

WANDREGÍSELO PONCE DE LEON JÚNIOR

***SCREENING DA DOENÇA CELÍACA EM PACIENTES COM DEFICIÊNCIA DE
FERRO COM OU SEM ANEMIA EM BRASÍLIA-DF***

BRASÍLIA, 2019



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

WANDREGÍSELO PONCE DE LEON JÚNIOR

***SCREENING DA DOENÇA CELÍACA EM PACIENTES COM DEFICIÊNCIA DE
FERRO COM OU SEM ANEMIA EM BRASÍLIA-DF***

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

Orientador(a): Prof^a Dr^a Lenora Gandolfi

BRASÍLIA

2019

Dedico este trabalho....

Aos meus pais Wandy e Carminha (*in memoriam*), com todo o meu amor e gratidão pelo esforço e trabalho que tiveram para que, hoje, eu esteja concluindo mais uma etapa tão importante da minha vida acadêmica e profissional.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado forças para vencer todas as etapas e dificuldades.

Aos meus pais (in memoriam) que com certeza estariam felizes e ao meu lado neste momento tão importante da minha vida.

Também agradeço à minha esposa querida e grande companheira que desde o início me incentivou e não poupou esforços para me ajudar nos momentos difíceis deste percurso. Ao meu filho Miguel que soube compreender quando eu não tinha tempo para brincar.

De forma particular, agradeço à professora Lenora e ao professor Pratesi, que mesmo sem me conhecer, mostraram-se confiantes, acolhedores e amorosos ao me aceitarem de braços abertos para fazer parte do que denomino como “família” e não de “equipe de trabalho ou estudo”, sempre valorizando a ética e o amor ao próximo.

Não posso terminar sem antes agradecer à Dr^a Rosa pela confiança e incentivo constante ao meu trabalho e a todos que, de forma direta e indireta participaram desta conquista como as alunas do curso de enfermagem da Faculdade de Ceilândia – Universidade de Brasília e a todos do ambulatório de Doença Celíaca do Hospital Universitário de Brasília.

Enfim, a todos, os meus sinceros agradecimentos.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes. ”

Marthin Luther King

RESUMO DA LINGUA PORTUGUESA

INTRODUÇÃO E OBJETIVO: A doença celíaca é uma enteropatia autoimune elicitada por ingestão de glúten contido no trigo, cevada, centeio e aveia de pessoas geneticamente predispostas, podendo ter como único sintoma a deficiência de ferro com ou sem anemia. Teve como objetivo estabelecer a prevalência de doença celíaca em pacientes com deficiência de ferro com ou sem anemia em Brasília - Distrito Federal. **MÉTODO:** Foi um estudo analítico, observacional, transversal, realizado com pacientes do ambulatório de hematologia de um hospital terciário de Brasília no período de outubro de 2017 a março de 2019. Pacientes com deficiência de ferro com ou sem anemia, com idade superior a 16 anos, de ambos os sexos e sem causa diagnóstica definida, foram selecionados. Foram excluídos aqueles com perda recente de sangue, cardiopatia, hepatopatia e doença renal crônica. A amostra foi composta por 1.000 pacientes, destes 184 pessoas atendiam aos critérios de inclusão, foi adotado um índice de confiança de 95% e margem de erro de 5.1. Todos os pacientes incluídos no estudo foram investigados IgA sérico e anticorpos IgA anti-transglutaminase (IgA-tTG). Nos casos positivos foram feitos IgA antiendomísio (IgA-EMA) e biópsias do intestino delgado. **RESULTADOS:** Dos 184 pacientes, seis (3,3%) apresentaram doença celíaca, com intervalo de idade entre 21 e 30 anos (66,7%), média de 31 e desvio padrão de 12, predominantemente em mulheres (100%). Mais prevalente na população do Distrito Federal (83,3%), acompanhada, principalmente, de sintomas gastrintestinais. **CONSIDERAÇÕES FINAIS:** Neste estudo, uma alta prevalência de doença celíaca foi identificada em pacientes com Deficiência de Ferro com ou sem Anemia, na proporção de 1:33. Recomenda-se a realização de sorologia para doença celíaca como testes de primeira escolha na investigação diagnóstica nesses tipos de pacientes.

PALAVRAS-CHAVE: Doença celíaca; Anti-transglutaminase; Deficiência de ferro; anemia; anti-endomísio.

RESUMO NA LINGUA INGLESIA

INTRODUCTION AND AIME: Celiac disease is an autoimmune disease elicited by the ingestion of gluten contained in wheat, barley and rye from genetically predisposed people. It may have as its only symptom triggering iron deficiency anemia. It aimed to establish the prevalence of Celiac Disease in patients with iron deficiency with or without anemia in Brasília – Distrito Federal. **METHOD:** This was an observational, cross-sectional study carried out with patients from the hematology outpatient clinic of a tertiary hospital in Brasília between October 2017 and March 2019. Patients with iron deficiency with or without anemia, aged over 16 years, of both sexes and without definite diagnostic cause, were selected. Those with recent blood loss, liver, kidney and heart disease were excluded. The sample consisted of 1.000 patents, of these, 184 people met the inclusion criteria, a 95 % confidence index and a margin of error of 5.1 were adopted. All patients included in the study were investigated serum IgA and anti-Tissue transglutaminase antibodies (Anti-TTG). In the positive cases, IgA anti-endomysial (IgA EMA) and biopsy of the small intestine were done. **RESULTS:** Of the 184 patients, six (3.3%) had Celiac Disease, ranging from 21 to 30 years (66.7%), mean of 31 and standard deviation of 12, predominantly in women (100%). More prevalent in the population of the Federal District (83.3%), accompanied, mainly, by gastrointestinal symptoms. **FINAL CONSIDERATION:** In this study, a high prevalence of Celiac Disease was identified in patients with Iron Deficiency with or without Anemia, in a ratio of 1:31. Serology for celiac disease is recommended as first choice tests in the diagnostic investigation in these types of patients.

KEYWORDS: Celiac disease; Anti Tissue Transglutaminase; Iron deficiency; anemia; anti-endomysium.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Divergência da aveia do trigo, centeio e cevada	18
Figura 2 – Fatores envolvidos na fisiopatologia da Doença Celíaca	21
Figura 3 – Modelo do <i>Iceberg</i> da Doença Celíaca	24
Figura 4 – Doença Celíaca	30
Figura 5 – Esquema da biossíntese do heme	34
Figura 6 – Metabolismo do ferro intracelular	35
Figura 7 – IgA-EMA negativo (A) e positivo (B)	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição da idade e gênero pelos participantes do estudo (n=184), Distrito Federal, 2019	47
Tabela 2 - Distribuição da Doença Celíaca de acordo com grupo de idade (n=184), Distrito Federal, 2019	47
Tabela 3 - Distribuição dos participantes do estudo de acordo com a naturalidade, Distrito Federal, 2019	48
Tabela 4 - Distribuição dos sintomas entre os pacientes com Doença Celíaca, Distrito Federal, 2019	48
Tabela 5 - Medidas descritivas dos valores de Hemoglobina e IMC, Distrito Federal, 2019	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADF: Anemia por deficiência de ferro

AGA: Anticorpo antigliadina

ALAS 2: Delta aminolevulínico sintetase 2

APC: Célula apresentadora de antígeno

CHCM: Concentração de hemoglobina corpuscular média

dC: Depois de Cristo

DC: Doença Celíaca

Dcytb: Redutase citocromo b

DF: Deficiência de ferro

DGP: Peptídeo de gliadina desaminada

DMT1: Transportador de metal divalente

EMA: anticorpo antiendomísio

ESPGHAN: Sociedade Européia de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição.

Fe²⁺: Ferro ferroso

Fe³⁺: Ferro férrico

HCM: Hemoglobina corpuscular média

HCP1: Proteína transportadora do heme

HEPC: Hormônio peptídico derivado do fígado

HLA: Antígeno Leucocitário Humano

IgA: Imunoglobulina A

IgA anti-tTG: IgA anti-transglutaminase

IgA anti-EMA: IgA anti-endomísio

IL: Interleucina

INF: Interferon Gama

IRE: Elemento regulador de ferro

IRP: Proteína reguladora de ferro

LIE: Linfócitos intraepiteliais

MHC: Complexo de Histocompatibilidade Maior

RNA_m: Ácido ribonucleico mensageiro

TCR: Receptores de células T

TH1: Células T auxiliares da imunidade celular tipo 1

TH2: Células T auxiliares da imunidade celular tipo 2

TIBC: Capacidade total de ligação do ferro a transferrina

TNF: Fator de Necrose Tumoral

tTG: Transglutaminase

VCM: Volume corpuscular médio

ZOT: Zona da Toxina Ocludente

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DA LITERATURA	14
	2.1 DEFINIÇÃO E HISTÓRIA	14
	2.2 EPIDEMIOLOGIA	16
	2.3 PATOGÊNESE	17
	2.3.1 Fatores ambientais	17
	2.3.2 Genética	19
	2.3.3 Imunidade	21
	2.4 QUADRO CLÍNICO	22
	2.5 DIAGNÓSTICO	24
	2.5.1 Exame Endoscópico	28
	2.5.2 A Doença Celíaca e a deficiência de ferro com ou sem anemia	30
	2.5.2.1 Etiologia da Deficiência de ferro com ou sem anemia	30
	2.5.2.2 Diagnóstico	31
	2.5.2.3 Fisiologia e Metabolismo do ferro	32
3	OBJETIVOS	35
	3.1 OBJETIVO GERAL	35
	3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
4	MATERIAL E MÉTODOS	36
	4.1 DELINEAMENTO DA PESQUISA	36
	4.2 AMOSTRAGEM	36
	4.3 IMPLEMENTAÇÃO DA PESQUISA	36
	4.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	37
	4.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	37
	4.6 PARTICIPANTES DA PESQUISA	37
	4.7 COLETA, ARMAZENAMENTO E PROCESSAMENTO DO MATERIAL	38
	4.8 ANÁLISE SOROLÓGICA	39
	4.8.1 Análise de Anticorpos anti-transglutaminase IgA (IgA-tTg)IgA-tTg	39
	4.8.2 Análise de Anticorpos IgA anti-Endomísio (IgA – EMA)	40
	4.9 ENDOSCOPIA E BIÓPSIA INTESTINAL	41
	4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
	4.10 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	42
5	RESULTADOS	43
6	DISCUSSÃO	47
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
	REFERÊNCIAS	52
	APÊNDICES	
	A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	70
	B – Instrumento de coleta de dados (anamnese)	72
	ANEXOS	
	A – Aprovação da pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa	74

1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade a Doença Celíaca é reconhecida como uma entidade clínica. O termo celíaco foi primeiro introduzido por Arateus de Capadócia durante o segundo século. Depois, o médico Samuel Gee traduziu o termo grego “afecção celíaca” para o inglês no final do século XIX, dando início às descrições mais modernas desta doença⁽¹⁾. Foi em meados de 1953 que a fração tóxica do glúten (gliadina), contida nos cereais, foi identificada por Dicke e seus colaboradores.⁽²⁻⁴⁾

Na atualidade, a Doença Celíaca é reconhecida como uma enteropatia crônica, imuno-mediada, precipitada pela ingestão de glúten contido no trigo, cevada, centeio e aveia em indivíduos com susceptibilidade genética.^(5,6)

Estudos epidemiológicos vêm sendo realizados nas populações e têm mudado radicalmente o conhecimento acerca da prevalência da Doença Celíaca, por identificar que é muito mais frequente do que se pensava anteriormente⁽⁷⁻¹⁴⁾. Ao analisarmos os países europeus identificamos uma prevalência de 1:99 na Finlândia, 1:122 na Irlanda e 1:175 na Itália.^(9,13,14) Nos Estados Unidos a prevalência é de 1: 250.⁽¹⁵⁾ A maior prevalência foi encontrada entre as crianças do Sahara (1:18) e é considerada rara entre os nativos chineses, japoneses⁽¹⁶⁾, também entre algumas populações da África⁽¹⁷⁾ e em afro-descendentes no Brasil⁽¹⁸⁾. Já no Brasil, a prevalência da Doença Celíaca está entre 1:681, constatado em um estudo entre doadores de sangue saudáveis⁽¹⁹⁾. Este crescente aumento na prevalência é mundial e está relacionado aos avanços na detecção da doença através de exames sorológicos como a IgA anti-Transglutaminase (IgA-tTG), IgA anti-Endomísio (IgA-tTG) e Peptídeo de Gliadina Deaminada IgG (DGP IgG) que é usado em crianças menores de 02 anos e em casos de deficiência de IgA.⁽²⁰⁾

A manifestação da Doença Celíaca pode ocorrer em qualquer idade e estudos retrospectivos afirmam que muitos pacientes na idade adulta não apresentaram nenhum sinal da doença durante a infância, ratificando o seu desencadeamento na idade adulta.⁽²¹⁻²⁴⁾

As manifestações clínicas da Doença Celíaca variam muito de pessoa para pessoa e isso deixa a sua suspeição clínica, até mesmo entre os especialistas, um pouco confusa e divergente, em alguns casos. O diagnóstico clínico pode ser classificado em forma clássica, atípica, silenciosa e em potencial.⁽²⁵⁾

Clinicamente, a forma clássica manifesta-se com perda de peso, astenia, má absorção intestinal, diarreia, distensão abdominal, vômitos e alterações na consistência das fezes.⁽²⁶⁾ Algumas pessoas não apresentam estas manifestações clássicas e o número de casos

assintomáticos ou silenciosos estão aumentando consideravelmente.⁽¹⁷⁾ Devido à manifestação leve da doença, muitas vezes estes pacientes não são diagnosticados⁽²⁷⁾ e poderão passar despercebido aos olhos do profissional de saúde.

O diagnóstico da Doença Celíaca é feito em casos atípicos e em diversos grupos de risco^(22,27,28), como nos pacientes com anemia, linfoma, com hipertransaminasemia, portadores de câncer, entre outras condições clínicas. A doença pode se apresentar com outras alterações extra-intestinais como osteoporose, dermatite herpetiforme e quadro neurológico como a ataxia e epilepsia.⁽³⁰⁾

A anemia por deficiência de ferro é a forma mais frequente de anemia microcítica que ocorre no mundo⁽³¹⁾, com uma percentagem de 2% a 5% entre homens adultos⁽³²⁾. Este tipo de anemia está muito relacionada à Doença Celíaca, com uma prevalência de 12% a 69% no diagnóstico, podendo persistir por um período variado, mesmo após o início de uma dieta livre de glúten.^(33, 34)

A Doença Celíaca leva a um dano da mucosa intestinal, prejudicando a absorção de ferro, tornando a anemia por deficiência de ferro uma ocorrência significativa em adultos e crianças com esta doença.⁽³⁵⁾

Alguns estudos demonstram que o sangramento gastrointestinal oculto está relacionado com a Doença Celíaca. Um estudo realizado em jovens do sexo masculino com anemia ferropriva devido a sangramento de causa obscura, apresentou os seguintes achados: Doença ulcerosa péptica (30%) e Doença Celíaca (4%).⁽³⁶⁻³⁹⁾ A patogênese da deficiência de ferro com ou sem anemia ainda não está completamente entendida⁽⁴⁰⁻⁴²⁾ e pode estar relacionada a diminuição da ingestão, a má absorção do ferro e pelo aumento das perdas de sangue pelo intestino.⁽⁴³⁾

Estudos usando o teste sorológico e a biópsia do intestino delgado através da endoscopia digestiva alta para o diagnóstico da Doença Celíaca em pacientes com anemia por deficiência de ferro, tem mostrado uma prevalência que varia de 0% a 8,7% dos pacientes pesquisados.⁽³⁹⁾

Justifica-se a realização deste estudo devido à escassez de dados relacionando a deficiência de ferro com ou sem anemia e a Doença Celíaca no Brasil. Objetivando-se identificar a prevalência da Doença Celíaca em pacientes com deficiência de ferro com ou sem anemia e verificar os principais dados epidemiológicos destes pacientes em Brasília-DF.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1. DEFINIÇÃO E HISTÓRIA

A Doença Celíaca é uma enteropatia crônica, imunomediada, desencadeada pela ingestão de proteínas do glúten presente no trigo, cevada, centeio e aveia, em pessoas que são geneticamente susceptíveis. ^(44,45)

Há mais de 2 milhões de anos, o sofisticado intestino humano tolera diversos antígenos alimentares apresentados ao intestino através da dieta. Com a revolução agrícola, que teve início há 10 mil anos a.C., no período neolítico, época da história em que os homens migraram do sistema de caça e coleta para a agricultura, milhares de novos antígenos desconhecidos ao homem foram surgindo. ⁽⁴⁴⁾

Entre todos os antígenos que apareceram, o glúten, como desencadeador da Doença Celíaca, teve seus primeiros relatos como doença no século II dC, com o médico grego Arateus de Capadócia que relatou o surgimento de uma doença diarreica que acometia mais prevalentemente as mulheres adultas e se prolongava por mais de dois dias, com palidez, fraqueza e edema generalizado. Sendo nomeado por ele de “Koiliakos” (os que sofrem do intestino), derivado da palavra grega “Koelia (Abdome), para descrever esta doença. ⁽⁴⁶⁾

Outros 17 séculos passaram e no início do século XIX, o Dr. Mathew Baillie desconhecendo os relatos de Arateus, publicou uma observação própria sobre uma diarreia crônica que causava desnutrição e excesso de gases em adultos. Sendo ele mesmo a sugerir a melhora da diarreia com uma dieta à base de arroz. A publicação de Baillie não teve repercussões científicas na época. ⁽⁴⁷⁾

Foi apenas em 1888 que o médico Inglês Samuel Gee, do Hospital Saint Bartolomeu em Londres (Reino Unido), renomado estudioso das doenças pediátricas, voltou a sua atenção à doença descrita por Arateus e a designou como “afecção celíaca”, sendo o marco histórico desta afecção nos tempos modernos.

