

**RODRIGO COUTINHO DE ALMEIDA**

**RASTREAMENTO SOROLÓGICO DE POSSÍVEIS CASOS DE DOENÇA  
CELÍACA EM GRUPO DE AFRODESCENDENTES REMANESCENTES DE  
QUILOMBOS DA REGIÃO NORDESTE E CENTRO-OESTE DO BRASIL**

**BRASÍLIA  
2013**

**UNIVERSIDADE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**RODRIGO COUTINHO DE ALMEIDA**

**RASTREAMENTO SOROLÓGICO DE POSSÍVEIS CASOS DE DOENÇA  
CELÍACA EM GRUPO DE AFRODESCENDENTES REMANESCENTES DE  
QUILOMBOS DA REGIÃO NORDESTE E CENTRO-OESTE DO BRASIL**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

**Orientador: Prof Dr. Riccardo Pratesi**

**BRASÍLIA  
2013**

**RODRIGO COUTINHO DE ALMEIDA**

**RASTREAMENTO SOROLÓGICO DE POSSÍVEIS CASOS DE DOENÇA  
CELÍACA EM GRUPO DE AFRODESCENDENTES REMANESCENTES DE  
QUILOMBOS DA REGIÃO NORDESTE E CENTRO-OESTE DO BRASIL**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção  
do Título de Doutor em Ciências da Saúde pelo  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da  
Universidade de Brasília

Aprovada em 16 de Julho de 2013

**BANCA EXAMINADORA**

---

Riccardo Pratesi (presidente)  
Universidade de Brasília

---

Yanna Karla de Medeiros Nóbrega  
Universidade de Brasília

---

Renata Puppim Zandonadi  
Universidade de Brasília

---

Angélica Amorim Amato  
Universidade de Brasília

---

Paulo Sérgio Azeredo Henrique Filho  
Secretaria da Saúde-DF

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a CAPES e o CNPQ pelo apoio financeiro.

Agradeço aos meus pais, José Cícero Rocha de Almeida e Terezinha Coutinho de Almeida.

Ao meu orientador, Professor Dr Riccardo Pratesi, que além de um grande orientador é um excelente conselheiro para a vida.

A minha querida Dra Lenora Gandolfi, com sua grande amizade, sempre com ensinamentos cruciais para a vida pessoal.

A minha Tia Professora Dra Marilúcia Rocha de Almeida Picanço, que me inspirou a fazer mestrado e doutorado.

Aos meus irmãos, Juliana, Gabriela, Bernardo, pela paciência em todos os momentos que precisei.

A minha irmã Fernanda Coutinho de Almeida, pelo extremo apoio prestado sempre que precisei.

A minha Tia Dra Terezinha Rocha de Almeida pelo incentivo e conselhos importantes para as decisões tomadas.

Aos amigos, agora já doutores, Rita de Cássia, Lílian Queiroz e Danilo Teixeira, pelo companherismo e amizade.

A professora Dra Juliana Forte Mazzeu, pelas dicas, apoio e amizade.

A professora Dra Silviene Fabiane de Oliveira, pela coleta de amostras e revisão do artigo publicado, além da amizade.

Ao amigos, Patrícia e Eduardo pelo companherismo e argumentações científicas e não científicas que ajudaram na formação dessa jornada.

Ao Lucas Malta, pelo apoio no laboratório e amizade.

Aos primos(as) Mariana Picanço, Luisa Picanço, Pablo Almeida, pela paciência e apoio em momentos de dificuldade.

Ao meu tio Dr Ubirajara Picanço, pelo incentivo e apoio em todos os momentos necessários.

Aos meus tio(as) Dra Angela e Dr Emanuel Lima, pelo incentivo e solidariedade.

Ao meu amigo Raphael Matos, pelo suporte gráfico, apoio em todos os momentos e amizade.

"A imaginação é mais importante que o conhecimento"

***Albert Einstein***

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1:</b> Principais fatores para o desenvolvimento da DC.....	18
<b>Figura 2:</b> Linha do tempo da doença celíaca.....	26
<b>Figura 3:</b> Nova classificação histológica de grades .....	33
<b>Figura 4:</b> Principais fatores para o desenvolvimento da DC.....	36
<b>Figura 5:</b> Patogênese da doença celíaca . .....	41
<b>Figura 6:</b> Distribuição da prevalência da DC ao redor do mundo .....	44
<b>Figura 7:</b> Distribuição das comunidades quilombolas no Brasil. ....	48

**LISTA DE QUADROS****Quadro 1:** Sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos para DC.....29**Quadro 2:** Classificação histológica de Marsh.....32

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1:</b> Frequência de alelos HLA predisponente a DC.....	51
<b>Tabela 2:</b> Localização das comunidades remanescentes de quilombos.....	52
<b>Tabela 3:</b> Proporção da idade e sexo dos indivíduos remanescentes de quilombos.....	60

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

**CPH:** complexo principal de histocompatibilidade

**DC:** doença celíaca

**ESPGHAN:** *European Society of Pediatric Gastroenterology, and Nutrition*

**ELISA:** *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*

**EMA:** anticorpo antiendomísio

**GWAS:** *Genome Wide Association Study*

**HLA:** *Human Leukocyte Antigen*

**tTG:** transglutaminase tecidual

**LIE:** linfócitos intra-epiteliais

**SNP:** *single nucleotide polymorphism*

**SUMÁRIO**

<b>Lista de figuras .....</b>	<b>vi</b>
<b>Lista de quadros .....</b>	<b>vii</b>
<b>Lista de tabelas .....</b>	<b>viii</b>
<b>Lista de abreviaturas .....</b>	<b>ix</b>
<b>Lista de abreviaturas e siglas.....</b>	<b>viii</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>11</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>12</b>
<b>1.INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>15</b>
<b>CAPÍTULO I: DOENÇA CELÍACA.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1 DOENÇA CELÍACA.....</b>	<b>17</b>
2.1.1 Sintomatologia.....	21
2.1.2 Sintomas intestinais.....	21
2.1.3 Sintomas não intestinais.....	22
2.2 HISTÓRICO DA DOENÇA CELÍACA.....	21
2.3 DIAGNÓSTICO.....	27
2.3.1 Testes sorológicos.....	28
2.3.2 Histopatologia.....	30
2.4 GENÉTICA.....	34
2.4.1 Genes HLA.....	34
2.4.2 Genes não HLA.....	37
2.5 PATOGÊNESE.....	39
2.6 EPIDEMIOLOGIA.....	42

<b>CAPÍTULO II: AFRODESCENDENTES NO BRASIL .....</b>	<b>45</b>
<b>3.CHEGADA DE AFRICANOS NO BRASIL.....</b>	<b>46</b>
3.1 COMUNIDADES QUILOMBOS.....	47
3.1.1 Situação nutricional das comunidades quilombos.....	50
3.1.2 Doença celíaca e descendentes de africanos.....	51
<b>4. OBJETIVOS.....</b>	<b>53</b>
<b>5. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>54</b>
5.1 Descrição das populações.....	54
5.2 Considerações éticas.....	56
5.3 Coleta e processamento de material biológico.....	56
<b>6.RESULTADOS.....</b>	<b>59</b>
<b>7. DISCUSSÃO.....</b>	<b>62</b>
<b>8. CONCLUSÃO.....</b>	<b>66</b>
<b>9. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>67</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>77</b>

## RESUMO

**Introdução:** Doença celíaca é uma desordem autoimune que ocorre em indivíduos geneticamente susceptíveis, nos quais a ingestão de alimentos contendo glúten causa inflamação da mucosa intestinal. Estudos anteriores sugerem que a doença celíaca pode estar subdiagnosticada em indivíduos pertencentes a populações derivadas da África. **Objetivo:** avaliar a presença da doença celíaca em vasto número de amostras pertencentes a populações descendentes de africanos (comunidades quilombolas). **Materiais e Métodos:** Habitantes de 10 comunidades quilombolas do Nordeste do Brasil foram submetidos a um rastreamento sorológico para doença celíaca. Todas as amostras de soros foram avaliadas através do teste sorológico de antiendomísio (IgA-EMA) pelo método de imunofluorescência indireta sobre secções criostáticas de esôfago de primata. **Resultados:** Foram investigados 860 indivíduos pertencentes a comunidades quilombolas. Todos os indivíduos apresentaram resultado negativo para o IgA-EMA. **Conclusões:** Nossos resultados sugerem que a doença celíaca apresenta baixa prevalência em indivíduos descendentes de africanos.

## ABSTRACT

**Background:** Celiac disease is an autoimmune disorder that occurs in genetically susceptible individuals in which the ingestion of dietary gluten causes intestinal mucosa inflammation. Previous studies suggest that celiac disease may be underdiagnosed in Africa-derived population. **Aim:** Investigate the prevalence of celiac disease in African-derived Brazilian populations. **Subjects and methods:** Inhabitants from 10 African-derived communities from the Northeastern of Brazil were submitted to serological screening to investigate celiac disease. All sera were tested to endomysial class IgA antibody using indirect immunofluorescence. **Results:** No positive test for IgA-endomysial was observed in 860 individuals tested. **Conclusion:** Our data suggests a low prevalence of celiac disease in African-derived Brazilian populations.

## 1. INTRODUÇÃO

A Doença celíaca é uma desordem multifatorial caracterizada pela má absorção de nutrientes causada por inflamações e danos na mucosa do intestino delgado, ativados principalmente pela ingestão de glúten, proteína presente no trigo, centeio, cevada e aveia. Esta patologia é fortemente associada aos genes do HLA de classe II, HLA-DQ-2 (DQA1\*05:01/DQB1\*02:01), e o HLA-DQ8 (HLA-DRB1\*04/DQA1\*03:01 e DQB1\*03:02) (Sollid *et al.*, 1989). Aproximadamente 95% de pacientes celíacos carregam os genes do HLA-DQ2, e os 5% restante apresentam o HLA-DQ8 (Karrel *et al.*, 2003).

A DC é uma doença complexa comum que ocorre em cerca de 1% da população mundial (Tack *et al.*, 2010). Porém, ainda é considerada rara em populações africanas, provavelmente porque está subestimada nesse grupo populacional (Ciclitira *et al.*, 2001; Coton *et al.*, 2008). No Brasil, a prevalência da DC é ampla, com frequência da doença maior ou menor de acordo com a região do país. No Centro-Oeste a prevalência da DC é de 1:681 (Gandolfi *et al.*, 2000), enquanto que no Sudeste a prevalência encontrada é de 1:214 (Oliveira *et al.*, 2007). Essas diferenças na prevalência da DC, podem ser explicadas pela ancestralidade genética que constitui a população brasileira. A população brasileira apresenta contribuição genética oriundas da Europa (principalmente portugueses), de Ameríndios (indígenas) e da África Subsaariana (principalmente dos bantus) (Lins *et al.*, 2010). Essas diferenças na contribuição genética também está refletida nas diferentes regiões do país. No Centro-Oeste é encontrada uma contribuição genética africana de aproximadamente 18%. Enquanto que no Sul do país a contribuição africana é em torno de 7% (Lins *et al.*, 2010; Godinho *et al.*, 2008).

O tráfico de escravos africanos no Brasil durou até 1850. Cerca 4 milhões de africanos foram trazido ao Brasil como escravos. A maioria deles eram pertencentes ao grupo étnico dos Bantus, vindos do Congo, Angola e Gana (Klein, 1986). A principal forma de rebelião que ocorreu contra o sistema de escravidão no Brasil, foram em forma de fugas para locais afastados e isolados. Isso criou diversas comunidades, as quais foram chamadas de Quilombos. Estas comunidades se espalharam pelo território brasileiro e mostram, quando comparadas a outras populações, um alto grau de contribuição genética africana (Amorim *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2006).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a prevalência da DC em moradores de comunidades de remanescentes de quilombos, através de teste sorológico de alta sensibilidade e especificidade. Este é o primeiro estudo de rastreamento de DC em comunidades de afro-descendentes.

