

FERNANDA SOUSA CARDOSO LOPES

**ESTUDO DA PREVALÊNCIA DE DOENÇAS AUTOIMUNES NÃO-TIREOIDIANAS
E DA POSITIVIDADE DOS AUTO-ANTICORPOS RELACIONADOS AO DIABETES
MELLITUS TIPO 1 E À DOENÇA CELÍACA EM PACIENTES PEDIÁTRICOS E
ADULTOS COM TIREOIDITE AUTOIMUNE E SUA CORRELAÇÃO COM
PARÂMETROS CLÍNICOS**

Brasília – DF, 2018.

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

FERNANDA SOUSA CARDOSO LOPES

**ESTUDO DA PREVALÊNCIA DE DOENÇAS AUTOIMUNES NÃO-TIREOIDIANAS
E DA POSITIVIDADE DOS AUTO-ANTICORPOS RELACIONADOS AO DIABETES
MELLITUS TIPO 1 E À DOENÇA CELÍACA EM PACIENTES PEDIÁTRICOS E
ADULTOS COM TIREOIDITE AUTOIMUNE E SUA CORRELAÇÃO COM
PARÂMETROS CLÍNICOS**

**Dissertação apresentada como requisito
parcial para a obtenção do Título de Mestre em
Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-
Graduação em Ciências Médicas da
Universidade de Brasília**

Orientador: Luiz Claudio Gonçalves de Castro

Brasília – DF, 2018

FERNANDA SOUSA CARDOSO LOPES

**ESTUDO DA PREVALÊNCIA DE DOENÇAS AUTOIMUNES NÃO-TIREOIDIANAS
E DA POSITIVIDADE DOS AUTO-ANTICORPOS RELACIONADOS AO DIABETES
MELLITUS TIPO 1 E À DOENÇA CELÍACA EM PACIENTES PEDIÁTRICOS E
ADULTOS COM TIREOIDITE AUTOIMUNE E SUA CORRELAÇÃO COM
PARÂMETROS CLÍNICOS**

**Dissertação apresentada como requisito
parcial para a obtenção do Título de Mestre
em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-
Graduação em Ciências Médicas da
Universidade de Brasília**

Aprovado em ____/____/____

Banca examinadora

Prof. Dr. Luiz Claudio Gonçalves de Castro (Presidente) _____
Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília

Profa. Dra. Angélica Amorim Amato _____
Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

Profa. Dra. Lenora Gandolfi _____
Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília

Profa. Dra. Mariana Machado Hecht _____
Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília
Membro suplente

Lopes, Fernanda Sousa Cardoso

Estudo da prevalência de doenças autoimunes não-tireoidianas e da positividade dos auto-anticorpos relacionados ao diabetes mellitus tipo 1 e à doença celíaca em pacientes pediátricos e adultos com tireoidite autoimune e sua correlação com parâmetros clínicos

. Brasília, 2018.

72 p.:il.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília

Orientador: Luiz Claudio Gonçalves de Castro

1. Autoimunidade 2. Tireoidite autoimune 3. Diabetes Mellitus tipo 1 4. Doença Celíaca 5. ASCA

AGRADECIMENTOS

Para a realização de um bom trabalho, precisamos estabelecer muitas parcerias. Agradeço a todos que por meio de dedicação de tempo, paciência, conhecimento, escuta, apoio e torcida estiveram no meu caminho durante estes 4 semestres de confecção desta tese.

À minha família que abriu mão da minha presença em alguns momentos. Meus filhos que me viam indo colher meus “sanguinhos” e achavam o máximo a mamãe levando a caixinha de isopor para o trabalho. Meu marido Daniel, que me dava espaço para estudar, escrever e nos momentos de cansaço me fazia rir. Seu apoio incondicional às minhas decisões profissionais são vitais para que eu consiga realizá-las com tranquilidade. Minha mãe que, mesmo longe, sempre tem palavras de ânimo acreditando nos meus feitos, mesmo quando eu não acreditava que conseguiria.

Agradeço minha prima Isabella, à Danielle e minha sogra Norka, familiares que permitiram que eu escrevesse e estudasse. Elas se revezaram no cuidado com meus pequenos, proporcionando-lhes muita diversão e assim, meu coração ficou menos apertado por estar ausente.

Ao meu chefe, orientador e mestre Professor Dr Luiz Claudio, que inspira a todos diariamente, que acreditou sempre neste projeto e lutou ao meu lado para que ele saísse do papel e se tornasse um trabalho científico. Suas palavras de apoio, sua colaboração intelectual, suas ideias para as amarras que surgiram, foram primordiais para o fim deste enredo. Agradeço a oportunidade de aprendizado diário ao seu lado, em amplos aspectos da vida. Sua dedicação é inspiradora.

À minha equipe de trabalho. Minha colega de todas as horas, Renata Santarém que desde o momento da escolha do mestrado e a cada paciente que incluía ela se animava e me trazia palavras de incentivo. Preocupava-se com cada passo e muitos foram os conselhos que ela me deu. Às residentes do HUB, especialmente Naiara, Delia, Laís, Dyrlande e Danielle que estiveram nesta trajetória, me auxiliando nos atendimentos aos pacientes e sempre muito empolgadas com as conquistas diárias. Algumas até deram seu sangue, literalmente.

À equipe do Laboratório de Biociências da Universidade de Brasília, mais conhecido como Laboratório de Doença Celíaca, me senti abraçada por cada membro da equipe. Sempre com disponibilidade, apoio, ideias e disposição. Foram muitas as pessoas que me ajudaram e contribuíram direta e indiretamente para a realização deste projeto. Professora Lenora que sempre me apoiou e me recebia de braços abertos nas disciplinas por ela ministradas. Professor

Pratesi que sempre tinha críticas muito construtivas a oferecer e cobrava com os olhos nossas atitudes e resultados. Professora Rosa muito obrigada pela paciência em me explicar o funcionamento do laboratório, sempre solicita em oferecer empréstimos de livros, organizar minha pesquisa e torcia com cada novo paciente incluído. Professora Mariana que veio trazendo boas ideias, torcendo para que tudo desse certo.

Agradeço aos alunos do laboratório, especialmente à Nicole que dedica muito de seu tempo em tentar ajudar os demais alunos, até se sacrificando mais do que deveria. Seu conhecimento e paciência foram fundamentais para que este trabalho acontecesse. Ao Jefferson e Geysa que também me ajudaram muito nas minhas sorologias e sempre acreditaram no projeto.

Um agradecimento especial à Cida, farmacêutica do Laboratório que contribuiu diretamente para os nossos resultados. Sua dedicação é impar, além de muito competente, também vibra com cada resultado e defende com unhas e dentes a qualidade do trabalho. Você foi essencial para que esta tese chegasse ao seu final.

E mais uma vez e como faço diariamente, agradeço a Deus, por esta caminhada, pela saúde, energia e paz para, assim, conseguir chegar ao fim desta trajetória

Muito obrigada a todos.

“A dúvida é o princípio da sabedoria”

Aristóteles

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1: Demografia da população estudada	21
Tabela 2. Caracterização dos pacientes que apresentam associação de tireoidite autoimune e doenças autoimunes não-tireoidianas clinicamente manifestas.....	22
Tabela 3. Demografia dos subgrupos HT e DG categorizados por idade de aparecimento da DAT.....	23
Tabela 4. Marcadores sorológicos para DM1, DC e ASCA no grupo estudado, categorizado pelo tipo de DAT.....	25
Tabela 5. Marcadores Sorológicos para DM1, DC e ASCA no grupo estudado, categorizado pela idade de aparecimento da DAT.....	26
Tabela 6. Marcadores Sorológicos para DM1, DC e ASCA no grupo estudado, categorizado pelo sexo.....	26
Tabela 7. Comparação da frequência do ASCA IgA e IgG em nosso estudo e nos estudos anteriores.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA: anticorpo anti-insulina

AR: artrite reumatóide

AIJ: Artrite Idiopática Juvenil

ASCA: anticorpo anti- *Saccharomyces cerevisiae*

ATPO: anticorpo anti-tireoperoxidase

ATT: anticorpo anti-tireoglobulina

DAI: doença autoimune

DAINT: doença autoimune não- tireoidiana

DAT: doença autoimune da tireoide

DC: doença celíaca

DCr: doença de Crohn

DG: doença de Graves

DII: doença inflamatória intestinal

DM1: diabetes mellitus tipo 1

DTP-1: *Diabetes Trial-Type 1* ou Ensaio clínico Diabetes Tipo 1

EMA-IgA: anti-endomísio-IgA

FITC: isotiocianato de fluoresceína

GADA₆₅: anticorpo anti-descarboxilase do ácido glutâmico -65

HLA: Antígeno de Histocompatibilidade Leucocitário Humano

IA2: anticorpo anti-tirosina fosfatase

ICA: anticorpo anti-ilhota das células pancreáticas

IPEX: Imunodesregulação, Poliendocrinopatia, Enteropatia e ligado ao X

LDC-FM/UnB: Laboratório de Doença Celíaca da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília

LLM: lectina ligada à manose

LES: lúpus eritematoso sistêmico

pANCA: anticorpo anti-neutrófilo citoplasmático perinuclear

PBS: *Phosphate Buffered Saline* - tampão fosfato-salino

RCU: retocolite ulcerativa

SNP: *single-nucleotide polymorphisms* ou polimorfismos de nucleotídeo único

SPA: Síndrome poliglandular autoimune

TALE: Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

TCLE: Termo Consentimento Livre e Esclarecido

TH: Tireoidite de Hashimoto

TMB: substrato 3,3',5,5' Tetrametilbenzidina

TRAb: anticorpo anti-receptor do TSH

Tregs: células T regulatórias

TSH: hormônio estimulador da tireóide

T3: triiodotironina

T4: tetraiodotiroxina

tTG-IgA: anti-transglutaminase-IgA

ZnT8: anticorpo anti-molécula de zinco 8

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT	iii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	10
2.1 OBJETIVO GERAL.....	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
3 METODOLOGIA.....	12
3.1 Caracterização.....	13
3.2 Considerações éticas.....	13
3.3 Sujeitos.....	13
3.4 Métodos.....	14
3.4.1 Coleta de dados clínicos.....	14
3.4.2 Ensaios laboratoriais.....	15
3.5 Análise Estatística.....	19
4 RESULTADOS.....	20
4.1 Caracterização dos grupos.....	21
4.2 Triagem Sorológica.....	25
a. DM1.....	27
b. DC.....	27
c. ASCA.....	27
5 DISCUSSÃO.....	29
6 CONCLUSÃO	39
7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
8 APÊNDICES.....	50
TCLE.....	51
TALE.....	52
Ficha de Dados.....	53
9 ANEXOS	55
Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.....	56

RESUMO

Introdução: As doenças autoimunes da tireoide (DAT), tireoidite de Hashimoto (TH) e doença de Graves (DG), apresentam aspectos em sua fisiopatogenia comuns a diversas autoimunidades e constituem fatores de risco para o aparecimento de outras doenças autoimunes (DAI). A questão inicial que desencadeou o desenho deste estudo foi o interesse em reconhecer se havia diferença na prevalência ou na susceptibilidade de DAI não-tireoidianas (DAINT) entre indivíduos com TH e DG.

Objetivos: Conhecer e estudar a prevalência de DAINTS clinicamente manifestas e da positividade dos auto-anticorpos relacionados ao diabetes mellitus tipo 1 (DM1) e à doença celíaca (DC) em pacientes pediátricos e adultos com TH e DG, acompanhados no Hospital Universitário de Brasília, e investigar sua correlação com parâmetros clínicos. Investigou-se também a frequência de positividade de anticorpos anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA-IgA e IgG) nesse grupo.

Métodos: Foram incluídos neste estudo transversal 145 pacientes com idades entre 2 e 50 anos (114 do sexo feminino, 79 crianças e adolescentes), sendo 74 indivíduos com TH. Avaliou-se a história clínica de cada paciente, coletados dados clínicos, avaliada a coexistência de DAINTS, a presença de história familiar de DAT e realizada coleta de sangue para dosagem de anticorpos relacionados ao DM1 (GADA₆₅ e IA2) e à DC (tTG-IgA e EMA-IgA) e de anticorpos ASCA-IgA e IgG.

Resultados: A média de idade ao diagnóstico da DAT no grupo total foi de $20 \pm 11,4$ anos e a média do tempo de doença $6,4 \pm 5,9$ anos. As médias de idade ao diagnóstico do HT e da DG na população pediátrica foram $10,9 \pm 3,5$ anos e $10,9 \pm 3,7$ anos; e entre adultos de $30,3 \pm 7,4$ anos e $31,5 \pm 6,9$ anos, respectivamente. A prevalência de DAINTS foi de 8,2% entre os indivíduos, sendo as mais frequentes DM1 (5/12) e DC (4/12), correspondendo à prevalência de DM1 de 3,5% (1:20 pacientes) e de DC de 2,8% (1:36 pacientes). Os pacientes do sexo masculino apresentaram um risco 3,2 vezes maior de desenvolver uma segunda DAINTS ($p = 0,004$) e quatro vezes maior para uma terceira DAINTS ($p = 0,017$). O grupo pediátrico apresentou risco 53% maior de desenvolver uma segunda DAINTS quando comparado aos

adultos ($p = 0,042$). A positividade para GADA₆₅, IA2 e ASCA-IgG foi observada em 9,6%, 2,7% e 14,4% dos indivíduos do grupo total, respectivamente.

Conclusão: Indivíduos com DAT apresentaram maior prevalência de DM1 e DC que a população geral e elevada frequência de anticorpos relacionados ao DM1 e à DC. Não houve diferença na prevalência de DAINTs entre indivíduos com TH e DG e entre pacientes pediátricos e adultos. Os pacientes do sexo masculino, independente da idade, apresentaram maior risco de desenvolver duas ou mais DAINTs e maior prevalência de anticorpos relacionados à DC. A população pediátrica com DAT apresentou maior frequência de agrupamento de DAIs que os adultos. Esses dados dão base à importância de se proceder com triagem clínica e sorológica periódica para DAINTs em indivíduos com DAT ao longo de todo seu acompanhamento, em especial em pacientes pediátricos do sexo masculino.

Palavras-chave: *doença autoimune da tireoide, diabetes mellitus tipo 1, doença celíaca, poliautoimunidade, ASCA*

ABSTRACT

Background: Autoimmune thyroid disease (ATD), Hashimoto's thyroiditis (HT) and Graves' disease (GD), share common aspects of its etiopathogenesis with some autoimmunities and constitute risk factors for the development of other autoimmune diseases (AID). The initial question that triggered the design of this study was the interest in recognizing whether there was a difference in the prevalence or susceptibility of non-thyroid AID (NTAID) among individuals with HT and DG.

Objectives: To recognize and study the prevalence of clinically manifest NTAID and the positivity of autoantibodies related to type 1 diabetes mellitus (T1DM) and celiac disease (CD) among pediatric and adult patients with HT and DG, followed at the Brasilia University Hospital, and to investigate their correlation with clinical parameters. We also investigated the frequency of positivity of anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies (ASCA-IgA and IgG) in that population.

Methods: In this cross-sectional study 145 patients aged 2 to 50 years (114 females, 79 children and adolescents) were enrolled, 74 of them with HT. It was collected the clinical history of each patient, their clinical data, coexistence of NTAID and the presence of a family history of ATD. Blood samples were collected for the determination of T1D (GADA₆₅ and IA2) and CD (tTG-IgA and EMA IgA) related antibodies, as well as for ASCA-IgA and IgG.