Gee observou que esta doença se apresentava com sintomas característicos de indigestão crônica, com fezes volumosas e pálidas, abdome flácido, excesso de gases e distensão abdominal. Observando ainda que acometia crianças e adultos, que persistia por toda a vida e que a dieta tinha a sua importância na melhora do quadro clínico do paciente. ⁽⁴⁸⁾

A persistência no conceito da influência da alimentação na Doença Celíaca foi reforçado por Sidney Hass em 1924 ao instituir a dieta da banana para tratar crianças anoréxicas e que

tinham a afecção celíaca. Dos dez casos publicados por ele, oito crianças foram curadas com a dieta da banana e as outras duas não seguiram a dieta e chegaram a falecer.⁽⁴⁷⁾

Trinta anos depois um pediatra Holandês, chamado Willem Karel Dicke, mostrou de forma convincente, durante a Segunda Guerra Mundial, época de grande escassez de alimentos, que as crianças celíacas melhoravam dos seus sintomas quando não tinham nada para comer e pioravam todas as vezes que os aviões passavam jogando pão para a população faminta. Estas observações serviram para a elucidação das causas da Doença Celíaca. Neste mesmo período, o pediatra Weijers e o bioquímico J.H. Van de Kamer, identificaram a fração tóxica do glúten (gliadina) contida no trigo.⁽¹⁻⁴⁾

Outra grande descoberta, surgiu nesta mesma época com técnicas de biópsias intestinais *peroral* realizadas por cápsulas, pesquisadas e descritas por Margot Shiner. Tempos depois, as cápsulas foram desenvolvidas de forma menos incômoda pelo Tenente-Coronel Crosby e o engenheiro Heinz W. Kugler. Este fato permitiu a ligação da Doença Celíaca com um padrão reconhecido de dano à mucosa intestinal proximal, feita por Marsh em 1962 que classificou as alterações estruturais da mucosa intestinal em tipo I como tendo aumento dos linfócitos intraepiteliais (LIE), Tipo II com hiperplasia de criptas e tipo III com atrofia das vilosidades intestinais e Marsh tipo IV.^(1, 49-51)

Em 1969, a Sociedade Europeia de Gastroenterologia e Nutrição Pediátrica – ESPGAN, formalizou como critério diagnóstico da Doença Celíaca a realização de uma biópsia no momento da suspeita clínica, outra após um ano de dieta sem glúten e a última biópsia após a reintrodução do glúten na dieta, com a finalidade de constatar ou não o reaparecimento das lesões na mucosa do intestino.^(1,49,46)

Em 1964, Berger relatou a presença do anticorpo antigliadina que foi reconhecido como a primeira categoria de anticorpos presentes no sangue dos pacientes com Doença Celíaca.⁽⁴⁷⁾

Nos anos 80 evidenciou-se a associação da Doença Celíaca com outras doenças autoimunes como a Diabetes tipo 1 e com algumas síndromes como a de Down. A mudança no padrão de apresentação da Doença Celíaca se apresentou com menos acometimento intestinal e começou a apresentar uma maior variedade de sinais e sintomas extra-intestinais.

Nos anos 90, foi aceita como uma doença autoimune associada com o gene específico (DQ2 e/ou DQ8), surgindo também, no final desta década, os exames sorológicos de alta sensibilidade e especificidade como os exames propostos por Chorzelski que em 1983 investigou o anticorpo anti-endomísio através da técnica da imunofluorescência indireta⁽⁵²⁾ e por Dieterich, que identificou o anticorpo anti-transglutaminase pelo teste ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* ou Ensaio Imunoenzimático).^(53, 54)

Em virtude da descoberta dos novos exames sorológicos para o diagnóstico da Doença Celíaca, a ESPGHAN incorporou o IgA anti-endomísio e o IgA anti-transglutaminase como critério diagnóstico. Esta inclusão dos testes sorológicos revolucionou o reconhecimento da Doença Celíaca.

2.2 EPIDEMIOLOGIA

A prevalência da Doença Celíaca aumentou significativamente nos últimos 20 anos, tendo sido cada vez mais prevalente no mundo.⁽⁵⁵⁾ Este aumento progressivo é resultado da maior confiabilidade nos testes sorológicos que permitiram estudos de rastreamento da população e em grupos de risco.^(56,57)

Em meados de 1950, foram realizados estudos na Inglaterra e País de Gales que mostrou uma incidência da Doença Celíaca de 1:8000 e um outro na Escócia que mostrou uma incidência de 1:4000.⁽⁵⁸⁾ Atualmente a prevalência global da Doença Celíaca é de 1%, com uma grande variação entre os países, mostrando diferenças entre as populações com baixo risco e aquelas com alto risco em que a prevalência é de 0,14 – 5,7% e 1,2 a 55% respectivamente.⁽⁵⁹⁾

A Doença Celíaca, atualmente, é conhecida por afetar as pessoas em todas as faixas etárias, com diagnósticos realizados em crianças e idosos. Mais de 70% dos novos diagnósticos são feitos em pacientes com idade superior a 20 anos.⁽⁵⁵⁾

Ao analisar os países europeus identificamos prevalência de 1:99 na Finlândia, 1:122 na Irlanda e 1:175 na Itália. Sendo constatado uma prevalência de 1% na Europa.^(9,13,14)

A Doença Celíaca não é incomum na Ásia, conforme sugerido em uma meta-análise que constatou uma soroprevalência de 1,6% e uma prevalência de 0,5% entre a população Asiática.⁽⁶⁰⁾

Uma das maiores prevalências já encontradas no mundo está entre as crianças do Sahara (1:18). É um achado dez vezes maior que os já encontrados nos países europeus e mostrou uma alta frequência do HLA DQ2 e HLA DQ8, além de ter sido observado um maior consumo de glúten entre a população.⁽⁶¹⁾

Os Estados Unidos, por muito tempo foi considerado como sendo uma região em que a Doença Celíaca praticamente inexistia.⁽⁶²⁾ Em 2003, Fasano et al⁽⁶³⁾ fez um grande estudo com 13.145 pessoas da população americana geral e mostrou que a prevalência da doença é de 1:22 entre parentes de primeiro grau, de 1:56 entre os sintomáticos e de 1:133 entre os considerados fora de risco para Doença Celíaca.

Um estudo epidemiológico recentemente realizado na comunidade de Toba que fica situada no Norte da Argentina, identificou uma prevalência da Doença Celíaca de 2,2%, estando em conformidade com a prevalência de outros países da América como a Colômbia, México e Chile que têm a prevalência de 1:67 – 1:681.⁽⁶⁴⁾

Já no Brasil, a prevalência da Doença Celíaca está entre 1:214 e 1:681, constatado em estudos entre doadores de sangue saudáveis.^(19, 65-68) Este crescente aumento na prevalência é mundial e está relacionado aos avanços na detecção da doença através de exames sorológicos como a anti-Transglutaminase IgA, anti-Endomísio IgA e DGP.⁽²⁰⁾

2.3 PATOGÊNESE

A patogênese da Doença Celíaca tornou-se mais conhecida após um maior conhecimento da interação do glúten (parte protéica, insolúvel em água, de alguns grãos e cereais) com a mucosa do intestino delgado em pessoas que são geneticamente susceptíveis.^(69,70)

Atualmente a Doença Celíaca é considerada um distúrbio autoimune que acomete pessoas predispostas geneticamente, sendo precipitada por um agente ambiental conhecido como gliadina. A grande variedade de apresentações clínicas na Doença Celíaca, mostra que a sua patogênese é multifacetada por resultar de uma complexa interação de fatores ambientais, genéticos e imunológicos variáveis. Como estes fatores controlam a expressão da doença e como ocorre a passagem da doença em potencial para a forma clássica, através destas variações, ainda não está bem definido.⁽⁷¹⁾

2.3.1 Fatores Ambientais

A presença do glúten na dieta desencadeando uma ação imunomediada no intestino delgado pelos linfócitos T, teve a sua descoberta em meados dos anos 70, tornando o glúten o principal fator ambiental envolvido na patogênese da Doença Celíaca.^(72, 73)

A Doença Celíaca é induzida pelo glúten ingerido através de alimentos com trigo, cevada, centeio e aveia. O glúten resulta da mistura de proteínas que se encontram no endosperma da semente destes cereais, fazendo parte da mesma família (poaceae), subfamília (pooideae) e tribo (triticeae). As tribos recebem diferentes denominações de acordo com a quantidade de proteínas do glúten em cada cereal, conforme visto na figura 1.⁽⁷⁴⁻⁷⁶⁾

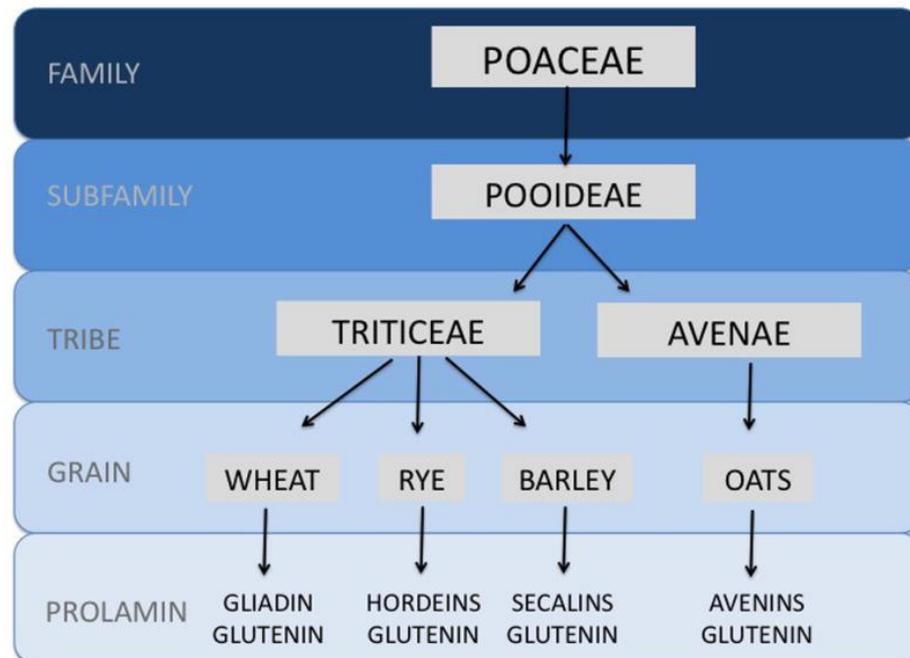


Figura 1 Divergência de aveia do trigo, centeio e cevada⁽⁶⁹⁾

As proteínas do glúten responsáveis pelo efeito maléfico nos pacientes com Doença Celíaca são chamadas de prolamina. E a junção de duas diferentes frações de proteína formam a composição do glúten (prolamina e glutenina), sendo conhecidas como gliadina no trigo, hordeína na cevada, secalina no centeio e avenina na aveia. Porém, a avenina é da tribo avenae e raramente está relacionada a Doença Celíaca, sendo a contaminação cruzada, durante o seu processamento, o fator mais evidente para que o celíaco não a consuma, tornando esse tema ainda um tanto controverso.^(77, 78)

As gliadinas, hordeínas e secalinas possuem altas concentrações de aminoácidos glutaminas e prolinas, que estão presentes nas concentrações de 30% e 15% respectivamente. Estas altas concentrações de aminoácidos são responsáveis por torná-las resistentes à degradação pela ação do ácido gástrico, do suco pancreático e pelas enzimas das células de borda em escova no intestino delgado.^(79,80)

A gliadina é a parte mais ativa no desenvolvimento da Doença Celíaca, sendo a fração solúvel em álcool do glúten⁽⁸¹⁾ e pode ser dividida em quatro frações: alfa, beta, gama e ômega.⁽⁸²⁾ A alfa gliadina é feita de 33 aminoácidos não digeridos pelo processo digestivo e esses peptídeos passam através da barreira epitelial do intestino devido ao aumento da permeabilidade intestinal que proporciona acesso do glúten à lâmina própria.^(30, 83)

Outros fatores ambientais relacionados com a patogênese da Doença Celíaca são:

1- A microbiota intestinal: estudos da microbiota intestinal dos celíacos tendem a apresentar maiores quantidades de bactérias dos gêneros *Bacteroides*, *Clostridium*, *Staphylococcus* e *Enterobacteriaceae*. Quando a flora é comparada com a de indivíduos saudáveis nota-se que há predomínio de *Bifidobacterium* e *Enterobacteriaceae*. Os pacientes celíacos também apresentam um grande número de bactérias redutoras de sulfato.⁽⁸⁴⁻⁸⁶⁾ O aumento da permeabilidade da mucosa, o aumento da inflamação intestinal ou piora do meio pró-inflamatório padrão de resposta Th1 devido a maior produção de toxinas são mecanismos que explicam o processo patológico da Doença Celíaca por ação da microbiota intestinal.^(84, 87)

Existe uma grande variedade na composição dos grupos de bactérias que formam a microbiota intestinal, tendo-se grande dificuldade em se apontar uma bactéria ou um grupo de bactérias que sejam responsáveis pelo desenvolvimento da Doença Celíaca.⁽⁸⁸⁾ Sabe-se que fatores externos como vírus, alimentos e doenças inflamatórias intestinais são responsáveis por modular a microbiota e consequentemente influenciar no desenvolvimento da Doença Celíaca.^(84, 87)

2- Infecção viral: Chama a atenção as infecções intestinais causadas pelo adenovírus humano tipo 12, pois conjectura-se que determinados anticorpos antigênicos que se desenvolvem para destruir o vírus pode apresentar reação cruzada com a gliadina, devido à semelhança da sequência de aminoácidos da proteína E1b do adenovírus com a alfa-gliadina.⁽⁸⁹⁾

Stene et al (2006) mostrou um estudo estatisticamente significativo, em que houve um aumento do risco de desenvolvimento da Doença Celíaca devido a repetitivas infecções por rotavírus em pessoas geneticamente susceptíveis.⁽⁹⁰⁾

2.3.2 Genética

No final da década de 1990, foi constatado o componente genético e hereditário na Doença Celíaca com estudos epidemiológicos evidenciando que até 20% dos parentes de primeiro grau são afetados por esta doença e que gêmeos monozigóticos e dizigóticos têm uma taxa de concordância de 75/80% e 10% respectivamente.^(91, 92)

Os melhores fatores de caracterização da susceptibilidade genética na Doença Celíaca são representados através dos alelos HLA classe II que codificam os heterodímeros DQ2 (DQA1*0501, DQB1*0201) e/ou DQ8 (DQA1*0301 e DQB1*0302).⁽⁹³⁻⁹⁵⁾

HLA é o nome dado ao complexo de histocompatibilidade maior (MHC) em humanos, tem a função biológica de ligar peptídeos diversos e formar complexos que são reconhecidos pelo linfócito T específico do antígeno. Estes genes estão presentes no cromossomo 6 e são

divididos em três classes: **Classe I:** Abrange os genes A, B, C, E, F e G. Apresentam peptídeos de dentro das células e são expressas em todas as células nucleadas. São reconhecidos pelos linfócitos T-citotóxico CD8+. **Classe II:** Possuem os genes da região HLA-D que se subdivide no *loci* DR, DQ e DP. Os HLA DQ são responsáveis pela apresentação de peptídeos de fora das células, servindo como célula apresentadora de antígeno (APC). As moléculas são expressas nos linfócitos B, macrófagos, células dendríticas e células endoteliais. Os antígenos são reconhecidos pelos linfócitos T-auxiliares CD4+. **Classe III:** Codificam as moléculas do sistema de complemento.⁽⁹⁶⁻⁹⁹⁾