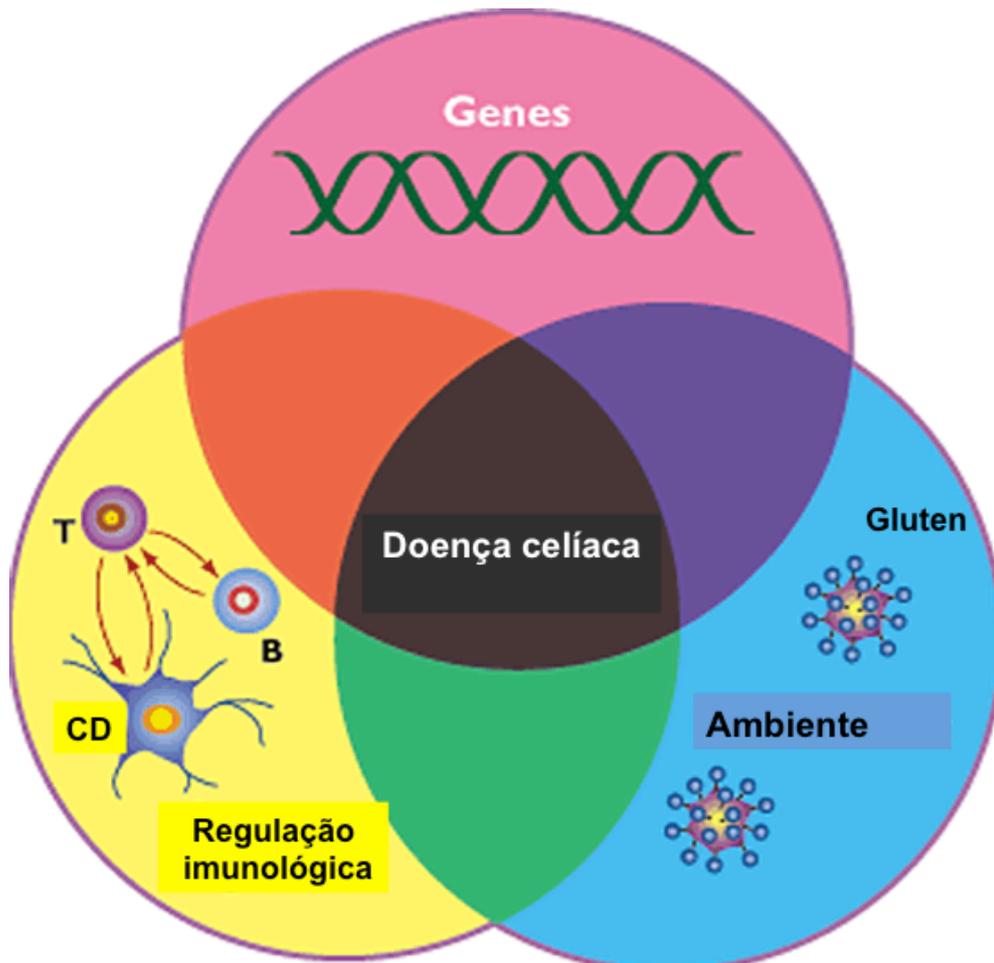
## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

## **CAPÍTULO I: DOENÇA CELÍACA**

## 2.1 DOENÇA CELÍACA

Doença celíaca (DC) é uma doença autoimune crônica do intestino delgado, ativada principalmente por peptídeos do glúten (proteína presente no trigo, centeio e cevada), em indivíduos geneticamente predispostos (Ludvigsson *et al.*, 2012). Assim como em outras doenças complexas, a DC acontece proveniente de uma interação entre fatores ambientais, genéticos e imunológicos (Figura 1). A predisposição genética à DC está fortemente relacionada aos alelos do HLA (do inglês: *Human Leukocyte Antigen*) de classe II (HLA-DQ2 e DQ8) (Sollid *et al.*, 1989), os quais, explicam aproximadamente 40% da herdabilidade da doença. Cerca de 15% da susceptibilidade genética da doença é explicado por cerca de 39 *loci* não integrantes do sistema HLA, restando 45% dessa correspondência entre fenótipo e valor genético para um desconhecido número de genes ou fatores regulatórios (Trynka *et al.*, 2011).

O glúten é o fator ambiental mais importante para o desenvolvimento da DC. A ingestão do glúten por indivíduos diagnosticados com DC gera severas lesões na mucosa do intestino delgado (Abadie *et al.*, 2011). Os peptídeos do glúten passam através da barreira epitelial do intestino delgado dentro da lâmina própria, onde esses peptídeos são deaminados pela ação da enzima transglutaminase (tTG). Esses peptídeos são apresentados pelas moléculas de HLA de classe II (DQ2/DQ8) e podem levar a ativação dos linfócitos T CD4<sup>+</sup> auxiliares, que são células efetoras capazes de promover uma resposta inflamatória no intestino. As lesões causadas na mucosa do intestino delgado podem resultar em hiperplasia de cripta e atrofia vilositária, as quais são vistas regularmente em indivíduos com DC (Schuppan *et al.*, 2009). No entanto, estrita dieta sem glúten leva a notável melhora, tanto clínica quanto histológica no paciente, havendo, entretanto, progressiva reincidência dos sintomas e das lesões com a reintrodução do glúten.



**Figura 1:** Principais fatores para o desenvolvimento da DC. A DC apresenta 3 fatores para o seu desenvolvimento. No círculo rosa a predisposição genética (genes HLA e fora do HLA), no círculo azul o gatilho ambiental (glúten e/ou patógenos) e no círculo amarelo uma resposta imunológica. T: células T; B: células B e CD células dendríticas.  
 Fonte adaptada de Erman *et al.*, 2001.

Embora o glúten seja o fator desencadeante ele não é o único fator ambiental envolvido com a DC. Outros fatores ambientais, também podem estar relacionados com o desenvolvimento da doença, como por exemplo, alguns tipos de infecções, assim como, um curto período de aleitamento materno (Kagnoff *et al.*, 1987; Akobeng *et al.*, 2006). Infecções por rotavírus são uma das causas mais comuns de gastroenterite infantil. Um aumento na frequência de infecções de rotavírus pode provocar aumento de risco da DC (Stene *et al.*, 2006). Alguns estudos sugerem uma relação entre infecção viral como, Adenovírus 12 e o vírus da Hepatite C, e o desenvolvimento da DC, porém esta relação ainda não está totalmente esclarecida (Plot & Amital, 2009). Todavia, alguns estudos encontraram diferenças em metabólitos fecais de pacientes com DC, sugerem que a microbiota pode ter um papel importante na patogênese da doença (Nistal *et al.*, 2012). Sellito *et al.*,(2012) analisaram amostra fecais de 30 crianças geneticamente predisposta para DC por 24 meses, encontrando uma redução no número de bactérias dessas crianças comparada a crianças não predispostas, sugerindo um papel importante da microbiota na DC (Sellito *et al.*,2012).

Entretanto, já é conhecido que o aleitamento materno durante a introdução do glúten na alimentação do indivíduo, pode reduzir o risco do desenvolvimento da DC em 52% comparado aos seus pares que não receberam aleitamento quando o glúten foi introduzido na dieta (Akobeng *et al.*, 2006). No entanto, ainda não está totalmente esclarecido em que idade o glúten deve ser introduzido na dieta da criança, alguns estudos sugerem antes dos quatro meses ou depois dos sete meses de idade, pois uma introdução tanto muito prévia quanto muito tardia, pode aumentar o risco de desenvolver DC (Szajewska *et al.*, 2012; Norris *et al.*, 2006).

Além disso, alguns novos tratamentos para a DC estão sendo propostos, como por exemplo, apesar de ainda se encontrar em fase I de verificação, recentemente foi desenvolvida a vacina Nexvax2, que atua através da dessensibilização de três peptídeos imunogênicos do trigo, centeio e cevada, como uma forma de imunoterapia. Esse novo tratamento vem sendo proposto como um futuro agente profilático com a função de restaurar a tolerância ao glúten nos pacientes (Brown *et al.*, 2011). A administração oral de enzimas específicas é outra forma de tratamento recentemente proposto. Essas enzimas podem degradar peptídeos do glúten (Pinier *et al.*, 2010). Enzimas como as proli-endopeptidases,

mostraram eficácia em hidrolisar peptídeos do glúten ricos em prolinas. Além disso, reduziram toxicidade de células T nesses peptídeos *in vitro* (Pinier *et al.*, 2010; Marti *et al.*, 2005).

Apesar dessas novas formas de tratamentos serem promissoras, atualmente, o único tratamento eficaz para DC ainda é uma dieta restrita de glúten. Durante a dieta livre de glúten os sintomas clínicos melhoram e as lesões na mucosa intestinal desaparecem, porém se o glúten for reintroduzido à dieta dos pacientes, os sintomas assim como as lesões na mucosa retornam.

### **2.1.1 Sintomatologia**

As manifestações clínicas da DC são amplas e a sintomatologia pode ser dividida entre os sintomas intestinais e não intestinais. Apesar dos sintomas clássicos serem: diarreia, dor e distensão abdominal, emagrecimento e falta de crescimento. (Tack *et al.*, 2010).

### **2.1.2 Sintomas intestinais**

A DC é uma desordem do intestino delgado proximal que pode, no entanto, em alguns indivíduos, envolver todo o intestino delgado. A localização proximal das anormalidades do intestino delgado, geralmente resulta em má absorção de ferro, ácido fólico, cálcio e diversas vitaminas, com resultante deficiência de ferro e anemia, deficiência de folato e redução de densidade óssea. Quando apenas o intestino proximal está comprometido, frequentemente os pacientes não se queixam de diarreia, devido ao fato do intestino delgado distal compensar e absorver produtos de gorduras e fazer a digestão de carboidratos (Green e Jabri, 2003).

### 2.1.3 Sintomas não intestinais

Apesar dos sintomas intestinais serem majoritários, e a diarreia ser ainda o principal sintoma inicial, esta queixa estava presente em menos de 50% dos pacientes, dado este significativo se comparado à prevalência de quase 100% encontrada em estudos da década de 60, antes do advento dos testes sorológicos (Green & Jabri, 2003).

Está fortemente evidenciado que a dermatite herpetiforme é uma manifestação de pele na DC. Muitos pacientes com dermatite herpetiforme apresentam biópsia com alterações na mucosa intestinal, característica de DC, apresentando atrofia vilositária parcial ou completa, mesmo na ausência de sintomas gastrointestinais ou características de má absorção (Abenavoli *et al.*, 2006).

A anemia por deficiência de ferro é uma das manifestações não gastrointestinais mais comuns da DC e frequentemente é a manifestação clínica primária em adultos (Mody *et al.*, 2003). Recentemente em estudo feito nos EUA, utilizando biópsia do intestino delgado rotineira para diagnóstico de DC, foram encontrados 8,7% dos pacientes com anemia por deficiência de ferro (Grisolano *et al.*, 2004).

A ampla gama de manifestações clínicas da DC pode ainda abranger alterações endocrinológicas, neurológicas e psiquiátricas importantes, osteopenia e conseqüente osteoporose, defeitos do esmalte dentário, lesões de pele e, em longo prazo, incidência aumentada de neoplasias, principalmente de linfomas e carcinomas do trato gastroentérico (Farrel & Kelly, 2002).

## 2.2 HISTÓRICO DA DOENÇA CELÍACA

Foi no período Neolítico que ocorreu uma revolução na agricultura, criando uma bateria inteira de novos alimentos, até então desconhecidos pelo ser humano, incluindo proteínas provenientes da carne de boi, do leite, de ovos e de cereais. A maioria dos indivíduos se adaptou a esse novo estilo de vida (Gignoux *et al.*, 2011). Porém, essa adaptação não ocorreu para uma parcela da população, criando diversas intolerâncias alimentares, como por exemplo a DC (Losowsky *et al.*, 2008).

A DC foi descrita pela primeira vez pelo médico grego Aretaeus da Capadócia, que viveu no século II d.C. Aretaeus, caracterizou a DC pela presença de diarreia crônica, e pelo comprometimento do estado geral e atrofia do corpo do indivíduo (Paveley, 1988). No entanto, a origem da história moderna da DC foi atribuída a Samuel Gee em 1887. Na época, ele nomeou a desordem de "afecção celíaca", uma tradução adaptada ao termo usado antes pelo grego Aretaeus (Losowsky *et al.*, 2008).

Porém, foi o pediatra holandês Willem-Karel Dicke quem primeiro associou a ingestão de cereais, como trigo, cevada e centeio e o desenvolvimento da DC. O pediatra holandês observou uma nítida melhora das crianças com doença celíaca em período de grande fome e principalmente escassez de derivados de trigo durante o final da Segunda Guerra Mundial. Com o início do abastecimento normal e a conseqüente reintrodução de farináceos na dieta, as crianças celíacas voltaram a apresentar sintomatologia e piora do seu estado geral (Van Berge-Henegouwen & Mulder, 1993).

Após pesquisas iniciais de Van de Kamer, este mesmo autor em associação com Weyers e Dicke, concluiu que o trigo, centeio e cevada eram os principais responsáveis pela esteatorréia, identificou a seguir a gliadina (fração solúvel em álcool da farinha de trigo), como o elemento tóxico para os celíacos (Van Berge-Henegouwen & Mulder, 1993).