Results: The mean age at diagnosis of ATD in the total group was 20 ± 11.4 years and the mean time of duration of disease was 6.4 ± 5.9 years. The mean age at the diagnosis of HT and GD in the pediatric population was 10.9 ± 3.5 years and 10.9 ± 3.7 years; and among adults 30.3 ± 7.4 years and 31.5 ± 6.9 years, respectively. NTAIDs were observed in 8.2% of the individuals, the most frequent being T1D (5/12) and CD (4/12), corresponding to a prevalence of DM1 of 3.5% (1:39 patients) and of CD of 2.8% (1:36 patients). Male patients presented a 3.2-fold increased risk of developing a second NTAID ($p = 0.004$) and four times higher risk for a third NTAID ($p = 0.017$). The pediatric group presented a 53% higher risk of developing a second NTAID when compared to adults ($p = 0.042$). The positivity for GADA₆₅, IA2 and ASCA-IgG was observed in 9.6%, 2.7% and 14.4% of the individuals in the total group, respectively.

Conclusion: Individuals with ATD presented a higher prevalence of T1DM and CD than the general population and a higher frequency of antibodies related to T1DM and CD. There was no difference in the prevalence of NTAID among individuals with HT and GD nor between the pediatric and the adult groups. Male patients, regardless of age, were at increased risk of developing two or more NTAIDs and a higher prevalence of CD-related antibodies. The pediatric population with ATD presented a higher frequency of AID-clustering than adults. These data support the importance of proceeding with periodic clinical and serological screening for NTAID in individuals with ATD throughout their follow-up, especially in pediatric male patients.

Key words: *autoimmune thyroid diseases, celiac disease, type1 diabetes, screening, polyautoimmunity, ASCA*

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

As doenças autoimunes (DAI) representam condições clínicas decorrentes da agressão de componentes do sistema imunológico do indivíduo direcionados contra uma ou mais estruturas celulares dos diferentes tecidos do próprio organismo. Esse processo resulta de uma interação complexa entre predisposição genética e fatores ambientais.(1) Apesar de cerca de oitenta doenças autoimunes já terem sido descritas, são condições consideradas raras na população geral. Dados epidemiológicos mostram que acometem menos de 5% dos adultos e menos de 2% das crianças e adolescentes.(2)

Um aspecto importante da epidemiologia das DAI é que suas taxas de incidência e prevalência apresentam diferenças em subgrupos da população geral, sendo mais elevadas no sexo feminino, em familiares de indivíduos com DAI e em indivíduos com determinadas condições, como Síndrome de Turner, Síndrome de Down e na presença de outras doenças autoimunes.(3)

As doenças autoimunes da tireóide (DAT) correspondem a cerca de 30% das DAI e na faixa etária pediátrica são os distúrbios mais prevalentes desta glândula, os quais se manifestam em dois espectros: a tireoidite linfocítica crônica e o hipertireoidismo autoimune.(4)

A tireoidite linfocítica crônica (ou tireoidite de Hashimoto - TH) tem prevalência estimada na população caucasiana geral próxima a 5% e de 1,3% na população entre 11 e 18 anos de idade, com maior incidência no sexo feminino. Em pediatria é mais comum se manifestar na adolescência, raramente aparecendo na fase de lactente.(5) É caracterizada pela presença de infiltrado linfocítico de células foliculares da tireoide, presença de auto-anticorpos marcadores da exposição de componentes dessas células: anticorpos anti-tireoglobulina (ATT) e anticorpos anti-tireoperoxidase (ATPO), e por diminuição da ecogenicidade da glândula à ultrassonografia. A TH pode evoluir ou não para hipotireoidismo.(6)

O hipertireoidismo autoimune (ou doença de Graves - DG) é a principal causa de hipertireoidismo em todas as faixas etárias, sendo sua maior incidência no sexo feminino, entre a 4ª e 5ª décadas de vida. Na infância e adolescência o pico de incidência ocorre entre 11 e 15 anos de idade, com predomínio no sexo feminino e em pacientes com história familiar positiva para DAT. Sua incidência é bastante variada em diferentes populações, variando de 2,8 a 50 novos casos por 100.000 habitantes por ano.(5,7) Laboratorialmente é caracterizado por supressão do hormônio estimulador da tireóide (TSH), elevação dos hormônios tiroidianos: tetraiodotiroxina (T4) e triiodotironina (T3).(5)

A autoimunidade nas tireoidites é confirmada pela detecção de anticorpos dirigidos contra antígenos específicos. O ATT encontrado em mais de 90% dos casos de TH, também é encontrado na DG em 40-70% dos casos e pode ser visto em aproximadamente 20% de indivíduos eutiroidianos. A presença de ATPO, em concentrações pelo menos dez vezes acima do limite superior dos valores de referência do método, é considerado diagnóstico de DAT e pode estar presente em ambas tireoidopatias, TH e DG. Os anticorpos anti-receptor de TSH (TRAb) apresentam alta especificidade e sensibilidade para DG e também são descritos na TH. O TRAb apresenta meia-vida longa e é encontrado em 3 subtipos: anticorpos estimulatórios (sTRAb), inibitórios (iTRAb) e anticorpos neutros (nTRAb). O anticorpo estimulatório é responsável pela clínica do hipertiroidismo na DG.(5)

Observa-se a existência de parentes de primeiro grau com quadros tanto de HT quanto DG dentro de uma mesma família e ainda há descrição de pacientes que transitam entre estas duas condições clínicas, o que remete à uma base fisiopatológica comum em alguns pontos do processo genético e imunoregulatório.

Os genes que levam à susceptibilidade para as DATs podem ser separados em dois grupos: genes específicos da tireoide e genes imunoregulatórios. Os genes específicos da tireoide são o *TSHR*, que em alguns estudos mostrou que single-nucleotide polymorphisms (SNPs) neste gene estão associados a doença de Graves na população caucasiana; e o gene *TG* é considerado por alguns autores como o gene gatilho para DAT.(8)

Já os genes imunoregulatórios são *FOXP3*, *CD25*, *CD40*, *CTLA4* e o antígeno leucocitário de histocompatibilidade (*HLA*). Observa-se que mutações nestes genes são fatores de risco para diferentes doenças autoimunes em estudos com casos-controle, incluindo DM1, DAT e artrite reumatóide (AR). Até o momento, não se conseguiu identificar um único gene que seja crucial para o desenvolvimento de doenças autoimunes e os dados de estudos consistentes mostram haver uma grande complexidade na influência de fatores genéticos sobre o processo de auto tolerância. A interação e o sinergismo entre fatores genéticos e ambientais podem deflagrar a DAI clinicamente manifesta. (18)

Duas doenças monogênicas ajudaram na elucidação da importância da tolerância e regulação tímica das células T nas doenças autoimunes: a síndrome IPEX e a síndrome poliglandular autoimune. A síndrome IPEX (imunodesregulação, poliendocrinopatia, enteropatia e ligado ao X) caracteriza-se por ser uma doença fatal com aparecimento de autoimunidades ainda na fase neonatal, como insuficiência adrenal, hipo ou hipertiroidismo autoimune, enteropatia autoimune, DM1, dermatite autoimune, entre outras. Esses pacientes apresentam mutação no gene *FOXP3*, que é responsável pelo funcionamento normal das células

T regulatórias (Tregs) (9). A síndrome poliglandular autoimune (SPA) pode cursar com hipoparatiroidismo, doença de Addison, candidíase mucocutânea e outras doenças autoimunes como o hipotireoidismo. Essa síndrome decorre da mutação do gene *AIRE*, que é expresso no epitélio celular da medula tímica e tem papel chave na apresentação de diferentes antígenos-próprios expressos ectopicamente às células T imaturas. Pelo menos 60 mutações foram descritas neste gene e seus portadores apresentam falha na apresentação de antígenos próprios no timo, levando à perda de auto tolerância.(10)

Há grande corpo de evidências de alterações epigenéticas como causa de doenças autoimunes. Entre as diversas alterações descritas em pacientes com DAT, distúrbios da metilação do DNA podem levar à repressão de genes imunoregulatórios. Um interessante estudo com pacientes com DG mostrou maior prevalência de alterações na metilação do DNA neste grupo (82 genes hipermetilados e 103 genes hipometilados) quando comparados aos controles.(11)

Outras alterações epigenéticas também são descritas, como a acetilação ou metilação na cauda das histonas, que ao modificar a estrutura da cromatina, promove um maior relaxamento ou excesso de condensação de sua estrutura, o que resulta na alteração da taxa de transcrição gênica. Um estudo com pacientes com DG demonstrou que em suas células mononucleares de sangue periférico havia diminuição global dos níveis de acetilação na histona H4 e altos níveis de histona deacetilase quando comparados a controles saudáveis.(12)

O fato do sexo feminino apresentar maior prevalência de DAI parece estar relacionado ao processo fisiológico de inativação de um dos cromossomos X. Neste cromossomo localizam-se vários genes relacionados à imunoregulação do indivíduo, como o *FOXP3*, gene ligante do *CD40* e o *TLR7*. As hipóteses sugeridas para explicar mecanismos relacionados a essa maior prevalência de DAI entre as mulheres seriam: (a) perda do mosaicismos celular fisiológico e característico do sexo feminino, que pode ser entendido como o estado de mosaicismos dos diferentes tecidos femininos, resultante da inativação aleatória do cromossomo X, levando a dois padrões geneticamente distintos das células no organismo feminino; essa perda do mosaicismos seria desencadeada por distúrbios na inativação aleatória do cromossomo X e promoveria desorganização de mecanismos de auto tolerância nas células do timo; (b) reativação de genes previamente silenciados, como a reativação do *CD40L*, nas células T, que promoveria a superexpressão de genes ligados ao X relacionados à imunoregulação; e a haploinsuficiência de genes relacionados à regulação imune localizados na região pseudo-autossômica do cromossomo X, das células B ou T.(13)

A interação entre fatores genéticos e ambientais parece ser o gatilho para o

desenvolvimento autoimune, como exposição a agentes bacterianos ou virais, aos gases do tabaco, compostos químicos (ftalatos e compostos retardadores de chamas) e ao quimerismo materno-fetal (presença de material de DNA fetal circulante em plasma materno). (14)

Ambas, imunidade celular e humoral, desempenham papéis importantes na fisiopatologia das DAT. Inicialmente, ocorre perda da auto-tolerância aos antígenos da tireoide, seguido pela infiltração linfocítica na glândula. No HT, esse infiltrado leva à formação de núcleos de células germinativas e destruição dos tirócitos; enquanto na DG esse infiltrado induz o aumento da vascularização, mas não leva a destruição celular. Posteriormente, a exposição dos antígenos intracelulares leva as células B a expressarem autoanticorpos dirigidos contra antígenos da tireoide: contra a peroxidase da tireoide, formando o ATPO e contra a tireoglobulina, formando a ATT. No caso da DG, o TRAb se acopla ao receptor do TSH promovendo um estímulo constante da sinalização pós-receptor e consequente quadro de hipertiroidismo.(15)

As Tregs desempenham papel importante na regulação do sistema imune, por suprimir a resposta imune e manter o processo de auto-tolerância. Elas correspondem a 5-10% das células T CD4+, e são identificadas pela expressão do fator de transcrição *FOXP3* e alta expressão superficial de *CD25*, que conferem a essas células grande capacidade supressiva do sistema imune. Sua ação ocorre através de mecanismos dependentes de contato célula a célula e outros independentes de contato, tais como produção de citocinas imunossupressoras, como o fator de transformação de crescimento (TGF- β), interleucina-10, Interleucina-35 e adenosina, que inibem a resposta T celular antígeno-específica.(16)

Pacientes com DAT tem um risco aumentado de desenvolver outras doenças autoimunes. Estudos mostram que o grupo de DG apresenta frequência de aproximadamente 10% de outras autoimunidades, enquanto os pacientes com HT tem frequência próxima a 14%.(16) Este status de poliautoimunidade, caracterizado pela presença de mais de duas DAI, permite inferir que estes pacientes têm uma disfunção de mecanismos críticos que asseguram a auto-tolerância.(14) As DAIs mais frequentemente associadas às tireoidites autoimunes são a DC, DM1, doença de Addison, vitiligo e AR. Há também descrição de associação com doença inflamatória intestinal (DII) em menor proporção, mas elevada positividade do anticorpos anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) em alguns grupos de pacientes com tireoidites (17).

A DC é uma condição clínica crônica inflamatória e sistêmica de origem autoimune como resultado da intolerância permanente ao glúten, em pacientes geneticamente predispostos. Estima-se que sua prevalência esteja entre 0,6 a 1,0% da população mundial e de 1:119 a 1:417 indivíduos nas diversas regiões do Brasil. (18) É uma doença com espectro amplo de

manifestações, com sintomas clássicos de uma desordem desabsortiva intestinal, como diarreia crônica, distensão abdominal, perda de peso, déficit de crescimento e deficiência de nutrientes. Os pacientes podem também apresentar sintomas não clássicos e inespecíficos, como fadiga, anemia, alteração da massa óssea, convulsões idiopáticas e doenças hepáticas criptogênicas.(19)

Sorologicamente, a DC é caracterizada pela presença de anticorpos anti-transglutaminase IgA (tTG-IgA) e anti-endomísio (EMA-IgA), com diagnóstico comprobatório a partir da biópsia intestinal com suas lesões histopatológicas características.(19) Nas últimas décadas, houve importante avanço no conhecimento da patogênese da DC a partir da melhor compreensão do papel dos *HLAs* de susceptibilidade. Os *HLA-DQ2* e *DQ8* e suas variantes são os marcadores mais consistentes documentados e conferem um risco de aproximadamente 40% para o desenvolvimento de DC. Para o diagnóstico de DC, estudos mostram sensibilidade na genotipagem do HLA (*DQ2/DQ8*) de 98,8%, e especificidade de 96,2%, a partir da positividade da anti-transglutaminase.(20)

Em pacientes com DAT, dados epidemiológicos mostram uma prevalência de DC entre 2 a 5%, superior à prevalência na população geral.(21) Ainda neste contexto, um estudo indiano robusto realizado com 577 crianças, adolescentes e adultos com tireoidite autoimune e comprovada positividade do ATPO, mostrou prevalência significativamente maior de anticorpos marcadores de DC (tTG-IgA: 6,9%) e DM1 (GADA₆₅: 12,5%) quando comparados à população controle (3,5% e 4,3%, respectivamente).(22)

Estudos em população pediátrica descrevem que determinados haplótipos parecem conferir maior risco de o indivíduo apresentar doenças autoimunes concomitantes, como DAT, DC e DM1. Em alguns grupos, o haplótipo *HLA DR3/-DQ2* está presente em 90% dos celíacos e em 50% dos pacientes com DM1; e o *HLA-DQ8* é observado em 10% dos celíacos e em 70% dos diabéticos tipo 1(23). A presença de outros alelos também é descrita em associações de autoimunidades, como o *DPB1*0201* nos casos de tireoidite autoimune e DM1(10).