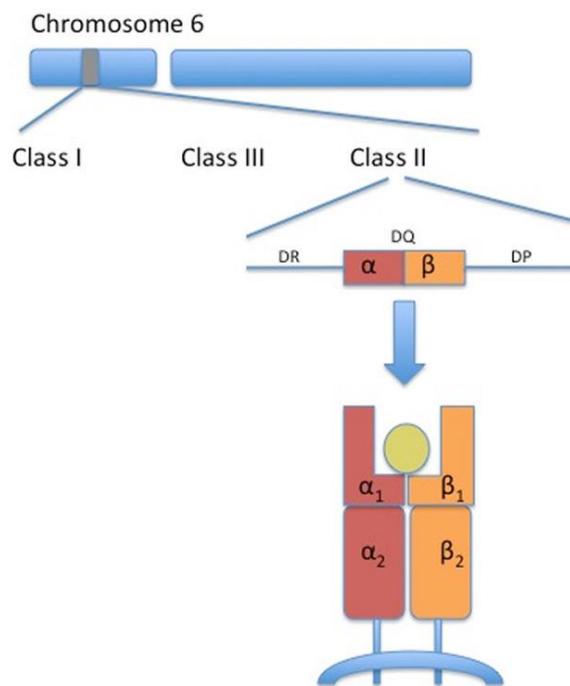


Figura 2 Fatores envolvidos na fisiopatologia da Doença Celíaca⁽⁶⁹⁾

Ao mesmo tempo que o HLA DQ2 e DQ8 são necessários para o desenvolvimento da Doença Celíaca, ser portador destes genes não significa apresentar a afecção. Ao observarmos a população europeia e a mundial, constatamos que na Europa 25 a 30% da população são portadores do alelo HLA-DQ2 e que só 4% destes desenvolvem a Doença Celíaca ao longo da vida. Na população mundial os números se assemelham, pois 40% possuem os alelos predisponentes e apenas 1% dos portadores destes genes desenvolvem a doença.⁽¹⁰⁰⁻¹⁰³⁾

O HLA-DQ2 apresenta peptídeos de glúten aos linfócitos T CD4+ na lâmina própria do intestino, tendo a capacidade aumentada de se ligar à sequência de aminoácidos das prolínas que resistem à digestão e o grupamento amina que sofre ação da enzima transglutaminase tecidual, portanto são desaminadas.⁽⁹⁹⁾

O HLA-DQ8 está presente em cerca de 5 a 10% das pessoas ^(104, 105) e o HLA-DQ2 está presente em 90 a 95% da população. A ausência destes alelos tem uma grande importância pelo alto Valor Preditivo Negativo. Portanto, a ausência ou presença destes alelos são demasiadamente importantes para determinar qual membro da família deve ser rastreado e acompanhado sorologicamente e também para evitar dieta sem glúten em pacientes com diagnóstico incerto. ^(30, 105, 104)

2.3.3 Imunidade

Em uma análise mais detalhada na composição do que chamamos atualmente de glúten, identificamos que a sua formação é uma mistura de gliadina e glutenina, que são conhecidas por serem proteínas complexas, ricas em prolina e glutaminas que não são completamente digeríveis pelo trato gastrintestinal. Os resíduos persistentes são peptídeos que podem desencadear respostas inatas e adaptativas do hospedeiro, assemelhando-se àquela desencadeada pela exposição do trato gastrointestinal a vírus ou bactérias. ^(79, 106-110)

Os fragmentos de peptídeo do trigo, cevada ou centeio resistentes à digestão, podem contribuir para o aumento da permeabilidade intestinal de forma imediata ou transitória através da ligação destes fragmentos de gliadina não digeríveis ao receptor de quimiocina CXCR3 e subsequente liberação de uma proteína parácrina chamada de zonulina ^(111, 109) que é uma estrutura semelhante à toxina ocludente da zona do “Vibrio cholera” (ZOT), conhecida por aumentar a permeabilidade intestinal paracelular, por alteração da junção intercelular via receptor 66 kD ZOT. ⁽¹¹²⁾

Outros fatores ambientais como as alergias alimentares, infecções bacterianas ou virais também podem ser reponsáveis pelo aumento da permeabilidade intestinal, não sendo esta condição específica do glúten. ⁽¹¹³⁾ Existem evidências de que o glúten pode passar a barreira intestinal, na fase aguda da Doença Celíaca, através da via transcelular pelo receptor de transferrina CD71. ⁽¹¹⁴⁾

Após o aumento da permeabilidade intestinal estes peptídeos provenientes da gliadina não digerida, têm maior acesso à lâmina própria ⁽⁸³⁾ e com isso são captados pela transglutaminase tecidual (tTG) que catalisa o glúten por um processo de desamidação e consequente formação do complexo gliadina-tTG. Este complexo antigênico é reconhecido pela célula apresentadora de antígeno (APC) em associação com as moléculas dos alelos HLA (DQ2 ou DQ8), formando um novo complexo (gliadina-tTG-HLA). ^(99,115) Desta maneira todo um processo inflamatório é desencadeado pela indução de algumas respostas inflamatórias.

As células T CD4+ reconhecem o complexo gliadina-tTG-HLA por meio dos receptores de células T (TCR), induzindo a resposta do tipo TH1 (Células T auxiliares da imunidade celular do tipo 1) e TH2 (Células T auxiliares da imunidade celular tipo 2), com secreção de citocinas pró-inflamatórias produzidas na via Th1, como a citocina TNF- α (Fator de Necrose Tumoral alfa), INF- γ (Interferon Gama) e IL-17 (Interleucina 17) que desestabilizam a matriz de sustentação e intensificam o processo inflamatório local.⁽¹¹⁵⁻¹²¹⁾ Concomitante a este processo, as células B sofrem diferenciação celular para a produção de anticorpos.⁽¹²²⁾

A resposta do tipo Th2 são responsáveis pela maturação dos plasmócitos e produção dos anticorpos contra a gliadina, tecidos conjuntivos e transglutaminase tecidual, através da produção de interleucinas. Esta via, através da ativação e deposição de anticorpos na lâmina própria, é responsável pelo constante ciclo de inflamação lesivo ao tecido intestinal.^(123,116)

A produção de citocinas envolvidas com o infiltrado inflamatório estimula a migração de linfócitos intraepiteliais (LIE) que passa a envolver os enterócitos na barreira epitelial com a finalidade de impedir a invasão de patógenos e manter a integridade intestinal.⁽¹²⁴⁾

Os enterócitos ainda são responsáveis pela produção de um dos principais mediadores químicos que está relacionado com a Doença Celíaca, conhecido como IL-15. Esta citocina estimula a atividade citotóxica dos LIE e desencadeia a cascata imunológica que afeta além dos LIE, a APC e célula T efetora.⁽¹²⁵⁻¹²⁷⁾

Além dos elevados níveis de IL-15, os LIE diante da agressão constante do glúten ingerido na dieta, expressam altos níveis de proteínas NKG2D e NKG2C que reconhecem o HLA-E e o MIC (MICA) que são ligantes do enterócito e podem ser responsáveis pela atrofia das vilosidades.^(128,129)

Este processo inflamatório sendo contínuo e ininterrupto, favorece o aumento tanto da inflamação quanto da permeabilidade intestinal, com maior acesso do glúten a lâmina própria e assim corroborando com o desenvolvimento da atrofia das vilosidades.⁽¹³⁰⁻¹³⁴⁾

2.4 QUADRO CLÍNICO

Em meados de 1888 Samuel Gee fez a descrição da Doença Celíaca clássica que ficou denominada como “afecção celíaca”, caracterizada como indigestão crônica presente em pessoas de todas as idades.^(49,46) Desde então, ficou conhecida como uma doença de apresentação uniforme, baseando a sua identificação em sintomas como diarreia crônica, distensão abdominal e perda de peso que acometia principalmente as crianças após a introdução da dieta sólida.^(135, 136)

Novas apresentações da doença vêm sendo descritas devido às diversas formas identificadas da Doença Celíaca. Em 1991 Richard Logan comparou a distribuição das diferentes formas de manifestação da Doença Celíaca a um “iceberg” (Figura 3). As formas sintomáticas da doença correspondem a ponta visível do *iceberg* e as apresentações assintomáticas correspondem à parte submersa. As formas da Doença Celíaca típica, atípica e silenciosa podem apresentar lesão da mucosa intestinal e a forma potencial apresenta-se sem lesão na mucosa intestinal.⁽¹³⁷⁾

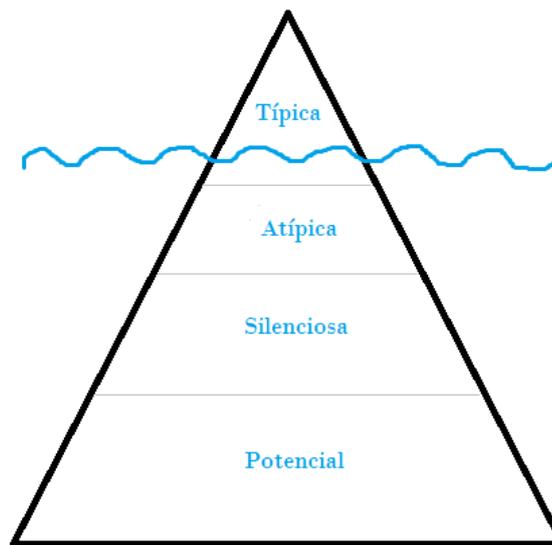


Figura 3 Modelo do *Iceberg* da Doença Celíaca⁽¹³⁸⁾

Os pacientes representados acima da linha d’água são classificados clinicamente como sendo portadores da forma Típica ou clássica da doença que se manifesta clinicamente através de diarreia crônica, vômitos, irritabilidade, falta de apetite, déficit de crescimento, atrofia da musculatura glútea e diminuição do tecido celular subcutâneo. Sendo esta forma de apresentação a mais frequente, no grupo pediátrico, em um estudo realizado em São Paulo na década de 80.⁽¹³⁹⁾

Próximo à linha d’água temos a segunda porção do *iceberg*, caracterizada por quadro mono ou paucissintomático, conhecida como forma atípica, em que as manifestações digestivas estão ausentes ou quando presentes, não ocupam lugar de destaque e ficam em segundo plano. As manifestações ficam mais evidentes em outros órgãos e sistemas, e se manifestam clinicamente por meio de quadros de anemia crônica e inexplicada, Diabetes Mellitus tipo 1, alopecia areata, deficiência de imunoglobulina, de ataxia, hepatite autoimune, artrite,

osteoporose, tireoidite autoimune, atraso na puberdade, infertilidade, aborto de repetição, dermatite herpetiforme, epilepsia de difícil controle, desenvolvimento de linfomas e carcinomas no trato gastrointestinal.^(140, 141)

Com esses achados, o espectro das manifestações clínicas da Doença Celíaca foi ampliado, com isso a prevalência aumentou e as pessoas com estas manifestações clínicas passaram a ser consideradas como grupo de risco.^(105, 142-146)

Na extensa base submersa, encontramos ainda duas outras porções desse “iceberg” que são denominadas de tipo silencioso e em potencial. O tipo silencioso abrange a classe dos pacientes que não apresentam sintomas ou quase não têm indicativo de algum problema de saúde. Geralmente estes pacientes são detectados por meio de rastreamentos sorológicos realizados em parentes de pacientes celíacos.^(101, 105, 147-152)

A associação entre a Doença Celíaca e outras doenças autoimunes estão sedimentadas pela presença de um fator genético comum, os haplótipos do HLA, representado pelo alelo DQA1*05 que confere susceptibilidade à Doença Celíaca, Diabetes Mellitus tipo 1, Doença de Graves e Doença de Addison.⁽¹⁵³⁾

Já o tipo em potencial é representado por aqueles pacientes que apresentam os testes sorológicos (anticorpos anti-endomísio e anti-transglutaminase) e perfil de HLA predisponentes (HLA DQ2 OU DQ8) positivos para a Doença Celíaca. Porém, não possuem uma biópsia intestinal (duodenal) consistente com a Doença Celíaca. Em muitos destes casos a deterioração intestinal pode estar presente no jejuno, local não alcançado pelo endoscópico.⁽¹⁵⁴⁾

As manifestações clínicas apresentam uma variação de acordo com a idade do paciente, onde as formas típicas estão mais frequentes entre os infantes e os pré-escolares. Já entre os adolescentes e adultos as manifestações extra-intestinais são cada vez mais prevalentes.⁽¹⁵⁵⁾

Devido às suas várias formas de apresentação e por menos de 50% dos pacientes adultos apresentarem os sintomas típicos da doença, é preciso uma grande suspeita clínica, com um olhar especial sobre as manifestações da parte submersa do “iceberg”, para que os exames laboratoriais, através dos testes sorológicos, histopatológicos e genéticos sejam solicitados e o diagnóstico possa ser realizado.⁽¹⁵⁶⁾

2.5 DIAGNÓSTICO

Nos últimos anos, o entendimento sobre a Doença Celíaca tem avançado em detrimento do conhecimento gradativo da patogênese, epidemiologia, quadro clínico e aspectos diagnósticos.^(6, 157)

A Sociedade Européia de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição (ESPGAN), formulou nos anos 70 os critérios de interlaken, baseando o diagnóstico da Doença Celíaca, quando a mucosa do intestino delgado apresentasse alguma anormalidade na vigência de uma dieta contendo glúten, melhora da arquitetura das vilosidades intestinais após um período de dieta isenta de glúten e nova deterioração da mucosa com a reintrodução do glúten na dieta. Então, foi instituído como base diagnóstica a realização de três biópsias para ratificar de forma definitiva o diagnóstico da Doença Celíaca.⁽¹⁵⁸⁾

Com a ascensão do conhecimento sobre os testes sorológicos, em 1989, a ESPGAN revisou e simplificou os critérios de diagnóstico, passando a aceitar como diagnóstico de certeza da Doença Celíaca os seguintes critérios: testes sorológicos positivos, uma única biópsia intestinal que evidencie alterações da mucosa intestinal e melhora clínica após uma dieta sem glúten.⁽¹⁵⁹⁾

Os principais marcadores sorológicos utilizados para a detecção da Doença Celíaca são baseados na detecção de anticorpos antigliadina (IgA e IgG AGA), anticorpos anti-endomísio IgA (EMA) e anti- transglutaminase IgA (anti-tTG). Os métodos sorológicos têm por função dosar anticorpos no soro de pacientes e no caso de diagnóstico de Doença Celíaca quantificar os marcadores na forma de IgA e IgG (utilizado para os casos de deficiência de IgA sérica).^(160,161)

Os primeiros marcadores sorológicos utilizados para rastreamento da Doença Celíaca foram os testes para detecção de anticorpos antigliadina, determinado pela técnica imunoenzimática ELISA. O teste de IgG-AGA apresenta importância diagnóstica pelo fato desse anticorpo ser detectado nos pacientes com deficiência de IgA.^(162, 163) O IgA-AGA tem sua utilidade principalmente em crianças menores de dois anos de idade, devido à baixa positividade do IgA-EMA e IgA-tTG nesta faixa etária.⁽¹⁶⁴⁾ Estes marcadores foram perdendo espaço devido à baixa sensibilidade e especificidade que proporciona resultados falsos positivos, uma vez que podem ter altos valores séricos em outras alterações gastrointestinais (parasitoses, gastroenterites) não relacionadas a Doença Celíaca.^(165, 166)

Os testes para a detecção dos anticorpos anti-endomísio IgA surge nos anos 90 com grande contribuição ao diagnóstico da Doença Celíaca por ter uma alta sensibilidade e especificidade que chega próximo de 100%, maior que o exame IgA anti-tTG, sendo considerado um exame de alto valor preditivo positivo (VPP).^(52,165, 167-170) O teste IgA-EMA é realizado por técnica de imunofluorescência indireta, detectando os anticorpos anti-endomísio entre as miofibrilas em cortes criostáticos de esôfago de primatas.⁽¹⁶⁵⁾ Embora o IgA-EMA tenha uma alta sensibilidade e especificidade, existem alguns problemas relacionados à técnica

como a baixa sensibilidade entre crianças com idade inferior a dois anos ⁽¹⁷¹⁾, alto custo, exame que depende da experiência de quem vai realizar a leitura da lâmina. ^(163,169,170)

Em 1997, a onipresente enzima Transglutaminase aparece como um auto-antígeno, conduzindo os estudos ao aparecimento, através do teste ELISA, do anticorpo anti-transglutaminase. ⁽¹⁶⁹⁾ O teste IgA-tTg logo se tornou um avanço no diagnóstico da Doença Celíaca por ter alta sensibilidade e especificidade, baixo custo, menos falsos positivos com a utilização de formas recombinantes de transglutaminase humano como substrato, em substituição ao antígeno impuro de porco, rápido, simples e bastante efetivo para triagem da Doença Celíaca. ^(169,172-174)

O teste para anticorpo do peptídeo de gliadina desaminada (DGP) surgiu mais recentemente e se baseia na conversão do peptídeo do glúten a um peptídeo desaminado pela ação da transglutaminase intestinal. Esses peptídeos se aderem com muita afinidade ao Antígeno Leucocitário Humano (HLA) DQ2 e DQ8 e conseqüentemente estimulam a resposta inflamatória proveniente dos linfócitos T na mucosa intestinal. ^(168,175,176) Esse processo resulta na formação do anticorpo anti DGP que possui uma sensibilidade e especificidade maior que o AGA. ⁽¹⁷⁵⁾

O IgG anti DGP é utilizado principalmente para o diagnóstico de crianças abaixo de dois anos e naquelas pessoas com deficiência de IgA sérico, ⁽¹⁷⁷⁾ além disso, os estudos mostram que altas concentrações de anticorpo DGP está correlacionado com o grau de dano à mucosa em crianças e que também pode ajudar na observação da aderência à dieta. ^(178, 179) O IgG-DGP e o composto IgA/IgG anti-DGP possuem sensibilidade acima de 80% e especificidade acima de 95% ^(168, 169, 172), justificando assim o seu uso na atualidade.