Até meados da década de 50, o diagnóstico da DC era baseado exclusivamente no quadro clínico do paciente. Nessa época, diferentes autores idealizaram métodos de biópsia jejunal baseados no uso de cápsulas introduzidas por via oral, sendo as duas mais usadas, a cápsula de Crosby e a cápsula de Watson (Paveley, 1988). Este método de biópsia permitiu observar que muitos dos pacientes que apresentavam sintomatologia clássica também evidenciavam significativas alterações histológicas do jejuno proximal (Mulder & Cellier, 2005). A progressiva generalização do uso da biópsia jejunal no diagnóstico da DC resultou, durante e após a década de 60, em significativo aumento do número de casos diagnosticados, principalmente na Europa (Fasano, 2001).

Em 1962, Rubin et al., demonstraram, que o glúten era o fator responsável pelas anormalidades da mucosa do intestino delgado em pacientes celíacos (Aurichio & Troncone, 1996).

A Sociedade Européia de Gastroenterologia e Nutrição Pediátrica (European Society of Pediatric Gastroenterology, and Nutrition - ESPGHAN), em 1969, estabeleceu os critérios diagnósticos para a DC, ressaltando a importância da realização de três biópsias intestinais. A primeira biópsia antes do início da dieta sem glúten, a segunda um ano após o início de estrita dieta sem glúten e a terceira após desafio com reintrodução do glúten na dieta para que pudesse ser firmado o diagnóstico definitivo de DC (Meeuwisse, 1970).

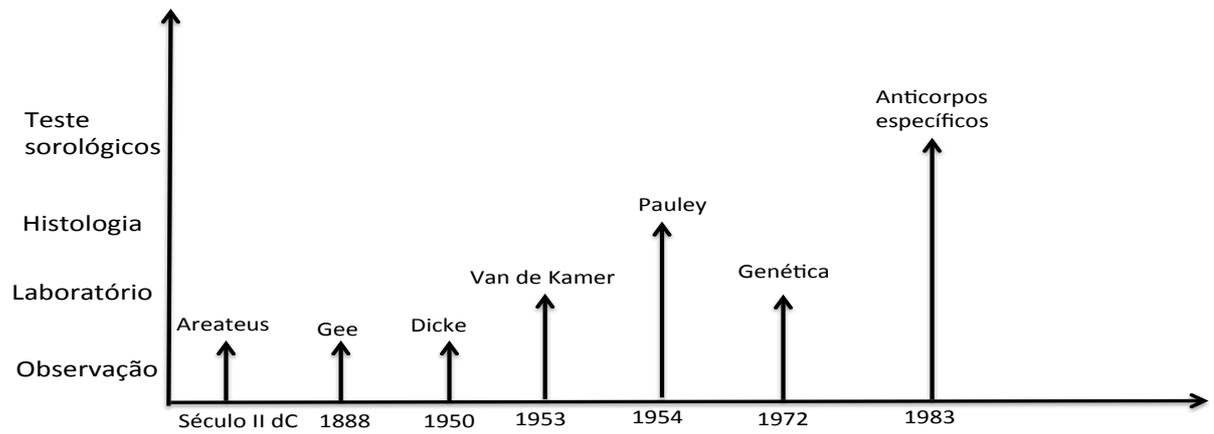
Assim como no caso de outras doenças, havia uma suspeita de um fator genético presente na DC. Em 1972, foi publicado o primeiro estudo associando alelos do HLA, mais específicos o HLA-B8 (Stokes et al., 1972). Posteriormente, encontrou-se a DC associada a outros alelos do HLA, como o HLA-A8. Além disso, estudos com gêmeos, mostraram que a DC ocorre em pelo menos 75% de gêmeos monozigotos (Greco et al., 2002).

O seguinte grande marco nos métodos de diagnóstico da DC ocorreu durante as décadas de 70, e principalmente 80, quando surgiram novos métodos sorológicos. Esses métodos eram baseados principalmente, em ensaios imunoenzimáticos (ELISA), radioimunoensaios e em técnicas de imunofluorescência. Na época ficou demonstrado que a DC tinha forte associação com auto-anticorpos do

tecido conectivo e em 1971, 1980 e 1984 foram introduzidos, respectivamente, os anticorpos antireticulina, anticorpos antigliadina e anticorpo antiendomísio (EMA). Os testes sorológicos foram desenvolvidos na tentativa de se evitar biópsia desnecessária selecionando os pacientes que deveriam se submeter ao procedimento (Bittolo *et al.*, 1990).

Dieterich *et al.*, (1997) identificaram a transglutaminase tecidual (tTG) como o principal e possivelmente o único auto-antígeno causador da DC. Presentemente, a presença de anticorpos anti-transglutaminase detectados pelo método ELISA constitui-se no principal método de rastreamento sorológico de casos da doença (Fasano & Catassi, 2001). Graças aos avanços destes testes sorológicos, cada vez mais sensíveis e específicos, a verificação da forma clássica da doença celíaca progrediu significativamente (Fasano, 2001).

Assim, a história da DC apesar de ainda está em progresso (Figura 2), mostrou avanços significativos nos métodos de diagnósticos, com esperança de novas terapias ou até mesmo uma possível cura.



**Figura 2:** Linha do tempo da doença celíaca. No eixo x está representado os anos de eventos importantes para a história da DC. O eixo y representa as associações com as descobertas.

## 2.3 DIAGNÓSTICO

Embora os sintomas da DC tenham sido reconhecidos há mais de 100 anos, foi em 1940 que o pediatra holandês Dicke, junto com seus colaboradores, estabeleceram uma relação direta entre o consumo de glúten e o desenvolvimento da DC (van Berge-Henegouwen & Mulder, 1993). Até meados da década de 50, o diagnóstico da DC era baseado exclusivamente no quadro clínico do paciente. Após a introdução do método de biópsia jejunal usando a cápsula de Crosby e a cápsula de Watson, foi possível aos clínicos observarem que muitos dos pacientes que apresentavam sintomatologia clássica, também, evidenciavam significativas alterações histológicas do jejuno proximal (Mulder & Cellier, 2005). A progressiva generalização do uso da biópsia jejunal no diagnóstico da DC resultou, durante e após a década de 60, em significativo aumento do número de casos diagnosticados, principalmente na Europa (Fasano, 2001). Atualmente, o diagnóstico da DC é feito primeiramente com testes sorológicos e posteriormente biópsia jejunal e em alguns casos é recomendado a genotipagem dos alelos do HLA de classe II (DQ2 e DQ8), os quais são utilizados para exclusão da doença no diagnóstico.

Apesar dos avanços nas técnicas de diagnóstico, a biópsia jejunal ainda é usada em alguns casos para a confirmação de casos com DC (Husby *et al.*, 2012). Porém não é mais necessária para o fechamento do diagnóstico, em especial quando o paciente apresenta altos níveis de anticorpos IgA anti-TG2, concomitantemente com genes do HLA predisponentes (Husby *et al.*, 2012).

### 2.3.1 Testes sorológicos

Em 1971 foram descritos anticorpos anti-reticulina, tanto da classe IgA quanto da classe IgG, que são detectados por imunofluorescência indireta tendo como substrato o fígado e rim de ratos. Mas por terem baixa sensibilidade para detectar a DC não têm sido usados recentemente (Ciclitira *et al.*, 2001).

Habitualmente duas classes de anticorpos são medidas: IgA e IgG. Apesar de serem de fácil execução e terem baixo custo, possuem baixa especificidade (Vives-Pi *et al.*, 2013). Ultimamente, três marcadores sorológicos são utilizados para auxiliar o diagnóstico da DC e também para monitorar pacientes que estão seguindo uma dieta livre de glúten. Uma forma anti-deaminada de peptídeos da gliadina, o IgA anti-tTG-2 e o IgA antiendomíseo (EMA).

Os anticorpos anti-gliadina foram os primeiros marcadores sorológicos para DC a serem largamente utilizados na prática clínica no início dos anos 80. Observou-se que algumas condições como esofagite, colite ulcerativa, fibrose cística, Síndrome de Down, gastrite, doença de Crohn, também causam níveis elevados de anticorpos antigliadina e podem levar a resultados falso-positivos para a DC (Hill *et al.*, 2005). Por apresentar baixa especificidade (aproximadamente 70%) o teste antigliadina vem sendo substituído por uma nova forma de teste que utiliza anticorpo antigliadina antideaminada. Esse novo teste mostrou maior sensibilidade e especificidade, 94% e 99% respectivamente (Harris *et al.*, 2012).

O teste sorológico IgA anti-tTG é altamente sensível e específico para DC, 95% e 94% respectivamente (Quadro 1) (Husby *et al.*, 2012; Vives-Pi *et al.*, 2013). O uso de tTG humano melhorou a acurácia do diagnóstico comparado com os métodos anteriores, os quais utilizavam tTG não humanos (Harris *et al.*, 2012). Embora o tTG apresente alto grau de sensibilidade e especificidade, ainda é possível encontrar resultados falsos positivos, como por exemplo, foram relatados casos de tTG positivos em pacientes com doença de Crohn (Harris *et al.*, 2012; Tonutti *et al.*, 2003).

Teste sorológico IgA antiendomísio (EMA) é realizado através da imunofluorescência indireta contra reagentes presentes no esôfago de macaco ou no cordão umbilical humano. O EMA apresenta alta sensibilidade e especificidade, com sensibilidade variando entre 85-98% e especificidade entre 97-100% (Quadro 1). Além disso, esse teste se torna rapidamente negativo quando o paciente com DC inicia a dieta livre de glúten, permitindo que o EMA seja usado como uma ótima fonte de monitoramento desses pacientes (Harris *et al.*, 2012).

**Quadro 1:** Sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos para DC

Teste	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
IgA anti-tTG	>95	>95
IgG anti-tTG	12-99.3	86.3-100
IgA anti-Endomísio	>90	>98

Fonte: Husby *et al.*, 2012

### 2.3.2 Histopatologia

Por muito tempo a biópsia intestinal foi considerada o padrão-ouro para confirmar a presença da DC. Pacientes que apresentavam características clínicas para a DC e exame sorológico positivo (tTG e/ou EMA) eram levados a realizar um exame de endoscopia para a confirmação de seu diagnóstico (Harris *et al.*, 2012; Fasano & Catassi, 2012). No entanto, depois da recente novas regras apresentadas pela ESPGAN em 2012, esse cenário mudou. O novo guia da ESPGAN não recomenda biópsias para pacientes com alto níveis de IgA anti-TG2. Pacientes com o valor do cutt-off (20 U/ml) aumentado 10 vezes mais, assim como, a presença de genes do HLA predisponentes, não necessitam realizar biópsia jejunal. O teste sorológico do IgA EMA deve ser recomendado (Husby *et al.*, 2012).

As características histológicas do intestino delgado na DC apresentam um grau de severidade variável e pode ser desigual em pequenas proporções em pacientes com DC aparecendo apenas no bulbo duodenal. As alterações na mucosa intestinal não são específicas da DC e podem ser encontradas em outras enteropatias. Biópsias devem ser retiradas preferivelmente durante a endoscopia superior do bulbo (pelo menos uma biópsia) e da segunda ou terceira porção do duodeno (pelo menos quatro biópsias). O relato da patologia deve ser incluído uma descrição de orientação, a presença ou não de vilosidades ou grau de atrofia e aumento de criptas, a média de vilosidade das criptas, o número de linfócitos epiteliais e a graduação de acordo com a classificação de Marsh (Harris *et al.*, 2012).