O DM1 é uma desordem autoimune caracterizada pela destruição progressiva das células beta-pancreáticas por células do sistema imune do indivíduo e consequente deficiência progressiva da síntese de insulina, entretanto com preservação das demais células do pâncreas.(24)

Sua fisiopatologia pode ser explicada pelo seguinte modelo: um indivíduo geneticamente susceptível é exposto a um gatilho ambiental que induz o desenvolvimento de células T reativas capazes de destruir as células beta-pancreáticas, resultando numa progressiva perda de função secretória de insulina.(25)

Os sintomas clínicos clássicos do DM1 são perda de peso, polifagia, poliúria e polidipsia, os quais aparecem marcadamente após a destruição de pelo menos 80-90% das células beta pancreáticas, com padrão histopatológico de insulinite, ou seja, inflamação das células produtoras de insulina.(25)

Os anticorpos circulantes considerados os marcadores sorológicos da autoimunidade no DM1 são o anticorpo anti-descarboxilase do ácido glutâmico (GADA₆₅), anti-insulina (AA), anticorpo anti-tirosina fosfatase 2 (IA2), anti-ilhota das células pancreáticas (ICA) e anti-transportador de zinco 8 (ZnT8). Eles encontram-se positivos em 70-80% dos pacientes recém diagnosticados e podem ser encontrados em apenas 0,5% da população geral. Estes auto-anticorpos são ferramentas utilizadas para diagnóstico da autoimunidade no DM1, sendo um dos primeiros sinais detectáveis neste processo fisiopatológico. Esses anticorpos também podem ser marcadores de predição do risco de um indivíduo de desenvolver DM1. No NIH-Diabetes Trial-Type 1(DTP-1) foi avaliado o risco de um grupo de parentes de primeiro grau de diabéticos em desenvolver DM1 em 5 anos. Foi observado que os sujeitos com apenas um anticorpo positivo tinham de 20 a 25% de risco, os sujeitos com dois anticorpos positivos, de 50-60%, os que apresentavam 3 anticorpos, aproximadamente 70% e os pacientes com 4 anticorpos positivos, tinham 80% de chance de desenvolver DM1 nos próximos 5 anos.(26)

A DII é uma desordem inflamatória crônica do trato gastrointestinal, sendo suas principais entidades a Doença de Crohn (DCr) e a Retocolite Ulcerativa (RCU), doenças crônicas caracterizadas por frequente recorrência e remissão e sua etiologia é de causa desconhecida. Apesar de estudos demonstrarem seu caráter imunológico, ela é resultado de uma resposta imunológica inata e adquirida aberrantes à micro-organismos comensais, em pessoas geneticamente predispostas.(27,28) A DCr pode acometer todo o comprimento do trato digestório, enquanto que a RCU se limita à região colônica do intestino.

O diagnóstico da DII é feito após avaliação clínica, sorológica, radiológica, endoscópica e histológicas. Muitas vezes os quadros de ambas doenças se confundem e não é possível diferenciá-las, nomeando-as DII não classificadas. A diferenciação fenotípica é de extrema importância para o manejo e também para antecipar o curso clínico e prognóstico do paciente. E para auxiliar nesta diferenciação foram propostos alguns testes sorológicos: o anticorpo anti-neutrófilo citoplasmático perinuclear (pANCA) e o ASCA. (29)

O pANCA está presente em 50% a 65% dos pacientes com RCU e em 10% dos pacientes com DCr. Já o ASCA está presente em 55 a 65% dos pacientes com DCr e 5 a 20% dos pacientes com RCU. A combinação dos dois marcadores distingue a DCr da RCU com 40 a 50% de sensibilidade e mais de 90% de especificidade. Como ferramenta diagnóstica, os marcadores

sorológicos não são muito utilizados para distinguir as DIIs típicas especialmente nos pacientes pediátricos, entretanto podem ter grande importância para prever um comportamento mais agressivo da doença. (29)

O ASCA é um anticorpo contra a oligomanose presente na parede celular do *S. cerevisiae*, fungo muito utilizado para confecção de pães. Seus níveis são elevados nos pacientes com DCr, e também são encontrados em pacientes com DC, doença hepática autoimune, cirrose biliar primária, doença de Behçet com comprometimento gastrointestinal e em espondiloartropatias. Foi observado, em um estudo turco, elevado grau de positividade do ASCA IgA e IgG nos pacientes com DAT, embora ainda sem uma explicação fisiopatológica desta ocorrência. (17). Desta forma, a falta de elucidação da frequência da positividade aumentada de ASCA IgA e IgG nesse grupo de pacientes, é interessante se proceder com avaliações dessa sorologia em outros grupos populacionais com DAT, objetivando avaliar a reprodutibilidade deste achado e contribuir para seu esclarecimento.

É bem estabelecido na literatura que a presença de uma autoimunidade aumenta o risco do indivíduo desenvolver uma ou mais autoimunidades subsequentes, em período de tempo bastante variável. Essas autoimunidades subsequentes podem comprometer o crescimento e desenvolvimento das crianças e adolescentes, além de potencialmente desregular o controle metabólico da DAI já existente. Assim, alguns protocolos clínicos sugerem triagem sorológica e bioquímica periódica para as autoimunidades mais frequentemente associadas, para conferir segurança na condução do paciente por permitir identificação mais precoce da segunda DAI.(30,31)

Para o acompanhamento dos pacientes diabéticos tipo 1, é bem documentada e executada na prática clínica a triagem sorológica de outras autoimunidades. Entretanto, apesar da frequente associação de outras autoimunidades com as tireoidites autoimunes, não está estabelecido um protocolo de avaliação periódica para triagem de outras DAIs nestes pacientes.

O DM1 manifesta-se com sinais e sintomas bastante característicos e de forma aguda, alertando o médico assistente quanto ao seu diagnóstico. No caso do DM1 é também possível identificar a presença de anticorpos ainda na fase pré-clínica da doença.

Em relação à DC, esta pode apresentar-se de forma oligo ou paucissintomática ou com comorbididades extra-intestinais não clássicas e não-específicas, o que pode retardar seu diagnóstico e desencadear distúrbios metabólicos crônicos no indivíduo, em especial naqueles em fase de crescimento e desenvolvimento.(32)

Outro ponto importante é que a concomitância de duas ou mais DAI aumenta o risco de aparecimento de complicações relacionadas a cada uma dessas doenças. Como exemplo, é

observado maior risco de nefropatia, retinopatia e distúrbios da massa óssea em pacientes diabéticos tipo 1 que apresentam DC, independente do perfil de controle metabólico, e cujos sintomas da DC podem ser de mais difícil controle quando DM1 está presente.(23)

O conhecimento de dados do perfil sorológico desse grupo de pacientes com DAT pode nos permitir reconhecer os indivíduos que apresentam maior predisposição à DC e ao DM1. Do ponto de vista clínico, esse reconhecimento em tempo oportuno pode permitir uma programação individualizada no acompanhamento do paciente para evitar ou minimizar o atraso diagnóstico da autoimunidade subsequente e o potencial risco de descontrole metabólico, gerando uma rotina otimizada no acompanhamento do paciente com HT ou DG.

JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Como os indivíduos com DAT apresentam maior risco de desenvolver outras DAIs, e nem sempre suas manifestações clínicas são específicas o suficiente para desencadear sua investigação, entende-se ser importante estudar o perfil sorológico desse grupo em relação às principais doenças autoimunes não-tireoidianas (DAINT) associadas: DC e DM1, além de conhecer o perfil de coexistência de doenças autoimunes em pacientes com DAT.

Como a correlação fisiopatológica entre DAT e positividade de ASCA ainda não é compreendida, entende-se também ser importante contribuir com mais dados a respeito desta associação, sabendo-se que apenas a avaliação desses anticorpos não representa impacto em questões de sensibilidade e/ou especificidade no reconhecimento da predisposição à DII (em especial à DCr).

Os dados provenientes deste estudo podem contribuir com uma melhor compreensão da associação entre autoimunidades, dos fatores de risco clínicos envolvidos na predisposição a autoimunidades múltiplas e fornecer ferramentas clínicas e bioquímicas que embasem um protocolo de acompanhamento personalizado, incluindo triagem sorológica e/ou bioquímica periódica, ao longo do acompanhamento desse grupo de pacientes.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

-Conhecer a prevalência de DAINTs clinicamente manifestas e da positividade de autoanticorpos relacionados ao DM1 (GADA₆₅, IA2) e à DC (tTG-IgA e EMA-IgA) em pacientes pediátricos e adultos com doenças autoimunes da tireoide (tireoidite de Hashimoto e doença de Graves).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

-Identificar se há diferença na prevalência de DAINTs clinicamente manifestas quando se compara os pacientes com tireoidite de Hashimoto e aqueles com Doença de Graves.

-Identificar fatores de risco clínicos entre os pacientes com tireoidites autoimunes que possam estar associados a maior prevalência de DAINT (sexo, idade de aparecimento da DAT, história familiar de DAT).

-Identificar e estudar fatores de risco clínicos que possam estar associados ao padrão de positividade de autoanticorpos relacionados ao DM1 e à DC no grupo estudado.

-Comparar os dados da nossa população com aqueles descritos na literatura.

-Avaliar a frequência de positividade de autoanticorpos ASCA-IgA e ASCA-IgG na população estudada.

3 MÉTODOS

3 MÉTODOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO

Trata-se de um estudo transversal e descritivo com pacientes entre 2 e 50 anos de idade que apresentam DAT sorologicamente comprovada, realizado no período de dezembro de 2017 a setembro de 2018, e em acompanhamento no Hospital Universitário de Brasília (HUB), nos setores de Endocrinologia Pediátrica e de Endocrinologia do Adulto.

3.2 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília em novembro de 2017, número 2.407.189, parecer consubstanciado de 30/11/2017 (Anexo I), em conformidade com a Lei Federal 466/12 e de acordo com os princípios éticos acordados na declaração de Helsinque de 2013.(33)

Todos os pacientes participantes do estudo assinaram o Termo Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) no caso de crianças maiores de 7 anos de idade e adolescentes. (Apêndices I e II, respectivamente).

3.3 SUJEITOS

O cálculo da amostra foi feito a partir de dados epidemiológicos que sugerem uma prevalência aproximada de 5% de TH na população caucasiana e de 0,5 a 1,12% de DG na população geral, utilizando-se a ferramenta:

<http://openepi.com/SampleSize/SSPropor.htm>

Apesar da população brasileira ser caracterizada, do ponto de vista étnico, como resultante de uma intensa miscigenação que se iniciou nos primórdios de nossa história, principalmente com ascendência europeia, africana e ameríndia, e esse fato estar documentado nos estudos genéticos de ancestralidade da nossa população, não há estudos de prevalência das DAT em diferentes etnias ou na população brasileira como um grande grupo miscigenado (34). Desta forma, considerou-se os dados de prevalência disponíveis na literatura.

Para uma amostra de adequado poder estatístico, com intervalo de confiança de 95%, seria necessário no mínimo 16 pacientes com DG e 73 pacientes com TH. Com a finalidade de eliminar o viés de prevalência do grupo de TH, os grupos foram inicialmente organizados de modo a serem compostos por 74 indivíduos com HT e 72 indivíduos no grupo com DG, totalizando 146 pacientes.

Foram incluídos indivíduos com idades entre 2 e 50 anos, de ambos os sexos, com

diagnóstico de TH ou DG e cujos dados clínicos e metabólicos confirmatórios de DAT estivessem adequadamente registrados nos prontuários ou nos exames de rotina do paciente. No caso do grupo TH, a anticorpo-gênese contra a tireoide foi estabelecida pela presença de ATPO ou ATT. No grupo DG, foram incluídos indivíduos com TRAb positivo ou que apresentassem cintilografia de tireoide com captação de Iodo acima de 35% após 24 horas e descrito como bócio difuso tóxico ou doença de Graves.

Foram excluídos da pesquisa pacientes que apresentavam outras condições clínicas com risco aumentado de autoimunidades bem estabelecido na literatura médica, como Síndrome de Down e Síndrome de Turner; pacientes em uso crônico de medicamentos que comprometem a análise de anticorpos, como esteroides e outros imunossupressores e os que receberam transfusão de sangue por período inferior a duas vezes o tempo médio de eliminação dos anticorpos, ou seja, 3 meses.

Os potenciais participantes foram reconhecidos a partir de uma amostra de conveniência, representada por aqueles acompanhados no HUB. A amostra inicial foi composta a partir do acesso aos registros médicos de todos os pacientes pediátricos com TH ou DG acompanhados no Setor de Endocrinologia Pediátrica, dos pacientes adultos acompanhados no ambulatório de Endocrinologia Clínica ou que realizaram cintilografia de tireoide no Setor de Medicina Nuclear do HUB. A partir dessa estratégia foram reconhecidos 146 indivíduos, os quais foram contatados e convidados a participar do estudo. No caso dos pacientes pediátricos o contato foi realizado com os pais ou responsáveis. Um paciente do grupo DG foi excluído por falta de amostra suficiente para a realização de todos os testes sorológicos, restando ao final um total de 145 indivíduos (74 com HT e 71 com DG).

3.4 MÉTODOS

3.4.1 Coleta de dados clínicos

Os indivíduos participantes tiveram seus prontuários reanalisados e foram submetidos à nova anamnese e exame físico completos.

Cada paciente teve seus dados registrados em uma folha de coleta de dados, para posterior transferência a uma tabela no programa Excel® (Microsoft), conforme apresentado no Apêndice 3.

Para análise das características dos pacientes e das correlações clínicas e sorológicas objetivadas pelo estudo, o grupo total foi subdividido e categorizado de acordo com os seguintes parâmetros clínicos: tipo de DAT (TH, DG); idade de aparecimento da DAT (grupo pediátrico,

com idade inferior a 20 anos – PED; grupo adulto – ADL); sexo (masculino -M; feminino -F); presença de história familiar de DAT; número de DAINT associadas.

As seguintes doenças auto-imunes não-tireoidianas clinicamente estabelecidas foram encontradas entre os pacientes participantes: diabetes mellitus tipo 1 (DM1), doença celíaca (DC), doenças reumatológicas (artrite juvenil idiopática -AIJ, lúpus eritematoso sistêmico-LES, esclerodermia localizada) ou doenças dermatológicas autoimunes (vitiligo e alopecia areata).

A partir desses dados coletados e agrupados, calculou-se as grandezas estatísticas para caracterização do grupo: distribuição do grupo por sexo e tipo de DAT; média de idade ao diagnóstico da DAT; média de idade atual; prevalência das DAINTs e de história familiar nos grupos TH e DG. Foram em seguida feitas correlações entre as variáveis clínicas e o perfil sorológico dos pacientes, analisando-se a correlação entre a presença de DAINT e o perfil sorológico com o sexo, o tipo de autoimunidade, idade de aparecimento da DAT e história familiar de DAT.

3.4.2 Ensaios laboratoriais

Para a determinação sorológica da anticorpo-gênese dirigida contra as células beta-pancreáticas (no caso do DM1) e do epitélio intestinal (no caso de DC e ASCA) procedeu-se com coleta de sangue para as respectivas análises sorológicas. Foram colhidos 10 mililitros (dez mL) de sangue venoso periférico a partir da veia basílica do antebraço do paciente e armazenados em frasco com ativador de coágulo. As amostras de sangue foram colhidas no HUB, centrifugadas e soradas. O soro de cada paciente foi dividido em alíquotas, as quais foram identificadas e armazenadas no Laboratório de Doença Celíaca da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (LDC-FM/UnB), onde foram armazenadas congeladas a -30°C, até o seu processamento, de modo a permitir acurado manuseio e posterior análise. Todas as etapas de coleta e armazenamento seguiram as orientações da resolução da norma técnica de RDC/ANVISA nº 302/2005, a qual trata sobre coleta, transporte e processamento laboratorial de amostras de sangue.