O novo consenso feito pela ESPGHAN e publicado em 2012 por Husby, ⁽⁴⁴⁾ promove uma nova visão ao diagnóstico da Doença Celíaca ao mostrar a necessidade de um diagnóstico definitivo com o uso de exames laboratoriais específicos de alta sensibilidade e especificidade, através da investigação genética com tipagem de alelos HLA-DQ2 e HLA-DQ8 e da análise histológica pela biópsia jejunal.

Em caso de ausência de resposta clínica à dieta isenta de glúten em pacientes que preenchem os critérios diagnósticos para DC, orienta-se os seguintes passos: 1- Busca criteriosa de ingesta intencional, acidental ou inconsciente do glúten na dieta, 2- novas investigações podendo incluir biópsias adicionais, 3- Valorizar o padrão de consumo de glúten ao interpretar os testes sorológicos, 4- a idade do paciente e os níveis totais de IgA sérico. ⁽⁴⁴⁾

Então, a nova ESPGHAN publicada em 2012, estabeleceu cinco critérios para o diagnóstico definitivo da Doença Celíaca, sendo necessário contemplar quatro itens dos cinco para o estabelecimento do diagnóstico.⁽⁴⁴⁾

- 1- Presença de sinais e sintomas típicos da Doença Celíaca.
- 2- Testes sorológicos de IgA-tTG e IgA-EMA positivos, sendo considerado o valor preditivo positivo do IgA-EMA.
- 3- Teste genético com alelos predisponentes (HLA DQ2 e/ou DQ8).
- 4- Biópsia com atrofia vilositária.
- 5- Boa resposta a dieta isenta de glúten.

Até ao preenchimento completo dos critérios estabelecidos pela ESPGHAN, o diagnóstico da Doença Celíaca pode levar muito tempo de acompanhamento clínico e laboratorial até à sua confirmação ou não.

A realização do exame genético para detectar a tipagem de alelos HLA DQ2 e DQ8 é indicado para identificar pessoas assintomáticas, para averiguar a necessidade de acompanhamento clínico, principalmente familiares de pacientes celíacos, portadores de doença autoimune e genética⁽¹⁸⁰⁾, para excluir ou não a Doença Celíaca nos casos em que ambos os exames sorológicos estiverem normais, por ter alto valor preditivo negativo e nos casos com pequenas alterações na biópsia intestinal.⁽⁴⁴⁾

Atualmente, a biópsia duodenal, antes considerada padrão ouro no diagnóstico da Doença Celíaca, faz parte do diagnóstico como mais um elemento a ser observado em conjunto com o exame sorológico, genético e clínico.⁽⁴⁴⁾

Os achados histológicos característicos da Doença Celíaca como atrofia das vilosidades e hiperplasia, não são específicos⁽¹⁸⁰⁾, pois estas alterações podem estar presentes na giardíase, na enteropatia autoimune, doença de Whipple, tuberculose intestinal, linfoma intestinal, gastroenterite eosinofílica, enterite por radiação e outras.

Em 1992 Marsh definiu uma classificação histológica que contempla alterações da mucosa intestinal e a presença de linfócitos intraepiteliais.⁽⁵¹⁾ Posteriormente esta classificação foi revisada por Oberhuber⁽¹⁸¹⁾, passando a ser chamada de classificação de Marsh-Oberhuber (figura 5).

A diretriz do diagnóstico e conduta recomendado pela ESPGHAN em 2012 sugere o acompanhamento sorológico com IgA-tTG e IgA-EMA com seis meses a um ano após instituição de uma dieta totalmente isenta de glúten como tratamento de escolha.⁽¹⁸²⁾

2.5.1 Exame Endoscópico

A finalidade do exame endoscópico na Doença Celíaca está atribuída ao diagnóstico macroscópico das lesões duodenais e à aquisição de fragmentos do intestino delgado para a histologia.

A familiarização do endoscopista com a Doença Celíaca é importante, devido à orientação, localização, quantidade e tamanho das biópsias coletadas que podem acarretar em alterações no exame histopatológico. Todos estes fatores podem alterar o diagnóstico da doença.⁽¹⁸³⁾

Como 70% dos casos de Doença Celíaca apresentam danos desiguais na mucosa, faz-se necessário coletar não menos que cinco fragmentos da mucosa duodenal, sendo pelo menos um deles do bulbo duodenal, pois um recente estudo mostrou que 13% dos pacientes submetidos à biópsia do intestino delgado, tinham lesões unicamente localizadas no bulbo duodenal.^(183, 184)

Para uma melhor visualização das alterações da mucosa intestinal tem sido recomendado o uso da cromoscopia com o índigo carmin, com o azul de metileno ou somente com a colocação de água, no intuito de deixar as pregas duodenais imersas e assim facilitar o diagnóstico macroscópico das seguintes alterações (Figura 4):

- Espessamento de pregas duodenais
- Vilosidades mínimas (Melhor observadas em baixo água).
- Fissuras e nodularidades leve.
- Aspecto de mosaico.
- Nodularidade da mucosa com ausência de pregas
- Mucosa completamente lisa ou com algumas cristas nas pregas restantes.^(185, 186)

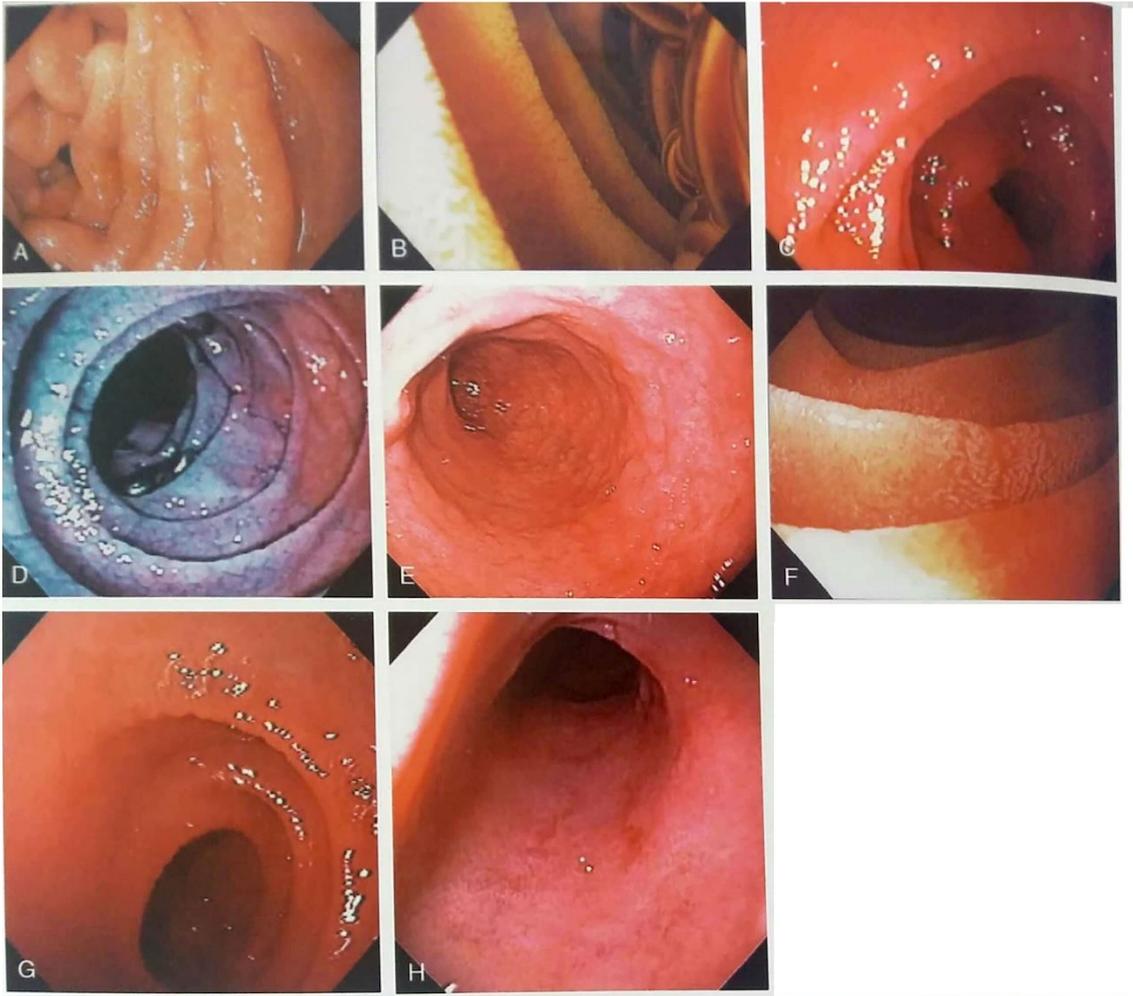


Figura 4 Doença Celíaca⁽¹⁸⁸⁾

Legenda: A – as pregas duodenais parecem ligeiramente espessas. B – Quando visualizada debaixo d’água, vilosidades mínimas são observadas. C – Fissuras e modularidade leve das válvulas coniventes. D – As alterações da mucosa são destacadas com azul de metileno. E – Nodularidade da mucosa com pregas ausentes. F – Perda sutil das vilosidades, com algumas áreas de perda epitelial. G – Mucosa lisa com algumas cristas nas pregas. H. Mucosa lisa completamente plana.

As alterações histológicas na mucosa duodenal prejudicam a absorção, pelas células absorptivas, de muitos nutrientes primordiais a saúde, entre eles citamos o ferro.

2.5.2 A Doença Celíaca e a deficiência de ferro com ou sem anemia

A Doença Celíaca é uma doença inflamatória crônica do trato gastrointestinal que afeta 1% da população mundial⁽¹⁹⁰⁾ e já tem uma relação bem estabelecida com o quadro de anemia ou deficiência de ferro devido as suas manifestações extraintestinais.⁽¹⁹¹⁾

Depois dos trabalhos publicados por Dube et al em 2005⁽¹⁰¹⁾ mostrando uma prevalência da Doença Celíaca de 2,9 a 6% em pacientes com quadro de anemia por deficiência de ferro assintomáticos e de 10 a 15% nos casos com algum sintoma gastrointestinal, muitos outros trabalhos com enfoque na mesma temática foram aparecendo e mostrando uma prevalência de 1,8 a 20%.⁽¹⁹²⁾

A deficiência de ferro com ou sem anemia é um problema mundial e está presente diariamente na prática clínica, afetando cerca de 2 bilhões de pessoas no mundo. Embora tenha havido um declínio da anemia ferropriva, ela segue sendo a principal causa de anemia no mundo.⁽¹⁹³⁾

A deficiência de ferro (DF) é caracterizada pelo prolongamento do balanço negativo deste mineral, levando ao esgotamento de suas reservas no organismo e a anemia por deficiência de ferro (ADF) ocorre quando a DF é suficientemente grave para reduzir a eritropoese, ou seja, dificultando a produção de hemácias.⁽¹⁹⁴⁾

2.5.2.1 Etiologia da Deficiência de Ferro com ou sem Anemia

As causas da DF ou ADF são variadas e depende de condições financeiras e de infraestrutura dos países. Se formos verificar as causas desta doença em países desenvolvidos, verificamos que dependerá da idade e do sexo, pois, atinge de forma mais frequente as mulheres no puerpério e aquelas que tem uma perda expressiva de sangue no período menstrual. Outras causas principais da DF ou ADF seria o período de pós-menopausa e nos homens os problemas digestivos. Já nos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento a ingesta alimentar insuficiente é a principal causa etiológica.⁽¹⁹⁴⁻¹⁹⁶⁾

Quando voltamos a atenção para focar a etiologia da DF ou ADF no sistema digestório, podemos dividir em dois grupos principais:

a-) Grande perda de sangue por algum quadro hemorrágico visível ou oculto, como a melena, hematêmese, sangramento retal, neoplasias, uso de anti-inflamatórios, doença inflamatória intestinal, angiodisplasias, úlcera péptica e sangramento oculto nas fezes que pode aparecer em 47% dos casos de Doença Celíaca e em 54% das atrofia vilositárias.⁽³⁷⁾

b-) Devido à diminuição da absorção que pode ser observada na Doença Celíaca, na gastrite atrófica, em casos de ressecção intestinal ou gastrectomias. Em alguns estudos que os pacientes foram referenciados ao gastroenterologista para investigar a DF ou ADF, ratificaram a Doença Celíaca em 2% a 11% dos casos.⁽¹⁹⁷⁻²⁰⁰⁾

2.5.2.2 Diagnóstico

A primeira fase do diagnóstico deve ser elaborada através de uma detalhada história clínica para tentar averiguar sintomas de fadiga, com diminuição das atividades aeróbicas rotineiras, quadro de pica (desejo de comer barro) ou pagofagia (desejo de comer gelo), queda de cabelo, atrofia da papila da língua ou boca seca pela perda de salivagem. Estes sintomas podem refletir economicamente nos países em desenvolvimento, por afetarem diretamente a produção econômica que é na sua maioria representada pelo trabalho braçal ou físico. O exame físico muitas vezes pode ser inespecífico ou mostrar uma palidez mucosa intensa ou discreta e em alguns casos a presença de sopro sistólico na ausculta cardíaca.^(194, 201, 202)

O diagnóstico laboratorial da DF ou ADF pode ser avaliado nos três estágios do desenvolvimento da anemia que ocorre de forma gradual e progressiva. Os exames podem ser realizados de forma isolada ou em conjunto em populações ou em indivíduos. No primeiro estágio a DF pode ser observada pela depleção da ferritina que reflete a diminuição dos estoques de ferro no organismo, tornando a dosagem da ferritina o teste mais indicado. Embora grandes quantidades da ferritina estejam estocadas no fígado e no baço, somente pequenas quantidades estão disponíveis no soro e mesmo assim são livres de ferro, porém a sua quantificação tem importância por refletir a medida do ferro total do compartimento de estoque.⁽²⁰³⁻²⁰⁵⁾

Atualmente são usados os métodos imunoenzimáticos com anticorpos antiferritina humana através do método ELISA ou eletroquimioluminescência que estão disponíveis em *Kits* comerciais, proporcionando boa confiabilidade aos testes de dosagem de ferritina.⁽²⁰⁶⁾

O segundo estágio pode ser obtido pela dosagem da capacidade total de ligação do ferro à transferrina (TIBC) que objetiva avaliar o ferro circulante, pois há diminuição do ferro de transporte e conseqüentemente do ferro sérico, com um aumento da capacidade de ligação do ferro que resulta na mudança da saturação da transferrina. Como a TIBC pode estar aumentada na inflamação ou infecção, deve ser vista de forma criteriosa, pois pode ter valores normais quando a DF e a inflamação coexistirem.⁽²⁰⁷⁾

O terceiro estágio ocorre quando a quantidade de ferro disponível é insuficiente para a produção da hemoglobina, portanto os valores da hemoglobina poderão estar dentro da faixa de

normalidade, sendo detectados sinais de falha de hemoglobinizacão das células, com consequente queda dos reticulócitos e aumento dos níveis de TIBC e do receptor solúvel da transferrina.