Marsh em 1990 demonstrou haver uma sequência da progressão da lesão da mucosa de intestino delgado na DC, o qual propôs sistema com cinco categorias: tipo 0 (padrão pré-infiltrativo) com fragmento sem alterações histológicas e, portanto, considerado normal; tipo I (padrão infiltrativo) em que a arquitetura da mucosa apresenta-se normal com aumento do infiltrado dos linfócitos intra-epiteliais (LIE). O limiar para o número de LIE é arbitrário, geralmente sendo considerado alterado acima de 30 a 40 linfócitos por 100 enterócitos. O tipo II (lesão hiperplásica) é caracterizado por alargamento e ramificação das criptas e aumento do número de LIE; no tipo III (padrão destrutivo) há presença de atrofia vilositária, hiperplasia críptica e aumento do número de LIE. O estágio Marsh IV (padrão hipoplásico)

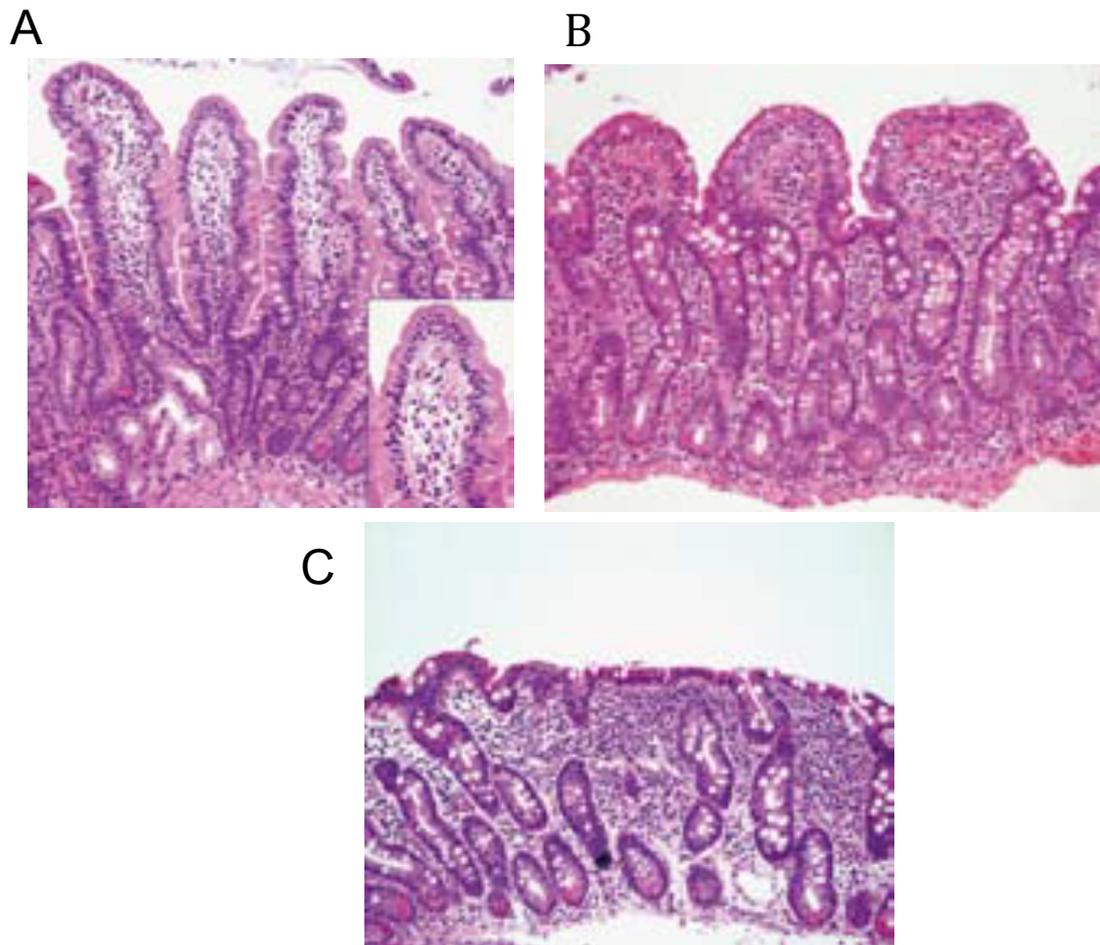
caracterizado por atrofia total com hipoplasia críptica, considerada forma possivelmente irreversível é bastante rara (Marsh, 1990; Marsh & Crowe, 1995) (Quadro 2).

Recentemente, uma versão mais simplificada de classificação histológica para identificação da DC vem sendo proposta (Corazza *et al.*, 2007). Trata-se de um sistema de graduação baseado em três categorias diferentes (Figura 3); A, que é representada quando o indivíduo apresenta vilosidades normais com infiltrações de linfócitos, B1, lesões e atrofia vilositárias parciais, e B2, lesões e atrofia vilositárias totais (Figura 3). Comparando esse modelo simplificado com o anterior de Marsh, a grade A representaria os Marsh do tipo I e II, com aumento de linfócitos intraepiteliais e hiperplasia de cripta. A grade B1 é semelhante ao Marsh do tipo III caracterizado principalmente por lesões destrutivas. Finalmente a grade B2, seria mais próximo do Marsh IV com atrofia total e hiperplasia de cripta (Sabatino & Corazza, 2009).

**Quadro 2:** Classificação histológica de Marsh

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

Fonte adaptada de Marsh *et al.*, 1992



**Figura 3:** Classificação histológica: A, vilosidades normais com infiltração de linfócitos (Marsh 2 ou A); B, lesões e atrofia vilositárias parciais (Marsh 3 ou B1); C, lesões e atrofia vilositárias totais (Marsh 4 ou B2 ).  
Fonte adaptada de Sabatino & Corazza, 2009.

## 2.4 GENÉTICA

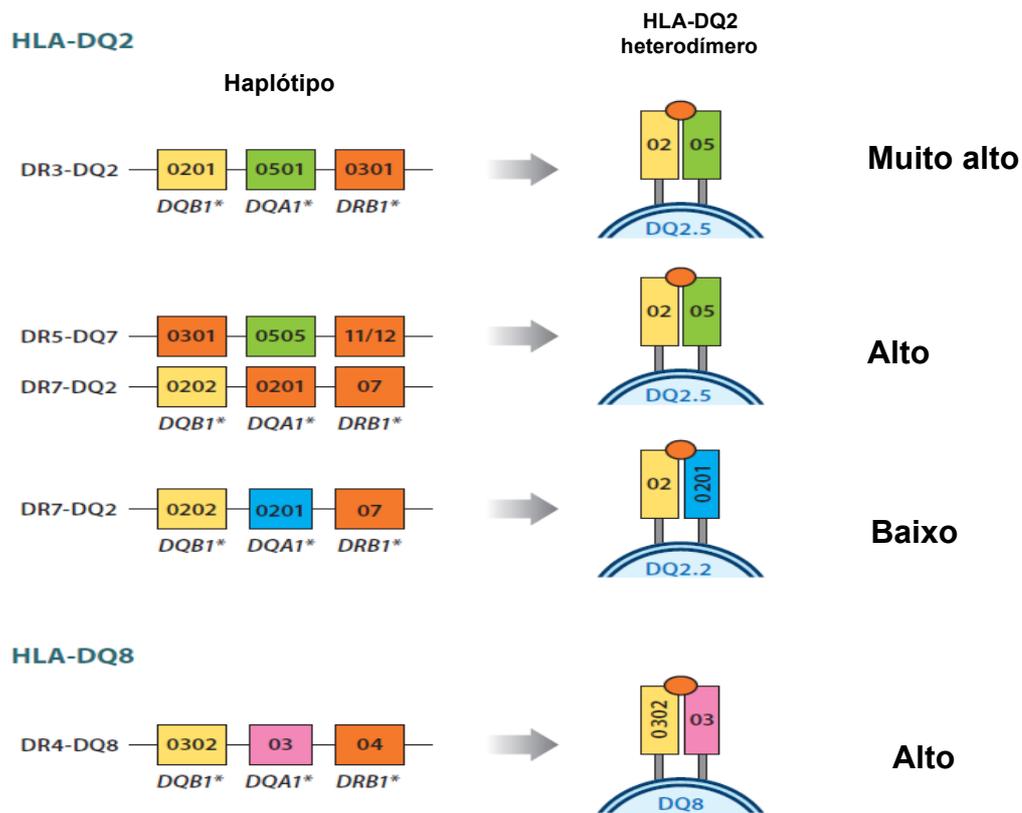
Estudos com gêmeos e familiares de primeiro grau de indivíduos com DC mostraram que a herança de fatores genéticos também está envolvida para o desenvolvimento da doença (Greco *et al.*, 2002; Dube *et al.*, 2005). Os genes do HLA (DQ2 e DQ8) são os dominantes na genética da DC, porém não são os únicos a contribuírem para o desenvolvimento da doença.

### 2.4.1 Genes HLA

Os genes do complexo de histocompatibilidade humana (CPH), localizado no braço curto do cromossomo 6 (locus 6p21.3), estão associados a vários tipos de doenças autoimunes, incluindo a DC. Os antígenos leucocitários humanos (“Human Leukocytes Antigens”-HLA) de classe II são os fatores genéticos dominante na DC. Aproximadamente 95% dos pacientes celíacos expressam HLA-DQ2 (DQ2.5-DQA1\*0501-DQB1\*0201 ou DQ2.2-DQA1\*0201-DQB1\*0202) e os outros 5% HLA-DQ8 (DQA1\*0301-DQB1\*0302) (Karrel *et al.*, 2003). O heterodímero de risco HLA-DQ2.5 pode codificar em *cis*, quando ambos DQA1\*0501 e DQB1\*0201 são localizados no mesmo haplótipo DR3-DQ2, ou em *trans*, onde esses dois alelos estão localizados em diferentes haplótipos, chamados DR5-DQ7 e DR7-DQ2 (Figura 4 ).

A forte associação entre estes alelos HLA e o desenvolvimento da DC pode ser explicada pela alta afinidade entre os heterodímeros do HLA-DQ2 e HLA-DQ8 e os peptídeos derivados da gliadina, com ou sem modificações pela enzima tTG (Abadie *et al.*, 2011), homozigose para HLA-DQ2.5 tem alta afinidade para o glúten. O grau de risco e severidade da DC podem variar entre indivíduos, isso pode estar relacionado com a forma a qual os alelos do HLA são herdados, por exemplo, indivíduos homozigotos para o HLA-DQ2.5 tem maior risco de desenvolver a DC (Megiorni *et al.*, 2009, Romanos *et al.*, 2009), assim como, esses indivíduos podem manifestar sintomas da DC mais severos, se comparados a indivíduos heterozigotos para esse mesmo gene. Uma das possíveis causas para isso, é que a gene do HLA-DQ2.5 tem alta afinidade para os peptídeos do glúten (Vader *et al.*, 2003).

Embora os haplótipos do HLA são os que conferem maior risco genético para a DC, cerca de 20-30% da população caucasiana carrega esses genes, e apenas 3% desses indivíduos DQ2/DQ8 positivos desenvolvem a doença depois de expostos ao glúten (Catassi *et al.*, 2007). Corroborando para o fato de que os genes do HLA são essenciais mas não suficiente para o desenvolvimento da DC, outros fatores genéticos devem estar envolvidos para explicar a ligação familiar e a alta concordância em gêmeos monozigotos.



**Figura 4:** Moléculas do HLA associadas a doença celíaca. HLA-DQ2 é o fator de risco genético mais forte associado a DC. A maioria dos pacientes celíacos expressam o heterodímero HLA-DQ2.5 codificado pelos alelos *DQA1\*05* (cadeia  $\alpha$ ) e *HLA-DQB1\*02* (cadeia  $\beta$ ). Esses dois alelos são carregados em *cis* no haplótipo DR3-DQ2.5 ou em *trans* em indivíduos que são DR5-DQ7 e DR7-DQ2.2 heterozigotos. HLA-DQ2.2 é outra variante do gene HLA-DQ2, é codificado pelos alelos *HLA-DQA1\*0201* e *HLA-DQB1\*02* e confere baixo risco para o desenvolvimento da DC. Pacientes HLA-DQ2 negativos expressam HLA-DQ8, o qual é codificado pelo haplótipo DR4-DQ8. Fonte adaptada de Abadie *et al.*, 2011.

### 2.4.2 Genes não HLAs

Como citado em seção anterior, os genes do HLA não são os únicos a terem um papel importante no desenvolvimento da DC. Apenas 40% do risco genético para DC (Nisticò *et al.*, 2006) é atribuído aos genes do HLA, isso sugere que outros genes fora da região do HLA devem estar envolvidos na doença. Diferentes tipos de abordagens são utilizadas para tentar encontrar genes associados a doenças complexas, como por exemplo, estudos genéticos de ligação, associação por gene candidato e estudo genômico de associação.

Estudos genéticos de ligação foram inicialmente considerados como ferramentas para encontrar *loci* envolvidos em doenças complexas, incluindo a DC. Basicamente, esse tipo de abordagem faz uso de famílias com pares de irmãos afetados, identificando regiões cromossômicas que são compartilhadas entres esses irmãos em uma taxa superior a média do que é estatisticamente esperada (Wolters & Wijmenga, 2008).

O primeiro locus fora da região do HLA identificado para a DC por estudos de ligação estava localizado no cromossomo 5q31-33 (Greco *et al.*, 1998), posteriormente, foram achados *loci* nos cromossomos 2q33 e 19q13.1 (van Belzen *et al.*, 2003). Estudos de ligação tem obtido muito sucesso em doenças monogênicas, porém em doenças complexas, não alcançaram o mesmo sucesso, possivelmente porque múltiplos marcadores genéticos de risco a doença, podem variar com o tamanho do efeito que causam.