O soro foi utilizado para as dosagens dos anticorpos tTG-IgA e EMA-IgA, GADA₆₅, IA-2 e ASCA-IgA/IgG. Os mesmos foram avaliados por metodologia ELISA (*Enzyme- linked Immunosorbent Assay*) e todos realizados no LDC-FM/UnB, utilizando-se o aparelho BEST 2000 ELISA Indireto (*Werfen, Barcelona- Espanha*).

a- Doença Celíaca

Para análise sorológica de DC, o kit comercial utilizado foi QUANTA Lite® h-tTG IgA ELISA (*Human Tissue Transglutaminase*), Inova Diagnostics, San Diego-CA, Estados Unidos. A análise foi feita seguindo recomendações do fabricante e em temperatura ambiente (20 a 26°C). Utilizou-se as amostras de soro dos pacientes em diluição 1:100 em PBS (*Phosphate Buffered Saline*- tampão fosfato-salino) com pH 7,2 e homogeneizados em agitador mecânico. Colocou-se 100 µL de soro diluído em seu respectivo poço, dentre os 96 da placa de poliestireno, sensibilizada com transglutaminase tecidual humano e, em seguida, foi feita a incubação por 30 min. Após este procedimento, realizou-se o ciclo de três lavagens automatizadas da placa com 300 µL de tampão de lavagem (tampão fosfato com 0,05% de Tween 20). Na sequência, 100 µL do conjugado de cabra anti- IgA marcado com uma peroxidase, foi adicionado a cada orifício, incubados por 30 min e lavados como descrito anteriormente. O conjugado se liga ao anticorpo humano capturado e o excesso de conjugado é eliminado através das lavagens. Foi adicionado o substrato 3,3',5,5' Tetrametilbenzidina (TMB) que torna a solução azul, cuja intensidade é proporcional à quantidade de anticorpo conjugado nos poços. Adiciona-se ácido sulfúrico aos poços que produz uma cor amarela e indica o término da reação. A leitura é feita pelo espectrofotômetro do BEST 2000 em um comprimento de onda de 450nm. Os valores de referência do exame para o referido kit foram: 0-20 unidades, negativo; 20,01–30 unidades, indeterminado; e acima de 30 unidades, positivo.

Os pacientes que apresentaram valores de tTG-IgA acima de 20 UI foram submetidos à análise do anticorpo anti-endomísio (EMA-IgA, metodologia imunofluorescência indireta) em secções criostáticas de terço inferior de esôfago de macaco *Cebus apella* com 4 micrômetros de espessura. O kit comercial utilizado para EMA-IgA foi o NOVA Lite® *Monkey Oesophagus IgG-IgA EMA KIT*, Inova Diagnostics, San Diego-CA.

As lâminas de imunofluorescência indireta foram preparadas no aparelho AP16 IF plus (Werfen, Roma, Itália). Utilizou-se amostras de 40 microlitros (µL) de soro diluído a 1:5 em solução de PBS com pH 7,2 e incubado em lâmina por 30 min em câmara úmida à temperatura ambiente (15 a 30°C). Lavou-se posteriormente por 3 vezes com tampão PBS por meio de esguichos utilizando pipeta Pasteur incubadas no mesmo tampão por 5 min. Imergindo-as numa cuvette, seguido de uma repetição de lavagem em nova solução tampão. A seguir pipetou-se 30 µL do anticorpo de detecção anti-IgA humano marcado com fluorocromo isotiocianato de fluoresceína (FITC) adicionado a cada poço previamente incubado com soro humano, e novamente incubou-se em câmara úmida por 30 min. Seguido de lavagem com tampão PBS como descrito anteriormente. Após a secagem e montagem com lamínula analisou-se em

microscopia de fluorescência no microscópio Zeiss Axiophot 2® com filtro de excitação de 450nm a 490nm e emissão de 520nm (aumento: 400x) por um mesmo profissional do LDC-FM/UnB. Os resultados são considerados positivos ou negativos quando comparados à coloração da reticulina do tecido conjuntivo em volta das fibras do músculo liso. A análise quantitativa é interpretada de acordo com a fluorescência identificada de 1+ a 4+, utilizando os exemplos fotográficos destes padrões. (ANEXO 5 da bula do fabricante)

b- Diabetes Mellitus tipo 1

Para análise sorológica de DM1, foi utilizado o anticorpo GADA₆₅ ELISA IgG (*Autoantibodies against glutamic acid decarboxylase in human serum*), e o anticorpo IA2 ELISA (*Autoantibodies against tyrosine phosphatase in human serum*), ambos kits do Laboratório EUROIMMUN – Medizinische Labordiagnostika AG, Lubeck, Alemanha; laboratório EUROIMMUN.

O ELISA GADA₆₅ e IA2 são ensaios quantitativos *in vitro* titulados para a descarboxilase do ácido glutâmico (GADA₆₅) e a tirosina-fosfatase, respectivamente.

Na análise do GADA₆₅, o soro do paciente foi incubado com GADA₆₅ revestido em uma microplaca. Os poços das microplacas são revestidos com GADA₆₅ recombinante humano (isoforma GADA₆₅) e o mesmo antígeno é utilizado nas formas biotinizadas. Quando a amostra de soro do indivíduo é positiva para GADA₆₅, anticorpos específicos se ligam ao GADA₆₅. Os anticorpos vinculados são capazes de agir de forma divalente e formar uma ponte entre o GADA₆₅ da microplaca e o GADA₆₅ marcado com biotina, que é adicionado em um segundo passo de incubação. Para detectar a biotina ligada, uma terceira incubação é realizada usando estreptavidina marcada, que é capaz de promover uma reação de cor. A intensidade da cor formada é proporcional à concentração de anticorpos GADA₆₅ presentes no soro do paciente. O teste é realizado em temperatura ambiente e apresenta 92% de sensibilidade e 98% de especificidade. Resultados são considerados positivos para valores de GADA₆₅ superiores a 10 IU/mL. O resultado pode ser falso-positivo em 0,7% de indivíduos saudáveis segundo a bula do fabricante.

Para análise do IA2, o princípio foi semelhante ao anterior. O soro do paciente foi incubado com IA2 revestido em um poço de microplaca. Se a amostra for positiva, anticorpos específicos se ligam ao IA2. Esses anticorpos ligados são capazes de agir de forma divalente e formar uma ponte entre o IA2 no poço da microplaca e o IA2 marcado com biotina, que é adicionada em uma segunda etapa de incubação. Para detectar a biotina ligada, uma terceira incubação é realizada utilizando-se estreptavidina marcada, que é capaz de promover uma

reação de cor. A intensidade de cor formada é proporcional à concentração de anticorpos anti-IA2 no soro do paciente. O teste é realizado entre 4 e 8°C em algumas etapas e à temperatura ambiente em outras. O teste apresenta sensibilidade de 66% e especificidade de 99%, segundo as especificações do fabricante. Resultados são considerados positivos para valores de anti-IA2 superiores a 10 IU/mL.

Os anticorpos contra a descarboxilase do ácido glutâmico (GADA₆₅) ocorrem no diabetes mellitus tipo I com uma prevalência de 60-85%, mas foi observada pela primeira vez na síndrome de Stiff-Man. Já o IA2 não está associado a esta síndrome. Sua prevalência no DM1 é de 48 a 80%, sendo mais frequentemente detectado em pacientes mais jovens. A análise de ambos os anticorpos aumenta a sensibilidade da triagem, pois observa-se que 86% dos pacientes que tem risco comprovado de DM1 apresentam GADA₆₅+ IA2 positivos.

c- Anticorpos ASCA-IgA e IgG

Para a análise desses anticorpos, foi utilizado o kit comercial QUANTA Lite® anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA- IgA e ASCA IgG) ELISA, Inova Diagnostics, San Diego-CA, Estados Unidos) de acordo com as recomendações do fabricante. O QUANTA Lite® ASCA-IgA e IgG baseia-se em ensaios imunoenzimáticos (ELISA) para a detecção semiquantitativa de ASCA da classe IgG e IgA no soro humano. A presença destes anticorpos, em conjunto com outros achados clínicos e outros testes laboratoriais, pode auxiliar no diagnóstico de pacientes com DCr. Entretanto, seu uso isolado apresenta baixa sensibilidade e especificidade nesse propósito, pois pode estar positivo em outras condições gastrointestinais. Na análise do ASCA, o antígeno de *S. cerevisiae* parcialmente purificado é ligado aos poços de uma placa de poliestireno contendo 96 micropoços. Os controles pré-diluídos e os soros de doentes diluídos são adicionados a poços separados permitindo que quaisquer anticorpos ASCA IgG/IgA presentes se liguem ao antígeno imobilizado. A amostra não ligada é lavada e descartada e adiciona-se um conjugado anti-IgG humano marcado a cada poço. Uma segunda incubação permite que o anti-IgG humano marcado com enzima se ligue a quaisquer anticorpos do paciente que se ligaram aos micropoços. Após a lavagem e descarte de enzimas não ligadas, a atividade enzimática remanescente é medida pela adição de um substrato cromogênico (TMB) e pela medição da intensidade da cor que se forma. O ensaio pode ser avaliado espectrofotometricamente, na intensidade de 450nm, medindo e comparando a intensidade de cor que se desenvolve nos poços do paciente com a cor nos poços de controle. Os valores de referência do exame para o referido kit são: 0-20 unidades, negativo; 20,01–24,9 unidades, indeterminado; e acima de 25 unidades, positivo.

O ASCA tanto IgA quanto IgG apresentam sensibilidade de 60% e especificidade de 91%, mas quando avaliados isoladamente sua especificidade cai para 86%. Quando presente os dois anticorpos das classes IgG e IgA, a especificidade atinge 100%. Uma peculiaridade destes anticorpos é que eles são descritos como frequentemente presentes em algumas doenças, inclusive podem ser positivos em 50% dos pacientes com DC. Outras doenças em que se observa alta positividade deste anticorpo são: doenças hepáticas autoimunes, cirrose biliar primária, doença de Behçet com comprometimento intestinal, tuberculose intestinal, DM1 e LES.(17,35)

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis numéricas resultantes da história clínica e dos exames sorológicos foram analisadas estatisticamente quanto à hipótese nula (H_0) e a hipótese alternativa (H_1).

Especificação da hipótese estatística

Hipótese	Interpretação
$H_0: \mu_0 = \mu_1$	Não há diferença na prevalência clínica e/ou sorológica de outras autoimunidades entre indivíduos com TH e DG.
$H_1: \mu_0 \neq \mu_1$	Existe diferença na prevalência clínica e/ou sorológica de outras autoimunidades entre indivíduos com TH e DG

Utilizando-se os testes de Kolmogorov-Smirnov e de Shapiro-Wilks, observou-se que a distribuição da amostra estudada preencheu critérios para uma distribuição não-normal. Desta forma, foram utilizados testes não-paramétricos para análises de proporções para avaliar semelhança ou não entre a prevalência de DAINTE entre os grupos e o teste de Fisher para amostras não-normais para se avaliar semelhança ou diferenças entre médias de variáveis contínuas (idade, tempo de doença) e proporções entre os grupos.

Os dados foram considerados estatisticamente significativos para um nível de significância de 0,05 (p valor $< 0,05$).

Para a análise estatística dos resultados, utilizamos o suporte do programa computacional de estatística Epi Info® Software, v.3.2.4 (*Center for Disease Control, United States*).

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS

Foram avaliados 145 pacientes, sendo 74 do grupo TH e 71 do grupo DG. Destes, 114 foram do sexo feminino, com razão feminino: masculino 3,7:1. Os dados demográficos do grupo encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1: Demografia clínica da população estudada

	Grupo Total	TH	DG
N (F/M) (F%/M%)	145 (114/31) 78,6% / 21,4%	74 (57/17) 77% / 23%	71 (57/14) 80,3% / 19,7%
Idade ao diagnóstico (±DP)	20 anos (± 11,4)	16,9 anos (±10,3)	23,2 anos (±11,7)
Idade atual (±DP)	26,5 anos (± 12,2)	24,4 anos (±11,4)	28,6 anos (± 12,6)
Duração da doença tireoidiana (±DP)	6,4 anos (± 5,9)	7,3 anos (± 6,4)	5,5 anos (±5,4)
Indivíduos com DAINT	12 (8,2%)	8 (10,8%)	4 (5,6%)

TH: Tireoidite de Hashimoto

DG: Doença de Graves

F: Feminino

M: Masculino

DP: Desvio-Padrão

Nesta amostra de pacientes com DAT, observamos que 12 (8,2%) deles apresentam pelo menos uma DAINT associada.

As DAINTs mais prevalentes foram o DM1 (5/12), seguido de DC (4/12), doenças dermatológicas (3/12, sendo dois com vitiligo e um com alopecia areata) e doenças reumatológicas (3/12, sendo um LES, um AIJ e uma esclerodermia localizada). Três destes pacientes apresentaram mais de duas autoimunidades associadas, todos do sexo masculino. Esse grupo de pacientes está caracterizado na Tabela 2.

Esse resultado mostra uma prevalência de DM1 de 3,5% e de 2,8% de DC, correspondendo a uma frequência de DM1 em 1:29 e de DC em 1:36 indivíduos com DAT.

A prevalência de DAINT no grupo PED foi de 11,4 % (9/79) e no grupo ADL de 4,6% (3/66), sem diferença estatística, $p = 0,225$.

Tabela 2. Caracterização dos pacientes que apresentam associação de tireoidite autoimune e doenças autoimunes não-tireoidianas clinicamente manifestas

DAT	Idade ao diagnóstico de DAT	Sexo	DAINT associada	Idade de Aparecimento DAINT	História Familiar de DAT
HT	5 anos	M	DC + DM1	5 anos	não
HT	8 anos	F	DM1	7 anos	não
HT	8 anos	M	AIJ	10 anos	sim
HT	10 anos	M	DM1+ AA	8 anos *	não
HT	11 anos	F	Vitiligo	7 anos	não
HT	13 anos	M	DM1	4 anos	sim
HT	15 anos	F	EL	25 anos	sim
HT	19 anos	F	DC	32 anos	sim
DG	12 anos	M	DC	12 anos	sim
DG	25 anos	M	DC + LES	18 anos**	não
DG	25 anos	M	Vitiligo	36 anos	não
DG	30 anos	F	DM1	26 anos	não

F: Feminino

M: Masculino

TH: Tireoidite de Hashimoto

DG: Doença de Graves

DAINT: doença autoimune não-tireoidiana

DM1: Diabetes mellitus tipo 1

DC: Doença Celíaca

LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico

AIJ: Artrite Idiopática Juvenil

EL: esclerodermia localizada

AA: alopecia areata autoimune

*DM1 + Alopecia apareceram juntas

** LES: Aos 18 anos e DC aos 30 anos

Analisando-se a prevalência de DAINT nos grupos HT e DG, não se encontrou diferença estatisticamente significativa ao se comparar a prevalência de DAINT ($p = 0,197$). Entretanto, ao se analisar essa diferença entre os sexos, observou-se que o risco de um paciente do sexo masculino com DAT apresentar uma segunda autoimunidade foi 3,2 vezes maior que uma paciente do sexo feminino (*odds ratio*: 6,35; $p = 0,004$). Quando se analisou a coexistência de três autoimunidades entre os sexos observou-se que o risco relativo de apresentar uma terceira autoimunidade entre os homens com DAT foi 5 vezes maior que entre as mulheres ($p = 0,009$).

Para análise comparativa mais detalhada os grupos HT e DG foram subdivididos de acordo com a idade de aparecimento da DAT: o grupo pediátrico (PED), cujos integrantes tiveram diagnóstico de DAT entre 2 e 19 anos de idade e o grupo adulto (ADL), cujos membros tiveram diagnóstico da tireoidite a partir de 20 anos. A caracterização dos subgrupos está descrita na Tabela 3.

Tabela 3. Demografia dos subgrupos HT e DG categorizados por idade de aparecimento da DAT

	HT N = 74				GD N = 71			
	HT-PED		HT-AD		DG-PED		DG-ADL	
N (F/M)	51		23		28		43	
	F: 37	M: 14	F: 20	M: 3	F: 22	M: 6	F: 35	M: 8
Idade ao Diagnóstico (±DP)	10,9 anos (±3,5)		30,3 anos (±7,4)		10,9 anos (±3,7)		31,5 anos (±6,9)	
Idade Atual (±DP)	18,5 anos (±7,9)		30,3 anos (±7,4)		13,4 anos (±3,9)		36,1 anos (±8,3)	
Duração da Doença(±DP)	7,6 anos (±6,9)		6,7 anos (±4,8)		5,5 anos (±6,2)		5,3 anos (±4,9)	
História Familiar DAT (%)	54,9%		65,2%		67,8%		39,5%	
≥ 1 DAIN T (%)	8 (15,7%)		0		1 (3,5%)		3 (7%)	
	F: 4	M: 4	-	-	F: 0	M: 1	F: 1	M: 2
≥ 2 DAIN T (%)	2		0		0		1	
	F: 0	M: 2	-	-	-	-	F: 0	M: 1

TH: Tireoidite de Hashimoto

DG: Doença de Graves

DAT: Doença Autoimune da Tireóide

DAINT: Doença Autoimune não-tireoidiana

HT-PED: Grupo Pediátrico com Tireoidite de Hashimoto

GD-PED: Grupo Pediátrico com Doença de Graves

HT-ADL: Grupo Adulto com Tireoidite de Hashimoto

GD-ADL: Grupo Adulto com Doença de Graves

F: sexo feminino

M: sexo masculino

DP: Desvio Padrão

A prevalência de DAIN T no grupo PED total foi de 11,4 % (9/79) e no grupo ADL total de 4,6% (3/66), sem diferença estatística, $p = 0,116$.