Devido ao atraso na queda da hemoglobina com a reduçãõ dos estoques de ferro a hemoglobina possui baixa sensibilidade e especificidade quando utilizada de forma isolada. Sendo necessário recorrer a outros valores do hemograma como o volume corpuscular médio (VCM) que avalia o tamanho médio dos eritrócitos, a distribuicão de células vermelhas ou do inglês “*red cell distribution width*” (RDW) que é uma medida da anisocitose, a hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentraçãõ de hemoglobina corpuscular média (CHCM) que avalia a concentraçãõ de hemoglobina no eritrócito. Todos estes constituem os índices mais utilizados neste estágio.^(203, 208, 209)

2.5.2.3 Fisiologia e Metabolismo do ferro

O ferro, elemento químico de número atômico 26 e massa 55U, pertencente aos metais de transiçãõ, é abundante na crosta terrestre, crucial para as funções biológicas, produçãõ de energia, respiraçãõ, síntese de DNA e proliferaçãõ celular.⁽²¹⁰⁾ O papel do ferro em meio a estes processos fisiológicos está relacionado à sua capacidade de existir em dois estados de oxidaçãõ estáveis, conhecidas atualmente como Ferro Férrico (Fe³⁺) e Ferro Ferroso (Fe²⁺). Esta propriedade química do ferro em aceitar e doar elétrons faz com que ele tenha capacidade de participar de reações de reduçãõ-oxidaçãõ e diversas reações biológicas. Além de participar na formaçãõ de diversas proteínas, o ferro é essencial para a formaçãõ da molécula heme.⁽²¹¹⁾

O heme é formado por um anel tetrapirrólico com um íon central de ferro e uma parte da sua síntese é realizada no citosol e mitocôndrias. Na mitocôndria ocorre a formaçãõ do ácido aminolevulínico após a condensaçãõ da glicina com a succinil coenzima A (succinato), esta açãõ é catalisada pela delta aminolevulínico sintetase 2 (ALAS 2) com participaçãõ do piridoxal 5-fosfato. A ALAS 2 em seu RNAm contém elementos reguladores de ferro (IRE) que interagem com as proteínas reguladoras de ferro (IRP). Quando há excesso de ferro a ligaçãõ IRP-IRE fica inativada e permite que a biossíntese do heme ocorra para aproveitar o ferro disponível. Quando o ácido aminolevulínico passa para o citosol através de um processo não tão esclarecido, ocorre a dimerizaçãõ e condensaçãõ de duas moléculas de ALA para formar o porfobilinogênio que com as demais reações e substratos originarão a hidroximetilbilano, o uroporfirinogênio III, o coproporfirinogênio III. Agora a reaçãõ volta à mitocôndria para ser

finalizada através da formação do protoporfirinogênio IX que gera a protoporfirina IX para incorporar o ferro e formar o heme pela ação da ferroquelatase (Figura 5).^(212, 209)

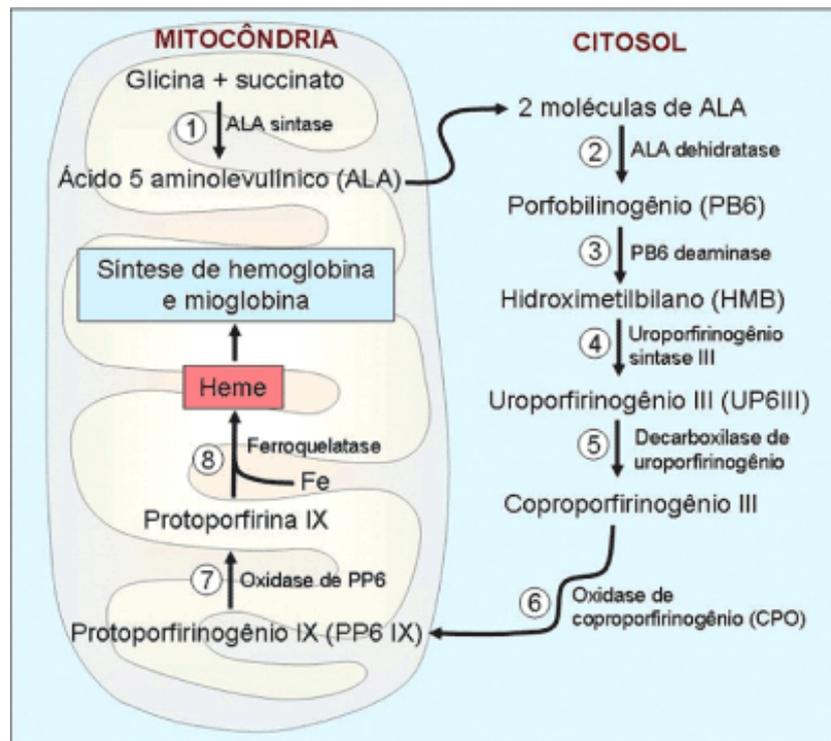


Figura 5 Esquema da biossíntese do heme.⁽²¹²⁾

O organismo humano pode adquirir o ferro através da dieta ofertada e da reciclagem de hemácias senescentes. Geralmente o ferro encontrado na dieta pode estar na forma heme (orgânico) ou não heme (inorgânico) e ambas podem ser utilizadas pelo epitélio intestinal. A forma heme corresponde a 1/3 do que é ingerido pela dieta de origem animal, através da quebra da hemoglobina e mioglobina. Já a forma não heme provém de vegetais e grãos, estando o ferro disponível na forma férrica.⁽²¹³⁾

A maior parte da dieta disponibiliza o ferro na forma férrica que para ser absorvido pela célula do epitélio duodenal tem de ser reduzido pela redutase citocromo b duodenal (Dcytb), convertendo o Fe^{3+} em Fe^{2+} . Após este processo o Fe^{2+} é transportado através do transportador de metal divalente 1 (DMT-1) para dentro da célula. Já o ferro orgânico é transportado diretamente para dentro da célula duodenal através da proteína transportadora do heme-1 (HCP-1).

Já no interior da célula o ferro é liberado da protoporfirina pela hemeoxigenase e a demanda de ferro ofertada ditará o seu destino intracelular. Em caso de pouca necessidade de ferro no corpo ele permanecerá no enterócito acoplado à ferritina, sendo eliminado com a descamação do epitélio intestinal. Caso haja maior necessidade de ferro no organismo ele é

transportado para fora do enterócito pela ferroportina em direção ao plasma para ser transportado pela transferrina. Como a transferrina tem afinidade pelo Fe^{3+} , o ferro liberado é oxidado pela hefaestina que converte o Fe^{2+} em Fe^{3+} que se ligará a transferrina que tem a capacidade de fazer o transporte de até 12mg de ferro (Figura 6).^(211,212)

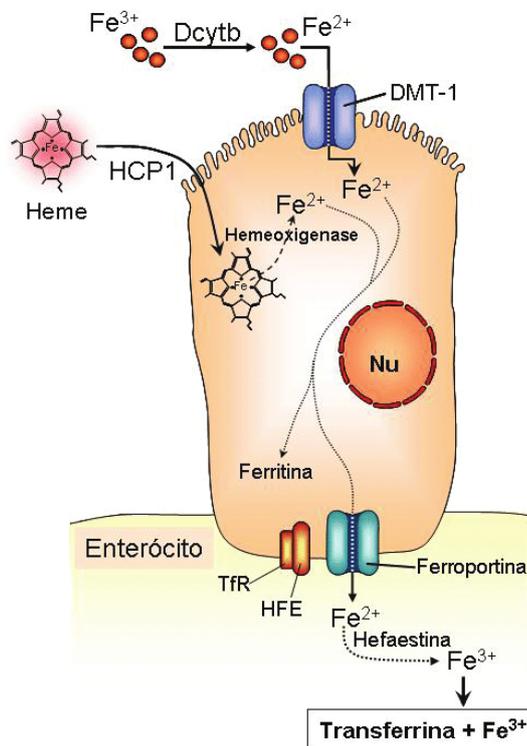


Figura 6 Metabolismo do ferro intracelular.⁽²¹²⁾

Um importante regulador da homeostase sistêmica do ferro, apesar da presença de outros reguladores como IRE e IRP, é o hormônio peptídico derivado do fígado (HEPC) que tem a função de diminuir os níveis de ferro através do bloqueio da absorção intestinal e por inibir a liberação de ferro das reservas. O HEPC é liberado em caso de estoques elevados de ferro no organismo, durante a infecção e inflamação, acarretando baixos níveis de ferro sérico.^(214, 215)

Na Doença Celíaca a ADF não responde ao tratamento feito com ferro oral e após uma dieta livre de glúten metade dos pacientes podem levar até dois anos para reverter a anemia.⁽²¹⁶⁾ A lenta melhora do quadro de anemia pode estar relacionada a precária absorção intestinal de ferro na dieta que dificulta a reposição do esgotado estoque de ferro. Em alguns pacientes o processo inflamatório pode ser o principal fator causal da ADF ou DF, pela liberação da hepcidina que é o principal regulador da homeostase do ferro.⁽²¹⁷⁻²²⁰⁾

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Identificar a prevalência de indivíduos com deficiência de ferro com ou sem anemia devido a Doença Celíaca, além de verificar as inter-relações entre variáveis (sexo, idade, procedência) dos pacientes.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Correlacionar as alterações histológicas no duodeno com os valores do anticorpo IgA anti-Transglutaminase e IgA antiendomísio.

Verificar o tempo decorrido da Anemia até o fechamento do diagnóstico da Doença Celíaca.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 DELINEAMENTO DA PESQUISA

Este foi um estudo analítico, observacional, transversal, que objetivou identificar a prevalência de indivíduos com deficiência de ferro com ou sem anemia devido a Doença Celíaca, além de verificar as inter-relações entre variáveis (sexo, idade, procedência) dos pacientes.

4.2 AMOSTRAGEM

O tamanho da amostra foi calculado usando a calculadora do Epiinfo versão 3.5.2. O valor considerado da amostra foi de 184 pessoas, com um índice de confiança de 95% e margem de erro de 5,1.

4.3 IMPLEMENTAÇÃO DA PESQUISA

A pesquisa foi realizada em pacientes da demanda do ambulatório de hematologia de um Hospital terciário de Brasília que recebe pessoas provenientes de várias regiões do Distrito Federal e entorno, o qual faz parte da Secretaria de Saúde do Distrito Federal, durante o período de Outubro de 2017 a Março de 2019. Todos os pacientes com deficiência de ferro com ou sem anemia foram selecionados a participar do estudo de acordo com os critérios de inclusão e exclusão.

Após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido dos pacientes incluídos no estudo (APÊNDICE A), foram todos avaliados através de um formulário padrão contendo dados relevantes para o estudo, como: informações pessoais, sinais e sintomas gastrointestinais presentes e relacionados com a Doença Celíaca (APÊNDICE B).

Em seguida, os pacientes foram novamente esclarecidos sobre a necessidade da obtenção de amostras de sangue para a pesquisa e da necessidade de realizar uma Endoscopia Digestiva Alta com biópsia do intestino delgado (um fragmento do bulbo e quatro fragmentos da 2ª porção duodenal), caso as sorologias para Doença Celíaca fossem positivas.

Todos os participantes foram selecionados de acordo com os critérios de inclusão e de exclusão estabelecidos pelo estudo.

4.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Participantes com mais de 16 anos de idade;
- Com anemia ferropriva (Nível de hemoglobina em homens, <13g/dL; em mulheres, <12g/dL), pela definição da Organização Mundial de Saúde ⁽²²¹⁾;
- VCM < 80 fl e Ferritina < 30 ng/ml;
- Pacientes sem sangramento ativo.

4.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Com Diagnóstico prévio de Doença Celíaca;
- Com Diagnóstico prévio de Doença oncológica;
- História recente de melena, hematêmese, hematoquezia, hemoptise, epistaxis recorrentes, hematúria e trauma;
- Pacientes com IgA Sérica abaixo de 7 mg/dl;
- Doenças crônicas (Renal, hepática ou cardíaca);
- Hipermenorréia com ciclo superior a 7 dias;
- Gravidez em curso;
- História de metrorragia;
- Alcoolismo;
- Cirurgia gastro-intestinal prévia.

4.6 PARTICIPANTES DA PESQUISA

Entre os 1.000 pacientes que passaram pelo ambulatório com quadro de anemia ferropriva ou por deficiência de ferro, 184 destes foram selecionados de forma aleatória, conforme a sua adequação aos critérios de inclusão.

Todos os pacientes selecionados para a pesquisa foram avaliados quanto à presença ou não de sintomas clínicos da Doença Celíaca através de um formulário (Apêndice B). Em seguida, foram investigados para a presença de anti-corpos IgA-Anti-transglutaminase (IgA-tTG), através do método imunoenzimático ELISA indireto (QUANTA Lite[®] h-tTG IgA ELISA, INOVA Diagnostic Inc., San Diego, CA, USA) e nos casos de resultado positivo, foram realizados o exame de imunofluorescência indireto IgA-Antiendomísio (IgA-EMA) utilizando o Kit comercial QUANTA LITE[®] Endomysial (primate distam Esophageous) Slide, INOVA Diagnostic, Inc. San Diego, CA, USA).

Todos estes exames foram realizados pela equipe técnica no laboratório de Pesquisa em Doença Celíaca da Universidade de Brasília (UnB). Utilizou-se como parâmetro o valor de anti-tTG conforme os valores de referência do kit comercial utilizado. O exame IgA-Antiendomísio era considerado como positivo, quando referenciado por dois observadores experientes de forma independente. Os exames foram processados seguindo as recomendações e referências do fabricante do Kit utilizado no laboratório acima citado. Ressalta-se ainda que foi feita a dosagem de IgA sérico em todos os participantes.

Todos aqueles que tiveram as sorologias positivas (IgA tTG e IgA-EMA) foram considerados positivos para Doença Celíaca e realizaram o exame de Endoscopia Digestiva Alta com aparelho AOHUA AQ 100 para coleta de fragmentos do intestino delgado e posterior análise histopatológica dos fragmentos de biópsia.⁽²²²⁾

4.7 COLETA, ARMAZENAMENTO E PROCESSAMENTO DO MATERIAL

Aproximadamente oito mL (mililitros) de sangue foram coletados em tubos de ensaios com gel separador, pela equipe de técnicos em enfermagem do laboratório de hematologia do Hospital terciário, com materiais descartáveis, seguindo todas as normas técnicas regulamentadas na Resolução Diretiva de Colegiado da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - RDC/ANVISA Nº 302/2005 que trata sobre coleta, transporte e processamento laboratorial de amostras de sangue.

As amostras de sangue coletadas foram centrifugadas no laboratório de Hematologia de um Hospital terciário e o soro obtido pela centrifugação a 4500 rotações por minuto (rpm), durante cinco minutos, posteriormente armazenadas no laboratório de Hematologia do Hospital Terciário a 2°C (graus Celsius) por no máximo dois dias e depois foram transportadas em caixa térmica, mantida a temperatura a 2°C, até o Laboratório de Doença Celíaca da UnB e armazenada novamente a 2°C para posterior realização do teste sorológico (IgA anti-tTG).

Os soros de todos os pacientes foram, aliquotados, estocados, congelados e identificados no biorepositório do Laboratório de Doença Celíaca da UNB a temperatura média de 34°C negativos, possibilitando a re-utilização em caso de alguma necessidade posterior de análise suplementar.

Outra parte da amostra foi direcionada a um laboratório particular, seguindo todos os tramites de transporte citado acima, com a finalidade de obter-se o teste de imunoglobulina A, pelo método de imunoquantificação turbidimétrica (COBAS MIRA, Roche Diagnostic Systems).

4.8 ANÁLISE SOROLÓGICA

4.8.1 Análise de Anticorpos IgA anti-transglutaminase (IgA-anti-tTg)

A mensuração dos anticorpos IgA anti-tTG no soro dos participantes foi feita com a utilização do método ELISA indireto usando *kit* comercial (QUANTA Lite® h-tTG IgA ELISA, INOVA Diagnostics Inc., San Diego, CA, USA). Toda a análise obedeceu às recomendações do fabricante, sendo feitas em temperatura ambiente (20 a 26°C) na seguinte sequência:

- a. Antígeno transglutaminase tecidual humano adsorvido nos poços.
- b. Adição de analito (anticorpo). Incubação. Lavagem.
- c. Adição de conjugado anti-anticorpo tTG. Incubação. Lavagem.
- d. Adição de substrato cromógeno. Incubação.
- e. Adição de solução de paragem e leitura no espectrofotômetro.

As amostras de soro dos pacientes tiveram uma diluição 1:100 em PBS (*Phosphate Buffered Saline* ou Tampão fosfato-salino) com o pH 7,2, sendo em seguida homogeneizados em agitador mecânico. Colocou-se 100 µL de soro diluído no seu respectivo poço, na placa de poliestireno sensibilizado com transglutaminase tecidual humano e incubou-se por 30 min. Após este procedimento, realizou-se o ciclo de três lavagens automatizadas da placa com 300µl de tampão de lavagem (tampão fosfato com 0,05% de Tween 20). Logo após, 100 µL de anticorpo de detecção do IgA anti-humano, anti-anticorpo conjugado HRP (de cabra) marcado com uma peroxidase, foi adicionado a cada orifício, incubados por 30 min e lavados como descrito anteriormente.

Para a revelação da reação, adicionou-se 100 µl da solução de substrato cromógeno tetrametilbenzidina (TMB 3,3,5,5') com peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a cada poço e incubados por 30 min no escuro e em temperatura ambiente. A reação foi interrompida com ácido sulfúrico 0,334 molar (H₂SO₄) e a leitura realizada no espectrofotômetro por meio de filtro de 450 nanômetros (nm).

Os resultados foram quantificados por meio da comparação entre a densidade óptica (D.O) de um padrão pré-estabelecido e seu respectivo valor numérico em Unidades arbitrárias (U) com a D.O das amostras. Aqueles resultados com valor menor que 20U foram considerados negativos; entre 20 e 30U fracamente positivos ou limítrofes; e maiores que 30U considerados moderados ou fortemente positivos, conforme sugere o fabricante.

4.8.2 Análise de Anticorpos IgA antiEndomísio (IgA – antiEMA)

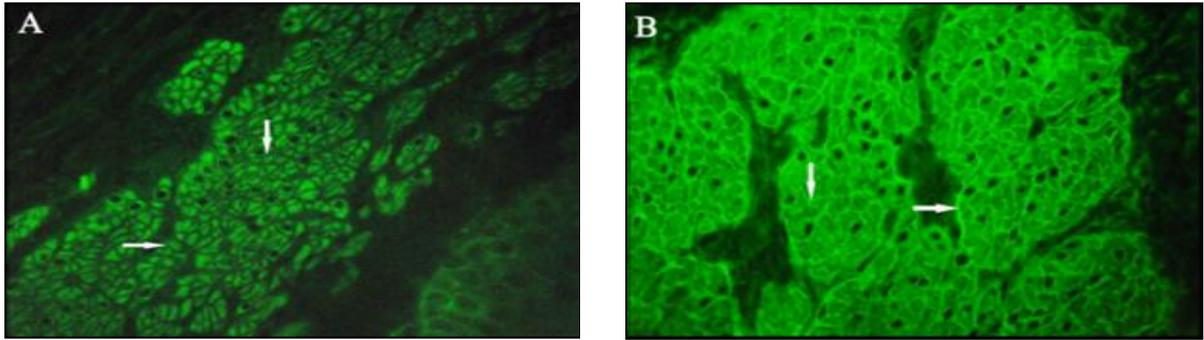
Para detectar a presença de anticorpos da classe IgA-antiendomísio, foi usado o teste de imunofluorescência. Utilizou-se o *kit* comercial QUANTA Lite® Endomysial (*primate distal Esophageous*) Slide, INOVA Diagnostics, Inc. San Diego, CA, USA, conforme as recomendações do fabricante. As lâminas histológicas utilizavam substratos com secções criostáticas com 4 micrômetros (μM) de espessura da porção distal do terço inferior do esôfago de primata (*Cebus Apella*) sensibilizadas com antígeno endomísio específico para a DC.