Outro tipo de abordagem utilizada na descoberta de genes associados a DC, são os estudos de associação de genes candidatos. Neste tipo de estudo o objetivo é pesquisar por diferenças na frequência das variantes genéticas em pacientes e comparar com indivíduos saudáveis. Estudos de associação genética podem ser focados na posição de genes candidatos da região de ligação, ou em genes candidatos com função conhecida, selecionados baseados na proposta de patologia da doença. Variantes no gene do antígeno 4 associado ao linfócito T citotóxico (*CTLA-4*) (Djilali-Saiah *et al.*, 1998) e miosina 1XB (*MYO9B*) (Monsuur *et al.*, 2005) foram encontradas associadas a DC usando a abordagem de genes candidatos. Porém replicações destes achados em largas coortes de diferentes populações permanecem limitadas.

Recentemente, após avanços na tecnologia por genotipagem de polimorfismos pela hibridização em microarranjos, surgiu uma nova abordagem para identificação de *loci* em doenças complexas, os chamados estudos de associação genômica (GWAS - *Genome Wide Association Study*). Este tipo de estudo utiliza metodologia de genotipagem por microarranjos para testar milhares de nucleotídeos de polimorfismo único (SNPs – *single nucleotide polymorphism*). Os SNPs são constituídos por uma pequena mudança que pode ocorrer em uma seqüência de DNA em porção significativa (mais de 1%) de uma população e são considerados as formas mais comuns de variação genética. Um GWAS procura por determinados SNPs em todo o genoma humano que possam estar associados com uma doença específica, comparando as variações encontradas em portadores da doença e em controles saudáveis (Manolio, 2010).

Em 2007 foi realizado o primeiro GWAS para DC, no qual participaram 778 indivíduos com DC e 1422 controles saudáveis, usando 310.605 SNPs para análise (van Heel et al., 2007). O SNP rs13119723 localizado no cromossomo 4q27 foi o único SNP fora da região HLA a apresentar associação genômica significativa para casos de DC nesse estudo. Esse SNP está localizado em um bloco de aproximadamente 500 kilobases (kb) em desequilíbrio de ligação, o qual contém os genes IL2 e IL21. Replicações intensivas usando em torno de 1500-SNPs em diferentes cohorts, levou a descoberta de 12 *loci* adicionais associados a DC (Hunt et al., 2008; Adamovic et al., 2008; Trynka et al., 2009). Recentemente, uma larga replicação realizada com cerca de 300.000 SNPs em 4.533 casos com DC e 10.750 controles, 13 novos *loci* foram encontrados com forte associação a DC (Dubois et al., 2010).

## 2.5 PATOGÊNESE

A DC é uma desordem inflamatória com características autoimunes, que pode ser definida pela destruição do intestino epitelial e danos na mucosa intestinal após ingestão do glúten. Glúten é o nome dado genericamente a proteínas do trigo, centeio e cevada, que são ricas em resíduos de prolinas e glutaminas (Sollid & Jabri, 2013). Peptídeos ricos em prolinas são particularmente resistentes a proteólises pela digestão de enzimas, então esses grandes peptídeos imunogênicos permanecem não digeridos na lâmina própria e podem entrar em contato com células imunológicas intestinais (Shan *et al.*, 2002).

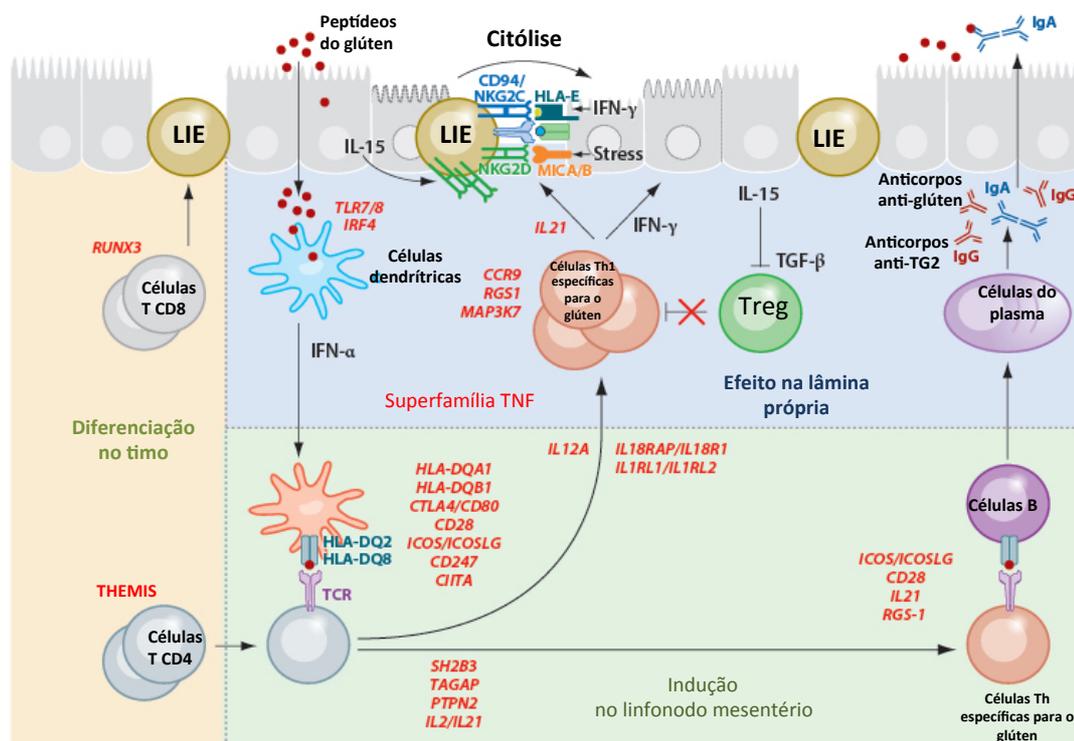
Após a passagem dessas proteínas pela lâmina própria, elas são deaminadas pela enzima Transglutaminase 2 (TG2), introduzindo uma carga negativa que interage com a carga positiva do resíduo da lisina na posição 6 do peptídeo, resultando em aumento da expressão desse peptídeo no gene HLA-DQ2. Esse complexo de peptídeos é expresso pelas células apresentadoras de antígenos, ativando células T CD4<sup>+</sup> específicas do glúten, isso pode ser considerado o evento chave para o desenvolvimento da DC, pois isto ajuda a explicar o papel extremamente importante da genética dominante dos alelos do HLA predisponentes (Meresse *et al.*, 2012).

As células T CD4<sup>+</sup> após reconhecerem os peptídeos do glúten desencadeiam respostas imunes do tipo Th1 e Th2. A resposta do tipo Th1 produz principalmente citocinas, as quais provocam a proliferação celular nas criptas intestinais e induzem a secreção de metaloproteinases de matriz pelos fibroblastos intestinais, causando a destruição da mucosa característica da DC. Um infiltrado inflamatório, com células mononucleares e fibroblastos, torna a produção de tTG e a deaminação da gliadina ainda mais ativas, potencializando a apresentação dos antígenos e a resposta imune das células T CD4<sup>+</sup> (Abadia *et al.*, 2011). A resposta do tipo Th2 produz citocinas, que promovem a maturação dos plasmócitos e conseqüente produção de anticorpos contra a gliadina, tecidos conectivos, transglutaminase tecidual e complexos gliadina-tTG (Figura 6) (Abadia *et al.*, 2011).

Como já citado, as células T CD4<sup>+</sup> tem papel principal na patogênese da DC.

Provavelmente essas células, auxiliam na indução dos anticorpos anti-TG2, ajudando os anti-TG2 das células B. Células T CD4<sup>+</sup> específicas para o glúten também exercem um papel importante na remotação de tecidos através da produção de interferon- $\gamma$  e metaloproteínas.

Depois do descobrimento de genes associados a DC fora da região do HLA, é possível fazer uma integração entre o modelo da imunopatogênese conhecido, com essa nova proposta que inclui os novos 64 genes (Figura 4). Genes como *THEMIS* e *RUNX3*, estão envolvidos da diferenciação de células T CD4<sup>+</sup> e CD8, respectivamente. Outros genes são envolvidos em processos imunológicos que realizam a indução de locais específicos, como o linfonodo mesentérico, onde eles regulam células T (CD28 e IL2) e células B (ICOS e IL21). E ainda genes que agem, ativando e promovendo a diferenciação de células T pro-inflamatória (*L12A*, *TLR7/TLR8*, *IRF4*, *IL1RL1*, e *IL18R1*).



**Figura 6:** Patogênese da doença celíaca. No lado esquerdo está representada a parte de diferenciação de células T no timo. Na parte central superior o efeito da resposta imune na lâmina própria. Na parte central inferior o efeito indutivo das células T no linfonodo mesentérico. Em vermelho estão representados os genes fora do HLA e suas possíveis funções na patogênese da DC. Após a entrada dos peptídeos do glúten e posterior deaminação pela enzima transglutaminase 2, esses peptídeos são captados por células apresentadoras de antígenos (dendríticas ou macrófagos) e apresentados no complexo através da expressão dos genes HLA-DQ2 e/ou DQ8. Células T CD4 (em cinza) reconhecem os peptídeos do glúten apresentados pelas células dendríticas e se tornam células efectoras. Células efectoras reconhecem peptídeos apresentados por células B, diferenciam-se em plasmócitos e produzem anticorpos IgA e IgG, anti-glúten e anti-tTG. Células T CD4 efectoras sofrem expansão clonal e desencadeiam resposta imunológica Th1, produzindo citocinas e causando lesões no tecido intestinal.

Fonte adaptada de Abadia *et al.*, 2011.

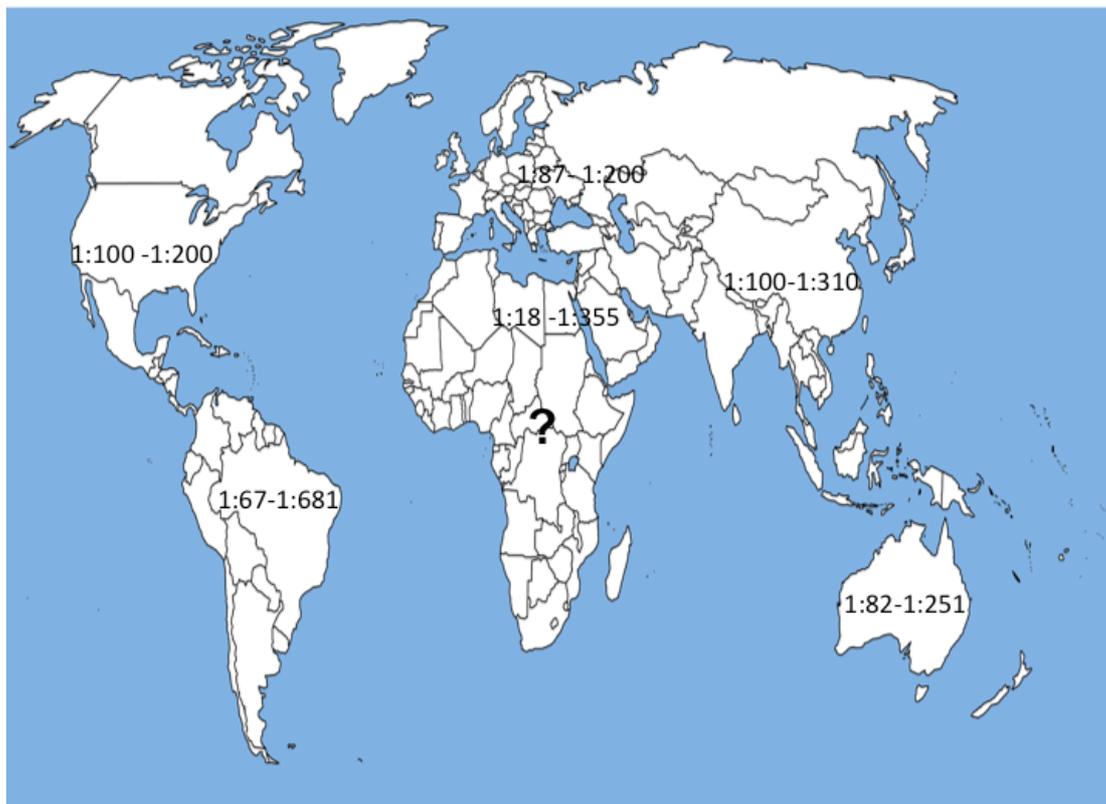
## 2.6 EPIDEMIOLOGIA

A média de ocorrência da DC foi subestimada por muitas décadas, avanços nos métodos de diagnóstico e o melhoramento no rastreamento de casos por teste sorológicos sugerem que a prevalência da DC no mundo aumentou durante os últimos 30 anos (Tack *et al.*, 2010). Especialmente após o aparecimento de testes com anticorpos de classe IgA anti-transglutaminase (anti-tTG), antiendomísio (EMA) e anti gliadina (AGA). Utilizando estes testes em grandes amostras populacionais foi possível melhorar o rastreamento de indivíduos que necessitavam de biópsia para confirmar o diagnóstico celíaco (Di Sabatino *et al.*, 2009). Esses estudos de rastreamento revelaram que a DC ocorre em aproximadamente 1% da população da Europa e dos Estados Unidos. Estudo populacional utilizando biópsias e sorologia na Suíça mostrou uma prevalência de 2% nessa população (Walker *et al.*, 2010). No entanto, um estudo de rastreamento sorológico internacional mostrou diferentes prevalências da DC entre as populações Europeias, como por exemplo na Finlândia foi encontrada uma prevalência de 2.4% e na Alemanha a prevalência foi de apenas 0.3%, enquanto na Itália foi de 0.7% (Mustalahti *et al.*, 2010). Este tipo de abordagem sustenta fortes evidências de que a DC também pode ser comum em outras partes do mundo, provavelmente em populações não caucasianas, incluindo, Ásia e América do Sul, onde a DC era considerada rara.