Quando se analisou o grupo HT-PED categorizado pelo sexo e em relação à presença de alguma DAIN Ts associada, não se encontrou diferença quanto ao risco de desenvolver

DAINT entre homens e mulheres ($p= 0,13$). O mesmo aconteceu quando se comparou os grupos em relação à coexistência de duas doenças autoimunes. Apesar de observarmos que 2 dos 14 pacientes masculinos apresentavam mais de duas doenças autoimunes, não se observou diferença clinicamente estatística ($p= 0,056$) ao se comparar com o resultado encontrado no sexo feminino (nenhum caso em 37).

Observou-se que o grupo TH-PED apresentava risco 53% maior de apresentar uma segunda doença autoimune ($p= 0,042$) quando comparado ao grupo HT-ADL. Ao se comparar o tempo de doença entre estes dois grupos não se encontrou diferença estatística ($p= 0,29$).

Analisando-se o grupo DG categorizado pelo sexo e analisado pela presença de DAINTE, observou-se que o subgrupo masculino apresentou risco 3,8 vezes maior de desenvolver uma segunda DAI que o subgrupo feminino (*odds ratio*: 12,21, $p = 0,034$).

A prevalência de história familiar de DAT no grupo total foi de 54,5% (79/145), sendo de 58,1% no grupo HT (43/74) e de 50,1% no grupo DG (36/71). No grupo HT-ADL, a presença de história familiar de DAT foi observada em 65,2% dos pacientes e os integrantes deste grupo não apresentavam uma segunda DAINTE.

A prevalência de história familiar positiva de DAT no grupo pediátrico total foi de 59,5% e a encontrada no grupo adulto foi de 48,5%, sem diferença estatística. ($p = 0,123$).

O grupo DG foi constituído por 71 pacientes (dados demográficos na Tabela 1). Encontrou-se história familiar positiva para DAT em 50,1% dos pacientes e uma prevalência de DAINTE em 5,6% (4/71).

No grupo DG-PED a prevalência de história familiar de DAT entre parentes de primeiro grau foi de 67,8%. Apenas um indivíduo deste grupo apresentava uma DAINTE (sexo masculino, com DC).

No grupo DG-ADL, três pacientes apresentavam DAINTE, correspondendo a uma prevalência de 9,3%, com um paciente apresentando duas DAINTE (DC + LES).

Não houve diferença quando se comparou a prevalência de história familiar de DAT entre os grupos HT-PED e HT-ADL ($p = 0,41$), mas observou-se diferença ao se comparar essa prevalência entre os subgrupos DG-PED e DG-ADL, com frequência duas vezes maior na população pediátrica, (*odds ratio*: 3,2 e $p= 0,017$).

Não houve diferença estatística ao se avaliar a prevalência de DAINTEs entre os homens do grupo TH- PED (4/14, 28,6%) e as mulheres TH- PED (4/37, 10,8% 23,5%), ($p = 0,103$).

Ao se comparar a prevalência de DAINTE entre os pacientes do grupo DG categorizados por idade de aparecimento da DAT (PED e ADL), não se observou diferença significativa ($p =$

0,468). Também não se encontrou diferença na prevalência de DAINTs ao se comparar os pacientes do grupo DG-PED quando avaliados de acordo com o sexo ($p = 0,21$).

Ao se analisar os pacientes do grupo DG-ADL categorizados de acordo com o sexo, observou-se que os homens apresentavam risco três vezes maior de desenvolver DAINT que as mulheres ($p = 0,04$).

4.2 TRIAGEM SOROLÓGICA

O padrão e os detalhes de prevalência de anticorpos marcadores de DM1, DC e ASCA entre os pacientes com DAT estão ilustrados nas Tabelas 4, 5 e 6.

Tabela 4. Marcadores sorológicos para DM1, DC e ASCA no grupo estudado, categorizado pelo tipo de DAT

Anticorpos	Grupo Total (N = 145) N (%)	TH (N = 74) N (%)	DG (N = 71) N (%)	p valor TH x GD
GADA₆₅	14 (9,6%)	6 (8,1%)	8 (11,3%)	0,358
IA2	4 (2,7%)	1 (1,3%)	3 (4,2%)	0,294
GADA₆₅ + IA2	4 (2,7%)	1 (1,3%)	3 (4,2%)	0,294
tTG IgA >20 UI	10 (6,8%)	5 (6,7%)	5 (7,0%)	0,601
EMA IgA	3 (2,0%)	1 (1,3%)	2 (2,8%)	0,484
ASCA IgG	21 (14,4%)	7 (9,4%)	14 (19,7%)	0,064
ASCA IgA	1 (0,07%)	1 (1,3%)	0	0,592
ASCA IgA +IgG	1 (0,07%)	1 (1,3%)	0	0,592

TH: Tireoidite de Hashimoto

DG: Doença de Graves

GADA₆₅: anticorpo anti-carboxilase do ácido glutâmico 65

IA2: anticorpo anti-tirosina fosfatase

tTG IgA: Anticorpo anti-Transglutaminase IgA

EMA IgA: anti-endomísio IgA

ASCA IgA: anti-*Saccharomyces cerevisiae* IgA

ASCA IgG: anti-*Saccharomyces cerevisiae* IgG

Tabela 5. Marcadores Sorológicos para DM1, DC e ASCA no grupo estudado, categorizado pela idade de aparecimento da DAT

Anticorpos	Grupo Total (N = 145) N (%)	PED (N = 79) N (%)	ADL (N = 66) N (%)	p valor PED x ADL
GADA₆₅	14(9,6%)	8 (10,1%)	6 (9,1%)	0,531
IA2	4 (2,7%)	1 (0,1%)	3 (4,5%)	0,245
GADA₆₅ + IA2	4 (2,7%)	1 (0,1%)	3 (4,5%)	0,245
tTG IgA >20 UI	10 (6,8%)	8 (10,1%)	2 (3%)	0,086
EMA-IgA	3 (2,0%)	2 (2,5%)	1 (1,5%)	0,567
ASCA IgG	21 (14,4%)	6 (7,6%)	15 (22,7%)	0,009*
ASCA IgA	1 (0,07%)	0	1 (1,5%)	0,455
ASCA IgA +IgG	1 (0,07%)	0	1 (1,5%)	0,455

Obs.: são utilizadas as mesmas abreviaturas da tabela 4.

*P<0,05

Tabela 6. Marcadores Sorológicos para DM1, DC e ASCA no grupo estudado, categorizado pelo sexo

Anticorpos	Grupo Total (N = 145) N (%)	FEM (N = 114) N (%)	MASC (N = 31) N (%)	p valor FEM x MAS
GADA₆₅	14	12	2	0,387
IA2	4	4	0	0,378
GADA₆₅ + IA2	4	4	0	0,378
tTG IgA >20 UI	10	5	5	0,037*
EMA-IgA	3	0	3	0,009*
ASCA IgG	21	15	6	0,272
ASCA IgA	1	1	0	0,786
ASCA IgA +IgG	1	1	0	0,786

Obs.: são utilizadas as mesmas abreviaturas da tabela 4.

*P<0,05

4.2.1 Diabetes mellitus tipo 1

Na amostra total, observou-se positividade do GADA₆₅ em 9,6% (14/145) dos indivíduos e de anticorpos IA2 em 2,7% (4/145).

Ao retirar da amostra, os pacientes com diagnóstico prévio de DM1, a prevalência do GADA₆₅ foi de 7,1%, sendo 8 do grupo DG e 3 do grupo HT. Já a frequência de IA2 foi de 1,4%.

A presença de ambos anticorpos positivos (GADA₆₅ + IA2) foi observada em quatro pacientes (2,7%), todas do sexo feminino. Duas delas apresentavam diagnóstico prévio de DM1 (1 HT-PED e a outra DG-ADL) e as outras duas, ambas do grupo DG-ADL, não apresentavam clínica de DM1.

4.2.2 Doença Celíaca

Do grupo total, dez pacientes tiveram resultado de tTG-IgA > 20 unidades (UI), sendo que três tiveram valores acima de 30 UI. Estes dez pacientes foram submetidos à avaliação do EMA-IgA, que se mostrou positivo em três. Todos tiveram diagnóstico de DC, mostrando uma prevalência sorológica positiva de DC de 1:48 pacientes com DAT. (3:145).

No grupo HT, um paciente apresentou os dois anticorpos positivos (tTG-IgA e EMA-IgA), mas ele já tinha o diagnóstico de DC e confirmação de haplótipo *DQ2/DQ8+*.

No grupo com DG, dois pacientes tiveram anticorpos relacionados a DC positivos. Um deles, também com diagnóstico prévio e com presença dos marcadores genéticos *DQ2/DQ8+*. No segundo paciente, foram encontrados altos títulos de tTG-IgA (> 200 UI) e do EMA-IgA fortemente positivo (+4/+4).

Um dos pacientes que tinha diagnóstico prévio de DC, encontrava-se em dieta isenta de glúten e, na triagem realizada, apresentou ambos anticorpos negativos (do grupo HT-PED, feminina).

Desta forma, a prevalência de DC clínica e sorologicamente estabelecida foi de 2,8% da população estudada, correspondendo a 1 a cada 36 indivíduos.

Observou-se que o risco do grupo masculino com DAI apresentar os dois anticorpos de DC positivos foi 5,1 vezes maior que o grupo feminino ($p= 0,009$).

Ao analisar os grupos de acordo com a faixa etária, observou-se que o grupo PED teve frequência de positividade de EMA-IgA de 1:40, enquanto no grupo ADL a frequência foi de 1:66, sem diferença estatística entre eles ($p= 0,386$).

4.3.3 Anticorpos anti-*Saccharomyces cerevisiae*

Dos 145 pacientes, 21 (14,4%) apresentaram ASCA IgG positivo, sendo 7/74 (9,4%) no grupo HT e 14/71 (19,7%) no grupo DG. Apenas uma paciente, do grupo HT-ADL teve ASCA IgG e IgA concomitantemente positivos.

É descrito na literatura aumento na frequência de anticorpos ASCA em determinadas doenças autoimunes, geralmente em DAI relacionadas a vasculites ou com aumento da permeabilidade intestinal, como LES e DC.(36) Há também outros relatos, que incluem aumento da prevalência de ASCA em pacientes com DM1 e AR(37,38).

Por esta razão, fez-se uma outra avaliação de prevalência excluindo-se os nove pacientes que apresentavam uma DAIN, clinicamente estabelecida, potencialmente relacionada a maior risco de positividade do ASCA (DM1, DC, AIJ e LES).

Excluindo esses pacientes, encontrou-se 18/136 (13,2%) com ASCA IgG positivo, e novas avaliações estatísticas estão descritas a seguir.

Ao se comparar a frequência de positividade do ASCA entre os grupos HT e DG, não houve diferença estatística ($p= 0,102$).

Quando se avaliou a prevalência de positividade do ASCA de acordo com a idade ao diagnóstico da DAT, encontrou-se frequência de positividade na população ADL 1,7 vezes maior que na PED (*odds ratio*: 3,41, $p= 0,02$).

Ao se comparar a frequência de ASCA em relação ao sexo, observou-se uma razão de 1,6 F:1M no grupo DG e 5F:1M no HT, entretanto sem diferença estatística.

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Este estudo se propôs a reconhecer, comparar e estudar a prevalência das DAINTs entre indivíduos com DAT (HT e DG) e reconhecer fatores clínicos de risco para essa coexistência, assim como a prevalência de anticorpos relacionados ao DM1 e à DC neste grupo.

Entende-se ser importante conhecer e sistematizar com mais detalhes os achados que caracterizam tanto a maior vulnerabilidade geral às autoimunidades como o comportamento distinto dos subgrupos (categorizados por idade, sexo, tempo de DAT, história familiar de DAI e/ou DAT) em relação à predisposição a múltiplas autoimunidades entre esses pacientes para uma melhor estruturação da rotina de acompanhamento desejada. Esta abordagem é um pilar importante para qualificação da assistência médica oferecida a esse grupo de pacientes.

Em relação às características clínicas, encontramos inicialmente uma prevalência de 8,2% de indivíduos com uma ou mais DAINTs associadas. Dentro deste universo, indivíduos do sexo masculino apresentaram maior prevalência de DAINTs, independente da idade de aparecimento da DAT.

Entre os pacientes que apresentaram uma segunda DAI, observa-se que a prevalência de DAINT nos adultos foi de 4,6%, muito parecida com a prevalência descrita na literatura, de 5%. E ainda, a prevalência de DAINT na população pediátrica em nosso estudo foi de 11,4%, bem mais elevada do que o descrito na literatura para essa faixa etária, que é menor que 2%. (2) Apesar de não termos dados categóricos dos outros estudos suficientes para uma análise comparativa, esse resultado sugere que a população pediátrica com DAT apresenta risco aumentado de desenvolver uma segunda DAI quando comparado a população pediátrica geral.

Ao avaliar as duas principais DAINT associadas à DAT no grupo estudado, DM1 e DC, vemos que a prevalência destas DAI é superior ao encontrado na população geral.

Há poucos dados na literatura quanto à prevalência de DM1 na população brasileira. Além disso, estudos populacionais em âmbito mundial mostram grande variabilidade nas taxas de prevalência nas diferentes populações, o que decorre, ao menos em parte, da heterogeneidade dos padrões de interação entre susceptibilidade genética e fatores ambientais que podem estar envolvidos na patogênese da doença. (39,40) Mas estima-se que 5 a 10 % da população diabética apresente DM1.(41)

Para comparar a prevalência encontrada na população em estudo, com o observado na população em geral, utilizamos dados processados pela Federação Internacional de Diabetes (IDF) em seu último Atlas (<https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes->

atlas/134-idf-diabetes-atlas-8th-edition.html). Estimou-se que o número mundial de indivíduos diabéticos com idade inferior a 20 anos em 2017 seria 1.106.200. A população mundial estimada para esse período era de 7,5 bilhões, sendo 4,84 bilhões entre 20 e 79 anos. Assim, a prevalência mundial de DM1 abaixo dos 20 anos de idade seria de 0,042% da população nessa faixa etária.

Pelo Atlas da IDF, a prevalência total estimada de diabéticos no Brasil seria de 12,5 milhões de indivíduos em 2017, o que leva a uma estimativa de 0,6 a 1,25 milhões de indivíduos com DM1 no Brasil. Pela grandeza populacional em 2018 (estimada pelo IBGE em 208.494.900 habitantes) esse número corresponderia a uma prevalência de 0,3 a 0,6% de indivíduos com DM1 na população brasileira.

A prevalência de DM1 encontrada entre os indivíduos deste estudo (3,5%) é 5,8 a 11 vezes maior que a estimada para a nossa população (0,3 a 0,6%). Assim demonstramos que a presença de DAT está associada a um risco aumentado de desenvolvimento de DM1. Dos cinco pacientes com DM1 neste estudo, quatro tiveram o diagnóstico de DAT na faixa etária pediátrica, o que pode ser um indicativo de que o aparecimento de DAT antes dos 20 anos possa estar associado a um risco mais elevado de desenvolver DM1.