Utilizou-se amostras de 40 microlitros (μL) de soro diluído a 1:5 em solução de PBS (*Phosphate Buffered Saline* ou Tampão fosfato-salino) com pH 7,2 e incubado em lâmina por 30 min em câmara úmida à temperatura ambiente (15 a 30°C). Depois as amostras foram lavadas 3 vezes com tampão PBS por meio de esguichos utilizando pipeta Pasteur e incubadas no mesmo tampão por cinco minutos. Imergindo-as numa cuvete, seguido de uma repetição de lavagem em nova solução tampão.

Posteriormente, pipetou-se 30 μL do anticorpo de detecção anti-IgA humano marcado com fluorocromo Isotiocianato de Fluoresceína (FITC) usando o *kit* comercial (Biosystems, Barcelona, Spain) adicionado a cada poço previamente incubado com soro humano, e novamente incubou-se em câmara úmida por 30 minutos. Foi 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).

A análise foi feita por dois observadores de forma independente. Considerou-se o resultado como negativo (Figura 8A) a ausência de fluorescência nos espaços do tecido conjuntivo e a reação positiva (Figura 8B) quando a fluorescência de cor verde brilhante em forma de rendilhado ou favo de mel fosse observada entre as miofibrilas da musculatura lisa (endomísio) em diluições $\geq 1:5$.



A) IgA-EMA negativo: ausência de fluorescência (seta).

B) IgA-EMA positivo: fluorescência de cor verde brilhante (seta).

Figura 7 IgA-EMA negativo (A) e positivo (B).

Fonte: Figura gentilmente cedida pelo Laboratório de Doença Celíaca da Universidade de Brasília - UnB.

4.9 ENDOSCOPIA E BIÓPSIA INTESTINAL

Todos os pacientes que tiveram as sorologias positivas também foram submetidos a exame de Endoscopia Digestiva Alta com aparelho AOHUA AQ 100, pelo mesmo profissional, com experiência em exames de pacientes com Doença Celíaca.

Após um jejum de 10h durante a noite, os pacientes chegavam ao local do exame, era realizada a punção com jelco 23 na região do antebraço, o paciente era monitorizado, administrado uma sedação com dolantina e midazolam, numa dose de 0,5 e 01ml respectivamente e iniciado o procedimento.

O endoscópio foi introduzido por via oral até a segunda porção do duodeno, sendo o esôfago, estômago e primeira e segunda porção duodenal minuciosamente examinado. Após a avaliação macroscópica, eram retirados 04 fragmentos da segunda porção duodenal e um da primeira porção duodenal, conforme orientação da Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva para biópsias do delgado.

Todas as amostras de biópsia foram colocadas em solução com formol a 10% tamponada para preservação celular e tecidual, ficando em temperatura ambiente até ser levada ao laboratório de análise histopatológica. Foram avaliadas por um patologista de larga experiência em laboratório particular e classificada de acordo com a classificação de Marsh-Oberhuber (2000) em tipo I: infiltração de linfócitos, tipo II: hiperplasia de criptas, tipo III: IIIa - atrofia

leve, IIIb: atrofia parcial, IIIc: atrofia total e tipo IV: mucosa gordurosa sem infiltrado de linfócitos intraepitelial e criptas de altura normal.⁽¹⁸¹⁾

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram tabulados inicialmente em um banco de dados no programa Microsoft® Office Excell e posteriormente as variáveis quantitativas foram analisadas em relação à média (na idade, hemoglobina, IMC, tTG IgA), a porcentagem foi usada para variáveis qualitativas, como gênero, sintomas e naturalidade.

Os dados em análise não eram paramétricos sendo então realizado o teste de Mann-Whitney, com o p -valor $< 0,05$ para associação significativa das variáveis independentes Hemoglobina, IMC e transglutaminase.

4.11 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde (CEP - FEPECS), respaldou sem observações o presente estudo, sob o registro 7537581700005553, conforme Anexo A, em conformidade com a lei federal 466/2012. Todos os pacientes tiveram conhecimento prévio sobre os riscos e benefícios da pesquisa, com esclarecimento de todas as dúvidas e dando anuência para participação do estudo através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A), cumprindo o que a Resolução 466 preconiza para pesquisas com seres humanos.⁽²²³⁾

5 RESULTADOS

Avaliamos 184 pacientes com Deficiência de Ferro com ou sem Anemia e obtivemos seis casos (3,3%) diagnosticados com Doença Celíaca.

A idade mínima dos 184 participantes foi de 18 anos e a máxima de 86 anos. A média de idade observada foi de 46 anos.

Dos 184 pacientes, 57 tinham idade abaixo de 40 anos e 127 estavam com idade acima de 40 anos. Os pacientes ainda foram divididos em cinco grupos conforme a faixa etária. Destacamos uma maior prevalência no grupo quatro (intervalo de idade de 41 a 50 anos) com 64 pacientes (34,8%) (tabela 1).

Quanto ao gênero observamos que entre os 184 pacientes 163 eram mulheres e 21 eram homens.

Encontramos valores do anti-Transglutaminase positivos em dez pacientes. Destes, 04 tinham o resultado do anti-Endomísio negativos e não foram contabilizados como tendo Doença Celíaca, estando todos ainda em acompanhamento e sendo avaliados para outras doenças. Seis pacientes apresentaram o Anti-Endomísio positivo e foram classificados como tendo Doença Celíaca. Todos os seis pacientes com as duas sorologias positivas fizeram a biópsia do intestino delgado através da Endoscopia e tiveram os seguintes achados de acordo com a classificação de Marsh: dois Marsh tipo IIIa (33,3% dos pacientes), um Marsh tipo IIIb (16,7%) e três Marsh tipo IIIc (50%).

A média dos resultados da anti-transglutaminase e do anti-endomísio foi de 142,6U, e de 1:640 (50%) respectivamente.

A média de tempo dos seis pacientes com Doença Celíaca e anemia até o diagnóstico foi de cinco anos.

Observamos que 100% dos pacientes diagnosticados com Doença Celíaca eram mulheres e que a faixa etária predominante foi entre 21- 30 anos conforme a TABELA 2.

Os dados da naturalidade dos pacientes estão disponíveis na TABELA 03, ressaltando que todos os pacientes com Doença Celíaca diagnosticados são da região Centro-Oeste do Brasil.

Observamos os sintomas mais prevalentes entre os pacientes diagnosticados com Doença Celíaca: cefaleia (66,7%), dor abdominal (50%) e outros distúrbios gastrointestinais (borboríngos, excesso de gases, plenitude pós-prandial) (TABELA 4).

Tabela 1 - Distribuição da idade e gênero pelos participantes do estudo (n=184), Distrito Federal, 2019

	Número de pacientes	% idade pacientes
Idade (anos)		
Média	46	
Variação (min-máx)	18-86	
Categorias das idades		
16-20 anos		
21-30 anos	8	4,35
31-40 anos	19	10,33
41-50 anos	30	16,30
51-60 anos	64	34,78
61-70 nos	29	15,76
> 71 anos	18	9,78
	16	8,70
Gênero		
Masculino	21	11,4
Feminino	163	88,6

Tabela 2 - Distribuição da Doença Celíaca de acordo com grupo de idade (n=184), Distrito Federal, 2019

Idade em anos	Nº de pacientes	Doença Celíaca	% da idade dos pacientes
16-20 anos	8	0	0
21-30 anos	19	4	66,7
31-40 anos	30	0	0
41-50 anos	64	2	33,3
51-60 anos	29	0	0
61-71 nos	18	0	0
> 71 anos	16	0	0
Total	184	6	100,0

Tabela 3 - Distribuição dos participantes do estudo de acordo com a naturalidade (N=184 e os DC), Distrito Federal, 2019

Região Brasileira	Nº de participantes	Doença Celíaca	% dos pacientes
Norte	4	0	0
Nordeste	64	1	16,7
Centro-Oeste	82	5	83,3
Sudeste	34	0	0
Sul	0	0	0
Total	184	6	100,0

Tabela 4 - Distribuição dos sintomas entre os pacientes com Doença Celíaca, Distrito Federal, 2019

Sintomas	Nº de pacientes com DC	% entre os Celíacos
Borborigmo	2	33,3
Cefaleia	4	66,7
Excesso de gases	2	33,3
Plenitude pós-prandial	2	33,3
Dor abdominal	3	50,0

Tabela 5 - Medidas descritivas dos valores de Hemoglobina e IMC, Distrito Federal, 2019

Celíacos	Variável	Média	Desvio Padrão	N	p-valor
Sim	Hemoglobina	10,42	0,76	6	0,996
Não	Hemoglobina	10,88	3,54	178	
Sim	IMC	25,04	4,63	6	0,907
Não	IMC	25,22	4,23	178	

Na tabela acima tem-se os resultados de dados não paramétricos, sendo realizado o teste de Mann-Whitney. Constatou-se que não existe diferença entre as médias de Hemoglobina e IMC pelo fato de serem pacientes celíacos ou não.

6 DISCUSSÃO

A Doença Celíaca é uma condição crônica autoimune que afeta o intestino delgado de pessoas geneticamente predispostas após a ingestão de glúten contido no trigo, cevada, centeio e aveia.

A anemia por deficiência de ferro tem uma ampla e conhecida relação com a Doença Celíaca, representando cerca de 32 a 69% nos pacientes adultos. Sendo um dos mais frequentes sintomas extra-intestinais.

A epidemiologia da Doença Celíaca (DC) tem mudado drasticamente nos últimos anos, devido aos avanços nos testes sorológicos e apresentam alta incidência dos casos silenciosos e atípicos.⁽¹⁹⁷⁾

O atraso no diagnóstico da DC tem sido observado no passado, os pacientes do estudo de Green et al⁽²²⁴⁾ tiveram uma média de 11 anos para a concretização do diagnóstico. Já no estudo realizado por Paez et al⁽²²⁵⁾ foi identificado um atraso no diagnóstico de 2,3 meses nos que tinham sintomas gastrointestinais e de 42 meses no grupo sem sintomas gastrointestinais. Em muitos casos, a deficiência de ferro, com ou sem anemia associada pode ser a única forma de manifestação da DC, tornando mais difícil a suspeição desta doença entre as pessoas envolvidas.

No presente estudo, a média para obter o diagnóstico da Doença Celíaca foi de cinco anos, um atraso ainda grande para o diagnóstico, nos dias atuais, devido ao grande avanço da medicina com a realização de exames sorológicos e histopatológicos. Ao analisarmos os sintomas dos pacientes, constatamos que além da anemia todos os seis pacientes do estudo apresentaram alguma manifestação gastrointestinal, conforme tabela 4. O retardo do diagnóstico da Doença Celíaca, fica ainda mais evidente quando comparamos com o trabalho de Paez et al⁽²²⁵⁾ que mostra um atraso de 2,3 meses naqueles pacientes que tinham algum sintoma gastrointestinal.

Atribuímos como uma possível causa do atraso no diagnóstico a não realização da sorologia (IgA anti-tTG e IgA anti-EMA) para DC no serviço público de forma gratuita, de âmbito estadual do Distrito Federal, dificultando muitos pacientes de fazerem os exames e/ou não terem condições financeiras para realizá-los nos serviços particulares.

Utilizou-se o IgA anti-transglutaminase (IgA anti-tTG) para *screening* diagnóstico da Doença Celíaca nos pacientes com anemia. Naqueles que tinham o resultado do tTG IgA positivo, foi realizado a dosagem do IgA anti-endomísio (IgA anti-EMA). Seguimos a

investigação da DC em pacientes que apresentaram a sorologia IgA anti-tTG e IgA-anti-EMA positivas e realizou-se a endoscopia digestiva alta para realização da biópsia do intestino delgado (um fragmento do bulbo e quatro fragmentos da 2ª porção duodenal). Estudos recentes mostram que esta quantidade de fragmentos retirados do duodeno para biópsia, aumenta em 10 a 18% as chances de se detectar alterações histológicas⁽²²⁶⁻²²⁸⁾, além de ser a recomendação dos últimos *guidelines*.^(44, 229,230)

Existe uma concordância em utilizar o teste sorológico para *screening* da DC, sendo o IgA anti-tTG como primeira opção⁽²³¹⁾ devido à sua alta sensibilidade. O IgA anti-EMA é utilizado como um teste confirmatório pela sua alta sensibilidade e especificidade que chega quase a 100%.⁽²³²⁾

Emami et al⁽²³³⁾ relatam alta especificidade (98,11%) para os seguintes achados endoscópicos: aspecto em mosaico, diminuição das pregas de Kerckring, atrofia bulbar com maior visualização dos vasos submucosas e fissuras ou aspecto de serrilhamento da mucosa. Porém constataram que a sensibilidade foi muito baixa: 11,1% a 22,2%.

No nosso estudo, observamos um caso em que o paciente não tinha o diagnóstico confirmado da DC porque a Endoscopia, realizada em outro serviço, havia sido normal, sem relato da realização de biópsia duodenal e sem testes sorológicos para DC. Após a realização da sorologia e constatado que IgA anti-tTG e IgA anti-EMA eram positivos, a EDA foi repetida, visando a coleta de fragmentos do intestino delgado para exame histopatológico, apesar do intervalo entre as endoscopias ser de dois meses. O exame macroscópico mostrou a presença de fissuras, serrilhamento da mucosa do delgado e aspecto em mosaico. A biópsia foi realizada e constatou-se alteração com classificação Marsh tipo IIIc. Este fato corrobora a baixa sensibilidade da realização da EDA sem a sorologia por se tratar de um exame que depende da experiência do operador com casos de DC.

Os estudos de prevalência da DC em pacientes com anemia ou deficiência de ferro têm mostrado variáveis resultados envolvendo os continentes: América do Norte – 4,6%^(234, 235); Europa sem a Turquia – 2,5%⁽²³⁴⁻²³⁷⁾; Europa com a Turquia – 4,1%⁽²³⁸⁻²⁴²⁾; outros países asiáticos – 6,4%^(31, 29) mostrando uma alta prevalência.

Avaliamos 184 pacientes com Deficiência de Ferro com ou sem Anemia e a prevalência foi de seis casos (3,3%) diagnosticados com Doença Celíaca. Consideramos uma prevalência alta, pois está acima da observada no mundo, que é de 1% e um pouco acima da prevalência da Europa sem a Turquia. A proporção de casos positivos para DC foi de 1:31.

Em uma metanálise sobre a prevalência da DC em pessoas com anemia, a prevalência coincide com nosso estudo em 3,3% apesar de terem encontrado uma heterogeneidade nos resultados de 67,7%.⁽¹⁹²⁾

Estudos realizados no Irã com 402 pacientes revelaram uma prevalência de 10,4%⁽²⁹⁾, Grisolano et al avaliaram 103 pacientes com anemia por deficiência de ferro e destes nove (8,7%) tinham DC nos Estados Unidos e com uma prevalência de 8,33% na Turquia.⁽²⁴³⁾ Emami et al⁽³¹⁾ encontrou 30 pacientes com Doença Celíaca (10%), em um estudo prospectivo com 130 pacientes no Irã. Estas disparidades nas prevalências, em relação ao nosso estudo, possivelmente estão relacionadas às diferenças regionais de cada país e aos critérios diagnósticos utilizados em cada estudo ao considerarem o diagnóstico da Doença Celíaca apenas com a análise da transglutaminase IgA e a biópsia, sem considerar o EMA IgA, tendo como padrão ouro a biópsia. Sabemos que doenças como hepatopatias, artrite reumatoide, giardíase e doença inflamatória intestinal podem falsear a positividade da transglutaminase.⁽²⁴⁴⁾

A histologia isolada sem a realização do EMA IgA não é segura para diagnosticar a Doença Celíaca, pois, algumas doenças como a giardíase, enteropatia autoimune, tuberculose, doença de Whipple, enteropatia pelo HIV, gastroenterite eosinofílica, doença de Crohn, intolerância a outros alimentos (leite, soja), linfoma intestinal⁽³⁰⁾ e infecção intestinal por E. Coli. podem apresentar alterações histológicas semelhantes as encontradas na Doença Celíaca.⁽²⁴⁵⁾ Também tem suas limitações por ser de alto custo, pela possibilidade de apresentar artefatos devido ao corte não longitudinal do fragmento duodenal e conseqüentemente pela baixa especificidade. Concorda-se com Bai, Fried e Corazza quando afirmam que a Transglutaminase IgA e o Anti-Endomísio sendo positivos em um paciente com sintomas sugestivos ou com algum fator de risco, tem alta chance de ter Doença Celíaca.⁽²⁴⁴⁾

O estudo de Khattoon, Ahmed e Yousaf mostrou a prevalência da DC de 75% em pessoas com menos de 40 anos. Sendo um maior predomínio da DC entre os 20 e 30 anos com 11,81%.⁽¹⁹⁷⁾ Nosso estudo corrobora com os achados de Khattoon, Ahmed e Yousaf com predomínio da DC entre a faixa etária dos 21 a 30 anos com 66,7%.