Estudos epidemiológicos realizados em várias partes do mundo sugerem que a DC não é apenas restrita a indivíduos caucasianos (Figura 7) (Mahadov & Green 2011). A prevalência da DC em crianças do Norte da Índia é de 0,32% (Sood *et al.*, 2006) e em adultos na Turquia é de aproximadamente 1,3% (Tatar *et al.*, 2004). Igualmente, na América do Sul a prevalência da DC é maior do que se pensava. Na Argentina a prevalência é de 0,6% (Gomez *et al.*, 2001) e no Brasil é entre 0,15% e 0,36% (Gandolfi *et al.*, 2000; Melo *et al.*, 2006).

A DC é bastante incomum na Ásia Oriental, provavelmente por causa da baixa frequência de alelos do HLA (Malekzadeh *et al.*, 2005), a doença é também considerada rara na África subsahariana e entre Afro americanos (Coton *et al.*, 2008; Ciclitira *et al.*, 2001). Entretanto, no nordeste da África, a prevalência da DC é similar a de países europeus. No Egito (n=1500 crianças) a prevalência da DC é aproximadamente 0.53% (Abu-Zekry *et al.*, 2008). Na Tunísia (n=6286) 0.6% (Ben

Hariz *et al.*, 2007), e na Líbia (n=2920) 1% (Alarida *et al.*, 2011). E a maior prevalência da DC no mundo foi encontrada em crianças no oeste do Saara (5,6%), altos níveis de consangüinidade e alta freqüência de alelos HLA-DQ2, assim como, uma rápida mudança nos hábitos alimentares dessa população, podem ser as razões para essa alta prevalência (Catassi *et al*, 1999).



**Figura 7:** Distribuição da prevalência da doença celíaca ao redor do mundo. Mais alta prevalência observada no Saara (1:18) e a mais baixa prevalência na América do Sul (1:681). Na África a prevalência ainda é desconhecida.

Fonte adaptada de Gujral *et al.*, 2012.

## **CAPÍTULO II: AFRODESCENDENTES NO BRASIL**

### 3. CHEGADA DE AFRICANOS NO BRASIL

A origem dos africanos no Brasil foi bastante diversificada, tendo envolvido pessoas vindas do ocidente, oriente e sudoeste da África, bem como da região da atual Moçambique, sendo que a maioria originou-se das regiões dos atuais Congo e Angola (Klein, 2002). Vieram para o Brasil, principalmente, dois grandes grupos étnicos: os bantos no Sudoeste e Sudeste africanos, e os sudaneses no Noroeste da África (Schwarcz & Reis, 1996). As regiões brasileiras que receberam a maior quantidade de africanos foram Sudeste e Nordeste, especialmente as áreas correspondentes aos estados de Minas Gerais, Bahia, Rio de Janeiro, Maranhão, Pernambuco e São Paulo (Andrade, 1988; Queirus Mattoso, 1982; Curtin, 1969).

De fato, os Africanos constituíram uma fração importante na história das migrações para o Brasil. Esse grupo étnico veio para o país sob o regime da escravidão, o qual teve seu início em 1538 e perdurou até 1888, com a promulgação da Lei Áurea. O tráfico de escravos para o Brasil, contudo, terminou oficialmente em 1850. No entanto, a escravidão de indivíduos africanos não foi um evento exclusivo do Brasil, é previsto que cerca de 15 milhões de indivíduos deixaram o continente africano em direção as Américas. Entretanto, a maior parte desses indivíduos vieram de fato para o Brasil, é estimado que cerca de 40% do total de africanos escravizados que vieram para as Américas, tenha vindo para o Brasil (Reis & Gomes, 1996).

### 3.1 COMUNIDADES QUILOMBOS

Entre os séculos XVI e XIX no Brasil ocorreu uma das principais formas de rebeliões contra a escravidão, as fugas de escravos para lugares afastados e escondidos acabaram formando um tipo de comunidade. Os escravos enxergavam na fuga uma forma de sobreviverem. As fugas individuais eram as mais comuns, porém fugas coletivas também ocorriam, o que resultou na criação de comunidades isoladas dos grandes centros. Essas comunidades foram chamadas de quilombos. Os quilombos foram os principais sítios de refúgios para os escravos da época (Reis & Gomes, 1996).

Essas comunidades quilombos perduraram mesmo após um século depois do término da escravidão no Brasil. Atualmente, essas comunidades são conhecidas como remanescentes de quilombos e existem 1.948 comunidades reconhecidas oficialmente pelo Estado brasileiro, sendo que o número de habitantes aproxima-se de dois milhões de pessoas, com 214 mil famílias (Figura 8). Porém, cerca de 75,6% das famílias quilombolas estão em situação de extrema pobreza e 23,5% das pessoas ainda não sabem ler (Programa Brasil Quilombola, 2012). As principais atividades produtivas nessas comunidades são: agricultura, extrativismo e pesca artesanal. O Nordeste do Brasil engloba a maior parte da comunidades remanescentes de quilombos, incluindo 63% dos quilombolas do país, encontram-se espalhadas pela região (Programa Brasil Quilombola, 2012).

O termo quilombola hoje, é aplicado aos descendentes de africanos escravizados que mantêm tradições culturais, de subsistência e religiosas ao longo dos séculos. São grupos étnico-raciais segundo critérios de autoatribuição, com trajetória histórica própria, dotados de relações territoriais específicas, com presunção de ancestralidade negra relacionada com a resistência à opressão histórica sofrida (Programa Brasil Quilombola, 2012).



**Figura 8:** Distribuição das comunidades quilombolas no Brasil. Nordeste apresenta o maior número de comunidades quilombolas do país, com aproximadamente 200 comunidades oficialmente identificadas. No sul do país existem apenas 10 comunidades oficialmente identificadas.  
Fonte: Fundação Cultural Palmares ([www.palmares.gov.br](http://www.palmares.gov.br)).

No entanto, muitos quilombos também foram formados após o período escravocrata, pois essa forma de organização comunitária continuaria a ser, para muitos, a única possibilidade de viver em liberdade. Nesse contexto, constituir um quilombo tornou-se um imperativo de sobrevivência para muitos dos ex-escravos, posto que a Lei Áurea, diferentemente do propugnado pelo movimento abolicionista, não levou em conta mecanismos de redistribuição de terras.

De um modo geral, além das áreas ocupadas por escravos fugidos, os territórios quilombolas também se originaram em diferentes situações, tais como doações de terras realizadas a partir da desagregação da lavoura de monoculturas, como a cana-de-açúcar e o algodão; compra de terras pelos próprios sujeitos, possibilitada pela desestruturação do sistema escravista; terras que foram conquistadas por meio da prestação de serviços, inclusive de guerra. As comunidades remanescentes dos quilombos representam um patrimônio cultural inestimável, em grande parte desconhecido pelo próprio Estado, pelas autoridades e pela sociedade. Essas comunidades são marcadas por processos históricos de discriminação e exclusão e enfrentam uma realidade socioeconômica bastante excludente em relação à população brasileira em geral.

### 3.1.1 Situação nutricional das comunidades de quilombos

Em 2006 foi realizado um amplo estudo conduzido pelo Ministério de Desenvolvimento Social e Combate à Fome (MDS, 2007) intitulado “Chamada Nutricional de Comunidades Quilombolas”. Esse estudo foi realizado em 60 comunidades remanescentes de quilombos em 22 estados brasileiros.

Nessa Chamada Nutricional foi encontrada um déficit nutricional nos moradores dessas comunidades, o maior percentual foi de baixa estatura para idade (~25%) e os casos da forma aguda foram pouco frequentes.

No entanto, poucos estudos foram feitos visando identificar o perfil alimentar dessas comunidades, principalmente específicos para avaliar o nível de consumo de gúten. Em estudo realizado no Estado de Alagoas, Ferreira *et al* (2011), descreveu as condições de nutrição e saúde de crianças com idade entre 6 e 59 meses em 39 comunidades remanescentes de quilombos. Esses pesquisadores identificaram 11,5% das 973 crianças investigadas com déficit estatural, como indicativo de desnutrição crônica predominante nas comunidades quilombolas de Alagoas. Porém foi mais baixo do que o encontrado na Chamada Nutricional Quilombolas realizada específicas em crianças nessa faixa estária, que foi de 15% (Taddei et al., 2008).

A agricultura é um dos maiores meios obtenção de alimentos poer essas comunidades (MDS, 2007). A maioria dos alimentos são provenientes da própria agricultura local. Alimentos como o feijão, arroz e mandioca lideram o cotidiano quilombola. Porém a produção local não é mais suficiente para suprir todas as necessidades alimentares dessas comunidades, incentivando uma entrada de alimentos externos. Programas gorvenamentais como o Bolsa Família por exemplo, facilitam a entrada de diversos novos alimentos. O pão, macarrão e massas em geral já são de preferência dos indivíduos quilombolas.

### 3.1.2 Doença celíaca e descendentes de Africanos

Estudos genéticos em comunidades remanescentes de quilombos no Brasil, mostraram uma ancestralidade africana predominante nesses povos (Oliveira *et al.*, 2004). Sugerindo esse tipo de comunidade isolada como um excelente modelo para estudos populacionais em descendentes de africanos.

Com citado em sessão anterior, o principal fator genético para desenvolver a DC são os alelos do HLA DQ2/DQ8. A frequência dos alelos do HLA de classe II, em geral, é menor em africanos do que em população caucasiana, principalmente no caso dos alelos predisponentes a DC (Tabela 1). É conhecido que esses alelos apresentam baixa frequência em populações Africanas, principalmente nos grupos étnicos como os bantos e sudaneses, que historicamente foram as populações que migraram para o Brasil como escravos, e conseqüentemente compõem a maior parte dos ancestrais dos indivíduos remanescentes de quilombos (Schwarcz & Reis, 1996; Gonzalez-Galarza *et al.*, 2011).

**Tabela 1:** Frequencia de alelos HLA predisponente a DC

HLA	Alelos	Freq Africanos	Freq Caucasianos
DQ2.5	DQA1*0501	0.06	0.25
	DQB1*0201	0.07	0.15
DQ2.2	DQA1*0201	0.06	0.08
	DQB1*0202	0.07	0.15
DQ8	DQA1*0301	0.004	0.21
	DQB1*0302	0.006	0.11

Fonte <http://www.allelefrequencies.net> (Gonzalez-Galarza *et al.*, 2011)

## **OBJETIVOS**

#### **4. OBJETIVOS**

Esse trabalho procurou avaliar a presença da doença celíaca em indivíduos afrodescendentes pertencentes a comunidades remanescentes de quilombos.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1. Descrição das populações

As amostras foram obtidas em 9 comunidades Quilombolas, localizadas no Nordeste do Brasil: Sergipe (Mocambo), Bahia (Rio das Rãs, Riacho de Sacutiaba, Barra, Bananal and São Gonçalo), and Piauí (Gaucinha, Sítio Velho, and Mimbó) na Tabela 2 encontra-se dados geográficos e número de indivíduos e de voluntários.