Não se observou que o sexo seja uma variável que confira risco aumentado em desenvolver DM1 nessa população.

Na avaliação do perfil sorológico do grupo estudado, relacionado ao DM1, encontrou-se uma prevalência de anticorpos GADA₆₅ mais elevada na população com DAT (9,6%) que a descrita para a população geral de um estudo brasileiro realizado na grande São Paulo, que foi de 0,5%.⁽⁵⁶⁾ E mesmo após a retirada dos pacientes com diagnóstico prévio de DM1, a prevalência, 7,1%, continuou elevada na população do estudo. Esse valor também foi mais elevado quando comparado ao descrito por um outro estudo em parentes de primeiro grau de pacientes diabéticos do Estado de São Paulo, que foi de 4%.⁽⁵⁷⁾

Esta prevalência de GADA₆₅ encontrada entre os pacientes com DAT em nosso estudo também foi 1,5 vezes maior que a descrita em um recente estudo brasileiro na cidade de São Paulo em um grupo de pacientes com DAT (*odds ratio*: 2,05 e $p = 0,045$). Os autores daquele estudo reportaram uma prevalência de 4,9% (16/324).⁽⁵⁸⁾

Um aspecto interessante é o fato do trabalho de Sallorenzo *et al.* ter estudado indivíduos mais velhos (faixa de idade entre 16 e 77 anos) que o nosso grupo. Este fato remete à sugestão de que a maior positividade de sorologia em indivíduos mais jovens possa refletir uma maior vulnerabilidade e intensidade de desregulação dos mecanismos de autoimunidade nos indivíduos nos quais a primeira DAI se manifesta em idades mais jovens.

Em relação aos anticorpos IA2, a prevalência de 2,7% encontrada em nosso estudo foi estatisticamente semelhante à de 0,7% (2/259) descrita pelo estudo anteriormente citado, ($p = 0,126$).

Achenbach *et al.* descrevem que a presença de apenas um marcador sorológico para DM1 representa um baixo risco para o desenvolvimento de DM1, mas quando este anticorpo é o IA2 o risco é mais elevado, em torno de 79% em 10 anos.(59)

Winter *et al.* demonstraram que a presença de dois marcadores sorológicos representa uma sensibilidade em torno de 61% para o desenvolvimento DM1 nos próximos 8 anos.(26)

Marwaha *et al.*, ao encontrarem uma prevalência de GADA₆₅ nos pacientes com DAT, em torno de 12,9%, propuseram que esta triagem fosse estabelecida como rotina nesse grupo de pacientes.(22)

No nosso estudo, duas pacientes do grupo DG, sem prévio diagnóstico de DM1, tiveram os dois anticorpos simultaneamente positivos (GADA₆₅ e IA2) e ainda, em altos títulos de GADA₆₅. Ambas se encontram atualmente euglicêmicas, e para tanto, avaliação periódica mais frequente deverá ser realizada.

Em relação à prevalência de DC no nosso país, estudos de triagem em bancos de sangue estimam sua prevalência entre 1:681 a 1:276 doadores, correspondendo de 0,15 a 0,36%.(42,43) Neste estudo, foi encontrado uma prevalência de DC clinicamente manifesta de 2,8% (1:36 indivíduos), correspondendo a um valor 8 a 18 vezes maior que a descrita para a população geral. Este dado também corrobora com o risco aumentado de indivíduos com DAT desenvolver DC. E a maioria (3/4) dos pacientes teve o diagnóstico de DC também na faixa etária pediátrica, o que mais uma vez, reforça que este grupo de pacientes merece maior atenção.

Um estudo brasileiro realizado na Região Sul encontrou uma prevalência de 1 paciente com DC confirmada por biópsia a cada 85 indivíduos com DAT, na faixa etária entre 18 e 79 anos, sendo todas as pacientes com DC do sexo feminino.(44)

Em contrapartida, um estudo indiano encontrou prevalência de 6,9% de tTG-IgA entre um grupo de 577 pacientes com DAT, entretanto o *screening* deste estudo não envolveu EMA-IgA, nem biópsia intestinal ou avaliação de *HLAs* marcadores para confirmar o diagnóstico de DC.(22)

Uma meta-análise robusta, envolvendo 6.024 pacientes com DAT, descreveu uma prevalência de DC confirmada por biópsia intestinal de 1 em cada 62 indivíduos, com prevalência maior em pacientes pediátricos (6,2%) que entre adultos (2,7%). A prevalência descrita de DC foi de 2,6% na DG e 1,4% no TH,(45) frequência semelhante ao encontrado em nosso estudo, 2,8% e 1,3%, respectivamente.

Outro aspecto relevante sobre a associação entre DAT e DC no nosso estudo foi o achado de que os pacientes do sexo masculino apresentaram risco 5,1 vezes maior de desenvolver DC quando comparado ao grupo feminino. Esse dado mostra que o grupo pediátrico masculino de pacientes com DAT representa a população com maior risco de desenvolver DC.

Encontramos uma prevalência de positividade de tTG-IgA de 6,8% no grupo DAT estudado. Associação entre as duas sorologias positivas (tTG-IgA e EMA-IgA) foi encontrada em três pacientes, todos confirmados para DC: dois deles confirmados com os haplótipos e o terceiro pelos altos títulos de tTG-IgA e forte positividade de EMA-IgA. Esse achado corresponde a uma prevalência sorológica de 2,1%, ou em 1 a cada 48 indivíduos com DAT, ressaltando que um dos pacientes sabidamente celíacos teve sorologia negativa por estar assíduo à dieta isenta de glúten.

Levando em conta a prevalência de positividade de 3 pacientes em 145, observamos que esse valor é superior ao descrito por Pratesi *et al.* (21) ao estudarem a população geral do mesmo hospital em que o nosso trabalho foi realizado, 3,41 por 1.000 indivíduos (*odds ratio*: 6,2 e $p = 0,018$)

Ao se comparar os dados deste trabalho, com os demais dados reportados em estudos com pacientes com DAT, observamos haver uma significativa variabilidade nos valores de prevalência de tTG-IgA, o que pode refletir a base genética por trás da disparidade na prevalência da DC entre as diferentes populações.

Assim, os dados do nosso estudo, associado aos descritos na literatura, reúnem evidências fortes o suficiente para embasar o estabelecimento de um repertório de triagem sorológica periódica para DC neste grupo de pacientes. A DC pode manifestar-se sem os sinais e sintomas gastrointestinais clássicos, mas a ponto de comprometer a absorção dos medicamentos (situação no caso de pacientes com hipotireoidismo e hipertireoidismo) e levar a ajustes desnecessários de doses. Além disso, o atraso diagnóstico pode postergar uma investigação direcionada em situações de distúrbios do crescimento.

Ao analisar a prevalência de DAINTs entre indivíduos com DATs categorizados pela idade de início da DAT, observou-se que o subgrupo HT-PED apresentou risco 1,5 vezes maior de desenvolver DAINT que o grupo HT-ADL, apesar de tempos de duração da doença semelhantes. Ruggeri *et al.* avaliaram pacientes com HT e observaram maior prevalência de comorbidades autoimunes entre mulheres adultas, principalmente de doenças reumatológicas. Entretanto, ao analisar o comportamento da prevalência de DM1 e DC nesse grupo, observaram

maior prevalência no grupo pediátrico e com maior acometimento dos indivíduos do sexo masculino, assim como nosso estudo.(46)

Esses dados mostram que, apesar das DAIs serem mais frequentes no sexo feminino, homens com DAT apresentam risco aumentado de outras DAI, sugerindo alguma desregulação autoimune mais intensa no sexo masculino quando a primeira autoimunidade é desencadeada. Não se tem estabelecido qual o mecanismo responsável por esse achado. Entretanto, é interessante remeter essa idéia às diferenças entre os sexos quanto ao tipo de autoimunidade e idade de aparecimento.

As DAIs que são mais prevalentes no sexo masculino geralmente manifestam-se em idades mais jovens, como a miocardite autoimune e a espondilite anquilosante, e caracterizam-se por um processo inflamatório agudo envolvendo as células do sistema imunológico, desregulação das células T e resposta imune tipo Th1. Já as DAI que se manifestam mais precocemente no sexo feminino, geralmente estão associadas à desregulação de autoanticorpos, como a DG, miastenia gravis e LES. As mulheres também são mais vulneráveis a DAI mediadas por anticorpos após os 50 anos de idade, com fase inflamatória crônica mais evidente.(47)

Nesta linha de raciocínio, é descrito que algumas DAIs de maior prevalência nos pacientes do sexo feminino, apresentam-se com maior gravidade quando acometem pacientes do sexo masculino, como psoríase e LES. (48)

Os esteróides sexuais (estrógenos, andrógenos, progestágenos) parecem participar da regulação da imunidade inata do indivíduo, e conseqüentemente no padrão de vulnerabilidade às DAIs ao longo da vida.(49) Assim, é questionado se apesar da reconhecida maior prevalência de DAIs no sexo feminino, a instalação de alguma DAI no sexo masculino, como a DAT, desencadearia uma subseqüente alteração específica nesses mecanismos reguladores de autoimunidade (mediados por hormônios, predisposição genética, desregulação celular, ou outros processos), tornando-o mais vulnerável à cascata de novas autoimunidades.

Muito se tem estudado sobre o impacto da inativação (ou da reativação pós-silenciamento) de um dos cromossomos X na maior predisposição à DAIs entre as mulheres (50,51). Entretanto, pouca atenção tem sido dada ao impacto do cromossomo Y nessa questão. Estudos recentes descrevem a associação entre perda de cromossomo Y em células periféricas do sistema imunológico, com uma maior prevalência de algumas DAIs, como cirrose biliar primária e DAT (52). Persani *et al* encontraram uma prevalência maior de indivíduos com perda do cromossomo Y em linfócitos do sangue periférico em homens com DAT (tanto HT como DG) quando comparados com a população saudável.(53) A partir destes estudos questiona-se também se a maior propensão a subseqüentes autoimunidades em homens com DAT poderia,

ao menos em parte, ter sua fisiopatologia relacionada à desregulação imunológica secundária à perda do cromossomo Y nas células linfocitárias.

Esta é uma discussão cujo aprofundamento foge do escopo deste trabalho, mas que merece uma linha de investigação, pois pode delinear hipóteses que expliquem esse achado do maior risco de agrupamento de DAIs em pacientes do sexo masculino com DAT.

No nosso estudo, não encontramos diferença na prevalência das DAINTs entre os grupos HT e DG. Dados sobre este aspecto são controversos na literatura. Roy *et al* observaram maior prevalência de DC em pacientes com DG (45). Em contrapartida, Wielbot *et al* demonstraram que a TH era a DAT que cursava com maior prevalência de associação com DM1, doenças autoimunes adrenais e gástricas, assim como estava mais relacionada às situações de poliautoimunidade. A única DAI que não se mostrou mais prevalente entre indivíduos com TH naquele estudo foi a DC, com igual prevalência nos dois grupos.(54)

Neste estudo, não encontramos diferença na prevalência de história familiar positiva para DAT entre os grupos TH e DG. Entretanto, a presença de história familiar de DAT foi mais prevalente entre os pacientes do grupo DG-PED do que no grupo DG-ADL. Em consonância com nosso achado, Manji *et al* avaliaram a presença de história familiar de DAT entre parentes de pacientes com DG e HT e observaram que cerca de 50% dos pacientes de ambos os grupos apresentavam história familiar positiva, mas que a presença de história familiar se correlacionava à precocidade de abertura do quadro, tanto de DG como de TH.(55)

Esse aspecto da maior prevalência de história familiar de DAT entre pacientes pediátricos, também não tem uma explicação fisiopatológica até o momento. Uma hipótese levantada pelo nosso grupo seria que a precocidade do aparecimento da DAT refletiria uma maior vulnerabilidade e/ou intensidade da desregulação autoimune geneticamente determinada ou decorrente de mecanismos epigenéticos inseridos naquele grupo familiar.

Em relação ao ASCA, estudos mostram uma frequência aumentada dos anticorpos ASCA-IgA e IgG em determinadas doenças (38,60,61), como DC, DM1, DG, hepatite autoimune, cirrose biliar primária, LES, entre outras. Entretanto o significado e impacto clínico dessa prevalência aumentada não está esclarecido. A maior frequência de positividade de ASCA em condições de DCr, LES, cirrose biliar primária e espondiloartrite tenta ser explicada pelo fato dessas doenças estarem associadas a um aumento da permeabilidade intestinal.(62) Entretanto, este aumento na permeabilidade intestinal não é descrito nos pacientes com DAT.

Sabe-se que a positividade de apenas um anticorpo relacionado à DII apresenta baixa sensibilidade e especificidade para o risco de DII, seja DCr ou RCU. A especificidade e a sensibilidade dos testes aumentam quando associados (ASCA e p-ANCA). Ao mesmo tempo

alguns estudos sugerem que a positividade do ASCA estaria relacionada ao desenvolvimento de DCr em até 30% dos pacientes, mas seu real valor preditivo não é conhecido.(63)

Uma outra questão nesta área é a descrição de que em relação à DCr, por se tratar de uma doença que impacta o epitélio intestinal, a maior parte dos pacientes apresentam ASCA-IgA positivo, cerca de metade apresentam IgG positivo e apenas uma minoria apresenta apenas ASCA-IgG positivo. Ou seja, a presença do ASCA-IgA estaria relacionada com a atividade da doença e o ASCA IgG, com a memória imunológica. Desta forma, alguns autores propõem que o ASCA-IgA isoladamente seja entendido como um marcador mais acurado de insulto agudo à mucosa intestinal, mas podendo estar presente em outras condições, como ao diagnóstico de DC ou no paciente com DC em transgressão alimentar.(64) Dentro deste contexto, observa-se que os pacientes que tem diagnóstico de DC, apresentam IgG e IgA aumentados. Após a introdução de dieta isenta de glúten, ocorre rápida normalização do tTG-IgA e com mais lenta normalização do IgG, demonstrando a relação do IgA com a atividade da doença.

O objetivo de dosar o ASCA nesse grupo de pacientes com DATs não foi avaliar predisposição genética à DCr através de um marcador sorológico isolado, mas conhecer como esse grupo funciona em relação à positividade de ASCA, com a intenção de contribuir com mais dados para a elucidação dessa questão ainda não esclarecida no campo da imunologia.

Os primeiros autores a descreverem a frequência de ASCA entre indivíduos com DATs foram Yazici *et al*, que observaram elevada prevalência de ASCA IgA na população com DAT, 14,2% - especialmente na DG 16,6% (17), bem mais elevado que entre controles (Tabela 7)

Mankai *et al* realizaram estudo semelhante e encontraram alta prevalência de ASCA IgG, assim como o nosso estudo, principalmente no grupo DG. Uma comparação entre os 3 estudos está detalhada na tabela 7.

Nosso estudo encontrou uma prevalência elevada de ASCA IgG, 19,7%, entre pacientes com DG.

No nosso estudo, houve um cuidado em excluir do grupo de análise da associação DAT-ASCA os pacientes que tivessem diagnósticos potencialmente relacionados ao aumento da frequência do ASCA.

O ASCA é um anticorpo contra a fosfopeptidiomanose, parte da parede celular do *S. cerevisiae*. A lectina ligada à manose (LLM) é um tipo de lectina cálcio-dependente, sintetizada no fígado, e com um importante papel na imunidade inata da mucosa intestinal, ativando o sistema complemento. Esta proteína é encontrada em altos níveis nos pacientes com hipertireoidismo, antes e após tratamento e encontra-se em baixos níveis no hipotireoidismo.