A Doença Celíaca é mais comum entre as mulheres, tendo uma proporção de 2:1 ou 3:1 em relação aos homens, não diferenciando do que ocorre em outras doenças autoimunes. Observamos neste estudo um total predomínio (100%) das mulheres diagnosticadas com Doença Celíaca, fato pode ser justificado pela amostra ter sido composta por 88,6% de mulheres. Estudos já demonstram que a Doença Celíaca é mais prevalente em mulheres.^(246, 247)

Em relação ao peso, não houve diferença significativa para o Índice de Massa Corporal (IMC) dos pacientes que tinham o diagnóstico de DC com os demais pacientes do estudo.

A média do IgA anti-glutaminase foi de 142,6U > 20U entre os pacientes com Doença Celíaca e presença do IgA-Antiendomísio 1:640 em 50% dos casos. Todos os seis tiveram classificação histológica de Marsh tipo III, com 50% de Marsh tipo IIIc, 33,3% Marsh tipo IIIa e 16,7% Marsh IIIb. Este achado corrobora o estudo de Barker et al (2005)⁽²⁴⁸⁾ que mostrou a possibilidade de se ter, ao menos, uma classificação histológica de Marsh tipo II quando o valor da Transglutaminase for superior a 100U/ml, com sensibilidade de 98% e uma especificidade de 97,2% para diagnóstico de Doença Celíaca. Além de Barker, Tortora mostra que um valor de transglutaminase maior que 62,4 u/mL é diagnóstico para atrofia da mucosa, também concordando com nossos achados.⁽²⁴⁹⁾

Uma das limitações do nosso estudo foi a não realização do estudo genético dos pacientes diagnosticados com Doença Celíaca devido ao tempo limitado para a realização do trabalho. Porém os pacientes permanecerão em acompanhamento no ambulatório de Doença Celíaca do Hospital Universitário de Brasília (HUB) e conseqüentemente serão avaliados geneticamente, sem que haja prejuízo no acompanhamento destes pacientes.

A anemia por deficiência de ferro é a forma mais frequente entre as anemias no mundo.⁽²⁵⁰⁾ A alta prevalência da Doença Celíaca em pacientes com deficiência de ferro com ou sem anemia, deve alertar o médico assistente a sempre solicitar o exame para Doença Celíaca.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A prevalência da Doença Celíaca em pacientes com anemia ferropriva em Brasília foi de 1:33, estando equivalente as observadas em países europeus.

Ao compararmos os valores da IgA-tTG, IgA-EMA e classificação de Marsh-Oberhuber, não encontramos uma correlação clara em relação aos maiores valores de IgA-tTG com o grau maior de atrofia da mucosa. Destacamos o fato de que as transglutaminases com valores acima de 100u/ml, deste estudo, estavam relacionadas a algum grau de atrofia.

A média de tempo de cinco anos para o diagnóstico da Doença Celíaca em pacientes com deficiência de ferro com ou sem anemia com algum sintoma gastrointestinal foi alta. Sendo recomendado a realização da sorologia para Doença Celíaca como exame de primeira linha em todos os pacientes que tenham deficiência de ferro com ou sem anemia, objetivando abreviar o tempo de diagnóstico e inibir o surgimento de complicações da Doença Celíaca.

REFERÊNCIAS:

1. Losowsky MS. A history of coeliac disease. *Digestive Diseases*. 2008.
2. van Berge-Henegouwen GP, Mulder CJ. Pioneer in the gluten free diet: Willem-Karel Dicke 1905-1962, over 50 years of gluten free diet. *Gut* [Internet]. 1993 Nov 1; 34 (11):1473–5.
3. Alvey C, Anderson CM, Freeman M. Wheat gluten and coeliac disease. *Arch Dis Child* [Internet]. 1957 Oct; 32 (165): 434–7.
4. Goh VL, Werlin SL. Discovery of gluten as the injurious component in celiac disease. *Nutr Clin Pract* [Internet]. 2011; 26 (2): 160–2.
5. Galipeau HJ, McCarville JL, Huebener S, Litwin O, Meisel M, Jabri B, et al. Intestinal Microbiota Modulates Gluten-Induced Immunopathology in Humanized Mice. *The American Journal of Pathology*, v.185, n. 11, nov, 2015. p. 278-82.
6. Gama e Silva TS, Furlanetto TW. Diagnóstico de Doença Celíaca em Adultos. *Rev Assoc Med Bras*, v.56, n.1, 2010. p. 122-6.
7. Pittschieler K, Ladinsler B. Coeliac disease screened by a new strategy. *Acta Paediatr. Suppl* 1996; 412: 42–45.
8. Corazza GR, Andreani ML, Biagi F, Corrao G, Pretolani S, Giulianelli G et al. The smaller size of the ‘coeliac iceberg’ in adults. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 917–919.
9. Johnston SD, Watson RG, McMillan SA, Sloan J, Love AH. Prevalence of coeliac disease in Northern Ireland. *Lancet* 1997; 350: 1370.
10. Kolho KL, Farkkila MA, Savilahti E. Undiagnosed coeliac disease is common in Finnish adults. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33: 1280–1283.
11. Ivarsson A, Persson LA, Juto P, Peltonen M, Suhr O, Hernell O. High prevalence of undiagnosed coeliac disease in adults: a Swedish population-based study. *J Intern Med* 1999; 245: 63–68.
12. Riestra S, Fernandez E, Rodrigo L, Garcia S, Ocio G. Prevalence of coeliac disease in the general population of Northern Spain. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 398–402.
13. Volta U, Bellentani S, Bianchi FB, Brandi G, de Franceschi L, Miglioli L et al. High prevalence of celiac disease in Italian general population. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 1500–1505.
14. Mäki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T et al. Prevalence of celiac disease among children in Finland. *N Engl J Med* 2003; 348: 2517–2524.
15. Not T, Horvath K, Hill ID, Partanen J, Hammed A, Magazzu G et al. Coeliac disease risk in USA: high prevalence of antiendomysium antibodies in healthy blood donors. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33: 494–498.

16. Catassi C, Ratsch IM, Gandolfi L, Pratesi R, Fabiani E, El Asmar R et al. Why is coeliac disease endemic in the people of the Sahara? *Lancet* 1999; 354: 647–648.
17. Ciclitira PJ, King AL, Fraser JS. 2001. AGA technical review on celiac sprue. American Gastroenterological Association. *Gastroenterology*, 120:1526–1540.
18. Almeida RC, Gandolfi L, De Nazaré Klautau-Guimarães M, Ferrari I, Sousa SM, Abe-Sandes K, Barbosa AA, Simões AL, Pratesi R, Oliveira SF. *Am J Hum Biol.* 2012 Sep-Oct;24(5):710-2.
19. Gandolfi L, Pratesi R, Cordoba JC, Tauil PL, Gasparin M, Catassi C. Prevalence of celiac disease among blood donors in Brazil. *Am. J. Gastroenterol*, v. 95, 2000. p. 689-92.
20. Shayesteh AA, Hajiani E, Hashemi SJ, Masjedizadeh A, Latifi SM, Shayesteh A, Prevalence of celiac disease in Iranian patients with irritable bowel syndrome: a cross-sectional study, *J Dig Dis* 2014; 15 (1): 12-7.
21. Maki M, Collin P. Coeliac disease. *Lancet* 1997; 349: 1755–1759.
22. Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology* 2001; 120: 636–651.
23. Farrell RJ, Kelly CP. Celiac sprue. *N Engl J Med* 2002; 346: 180–188.
24. Howdle PD, Losowsky MS. Coeliac disease in adults. In: Marsh MN (ed.) *Coeliac Disease*. Oxford: Blackwell Scientific, 1992: 49–80.
25. Volta U. Coeliac disease: recent advances in pathogenesis, diagnosis and clinical signs. *Rec Prog Med* 1999; 1: 37–44.
26. Rhattacharya M, Lomash A. Clinical and histopathological correlation of duodenal biopsy with IgA anti-tissue transglutaminase titers in children with celiac disease. *Indian Journal of Gastroenterology* 2014; 33 (4): 350-4.
27. Farrel RJ, Kelly CP. Celiac sprue. *N Engl J Med* 2002; 346(3):180-8.
28. Gillett HR, Freeman HJ. Serological testing in screening for adult celiac disease. *Can J Gastroenterol* 1999; 13: 2659.
29. Baghbanian M, Farahat A, Vahedian HA, Sheyda E, Zare-Khormizi MR. The Prevalence of Celiac Disease in Patients with iron-deficiency anemia in center and South área of Iran. *Arq Gastroenterol* 2015; 52(4): 278-82.
30. Green PHR, Cellier C. Celiac Disease. *N Eng J Med* 2007; 355(17): 1731-43.
31. Emami MH, Karimi S, Kouhestani S. Is routine duodenal biopsy necessary for the detection of celiac disease in patients presenting with iron deficiency anemia? *Int. J. Prev. Med* 2012; 3: 273-77.

32. Bottaro G, Cataldo F, Rotolo N, Spina M, Corazza GR. The Clinical pattern of subclinical/silente celiac disease: un analysis on 1026 consecutive cases. *Am. J. Gastroenterol* 1999; 94(3): 691-6.
33. Annibale B, Severi C, Chistolini A, Antonelli G, Lahner E, Marcheggiano A, et al, Efficacy of gluten-free diet alone on recovery from iron deficiency anemia in adult celiac patients. *Am. J. Gastroenterol* 2001; 96: 132-37.
34. Halfdanarson TR, Litzow MR, Murray JA, Hematologic manifestations of celiac disease. *Blood* 2007; 109: 412-21.
35. Freeman HJ. Iron deficiency anemia in celiac disease, *World Journal of Gastroenterology* 2015; 21(31): 9233-38.
36. Kosnai I, Kuitunen P, Siimes MA. Iron deficiency in children with coeliac disease on treatment with gluten-free diet. Role of intestinal blood loss. *Arch Dis Child* 1979; 54: 375-78.
37. Fine KD. The prevalence of occult gastrointestinal bleeding in celiac sprue. *N Engl J Med* 1996; 334: 1163-67.
38. Shamir R, Levine A, Yalon-Hacohen M, Shapiro R, Zahavi I, Rosenbach Y, Lerner A, Dinari G. Faecal occult blood in children with coeliac disease. *Eur J Pediatr* 2000; 159: 832-34.
39. Carter D, Levi G, Tzur D, Novis B, Avidan B. Prevalence and predictive factors for gastrointestinal pathology in Young men evaluated for iron deficiency anemia. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 1299-1305.
40. Halfdanarson TR, Litzow MR, Murray JA. Hematologic manifestations of celiac disease. *Blood* 2007; 109: 412-21.
41. Baccini F, Aloe Spiriti MA, Vannella L, et al. Unawareness of gastrointestinal symptomatology in adult coeliac disease with unexplained iron-deficiency anemia presentation. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: p. 915-21.
42. Sabel'nikova EA, Parfenov AI, Krums LM, Gudkova RB. Celiac disease as a cause of iron deficiency anemia. *Ter Arkh* 2006; 78:45-8.
43. Anaemia, Iron Deficiency and Coeliac Disease 2010. (Conference presentation)
44. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2012 Jan; 54(1):136–60.
45. Di Sabatino A, Corazza GR. Coeliac disease. *Lancet* [Internet]. 2009; 373 (9673): 1480–93.
46. Paveley WF, From Aretaeus to Crosby: a history of coeliac disease. *BJM* 1988; 24 – 31 dec (297): 1646-49.
47. Guandalini S, A brief history of Celiac Disease, *Impact* 2007; 7 (3): 1-4.

48. Visakorpi JK. Changing features of coeliac disease. In: Markku Mäki, Pekka Collin, JK Visakorpi, editors. *Coeliac Disease. Proceedings of the Seventh International Symposium on Coeliac Disease*. Finland: Tampere; September 5-7, 1996. p. 1-7.
49. Auricchio S, Troncone R. History of coeliac disease. *Eur J Pediatr* [Internet]. 1996 Jun;155(6):427–8.
50. Paulley JW. Observations on the Aetiology of Idiopathic Steatorrhoea. *BMJ* [Internet]. 1954 Dec 4; 2 (4900):1318–21.
51. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology* [Internet]. 1992 Jan; 102 (1):330–54.
52. Chorzelski TP, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Beutner EH, Kumar V. IgA class endomysium antibodies in dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 1983 Dec; 420 (1 Defined Immun):325–34.
53. Sulkanen S, Halttunen T, Laurila K, Kolho K-L, Korponay-Szabó IR, Sarnesto A, et al. Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. *Gastroenterology*. 1998; 115 (6):1322–8.
54. Dieterich W, Laag E, Schopper H, Volta U, Ferguson A, Gillett H, et al. Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease. *Gastroenterology*. 1998; 115 (6):1317–21.
55. Lohi S, Mustalahti K, Kaukinen K, Laurila K, Collin P, Rissanen H, et al. Increasing prevalence of coeliac disease over time. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26 (9): 1217-25.
56. Catassi C, Cobellis G. Coeliac disease epidemiology is alive and kicking, especially in the developing world. *Dig Liver Dis*. 2007; 39: 908-10.
57. Guadalini S, Gupta P. Celiac disease a diagnostic challenge with many facets. *Clin Applied Immunol* Ver 2002; 2: 293-305.
58. Davidson LSP, Fountain JR, Incidence of sprue syndrome with some observation on the natural history. *Br Med J*. 1950; 1:1157-61.
59. Barada K, Abu Daya H, Rostami K, Catassi C. Celiac disease in the developing world. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2012; 22 (4): 773-96.
60. Singh P, Arora S, Singh A, Strand TA, Makharia GK. Prevalence of celiac disease in Asia: a systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2016; 31 (6): 1095-101.
61. Lionetti E, Gatti S, Pulvirenti A, Catassi C. Celiac disease from a global perspective. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2015; 29(3): 365-79.

62. Rossi TM, Albini CH, Kumar V. Incidence of celiac disease identified by the presence of serum endomysial antibodies in children with chronic diarrhea, short stature, or insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Pediatr.* 1993. 123: 262-64.
63. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, *et al.* Prevalence of celiac disease in at-risk and not-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Arch Intern Med.* 2003; 163:286-92.
64. Vásquez H, de la Paz Temprano M, Sugai E, Scacchi SM, Souza C, Cisterna D, *et al.* Prevalence of celiac disease and celiac autoimmunity in the Toba native Amerindian community of Argentina. *Can J Gastroenterol Hepatol* 2015; 29(8): 431-4.
65. Gandolfi L, Pratesi R, Cordoba JCM, Tauil PL, Gasparin M, Catassi C. Prevalence of celiac disease among blood donors in Brazil. *Am J Gastroenterol.* 2000;95(3):689–92.
66. Oliveira RP, Sdepanian VL, Barreto JA, Cortez AJP, Carvalho FO, Bordin JO, *et al.* High prevalence of celiac disease in Brazilian blood donor volunteers based on screening by IgA antitissue transglutaminase antibody. *Eur J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2007 Jan;19(1):43–9.
67. 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. *Dig Dis Sci.* 2006;51(5):1020–5.
68. Pereira MAG, Ortiz-Agostinho CL, Nishitokukado I, Sato M-N, Damião AOMC, Alencar ML, *et al.* Prevalence of celiac disease in an urban area of Brazil with predominantly European ancestry. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2006 Oct 28; 12(40):6546–50.
69. Kupfer SS, Jabri B. Celiac Disease Pathophysiology. *Gastrointest Endosc Clin N Am.* 2012 Oct; 22(4):1-28.
70. Korponay-Szabó I, Troncone R, Discepolo V. Adaptive diagnosis of coeliac disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.* 2015; 29: 381-89.
71. Schuppan D. Current Concepts of celiac disease pathogenesis. *Gastroenterology.* 2000; 119-234.
72. Ferguson A, Carr KE, MacDonald TT, Watt C. Hypersensitivity Reactions in the Small Intestine. *Digestion* [Internet]. 2009 Jan 27;18 (1–2):56–63.
73. Ferguson A, McClure JP, Macdonald TT, Holden RJ. Cell-mediated immunity to gliadin within the small-intestinal mucosa in coeliac disease. *Lancet.* 1975;305(7912):895–7.
74. van de Wal Y, Kooy YM, van Veelen P, *et al.* Glutenin is involved in the gluten-driven mucosal T cell response. *Eur J Immunol.* 1999; 29:3133–3139.