**Tabela 2:** Localização das comunidades remanescentes de quilombos

<b>População</b>	<b>Estado</b>	<b>Total indivíduos</b>	<b>Total de participantes</b>
Bananal	Bahia	180	50
Barra	Bahia	200	118
Riacho de Sacutiaba	Bahia	209	69
Rio das Rãs	Bahia	5300	276
São Gonçalo	Bahia	194	53
Sítio Velho	Piauí	399	46
Gaucinha	Piauí	74	20
Mimbó	Piauí	400	57
Mocambo	Sergipe	500	171
<b>Total</b>		<b>7456</b>	<b>860</b>

## 5.2. Considerações éticas

O presente estudo foi previamente avaliado e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do Hospital de Base de Brasília. Previamente à inclusão no protocolo foi fornecido amplo esclarecimento verbal aos indivíduos, ou aos pais/responsáveis, em caso de menor de idade, esclarecendo os objetivos, riscos e benefícios da pesquisa (ANEXO I).

Todos os resultados obtidos foram fornecidos aos indivíduos ou responsáveis pelos participantes da pesquisa. Caso fosse encontrado indivíduos com resultado positivo, estes seriam sugeridos a seguimento para confirmação do diagnóstico e tratamento da DC.

## 5.3 Coleta e processamento de material biológico

Após concordância dos indivíduos em participar da pesquisa, foi retirada uma amostra de dois mililitros de sangue total, através da punção de veia basílica do antebraço. As amostras de sangue dos indivíduos foram posteriormente centrifugadas para obtenção do soro. Quando não usado, o plasma, foi imediatamente estocado em freezer  $-20^{\circ}\text{C}$  até os testes sorológicos serem conduzidos no Laboratório de Pesquisa em Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (UnB).

O soro foi utilizado para (a) determinar a dosagem de IgA, para afastar uma possível deficiência desta imunoglobulina, o que poderia alterar o resultado do teste e (b) para a determinação da presença de anticorpos IgA anti-endomísio.

A dosagem de IgA sérica foi feita pelo método de imunoturbidimetria (COBAS MIRA; Roche Diagnostic Systems, Basel, Switzerland). O limite do nível de dosagem de IgA foi de 70 mg/dl para adultos e 23 mg/dl para crianças de 3 a 12 anos de idade e 17 mg/dl para crianças menores que 3 anos de idade.

O teste para verificar a presença de anticorpos IgA anti-endomísio (IgA-EMA) foi realizado utilizando secções criostáticas da porção central do *Cebus Appela*, fixadas em lâminas fornecidas pelo Centro de Primatologia da Universidade de Brasília. Em todos os soros foram feitos uma diluição de 1:5 em tampão fosfato, e após essa diluição, os soros, foram incubados em substrato antigênico. Em seguida

a reação foi detectada através da utilização de um anticorpo antimunoglobulina humana marcada com isotocianato de fluoresceína (FICT). Dois observadores independentes examinaram todas as lâminas.

## RESULTADOS

## 6. RESULTADOS

Foram coletadas 860 amostras em 10 diferentes comunidades quilombolas do Nordeste do Brasil (Tabela 2). A maioria dos indivíduos eram do sexo feminino e possuíam menos de 24 anos de idade (Tabela 3). Especialmente na comunidade de São Gonçalo, Bahia, onde 68% dos indivíduos eram do sexo feminino. A maior parte dos indivíduos eram menores de 24, especialmente em Mimbó, Piauí, (60%) e em Sítio Velho, Piauí (63%) (Tabela 3).

Apesar de o presente estudo não ter realizado nenhuma pesquisa específica sobre os hábitos alimentares dos indivíduos dessas comunidades. Através de questionamento verbal assumiu-se que todos os indivíduos estavam seguindo uma dieta composta por glúten. Além disso, nenhum dos 860 participantes tinha sido diagnosticado previamente para DC ou apresentava casos de DC na família.

Todas as amostras apresentaram níveis de IgA normais e todos os 860 indivíduos apresentaram resultado negativo para o teste IgA-EMA.

**Tabela 3:** Proporção da idade e sexo dos indivíduos remanescentes de quilombos

População	Proporção do sexo (%)		Idade (anos)			Total de indivíduos	Total de participantes
	Homens	Mulheres	<24 (%)	25-49 (%)	>50 (%)		
Bananal	52	48	36	33	31	180	50
Barra	44	56	55	24	21	200	118
Gaucinha	44	56	59	24	17	74	20
Mimbó	52	48	60	29	11	400	57
Mocambo	52	48	44	40	16	500	171
Riacho da Sacutiaba	41	59	40	40	20	209	69
Rio das Rãs	42	58	22	58	31	5300	276
São Gonçalo	32	68	34	28	38	194	53
Sítio Velho	52	48	63	29	8	399	46
<b>Total</b>						7456	860

## **DISCUSSÃO**

## 7. DISCUSSÃO

Estudos sobre a prevalência da DC na África e/ou populações descendentes de africanos, são escassos. Em estudo anterior, Brar *et al.* (2006) identificou nove pacientes Afro-americanos com DC, dentro um grupo de 700 pacientes com biópsia comprovada. Outro estudo mais recente, descreveu 8 casos de africanos com DC em Djibouti, Nordeste da África (Coton *et al.*, 2008). Estudos como estes, sugerem que a prevalência da DC em populações Afro-descendente pode estar subestimada. No entanto, nenhum rastreamento sorológico com grande número de Afro-descendentes tinha sido realizado até o presente momento. Este estudo é o primeiro rastreamento sorológico em grande número de indivíduos em populações descendentes de Africanos.

Colonizadores portugueses chegaram ao Brasil em 1500 e encontraram uma população nativa heterogênea, cerca de 2 milhões de pessoas. Entre 1550 e 1850, cerca de 4 milhões de Africanos pertencentes a diversas regiões subsaariana, foram trazidos ao Brasil como escravos. Estes indivíduos foram distribuídos em distintas regiões do país, em sua maioria no Nordeste do país (Klein, 1999).

Atualmente no Brasil, existem comunidades rurais semi-isoladas identificadas como remanescentes de quilombos, formadas principalmente por escravos fugidos durante o período colonial brasileiro. Essas comunidades estão localizadas em áreas improvisadas onde o acesso a saúde é difícil. Além disso, alimentos que contém glúten, como o macarrão e o pão, fazem parte da alimentação regular nessas comunidades (MDS, 2007).

Alguns estudos genéticos específicos para estas populações mostraram uma predominância Africana na composição genética (Amorim *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2006). Isso pode se dar ao fator histórico e cultural que essas populações preservam até o presente momento. No entanto, apesar de em menor proporção uma composição genética Européia, também é encontrada nessas populações quilombolas (Amorim *et al.*, 2011).

A prevalência da DC no mundo está estimada em aproximadamente 1% (Fasano & Catassi, 2012). Na África Subsaariana, a DC, embora raramente investigada, foi considerada como não presente nesse tipo de população. Uma das explicações para isso, é a baixa frequência dos alelos do HLA (DQ2 e DQ8) predisponentes a DC encontrado nessas populações (Gonzalez-Galarza *et al.*, 2011). Como é conhecido os genes do HLA são importantes no desencadeamento da DC, porém não são os únicos genes a participarem na patogênese dessa doença. Hipoteticamente, outros genes fora do sistema HLA poderia exercer um papel mais importante na patogênese da DC em populações não Européias. Principalmente se alelos de variantes genéticas fora do HLA são encontradas em alta frequência em populações Africanas comparadas com populações Européias. No entanto, não é conhecido a frequência desses alelos de genes fora do sistema HLA nas populações quilombolas aqui estudadas.

No Brasil a frequência dos alelos do HLA predisponentes a DC ainda é pouco estudada, assume-se que a frequência de alelos seja similar a encontrada em países Europeus (Azevedo *et al.*, 2010), como reflexo da alta contribuição Européia na constituição genética da população urbana brasileira (Godinho *et al.*, 2008). Entretanto, a segunda maior contribuição genética na população brasileira é composta por Africanos Subsaariana (Godinho *et al.*, 2008). Deixando em aberta a questão de se a DC poderia estar sub diagnosticada nessas populações remanescentes de quilombos.

Estudos genéticos em comunidades remanescentes de quilombos mostraram uma ancestralidade Afro subsaariana predominante nessas populações (Oliveira *et al.*, 2006). Corroborando para a idéia de que essas comunidades podem ser um modelo excelente para estudos com populações descendentes de Africanos.

No Brasil a prevalência da DC é mais elevada na região Sul do que no Centro-Oeste (Oliveira *et al.*, 2007; Gandolfi *et al.*, 2001). Essa diferença na prevalência provavelmente pode estar relacionada com a alta contribuição genética Africana na região Centro-Oeste, quando comparado com o Sul do Brasil, a qual tem sua população com maior contribuição Européia. Sugerindo que a DC pode não estar presente em populações Africanas, ou Afro-descendentes. O presente estudo mostra dados que apoiam esse ponto de vista, pois, depois um rastreamento em

largo número amostral (N=860), não foi encontrado nenhum caso de DC nessas comunidades remanescentes de Quilombos.

## CONCLUSÃO

## 8. CONCLUSÃO

Através de um rastreamento sorológico em grande número amostral de indivíduos descendentes de africanos, o presente estudo não encontrou nenhum caso de DC e sugere uma baixa prevalência da DC em descendentes de africanos na população brasileira.

Esse resultado está de acordo com a baixa frequência dos alelos do HLA predisponentes a DC nessas populações. No entanto, estudos genéticos específicos pra mostrar a frequência dos alelos HLAs e não HLAs que conferem risco de desenvolver a DC, devem ser feitos.

O presente estudo apoia a baixa prevalência ou até mesmo a ausência de DC em africanos, assim como em afro-descendentes. Visto que não foi encontrado nenhum caso de DC em populações com alta contribuição genética africana, como as de remanescentes de quilombos. Além disso, foi observado uma ingestão regular de glúten nas refeições do cotidiano dessas populações afro-descendentes. Apesar de que nenhuma criança menor de 2 anos participou do nosso estudo, estes resultados devem ser analisados com cuidado, pois o valor da sensibilidade do teste IgA-EMA é baixa, cerca de 60%, para crianças menores de 2 anos de idade.

## 9. REFERÊNCIAS

Abadie V, Sollid LM, Barreiro LB, Jabri B. Integration of genetic and immunological insights into a model of celiac disease pathogenesis. *Annu Rev Immunol*. 2011; 29:493-525.

Abenavoli L, Proietti I, Leggio L, Ferrulli A, Vonghia L, Capizzi R et al. Cutaneous manifestations in celiac disease. *World J Gastroenterol* 2006;12:843-52.

Abu-Zekry M, Kryszak D, Diab M, et al. Prevalence of celiac disease in Egyptian children disputes the East-West agriculture-dependent spread of the disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 47:136-140.

Adamovic S, Amundsen SS, Lie BA, et al. Association study of IL2/IL21 and FcγRIIIa: significant association with the IL2/IL21 region in Scandinavian coeliac disease families. *Genes Immun* 2008;9:364–7.

Akobeng AK, Ramanan AV, Buchan I, Heller RF. Effect of breast feeding on risk of coeliac disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Arch Dis Child* 2006; 91: 39–43.

Alarida K, Harowna J, Ahmaida A, et al. Celiac disease in Libyan children: a screening study based on the rapid determination of anti-transglutaminase antibodies. *Dig Liver Dis* 2011; 43:688–91.

Gonzalez-Galarza FF, Christmas S, Middleton D and Jones AR. Allele frequency net: a database and online repository for immune gene frequencies in worldwide populations. *Nucleic Acid Research* 2011, 39, D913-9.

Ben Hariz M, Kallel-Sellami M, Kallel L, et al. Prevalence of celiac disease in Tunisia: mass screening study in schoolchildren. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007;19:687–94.

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

Brown GJ, Daveson J, Marjason JK, French RA, Smith D, Sullivan M, et al. A phase I study to determine safety, tolerability and bioactivity of Nexvax2® in HLA DQ2+ volunteers with celiac disease following a long-term, strict gluten-free diet. *Gastroenterology*. 2011; 140:S437–8.

Catassi C, Kryszak D, Louis-Jacques O, Duerksen DR, Hill I, Crowe S, et al. Detection of Celiac Disease in Primary Care: A Multicenter Case-Finding Study in North America. *Am J Gastroenterol* 2007; 102:1454-60.

Catassi C, Ratsh IM, Gandolfi L, Pratesi R, Fabiani E. El Asmar, et al. Why is coeliac disease endemic in the people of the Sahara? *Lancet* 1999; 354:647-48.

Ciclitira PJ, King AL, Fraser JS. AGA technical review on celiac sprue. American Gastroenterological Association. *Gastroenterology* 2011; 120:1526–40.

Coenen MJ, Trynka G, Heskamp S, Franke B, van Diemen CC, Smolonska J, et al. Common and different genetic background for rheumatoid arthritis and coeliac disease. *Hum Mol Genet*. 2009; 18:4195-203.