(65) Especula-se que os altos níveis de ASCA IgG nos pacientes com DG seja explicado por uma reação cruzada entre a manose do *S. cerevisiae* e a manose encontrada na LLM.(35)

Tabela 7. Comparação da frequência do ASCA IgA e IgG em nosso estudo e nos estudos anteriores.

ASCA	Nosso estudo N = 145		Yazici <i>et al.</i> N = 112			Mankai <i>et al.</i> N = 197		
	DG N = 71	TH N = 74	DG N = 24	TH N = 88	Controle N = 103	DG N = 78	HT N = 197	Controle N = 160
ASCA IgG	19,7%	9,4%	12,5%	7,9%	5,8%	11,8%	3,8%	3,1%
ASCA IgA	0	1,3%	16,6%	13,6%	5,8%	0,8%	2,6%	3,1%

ASCA IgA: Anti- *Saccharomyces cerevisiae* IgA

ASCA IgG: Anti- *Saccharomyces cerevisiae* IgG

DG: Doença de Graves

TH: Tiroidite de Hashimoto

Nos trabalhos descritos na literatura, não houve descrição quanto a frequência de positividade do ASCA IgG na população pediátrica com DAT, especialmente se há diferença entre as faixas etárias. No estudo atual, observou-se que o subgrupo DG-ADL apresentou uma frequência maior de ASCA IgG positivo (22,7%) quando comparado ao DG-PED (7,6%).

Não foi encontrado diferença estatística na frequência do ASCA-IgG entre os sexos.

Em relação à proporção de positividade do ASCA entre pacientes pediátricos e adultos com DC, a maior prevalência nesses últimos tem sido atribuída ao período de exposição mais prolongado ao glúten ao longo da vida, com maiores danos ao epitélio intestinal, tanto agudamente como no estabelecimento de uma memória imunológica(66). Mas não é possível extrapolar esta hipótese ao nosso grupo estudado, especialmente porque o tempo de DAT entre a população pediátrica e adulta é semelhante.

Dentro da complexidade de informações relacionadas à positividade de anticorpos ASCA e dos níveis de evidências disponíveis, entende-se que a positividade detectada em exames bioquímicos, sem evidências de sinais e sintomas característicos de DII, possa estar relacionada à alterações na rede idiotípica do sistema imunológico desses indivíduos ou até mesmo sinalizar alterações discretas já presentes na permeabilidade intestinal dos mesmos, decorrente de lesões mínimas no epitélio intestinal, que podem manifestar-se ao logo do acompanhamento. Desta forma, considera-se ser prudente uma anamnese dirigida a sinais e sintomas de DII nas consultas desses pacientes.

Limitações do Estudo

Apesar de a amostra ter seguido as recomendações do cálculo amostral, sabemos que a prevalência das DATs é elevada e o n do estudo limita parte das nossas inferências.

A ausência de um grupo controle também é um fator limitante aos resultados encontrados, uma vez que as DAIs apresentam incidências e prevalências distintas nas diferentes populações.

Em relação a análise sorológica, a incorporação de outros dois anticorpos relacionados ao DM1 (anti-ZnT8, Anti-ilhota) aumentaria o valor preditivo positivo para risco de desenvolvimento da doença.

Para melhor compreensão do papel do ASCA nesse grupo de pacientes, a dosagem concomitante do pANCA traria mais informações à respeito da predisposição à DII.

6 CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

- a) Os dados deste estudo sugerem que a população pediátrica com DAT tenha maior risco de desenvolver uma segunda DAI do que o risco primário descrito para a população pediátrica geral, mas não a população adulta com DAT
- b) Os dados deste estudo mostram que o grupo de indivíduos com DAT:
 - ..apresenta prevalência de DM1 e DC maior que a descrita para a população geral, inclusive comparando-se a dados da população brasileira
 - ..maior prevalência de positividade de anticorpos relacionados ao DM1 (GADA₆₅) e à DC (tTG e EMA-IgA) que a população geral, incluindo a comparação com estudos brasileiros
- c) Não se encontrou diferença na prevalência de DAINTs clinicamente manifestas entre os grupos HT e DG.
- d) Pacientes do sexo masculino apresentam maior prevalência de agrupamento de DAINTs que o grupo feminino, independente da idade, assim como de positividade de anticorpos relacionados à DC.
- e) A prevalência de história familiar positiva para DAT foi maior entre pacientes pediátricos no grupo DG, que na população adulta. Não houve diferença entre os pacientes do grupo HT.
- f) Não se observou diferença na prevalência de anticorpos relacionados ao DM1 e à DC entre os grupos HT e DG.
- g) A prevalência de anticorpos positivos relacionados ao DM1 e à DC no grupo de pacientes com DAT foi maior que a descrita na literatura para a população geral, incluindo estudos realizados no HUB e em outras cidades brasileiras.
- h) A prevalência de positividade de anticorpos ASCA-IgG foi maior que a descrita na população geral em estudos de outros países, mesmo retirando da análise pacientes com fatores de risco para aumento da permeabilidade do epitélio intestinal. Entretanto, o significado clínico desta associação permanece não esclarecido.
- i) Os resultados deste estudo acrescentam importante corpo de evidências aos dados da literatura para se justificar a incorporação de uma rotina de triagem clínica e sorológica periódica para DAINTs em pacientes com DAT, independente da idade e sexo. Entretanto, a população masculina com DAT, em especial o grupo pediátrico, representa o grupo com maior risco de desenvolver uma DAINt e merece cuidados mais próximos quanto a este aspecto ao longo do acompanhamento.

7 REFERÊNCIAS

7 REFERÊNCIAS

1. Invernizzi P, Gershwin ME. The genetics of human autoimmune disease. *Journal of Autoimmunity* [Internet]. 2009 Nov;33(3–4):290–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896841109000900>
2. McLeod DSA, Cooper DS. The incidence and prevalence of thyroid autoimmunity. *Endocrine* [Internet]. 2012 Oct 29;42(2):252–65. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12020-012-9703-2>
3. Warncke K, Frohlich-Reiterer EE, Thon A, Hofer SE, Wiemann D, Holl RW. Polyendocrinopathy in Children, Adolescents, and Young Adults With Type 1 Diabetes: A multicenter analysis of 28,671 patients from the German/Austrian DPV-Wiss database. *Diabetes Care* [Internet]. 2010 Sep 1;33(9):2010–2. Available from: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/dc10-0404>
4. Brown RS. Autoimmune thyroid disease: unlocking a complex puzzle. *Current Opinion in Pediatrics* [Internet]. 2009 Aug;21(4):523–8. Available from: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00008480-200908000-00018>
5. Khan FA, Al-Jameil N, Khan MF, Al-Rashid M, Tabassum H. Thyroid dysfunction: an autoimmune aspect. *International journal of clinical and experimental medicine* [Internet]. 2015;8(5):6677–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26221205>
6. Pyzik A, Grywalska E, Matyjaszek-Matuszek B, Roliński J. Immune Disorders in Hashimoto's Thyroiditis: What Do We Know So Far? *Journal of Immunology Research* [Internet]. 2015;2015:1–8. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/jir/2015/979167/>
7. Caturegli P, De Remigis A, Rose NR. Hashimoto thyroiditis: Clinical and diagnostic criteria. *Autoimmunity Reviews* [Internet]. 2014 Apr;13(4–5):391–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1568997214000196>
8. Jabrocka-Hybel A, Skalniak A, Piątkowski J, Turek-Jabrocka R, Vyhouskaya P, Ludwig-Słomczyńska A, et al. How much of the predisposition to Hashimoto's thyroiditis can be explained based on previously reported associations? *Journal of Endocrinological Investigation* [Internet]. 2018 Dec 21;41(12):1409–16. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s40618-018-0910-4>

9. Weetman AP. The Immunopathogenesis of Chronic Autoimmune Thyroiditis One Century after Hashimoto. *European Thyroid Journal* [Internet]. 2012;243–50. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/343834>
10. Wémeau J-L, Proust-Lemoine E, Ryndak A, Vanhove L. Thyroid autoimmunity and polyglandular endocrine syndromes. *Hormones (Athens, Greece)* [Internet]. 2013;12(1):39–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23624130>
11. Cai T, Muhali F, Song R, Qin Q, Wang X, Shi L, et al. Genome-wide DNA methylation analysis in Graves' disease. *Genomics* [Internet]. 2015 Apr;105(4):204–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygeno.2015.01.001>
12. Yan N, Zhou J, Zhang J, Cai T, Zhang W, Wang Y, et al. Histone hypoacetylation and increased histone deacetylases in peripheral blood mononuclear cells from patients with Graves' disease. *Molecular and Cellular Endocrinology* [Internet]. 2015 Oct;414:143–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0303720715003159>
13. Libert C, Dejager L, Pinheiro I. The X chromosome in immune functions: when a chromosome makes the difference. *Nature Reviews Immunology* [Internet]. 2010 Aug 1;10(8):594–604. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nri2815>
14. Bliddal S, Nielsen CH, Feldt-Rasmussen U. Recent advances in understanding autoimmune thyroid disease: the tallest tree in the forest of polyautoimmunity. *F1000Research* [Internet]. 2017;6(0):1776. Available from: <https://f1000research.com/articles/6-1776/v1>
15. Dong YH, Fu DG. Autoimmune thyroid disease: mechanism, genetics and current knowledge. *European review for medical and pharmacological sciences* [Internet]. 2014;18(23):3611–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0303720715003159>
16. Glick AB, Wodzinski A, Fu P, Levine AD, Wald DN. Impairment of Regulatory T-Cell Function in Autoimmune Thyroid Disease. *Thyroid* [Internet]. 2013 Jul;23(7):871–8. Available from: <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/thy.2012.0514>
17. Yazıcı D, Aydın SZ, Yavuz D, Tarçın Ö, Deyneli O, Direskeneli H, et al. Anti-Saccharomyces Cerevisiae antibodies (ASCA) are elevated in autoimmune thyroid disease ASCA in autoimmune thyroid disease. *Endocrine*. 2010;38(2):194–8.
18. Biagi F, Klersy C, Balduzzi D, Corazza GR. Are we not over-estimating the prevalence of coeliac disease in the general population? *Annals of Medicine* [Internet]. 2010

- Dec;42(8):557–61. Available from:
<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/07853890.2010.523229>
19. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA. ACG Clinical Guidelines: Diagnosis and Management of Celiac Disease. *The American Journal of Gastroenterology* [Internet]. 2013 May 23;108(5):656–76. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23609613>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3706994>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3706994&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 20. Almeida LM, Gandolfi L, Pratesi R, Uenishi RH, Almeida FC De, Selleski N, et al. Presence of DQ2.2 Associated with DQ2.5 Increases the Risk for Celiac Disease. *Autoimmune Diseases* [Internet]. 2016;2016:1–6. Available from:
<https://www.hindawi.com/journals/ad/2016/5409653/>
 21. Pratesi R, Gandolfi L, Garcia S. G, Modelli I. C, Lopes de Almeida P, Bocca A. L, et al. Prevalence of Coeliac Disease: Unexplained Age-related Variation in the Same Population. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* [Internet]. 2003 Jan 8;38(7):747–50. Available from:
<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00365520310003255>
 22. Marwaha RK, Garg MK, Tandon N, Kanwar R, Narang A, Sastry A, et al. Glutamic acid decarboxylase (anti-GAD) & tissue transglutaminase (anti-TTG) antibodies in patients with thyroid autoimmunity. *The Indian journal of medical research* [Internet]. 2013 Jan;137(1):82–6. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23481055>
 23. Freeman HJ. Endocrine manifestations in celiac disease. *World Journal of Gastroenterology* [Internet]. 2016;22(38):8472. Available from:
<http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v22/i38/8472.htm>
 24. Kordonouri O, Klingensmith G, Knip M, Holl RW, Aanstoot H-J, Menon PS, et al. Other complications and diabetes-associated conditions in children and adolescents. *Pediatric Diabetes* [Internet]. 2014 Sep;15(S20):270–8. Available from:
<http://doi.wiley.com/10.1111/pedi.12183>
 25. Atkinson MA. The Pathogenesis and Natural History of Type 1 Diabetes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* [Internet]. 2012 Nov 1;2(11):a007641–a007641. Available from: [https://www.worlddiabetesfoundation.org/sites/default/files/Type 1 diabetes_Pathogenesis and natural history_Atkinson.pdf](https://www.worlddiabetesfoundation.org/sites/default/files/Type%201%20diabetes_Pathogenesis%20and%20natural%20history_Atkinson.pdf)
 26. Winter WE, Schatz DA. Autoimmune Markers in Diabetes. *Clinical Chemistry*

- [Internet]. 2011 Feb 1;57(2):168–75. Available from:
<http://www.clinchem.org/cgi/doi/10.1373/clinchem.2010.148205>
27. Kovács M. New serological markers in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology* [Internet]. 2014;20(17):4873. Available from: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v20/i17/4873.htm>
 28. Grasberger H, Noureldin M, Kao TD, Adler J, Lee JM, Bishu S, et al. Increased risk for inflammatory bowel disease in congenital hypothyroidism supports the existence of a shared susceptibility factor. *Scientific Reports* [Internet]. 2018 Dec 5;8(1):10158. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41598-018-28586-5>
 29. Birimberg-Schwartz L, Wilson DC, Kolho K-L, Karolewska-Bochenek K, Afzal NA, Spray C, et al. pANCA and ASCA in Children with IBD-Unclassified, Crohn’s Colitis, and Ulcerative Colitis—A Longitudinal Report from the IBD Porto Group of ESPGHAN. *Inflammatory Bowel Diseases* [Internet]. 2016 Aug;22(8):1908–14. Available from: <https://academic.oup.com/ibdjournal/article/22/8/1908-1914/4562014>
 30. Fröhlich-Reiterer EE, Hofer S, Kaspers S, Herbst A, Kordonouri O, Schwarz H-P, et al. Screening frequency for celiac disease and autoimmune thyroiditis in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus - data from a German/Austrian multicentre survey. *Pediatric Diabetes* [Internet]. 2008 Dec;9(6):546–53. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-5448.2008.00435.x>
 31. Krzewska A, Ben-Skowronek I. Effect of Associated Autoimmune Diseases on Type 1 Diabetes Mellitus Incidence and Metabolic Control in Children and Adolescents. *BioMed Research International* [Internet]. 2016;2016:1–12. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/6219730/>
 32. Pratesi R, Gandolfi L. Doença celíaca: a afecção com múltiplas faces. *Jornal de Pediatria* [Internet]. 2005 Oct;81(5):357–8. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-75572005000600002&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt
 33. General Assembly of the World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *The Journal of the American College of Dentists* [Internet]. 2014;81(3):14–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25951678>
 34. Rodrigues de Moura R, Coelho AVC, de Queiroz Balbino V, Crovella S, Brandão LAC. Meta-analysis of Brazilian genetic admixture and comparison with other Latin America countries. *American Journal of Human Biology*. 2015;27(5):674–80.

