	18	F	2º	I	-	Pos1/40	83	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	199
18C	JBN	36	M	1º	I	-	Pos1/40	174	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	427
24C	JFS	32	F	1º	I	-	Neg	30	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	92.9
01-97	NS	45	F	1º	I	-	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Pos1/320	Pos1/10	240
0404	DA	29	F	1º	I	-	Pos1/40	30	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	222
0318	AAFJ	38	M	1º	I	-	Neg	43	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
0410	CJF	47	M	1º	I	-	Neg	24	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	332
0322	TDGB	47	F	1º	I	-	Neg	12	Neg	Neg	Neg	Pos1/160	Neg	176
0150	PP	07	F	2º	I	-	Neg	25	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	164
2872	FS	58	M	1º	I	-	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Pos1/160	Neg	259
2877	CS	52	F	1º	I	-	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/20	115

APÊNDICE 4 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES COM SOROLOGIA POSITIVA: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ETAPA DO ESTUDO, ANTICORPOS ANTI-ENDOMÍLIO (EmA-IgA), ANTI-TRANSGLUTAMINASE (anti-tTG-IgA), OUTROS AUTO-ANTICORPOS E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE IgA conclusão

Nº.	NOME	ID	SEXO	GP	ETAPA	GF	EmA-IgA	tTG-IgA	AML	AMA	LKM	CGP	AAM	IgA mg/dl
08	MLW	67	F	1º	II	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/80	0
17	SSS	56	F	1º	II	RC	Neg	19	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	308
22	SSS	53	M	1º	II	RC	Pos1/5	85	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	486
26	DSS	32	F	1º	II	RC	Pos1/2,5	132	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	634
0565	PJ	26	F	1º	II	RC	Pos1/10	49	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	445
33	JAM	15	F	2º	II	RC	Pos1/2,5	28	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	111
42	CVK	23	F	2º	II	RC	Pos1/40	216	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	199
50	JCN	60	M	1º	II	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/10	151
56	ACMF	16	M	1º	II	RC	Neg	36	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	110
65	MM	50	F	1º	II	RC	Pos1/2,5	114	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	287
68	FS	66	M	1º	II	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Pos1/80	Neg	259
69	CCLS	60	F	1º	II	RC	Neg	07	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/60	115
77	CSS	48	F	1º	II	RC	Pos1/20	103	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	501
79	CF	48	M	1º	II	RC	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Pos1/80	Neg	180
86	SAS	40	M	1º	II	RC	Pos1/40	139	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND
95	AFK	25	F	1º	II	RC	Pos1/2,5	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	224
99	VLV	46	F	1º	II	RC	Neg	05	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/40	274
106	TDGB	52	F	1º	II	RC	Neg	04	Neg	Neg	Neg	Pos1/160	Pos1/40	176
137	OGBW	63	F	1º	II	RC	Neg	23	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	310
24	IGB	05	F	2º	II	NF	Neg	35	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	124
37	MPS	34	F	2º	II	NF	Neg	09	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/20	253
66	MM	83	F	1º	II	NF	Pos1/2,5	04	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	76.8
73	LS	06	M	2º	II	NF	Neg	28	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	97.7
92	ASF	31	F	2º	II	NF	Pos1/2,5	105	Neg	Neg	Neg	Pos1/40	Neg	244
132	GCB	32	F	2º	II	NF	Neg	18	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos1/80	178
136	JHBP	67	F	1º	II	NF	Neg	61	Neg	Neg	Neg	Pos1/320	Neg	328
145	MZ	36	M	1º	II	NF	Pos1/40	277	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	ND

NOTAS: ID= idade; GP= grau de parentesco; Pos= positivo; Neg= negativo; ND= não determinado

AML= anticorpo anti-músculo liso; AMA= anticorpo anti-mitocôndria; LKM= anticorpo anti-microsoma de fígado e rim;

CGP= anticorpo anti-célula gástrica parietal; AAM= anticorpo anti-microsomal tireoidiano

Grupo de Familiares: RC= recoleta; NF= novo familiar

APÊNDICE 5 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

CONSENTIMENTO ESCLARECIDO E INFORMADO

Eu,....., estou ciente dos objetivos do projeto **“Análise Sorológica de Familiares de Pacientes com Doença Celíaca”**. Sei que não terei qualquer despesa, que meus dados serão confidenciais e que estarei colaborando no esclarecimento de aspectos imunológicos/genéticos desta enfermidade. Assim, concordo em participar, VOLUNTARIAMENTE.

.....
Paciente ou responsável

.....
Testemunha

Data:

APÊNDICE 6 – QUESTIONÁRIO APLICADO AOS FAMILIARES DE PACIENTES CELÍACOS

QUESTIONÁRIO PARA FAMILIARES DE PACIENTES CELÍACOS

NOME:

IDADE:SEXO FEMININO ☐ SEXO MASCULINO ☐

GRAU DE PARENTESCO:

DIETA DE GLÚTEN?

FAVOR ASSINALAR O QUE FOR POSITIVOAZIA ☐ DOR DE ESTÔMAGO ☐MÁ DIGESTÃO ☐ OUTROS ☐DIARRÉIA ☐ PRISÃO DE VENTRE ☐ GASES ☐DOR ABDOMINAL ☐ DISTENSÃO ABDOMINAL ☐OUTROS ☐DIABETES ☐ DOENÇA DA TIREÓIDE ☐DORES ARTICULARES ☐ DENSITOMETRIA ÓSSEA ☐DOENÇAS DA PELE ☐ ANEMIA ☐ DEPRESSÃO ☐

Nº. GESTAÇÕES

Nº. ABORTOS

OUTRAS DOENÇAS ☐ENDOSCOPIA DIGESTIVA ALTA ☐ANTICORPOS ANTIENDOMÍSIO ☐

ANEXO

ANEXO 1 – CARTA DO COMITÊ DE ÉTICA.....	133
---	-----

Curitiba, 28 de maio de 2004

Ilmo (a) Sr. (a)
Dra. Shirley Ramos da Rosa Utiyama
Nesta

Prezado(a) Senhor(a):

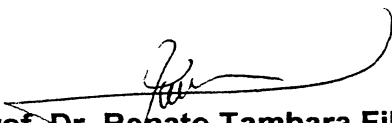
Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **“ANÁLISE SOROLÓGICA DE FAMILIARES DE PACIENTES COM DOENÇA CELÍACA”**, foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, em reunião realizada no dia 25 de maio de 2004. O referido projeto atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96, e demais, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos.

Protocolo CEP/HC 840.070/2004-05

Conforme a Resolução 196/96, solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

Data para entrega do primeiro relatório: 25 de novembro de 2004.

Atenciosamente,



Prof. Dr. Renato Tambara Filho
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do Hospital de Clínicas/UFPR