Corazza GR, Villanacci V, Zambelli C, et al. Comparison of the interobserver reproducibility with different histologic criteria used in celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 838–43.

Cortes A, Brown MA. Promise and pitfalls of the ImmunoChip. *Arthritis Research & Therapy*. 2011 13:101.

Coton T, Grassin F, Maslin J, Gidenne S, Sarret D, Petitleans F, Benois A, Kraemer P, Cloatre G. 2008. Celiac disease: special features in Africa. Description of 8 cases in Djibouti. *Med Trop* 68:144-48.

Di Sabatino A, Corazza GR. Coeliac disease. *Lancet* 2009; 373:1480–93.

Dube C, Rostom A, Sy R, Cranney A, Saloojee N, Garrity C, Sampson M, Zhang L, Yazdi F, Mamaladze V, Pan I, Macneil J, Mack D, Patel D, Moher D. The prevalence of celiac disease in average-risk and at-risk Western European populations: a systemic review. *Gastroenterology*. 2005;128: s57-67.

Dubois PC, Trynka G, Franke L, Hunt KA, Romanos J, Curtotti A et al. Multiple common variants for celiac disease influencing immune gene expression. *Nat Genet* 2010;42:295-302.

Farrell RJ, Kelly CP. Current concepts: celiac sprue. *N Engl J Med* 2002;346:180-188.

Fasano A, Catassi C. Celiac Disease. *N Engl J Med* 2012;367:2419-26.

Fasano A. Celiac Disease: the past, the present, the future. *Pediatrics* 2001; 107;768-70.

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

Gignoux CR, Henn BM, Mountain JL. Rapid, global demographic expansions after the origins of agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011;108:6044–49.

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

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

Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, Maglio M, Paparo F, Gasperi V, Limongelli MG, Cotichini R, D'Agate C, Tinto N, Sacchetti L, Tosi R, Stazi MA. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut* 2002; 50:624-8.

Green PH, Jabri B. Coeliac disease. *Lancet* 2003;362:383-91.

Grisolano SW, Oxentenko AS, Murray JA, et al. The usefulness of routine small bowel biopsies in evaluation of iron deficiency anemia. *J Clin Gastroenterol* 2004;38:756-60.

Gutierrez-Achury J, Coutinho de Almeida R, Wijmenga C. Shared genetics in coeliac disease and other immune-mediated diseases. *J Intern Med*. 2011; 269:591-603.

Harris LA, Park JY, Voltaggio L, Lam-Himlin D. Celiac disease: clinical, endoscopic, and histopathologic review. *Gastrointest Endosc*. 2012;76:625-40.

Hunt KA, Zhernakova A, Turner G, Heap GA, Franke L, Bruinenberg M, Romanos J, Dinesen LC, et al. Newly identified genetic risk variants for celiac disease related to the immune response. *Nat Genet* 2008;40:395–402.

Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54:136-60.

Kagnoff MF, Paterson YJ, Kumar PJ, et al: Evidence for the role of a human intestinal adenovirus in the pathogenesis of coeliac disease. *Gut* 1987; 28:995–1001.

Karrel K, Louka AS, Moodie SJ et al. HLA Types in Celiac Disease Patients not carrying the *DQA1\*05-DQB1\*02* (DQ2) Heterodimer: Results From the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Human Immunology* 2003; 64: 469–77.

Lohi S, Mustalahti K, Kaukinen K, Laurila K, Collin P, Rissanen H, Lohi O, Bravi E, Gasparin M, Reunanen A, Mäki M. Increasing prevalence of coeliac disease over time. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007;26:1217-25.

Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH, et al. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut.* 2012 Feb 16. [Epub ahead of print]

Malekzadeh R, Sachdev A, Fahid Ali A. Coeliac disease in developing countries: Middle East, India and North Africa. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.*2005; 19:351-358.

Manolio TA. Genome wide association studies and assessment of the risk of disease. *N Engl J Med* 2010;363:166–76.

Marsh MN. Grains of truth: evolutionary changes in small intestinal mucosa in response to environmental antigen challenge. *Gut* 1990;31: 111-4.

Marsh MN, Crowe PT. Morphology of the mucosal lesion in gluten sensitivity. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1995; 9:273-93.

Marti T, Molberg Ø, Li Q, Gray GM, Khosla C, Sollid LM. Prolyl endopeptidase-mediated destruction of T cell epitopes in whole gluten: chemical and immunological characterization. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005; 312:19–26.

Ministério do Desenvolvimento Social e Combate a Fome, Secretaria de Avaliação e Gestão da Informação, Departamento de Avaliação e Monitoramento. Chamada Nutricional Quilombola 2006. Brasília, Ministério do Desenvolvimento Social e Combate a Fome, 2007.

Megiorni F, Mora B, Bonamico M et al. HLA-DQ and risk gradient for celiac disease. *Hum Immunol* 2009;70:55–9.

Melo SB, Fernandes MI, Peres LC, Troncon LE, Galvão LC. Prevalence and demographic characteristics of celiac disease among blood donors in Ribeirão Preto, State of São Paulo, Brazil. *Dig Dis Sci*. 2006;51:1020-5.

Mody RJ, Brown PI, Wechsler DS. Refractory iron deficiency anemia as the primary manifestation of celiac disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003;25:169-72.

Monsuur AJ, de Bakker PI, Alizadeh BZ et al. Myosin IXB variant increases the risk of celiac disease and points toward a primary intestinal barrier defect. *Nat Genet* 2005; 37:1341–4.

Mulder CJJ, Cellier C. Coeliac disease: changing views. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2005;19: 313–21.

Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, Fabiani E, Heier M, McMillan S, Murray L, Metzger MH, Gasparin M, Bravi E, Mäki M; Coeliac EU Cluster, Project Epidemiology. The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Ann Med*. 2010;42:587-95.

Nistal E, Caminero A, Vivas S, Ruiz de Morales JM, Sáenz de Miera LE, Rodríguez-Aparicio LB, Casqueiro J. Differences in faecal bacteria populations and faecal bacteria metabolism in healthy adults and celiac disease patients. *Biochimie*. 2012;94:1724-9.

Nisticò L, Fagnani C, Coto I, Percopo S, Cotichini R, Limongelli MG, et al. Concordance, disease progression, and heritability of coeliac disease in Italian twins. *Gut*. 2006;55:803-8.

Norris JM, Barriga K, Hoffenberg EJ, et al: Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease. *JAMA* 2005;293:2343–2351.

Oliveira, S. F., M. A. F. Pedrosa, G. B. L. Ribeiro et al. Uni- and bi-parental analyses of the genetic contribution in an Afro-descendent community in central Brazil. In *Biología de Poblaciones Humanas: Diversidad, Tiempo, Espacio (1 ed)*, J. E. Egocheaga, ed. Oviedo: Universidad de Oviedo, 2004; 1:609–616.

Palmares. 2013. Fundação Cultural Palmares home page. [www.palmares.gov.br/](http://www.palmares.gov.br/). Acessdo em 10 de Maio de 2013.

Pinier M, Fuhrmann G, Verdu E, Leroux JC. Prevention measures and exploratory pharmacological treatments of celiac disease. *Am.J. Gastroenterol* 2010;105:2551–6.

Plot L, Amital H. Infectious associations of Celiac disease. *Autoimmun Rev* 2009;

Reis J.J, Gomes F. (1996) *Liberdade por um fio. História dos quilombos no Brasil*. São Paulo, Companhia das Letras, ed. Schwarcz.

Romanos J, van Diemen CC, Nolte IM et al. Analysis of HLA and non-HLA alleles can identify individuals at high risk for celiac disease. *Gastroenterology* 2009;137: 834–40.

Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, Sollid LM, Khosla C. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science* 2002; 297, 2275–79.

Smyth DJ, Plagnol V, Walker NM, Cooper JD, Downes K, Yang JH, et al. Shared and distinct genetic variants in type 1 diabetes and celiac disease. *N Engl J Med*. 2008;359:2767-77.

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

Sood A, Midha V, Sood N, Avasthi G, Sehgal A. Prevalence of celiac disease among school children in Punjab, North India. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006;21:1622-5.

Stene LC ,Honeyman MC, Hoffenberg EJ, Haas JE, Sokol RJ, Emery L et al. Rota virus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study. *Am J Gastroenterol* 2006; 101:2333–40.

Tack GJ, Verbeek WH, Schreurs MW, Mulder CJ. The spectrum of celiac disease: epidemiology, clinical aspects and treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7:204–13.

Taddei JA, Colugnati F, Cobayashi F. Chamada nutricional: uma avaliação nutricional de crianças quilombolas de 0 a 5 anos. *Cad Estud Desenv Soc Debate*. 2008;9:55–66.

Tatar G, Elsurer R, Simsek H, Balaban YH, Hascelik G, Ozcebe OI, Buyukasik Y, Sokmensuer C. Screening of tissue transglutaminase antibody in healthy blood

donors for celiac disease screening in the Turkish population. *Dig Dis Sci*. 2004;49:1479-84.

Trynka G, Hunt KA, Bockett NA, Romanos J, Mistry V, Szperl A, et al. Dense genotyping identifies and localizes multiple common and rare variant association signals in celiac disease. *Nat Genet*. 2011; 43:1193-201.

Trynka G, Wijmenga C, van Heel DA. A genetic perspective on coeliac disease. *Trends Mol Med*. 2010;16:537-50.

Vader LW, Stepniak DT, Bunnik EM, Kooy YM, de Haan W, Drijfhout JW, et al. Characterization of cereal toxicity for celiac disease patients based on protein homology in grains. *Gastroenterology*. 2003;125:1105-13.

van Belzen MJ, Meijer JW, Sandkuijl LA, Bardoel AF, Mulder CJ, Pearson PL, et al. A major non-HLA locus in celiac disease maps to chromosome 19. *Gastroenterology* 2003; 125:1032–41.

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

van Heel DA, Franke L, Hunt KA, Gwilliam R, Zhernakova A, Inouye M, et al. A genome-wide association study for celiac disease identifies risk variants in the region harboring IL2 and IL21. *Nat Genet* 2007;39:827–9.

Vives-Pi M, Takasawa S, Pujol-Autonell I, Planas R, Cabre E, Ojanguren I, Montraveta M, Santos AL, Ruiz-Ortiz E. Biomarkers for diagnosis and monitoring of celiac disease *J Clin Gastroenterol* ,2013;47:308–313.

Walker MM, Murray JA, Ronkainen J, Aro P, Storskrubb T, D'Amato M, Lahr B,

Talley NJ, Agreus L. Detection of celiac disease and lymphocytic enteropathy by parallel serology and histopathology in a population-based study. *Gastroenterology*. 2010;139:112-9.

Wolters VM, Wijmenga C. Genetic background of celiac disease and its clinical implications. *Am J Gastroenterol* 2008; 103:190–5.

Zhernakova A, van Diemen CC, Wijmenga C. Detecting shared pathogenesis from the shared genetics of immune-related diseases. *Nat Rev Genet*. 2009; 10:43-55.

**ANEXO:**  
**APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE DE  
BRASÍLIA PARA A MANIPULAÇÃO DAS AMOSTRAS SELECIONADAS.**



Universidade de Brasília  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/FS

## PROCESSO DE ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro do Projeto no CEP: 151/07

Título do Projeto: ANCESTRABILIDADE BIOLÓGICA DE POPULAÇÕES REMANESCENTES DE QUILOMBOLAS BASEADA EM MARCADORES MOLECULARES LOCALIZADOS EM CROMOSSOMOS SEXUAIS E AUTOSSÔMICOS.

Pesquisador Responsável: Silviene Fabiana de Oliveira

Data de Entrada: 30/11/2007

Com base nas Resoluções 196/96, do CNS/MS, que regulamenta a ética da pesquisa em seres humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, após análise dos aspectos éticos e do contexto técnico-científico, resolveu **APROVAR** o projeto 151/2007 com o título: “Ancestrabilidade Biológica de Populações Remanescentes de Quilombolas Baseada em Marcadores Moleculares Localizados em Cromossomos Sexuais e Autossômicos”, analisado na 11ª Reunião Ordinária, realizada no dia 11 de Dezembro de 2007.

A pesquisadora responsável fica, desde já, notificada da obrigatoriedade da apresentação de um relatório semestral e relatório final sucinto e objetivo sobre o desenvolvimento do Projeto, no prazo de 1 (um) ano a contar da presente data (item VII.13 da Resolução 196/96).

Brasília, 12 de Dezembro de 2008.

Prof. Volnei Garrafa  
Coordenador do CEP-FS/UnB