35. Mankai A, Thabet Y, Manoubi W, Achour A, Sakly W, Ghedira I. Anti-Saccharomyces cerevisiae Antibodies Are Elevated in Graves' Disease But Not in Hashimoto's Thyroiditis. *Endocrine Research* [Internet]. 2013 Jul 19;38(2):98–104. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/07435800.2012.723293>
36. Shor DB-A, Orbach H, Boaz M, Altman A, Anaya J-M, Bizzaro N, et al. Gastrointestinal-associated autoantibodies in different autoimmune diseases. *American journal of clinical and experimental immunology* [Internet]. 2012;1(1):49–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23885314>
37. Hoffman IEA. Anti-Saccharomyces cerevisiae IgA antibodies are raised in ankylosing spondylitis and undifferentiated spondyloarthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases* [Internet]. 2003 May 1;62(5):455–9. Available from: <http://ard.bmj.com/cgi/doi/10.1136/ard.62.5.455>
38. Sakly W, Mankai A, Sakly N, Thabet Y, Achour A, Ghedira-Besbes L, et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae Antibodies are Frequent in Type 1 Diabetes. *Endocrine Pathology* [Internet]. 2010 Jun 13;21(2):108–14. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12022-010-9118-7>
39. Patterson CC, Gyürüs E, Rosenbauer J, Cinek O, Neu A, Schober E, et al. Trends in childhood type 1 diabetes incidence in Europe during 1989–2008: evidence of non-uniformity over time in rates of increase. *Diabetologia* [Internet]. 2012 Aug 26;55(8):2142–7. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-012-2571-8>
40. Borchers AT, Uibo R, Gershwin ME. The geoepidemiology of type 1 diabetes. *Autoimmunity Reviews*. 2010.
41. Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM. *Williams Textbook of Endocrinology. Journal of clinical pathology*. 2011.
42. Gandolfi L, Pratesi R, Cordoba JCM, Tauil PL, Gasparin M, Catassi C. Prevalence of celiac disease among blood donors in Brazil. *American Journal of Gastroenterology*. 2000;
43. Melo SBC, Fernandes MIM, Peres LC, Troncon LEA, Galvão LC. Prevalence and demographic characteristics of celiac disease among blood donors in Ribeirão Preto, State of São Paulo, Brazil. *Digestive Diseases and Sciences*. 2006;
44. Teixeira LM, Nisihara R, Utiyama SR da R, Bem RS de, Marcatto C, Bertolazo M, et al. Screening of celiac disease in patients with autoimmune thyroid disease from Southern Brazil. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia* [Internet]. 2014 Aug;58(6):625–9. Available from:

- http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302014000600625&lng=en&tlng=en
45. Roy A, Laszkowska M, Sundström J, Lebwohl B, Green PHR, Kämpe O, et al. Prevalence of Celiac Disease in Patients with Autoimmune Thyroid Disease: A Meta-Analysis. *Thyroid* [Internet]. 2016 Jul;26(7):880–90. Available from: <http://online.liebertpub.com/doi/10.1089/thy.2016.0108>
 46. Ruggeri RM, Trimarchi F, Giuffrida G, Certo R, Cama E, Campennì A, et al. Autoimmune comorbidities in Hashimoto's thyroiditis: different patterns of association in adulthood and childhood/adolescence. *European Journal of Endocrinology* [Internet]. 2017 Feb;176(2):133–41. Available from: <https://ej.e.bioscientifica.com/view/journals/eje/176/2/133.xml>
 47. Fairweather D, Frisancho-Kiss S, Rose NR. Sex Differences in Autoimmune Disease from a Pathological Perspective. *The American Journal of Pathology* [Internet]. 2008 Sep;173(3):600–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002944010616355>
 48. Sakai R, Matsui S, Fukushima M, Yasuda H, Miyauchi H, Miyachi Y. Prognostic Factor Analysis for Plaque Psoriasis. *Dermatology* [Internet]. 2005;211(2):103–6. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/86437>
 49. Zandman-Goddard G, Peeva E, Shoenfeld Y. Gender and autoimmunity. *Autoimmunity Reviews* [Internet]. 2007 Jun;6(6):366–72. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1568997206001716>
 50. Brix TH, Knudsen GPS, Kristiansen M, Kyvik KO, Ørstavik KH, Hegedüs L. High frequency of skewed x-chromosome inactivation in females with autoimmune thyroid disease: A possible explanation for the female predisposition to thyroid autoimmunity. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2005;
 51. Chabchoub G, Uz E, Maalej A, Mustafa CA, Rebai A, Mnif M, et al. Analysis of skewed X-chromosome inactivation in females with rheumatoid arthritis and autoimmune thyroid diseases. *Arthritis Research & Therapy* [Internet]. 2009;11(4):R106. Available from: <http://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar2759>
 52. Smyk DS, Rigopoulou EI, Pares A, Billinis C, Burroughs AK, Muratori L, et al. Sex Differences Associated with Primary Biliary Cirrhosis. *Clinical and Developmental Immunology* [Internet]. 2012;2012:1–11. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jir/2012/610504/>

53. Persani L, Bonomi M, Lleo A, Pasini S, Civardi F, Bianchi I, et al. Increased loss of the Y chromosome in peripheral blood cells in male patients with autoimmune thyroiditis. *Journal of Autoimmunity* [Internet]. 2012 May;38(2–3):J193–6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896841111001247>
54. Wiebolt J, Achterbergh R, den Boer A, van der Leij S, Marsch E, Suelmann B, et al. Clustering of additional autoimmunity behaves differently in Hashimoto’s patients compared with Graves’ patients. *European Journal of Endocrinology* [Internet]. 2011 May;164(5):789–94. Available from: <https://ej.e.bioscientifica.com/view/journals/eje/164/5/789.xml>
55. Manji N, Carr-Smith JD, Boelaert K, Allahabadia A, Armitage M, Chatterjee VK, et al. Influences of Age, Gender, Smoking, and Family History on Autoimmune Thyroid Disease Phenotype. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [Internet]. 2006 Dec;91(12):4873–80. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2006-1402>
56. Cesarini PR, Mendonça E, Fernandes V, Silva R do C, Morimitsu LK, Garcia FE, et al. Prevalência dos marcadores imunológicos Anti-GAD e Anti-IA2 em parentes de primeiro grau de diabéticos do tipo 1 em amostra da população da Grande São Paulo. *Revista da Associação Médica Brasileira* [Internet]. 2003;49(4):395–400. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302003000400030
57. Alves LI, Davini E, Correia MR, Fukui RT, Santos RF, Cunha MR, et al. Autoantibodies and High-Risk HLA Susceptibility Markers in First-Degree Relatives of Brazilian Patients with Type 1 Diabetes Mellitus: A Progression to Disease Based Study. *Journal of Clinical Immunology* [Internet]. 2012 Aug 9;32(4):778–85. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10875-012-9673-4>
58. Sallorenzo C, Silva R, Kasamatsu T, Dib S. Prevalence of pancreatic autoantibodies in non-diabetic patients with autoimmune thyroid disease and its relation to insulin secretion and glucose tolerance. *Archives of Endocrinology and Metabolism* [Internet]. 2017 Jul 13;61(4):361–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28724056> http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2359-39972017000400361&lng=en&tlng=en
59. Achenbach P, Warncke K, Reiter J, Naserke HE, Williams AJK, Bingley PJ, et al. Stratification of type 1 diabetes risk on the basis of islet autoantibody characteristics. *Diabetes* [Internet]. 2004 Feb;53(2):384–92. Available from:

<https://doi.org/10.2337/diabetes.53.2.384>

60. Toumi D, Mankai A, Belhadj R, Ghedira-Besbes L, Jeddi M, Ghedira I. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies in coeliac disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* [Internet]. 2007 Jan 8;42(7):821–6. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00365520601154996>
61. Krause I, Monselise Y, Milo G, Weinberger A. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* Antibodies. In: Adamantiades-Behçet's Disease [Internet]. Boston: Kluwer Academic Publishers; 2002. p. 201–4. Available from: http://link.springer.com/10.1007/0-306-48382-3_39
62. Visser J, Rozing J, Sapone A, Lammers K, Fasano A. Tight Junctions, Intestinal Permeability, and Autoimmunity. *Annals of the New York Academy of Sciences* [Internet]. 2009 May;1165(1):195–205. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1749-6632.2009.04037.x>
63. Tamboli, Doman, Patel. Current and future role of biomarkers in Crohn's disease risk assessment and treatment. *Clinical and Experimental Gastroenterology* [Internet]. 2011 Jun;127. Available from: <http://www.dovepress.com/current-and-future-role-of-biomarkers-in-crohn39s-disease-risk-assessm-peer-reviewed-article-CEG>
64. Kotze LMDS, Nisihara RM, Utiyama SRDR, Kotze PG, Theiss PM, Olandoski M. Antibodies anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) do not differentiate Crohn's disease from celiac disease. *Arquivos de Gastroenterologia*. 2010;
65. Riis ALD, Hansen TK, Thiel S, Gravholt CH, Gjedde S, Gormsen LC, et al. Thyroid hormone increases mannan-binding lectin levels. *European Journal of Endocrinology* [Internet]. 2005 Nov;153(5):643–9. Available from: <https://eje.bioscientifica.com/view/journals/eje/153/5/1530643.xml>
66. Ashorn S, Raukola H, Välineva T, Ashorn M, Wei B, Braun J, et al. Elevated serum anti-*Saccharomyces cerevisiae*, anti-I2 and anti-OmpW antibody levels in patients with suspicion of celiac disease. *Journal of Clinical Immunology*. 2008;

APÊNDICES

APÊNDICE 1

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

O (a) senhor(a) ou a criança/adolescente sob sua responsabilidade está sendo convidado(a) a participar do estudo “Análise da predisposição genética a autoimunidades subsequentes em indivíduos com doenças autoimunes da tireoide”. Esse convite é pelo fato do (a) senhor(a) ou da criança/adolescente sob sua responsabilidade apresentar uma doença autoimune da tireoide ou para participar do grupo controle, que é formado por indivíduos sem doenças autoimunes.

Um dos objetivos desta pesquisa é avaliar se o(a) senhor(a) ou a criança/adolescente sob sua responsabilidade tem predisposição a desenvolver uma outra doença autoimune, como diabetes tipo 1 e doença celíaca no caso de já apresentar doença autoimune da tireoide, ou de desenvolver essas doenças no caso de não ter alterações na tireoide. Outro objetivo é investigar a sua predisposição genética de desenvolver essas doenças e conhecer melhor como funciona o organismo de quem tem uma doença autoimune da tireoide.

O(a) senhor(a) e a criança/adolescente sob sua responsabilidade receberão todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e asseguramos que seu nome ou da criança/adolescente não aparecerá, sendo mantido o mais rigoroso sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

A sua participação ou da criança/adolescente será através do seu comparecimento à consulta de rotina no Hospital Universitário de Brasília. Na data combinada e com um tempo estimado de 60 minutos, será realizada uma avaliação clínica com exame físico completo e em seguida serão coletados 10 mL (dez mL) de sangue do seu braço.

Informamos que o(a) Senhor(a) pode se recusar a participar da pesquisa em qualquer momento e sem nenhum prejuízo no acompanhamento médico do(a) senhor(a) ou da criança/adolescente. Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração.

Os resultados da pesquisa serão divulgados pela Universidade de Brasília/ Laboratório Interdisciplinar de Biociências e serão publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de no mínimo cinco anos, após isso serão destruídos ou mantidos na instituição.

Se tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa pode ligar para a responsável pelo estudo, Dra. Fernanda Lopes, na instituição Universidade de Brasília, pelo telefone: (61)98112-4550, no horário de 08:00 as 18:00, ou por e-mail: fernandareiss@gmail.com

Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidos através do telefone: (61) 3107-1918 ou do e-mail cepfm@unb.br.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o(a) senhor(a).

Nome / assinatura

Pesquisador Responsável

Brasília, ____ de _____ de _____.

APÊNDICE 2

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVE E ESCLARECIDO - TALE

Você está sendo convidado (a) a participar de um estudo chamado “Análise da predisposição genética a autoimunidades subsequentes em indivíduos com doenças autoimunes da tireoide” porque você tem uma doença autoimune da tireóide (em que as células de defesa do seu organismo podem machucar a sua tireóide) ou para participar do grupo controle, que é formado por pessoas que não têm problemas na tireóide.

O objetivo desta pesquisa é avaliar se você tem um risco de apresentar outras doenças autoimunes, como o diabetes tipo 1 (que é uma doença que a pessoa não produz uma substância chamada insulina, que é responsável por controlar o açúcar no nosso organismo) e a doença celíaca (que é uma alergia alimentar a uma proteína chamada glúten). Esse estudo nos ajudará a entender melhor como funciona o organismo das pessoas que tem doenças autoimunes da tireóide.

Você receberá todas informações necessárias antes e durante a pesquisa e asseguramos que seu nome não aparecerá no estudo, sendo mantido segredo de todas as suas informações pessoais.

Para você participar do estudo você virá à consulta de rotina no Hospital Universitário de Brasília. Na data combinada e com um tempo estimado de 60 minutos será realizado exame físico completo e em seguida colheremos cerca de 10 ml de sangue do seu braço.

Informamos que você pode se recusar participar do estudo em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o seu acompanhamento médico. Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração.

Os resultados da pesquisa serão divulgados pela Universidade de Brasília e serão publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de no mínimo cinco anos, após isso serão destruídos ou mantidos na instituição.

Se você tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa pode pedir para seu responsável entrar em contato com a Dra. Fernanda Lopes, responsável pela pesquisa, pelo telefone: (61) 98112-4550, no horário de 08:00 às 18:00 ou por e-mail: fernandareiss@gmail.com ou no CEP da Faculdade de Medicina telefone: (61) 3107-1918.

Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com você e seu responsável.

Nome / assinatura

Pesquisador Responsável
Nome e assinatura

Brasília, ____ de _____ de _____.

APENDICE 3

FICHA DE COLETA DE DADOS

FICHA DE DADOS

() TH () DG

Nome: _____

Responsável (no caso de menor): _____

Data de nascimento: _____ Registro HUB: _____

Endereço: _____

Data de aceite em participar: _____

Data da anamneses e coleta de exames: _____

Parâmetros de análise: completar no verso da página

Parâmetro	Dado do paciente
Sexo	
Idade	
Título de anticorpos ao diagnóstico	ATPO: _____ ATT: _____ TRAb: _____
Idade ao diagnóstico da DAT	
História Familiar de DAT	() SIM () NÃO
Peso (kg) (absoluto e escore Z)	
Estatura (cm) (absoluta e escore Z)	
Pressão Arterial (mmHg)	
História pessoal de outras Autoimunidades	() SIM: _____ _____ () NÃO
História Familiar de DC	() SIM () NÃO
História Familiar de DM1	() SIM () NÃO
Avaliação metabólica	Glicose: _____ TSH: _____ Insulina: _____ T4 livre: _____ A1c: _____ T3: _____

Doença Celíaca	Clínica:
	Anti-transglutaminase: Anti-endomísio: Biópsia intestinal:
	HLA:
DM1	Clínica
	Anti-GAD: _____ Anti-insulina: _____
	HLA:
Observações	

ANEXOS

ANEXO 1

APROVAÇÃO DO PROJETO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNB - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Titulo da Pesquisa: Análise da prevalência de marcadores sorológicos e da predisposição genética à doença celíaca e ao diabetes mellitus tipo 1 em indivíduos com doenças autoimunes da tireoide.

Pesquisador: FERNANDA SOUSA CARDOSO LOPES

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 71022617.9.0000.5558

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília - UNB

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.407.189

Apresentação do Projeto:

O estudo busca analisar a prevalência de marcadores sorológicos e da predisposição genética à doença celíaca e ao diabetes mellitus tipo 1 em indivíduos com doenças autoimunes da tireoide.

A metodologia para a pesquisa será estudo transversal descritivo, com coleta de dados primários (entrevistas e análises de amostras sanguíneas) e secundários (prontuário individual). A população do estudo é composta de indivíduos de ambos os sexos na faixa etária de 2 a 50 anos, que serão divididos em três grupos sendo: dois grupos de indivíduos que apresentam doenças tireoidianas e um grupo controle (sem doentes).

Com o estudo a pesquisadora pretende oferecer acompanhamento otimizado e direcionado aos pacientes com DAT com risco aumentado de outras DAI; diminuir a solicitação de exames invasivos em pacientes de baixo risco para desenvolver outras DAI; reconhecer pacientes com DAT com parâmetros clínicos associados à maior susceptibilidade sorológica e genética a DC e DM1.