75. Molberg O, Solheim Flaete N, Jensen T, et al. Intestinal T-cell responses to high-molecular-weight glutenins in celiac disease. *Gastroenterology*. 2003; 125:337–344.
76. Dewar DH, Amato M, Ellis HJ, et al. The toxicity of high molecular weight glutenin subunits of wheat to patients with coeliac disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2006; 18:483–491.
77. Arentz-Hansen H, Fleckenstein B, Molberg O, et al. The molecular basis for oat intolerance in patients with celiac disease. *PLoS Med*. 2004; 1:e1.
78. Janatuinen EK, Kempainen TA, Julkunen RJ, Kosma VW, Maki M, Heikkinen M, Uusitupa MI *et al*. No harm from five-year ingestion of oats in coeliac disease. *GUT* 2002; 50: 332-5.
79. Shan L, Molberg O, Parrot I, et al. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science*. 2002; 297:2275–2279.
80. Hausch F, Shan L, Santiago NA, Gray GM, Khosla C. Intestinal digestive resistance of immunodominant gliadin peptides. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2002; 283:G996–G1003.
81. Holmes GKT, Catassi C. *Fast facts – Coeliac Disease*. Ed. Health Press, London: 2000; pp.55.
82. Wieser H. Relation between gliadin structure and coelic toxicity. *Acta Paediatr*. 1996 suppl 412: 3-9.
83. Camilleri M, Madsen K, Spiller R, Greenwood-Van Meerveld B, Van Meerveld BG, Verne GN. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. *Neurogastroenterol Motil* [Internet]. 2012; 24(6):503–12.
84. Collado M, Calabuig M, Sanz Y. Differences between the fecal microbiota of coeliac infants and healthy controls. *Curr issues Intest Microbiol*. 2007; 8(1): 9-14.
85. Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. Specific duodenal and faecal bacterial groups associated with paediatric coeliac disease. *J Clin Pathol*. 2009; 62(3): 264-9.
86. Nadal I, Donant E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. Imbalance in the composition of the duodenal microbiota of children with coeliac disease. *J Med Microbiol*. 2007; 56 (Pt 12): 1669-74.
87. Rossi M, Schwartz KB. Celiac disease and intestinal bacteria: not only gluten? *J Leukocyte Biol*. 2010; 87(5):749-51.
88. Kopený J, Mrázek J, Fliegerová K, Fruhauf P, Tu Ková L. The intestinal microbiota of childhood patients with indicates celiac disease. *Folia Microbiol (Praha)*. 2008; 53(3): 214-6.

89. Kagnoff MF, Austin RK, Hubert JJ, Bernardin JE, Kasarda DD. Possible role for a human adenovirus in the pathogenesis of celiac disease. *J Exp Med*. 1984 Nov 1; 160 (5): 1544-57.
90. Stene LC, Honeyman MC, Hoffenberg EJ, et al. Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study. *Am J Gastroenterol*. 2006; 101:2333–2340.
91. Ploski R, Ek J, Thorsby E, Sollid LM. On the HLA-DQ (alpha 1*0501, beta 1*0201) - associated susceptibility in celiac disease: a possible gene dosage effect of DQB1*0201. *Tissue Antigens*. 1993; 41:173–177.
92. van Belzen MJ, Koeleman BP, Crusius JB, et al. Defining the contribution of the HLA region to cis DQ2-positive coeliac disease patients. *Genes Immun*. 2004; 5:215–220.
93. Sollid LM, Lie BA. Celiac disease genetics: current concepts and practical applications. *Clin Gastroenterol Hepatol [Internet]*. 2005 Sep; 3(9):843–51.
94. Trynka G, Wijmenga C, van Heel DA. A genetic perspective on coeliac disease. *Trends in Molecular Medicine*. 2010.
95. Stokes. Inheritance and influence of histocompatibility (HL-A) antigens in adult coeliac disease. *Gut [Internet]*. 1973; 14(8):627–30.
96. Janeway CA, Travers P. *Anonymous Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. 3. Vol. 1. London and New York: Current Biology Ltd/Garland Publishing Inc; 1997. p.24,p. 25.
97. Mazzilli MC, Bonamico M. Role of the HLA class II molecules in the pathogenesis of coeliac disease. In: Gobbi *et al.* editors. *Epilepsy and neurological disorders in coeliac disease*. London: Ed. John Libbey & Company Ltd.; 1997. p. 55-58.
98. Louka AS, Sollid LM. HLA in celiac disease: Unravelling the complex genetics of a complex disorder. *Tissue Antigens*. 2003; 61: 105-17.
99. Kim CY, Quarsten H, Bergseng E, Khosla C, Sollid LM. Structural basis for HLA-DQ1-mediated presentation of gluten epitopes in celiac disease. *Proc Nat Acad Sci*. 2004; 101: 4175-4179.
100. West J. Seroprevalence, correlates, and characteristics of undetected coeliac disease in England. *Gut [Internet]*. 2003 Jul 1; 52(7):960–5.
101. Dubé C, Rostom A, Sy R, Cranney A, Saloojee N, Garritty C, et al. The prevalence of celiac disease in average-risk and at-risk Western European populations: A systematic review [Internet]. Vol. 128, *Gastroenterology*. 2005. p. S57–67.

102. Mäki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T, et al. Prevalence of Celiac disease among children in Finland. *N Engl J Med.* 2003; 348(25):2517–24.
103. Mearin ML, Biemond I, Pena AS, et al. HLA-DR phenotypes in Spanish coeliac children: their contribution to the understanding of the genetics of the disease. *Gut.* 1983; 24:532–537.
104. Karell K, Louka AS, Moodie SJ, et al. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Hum Immunol.* 2003; 64:469–477.
105. Megiorni F, Mora B, Bonamico M, et al. HLA-DQ and risk gradient for celiac disease. *Hum Immunol.* 2009; 70:55–59.
106. Silano M, Vincentini O, De Vincenzi M. Toxic, immunostimulatory and antagonist gluten peptides in celiac disease. *Curr Med Chem.* 2009;16(12): 1489-1498.
107. Jelinkova L, Tuckova L, Cinova J, Flegelova Z, Tlaskalova-Hogenova H. Gliadin stimulates human monocytes to production of IL-8 and TNF-alpha through a mechanism involving NF-kappaB. *FEBS Lett.* 2004; 571(1-3):81-85.
108. Lammers KM, Khandelwal S, Chaudhry F, et al. Identification of a novel immunomodulatory gliadin peptide that causes interleukin-8 release in a chemokine receptor CXCR3-dependent manner only in patients with coeliac disease. *Immunology.* 2011; 132(3):432-440.
109. Picarelli A, Di Tola M, Sabbatella L, et al. 31-43 amino acid sequence of the alpha-gliadin induces anti-endomysial antibody production during in vitro challenge. *Scand J Gastroenterol.* 1999; 34(11): 1099-1102.
110. Picarelli MM, Sapone A, Catassi C, Fasano A. Celiac Disease and nonceliac gluten sensitivity: A review. *JAMA.* 2017 Aug 15; 318(7): 647-56.
111. Drago S, El Asmar R, Di Pierro M, et al: Gliadin, zonulin and gut permeability: effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scand J Gastroenterol* 2006;41: 408–419.
112. Fasano A: Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev* 2011; 91:151–175.
113. Fagundes-Neto U, Freymuller E, Gatti MS, Schmitz LG, Scaletsky I. Ultrastructural study of enteropathogenic *Escherichia coli* O111ab:H2 infection in an infant with acute diarrhea. *Arq Gastroenterol.* 1995; 32(3):152–7.
114. Hall NJ, Rubin GP, Charnock A: Intentional and inadvertent non-adherence in adult coeliac disease. A cross-sectional survey. *Appetite* 2013; 68:56–62.

115. Henderson KN, Tye-Din JA, Reid HH, Chen Z, Borg NA, Beissbarth T, et al. A Structural and Immunological Basis for the Role of Human Leukocyte Antigen DQ8 in Celiac Disease. *Immunity*. 2007;27(1):23–34.
116. Di Sabatino A, Ciccocioppo R, Cupelli F, Cinque B, Millimaggi D, Clarkson MM, et al. Epithelium derived interleukin 15 regulates intraepithelial lymphocyte Th1 cytokine production, cytotoxicity, and survival in coeliac disease. *Gut*. 2006; 55 (4):469–77.
117. Marafini I, Monteleone I, Di Fusco D, Cupi ML, Paoluzi OA, Colantoni A, et al. TNF- α Producing Innate Lymphoid Cells (ILCs) Are Increased in Active Celiac Disease and Contribute to Promote Intestinal Atrophy in Mice. *PLoS One* [Internet]. 2015; 10(5):e0126291.
118. Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Bauer M, Della Riccia DN, Bizzini F, Biagi F, et al. Matrix metalloproteinase pattern in celiac duodenal mucosa. *Lab Invest* [Internet]. 2005; 85(3):397–407.
119. van Bergen J, Mulder CJ, Mearin ML, Koning F. Local communication among mucosal immune cells in patients with celiac disease. *Gastroenterology* [Internet]. 2015 May; 148(6):1187–94.
120. Di Sabatino A, Lenti MV, Giuffrida P, Vanoli A, Corazza GR. New insights into immune mechanisms underlying autoimmune diseases of the gastrointestinal tract. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2015 Dec;14(12):1161–9.
121. Fina D, Sarra M, Caruso R, Del Vecchio Blanco G, Pallone F, MacDonald TT, et al. Interleukin 21 contributes to the mucosal T helper cell type 1 response in coeliac disease. *Gut*. 2008;57(7):887–92.
122. Kagnoff MF. Overview and pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology*. 2005; 128:S10-8.
123. Abadie V, Discepolo V, Jabri B. Intraepithelial lymphocytes in celiac disease immunopathology. *Semin Immunopathol*. 2012;34(4):551–6.
124. Meresse B, Curran S a, Ciszewski C, Orbelyan G, Setty M, Bhagat G, et al. Reprogramming of CTLs into natural killer-like cells in celiac disease. *J Exp Med*. 2006;203(5):1343–55.
125. Abadie V, Jabri B. IL-15: A central regulator of celiac disease immunopathology. *Immunol Rev*. 2014;260(1):221–34.
126. Meresse B, Korneychuk N, Malamut G, Cerf-Bensussan N. Interleukin-15, a Master Piece in the Immunological Jigsaw of Celiac Disease. *Dig Dis* [Internet]. 2015;33(2):122–30.

127. Korneychuk N, Ramiro-Puig E, Ettersperger J, Schulthess J, Montcuquet N, Kiyono H, et al. Interleukin 15 and CD4+ T cells cooperate to promote small intestinal enteropathy in response to dietary antigen. *Gastroenterology* [Internet]. 2014;146(4):1017–27.
128. Bhagat G, Naiyer AJ, Shah JG, Harper J, Jabri B, Wang TC, et al. Small intestinal CD8+TCR $\gamma\delta$ +NKG2A+ intraepithelial lymphocytes have attributes of regulatory cells in patients with celiac disease. *J Clin Invest* <http://www.jci.org>. 2008; 118 (1):281–93.
129. Malamut G, Meresse B, Verkarre V, Kaltenbach S, Montcuquet N, Duong Van Huyen J-P, et al. Large granular lymphocytic leukemia: a treatable form of refractory celiac disease. *Gastroenterology* [Internet]. 2012;143(6):1470–1472.e2.
130. Allegretti YL, Bondar C, Guzman L, Cueto Rua E, Chopita N, Fuertes M, et al. Broad MICA/B expression in the small bowel mucosa: a link between cellular stress and celiac disease. *PLoS One* [Internet]. 2013;8(9):e73658.
131. Mazzarella G, Stefanile R, Camarca A, Giliberti P, Cosentini E, Marano C, et al. Gliadin Activates HLA Class I-Restricted CD8+ T Cells in Celiac Disease Intestinal Mucosa and Induces the Enterocyte Apoptosis. *Gastroenterology*. 2008;134(4):1017–27.
132. Stephens HAF. MICA and MICB genes: Can the enigma of their polymorphism be resolved? Vol. 22, *Trends in Immunology*. 2001. p. 378–85.
133. Han A, Newell EW, Glanville J, Fernandez-Becker N, Khosla C, Chien Y-H, et al. Dietary gluten triggers concomitant activation of CD4+ and CD8+ $\alpha\beta$ T cells and $\gamma\delta$ T cells in celiac disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2013;110 (32):13073–8.
134. Meresse B, Chen Z, Ciszewski C, Tretiakova M, Bhagat G, Krausz TN, et al. Coordinated induction by IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in celiac disease. *Immunity*. 2004;21(3):357–66.
135. Arranz E. Enfermedad celíaca: factores genéticos. *Pediatr*. 2003; 23(4): 145-48.
136. Cerf-Bensussan N, Cellier C, Heyman M, Brousse N, Schmitz J. Coeliac disease: an update on facts and questions based on the 10th International Symposium on Coeliac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2003; 37: 412-21.
137. Catassi C, Giorgi PL. Beyond the iceberg: The present and future of oeliac screening (Preface). *Acta Paediatr*. 1996; 85(412):1.
138. Lionetti E, Catassi C. New Clues in Celiac Disease Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Manifestations, and Treatment. *Int Rev Immunol* [Internet]. 2011 Jul 29;30(4):219–31.
139. Koda YK, Barbieri D. Doença Celíaca. Estudo clínico em 27 crianças: problemas no retardo diagnóstico. *Pediatria (São Paulo)*. 1983; 5(1):38.

140. Holmes GKT, Prior P, Lane MR, et al. Malignancy in coeliac disease – Effect of gluten-free diet. *GUT*. 1989; 30: 333-8.
141. Uenishi RH, Avaliação e utilidade dos biomarcadores não invasivos IFABP e Reg1 α no monitoramento da destruição e da regeneração do epitélio intestinal em pacientes celíacos antes e depois da dieta sem glúten. Tese (Doutorado – Universidade de Brasília). 2017. p.109.
142. Gujral N, Freeman HJ, Thomson ABR. Celiac disease: Prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. Vol. 18, *World Journal of Gastroenterology*. 2012. p. 6036–59.
143. Salmi TT, Hervonen K, Kautiainen H, Collin P, Reunala T. Prevalence and incidence of dermatitis herpetiformis: a 40-year prospective study from Finland. *Br J Dermatol* [Internet]. 2011 Aug;165(2):354–9.
144. Poulain C, Johanet C, Delcroix C, Lévy-Marchal C, Tubiana-Rufi N. Prevalence and clinical features of celiac disease in 950 children with type 1 diabetes in France. *Diabetes Metab* [Internet]. 2007;33(6):453–8.
145. Hall RK. Prevalence of developmental defects of tooth enamel (DDE) in a pediatric hospital department of dentistry population (1). *Adv Dent Res* [Internet]. 1989 Sep;3(2):114–9.
146. Zamani F, Shahram F, Shakeri R, Zayyeni H, Davatchi F, Amiri A, et al. Prevalence of celiac disease among patients with Behcet’s disease in Iran. *Dig Dis Sci* [Internet]. 2009 Aug; 54(8):1736–9.
147. Hadjivassiliou M. Gluten ataxia in perspective: epidemiology, genetic susceptibility and clinical characteristics. *Brain* [Internet]. 2003 Mar 1;126(3):685–91.
148. Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, Maglio M, et al. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut* [Internet]. 2002; 50(5):624–8.
149. Bevan S, Popat S, Braegger CP, Busch A, O’Donoghue D, Falth-Magnusson K, et al. Contribution of the MHC region to the familial risk of coeliac disease. *J Med Genet* [Internet]. 1999 Sep; 36(9):687–90.
150. Freeman HJ. Risk factors in familial forms of celiac disease. *World J Gastroenterol*. 2010; 16(15):1828–31.
151. Lebowhl B. Celiac Disease and the Forgotten 10 %: The “Silent Minority.” *Dig Dis Sci* [Internet]. 2015 Jun 10; 60(6):1517–8.
152. Gutierrez-Achury J, Coutinho de Almeida R, Wijmenga C. Shared genetics in coeliac disease and other immune-mediated diseases. In: *Journal of Internal Medicine*. 2011. p. 591–603.

153. King AL, Ciclitira PJ. Celiac disease: strongly heritable, oligogenic, but genetically complex. *Mol Genet Metab*. 2000 sep-oct; 71(1-2):70-5.
154. Catassi C, Fasano A. Celiac Disease Diagnosis: Simple Rules are Better than Complicated Algorithms. *The American Journal of Medicine*. 2010; 123(8):691-93.
155. D'Amico MA, Holmes J, Stavropoulos SN, et al. Presentation of pediatric celiac disease in the United States : prominent effect of breastfeeding. *Clin Pediatr (Phila)*; 44: 249-58.
156. Hernandez L, Green PH. Extra-intestinal manifestations of celiac disease. *Curr Gastroenterol Rep*. 2006; 8: 383-9.
157. Kaswala DH, Veeraraghavan G, Kelly CP, Leffler DA. Celiac Disease: Diagnostic Standards and Dilemmas. *Diseases*. 2015; 3(2): 86-101
158. Meeuwisse G. Diagnostic criteria in coeliac disease. *Acta Pediatr Scand*, 1970; 59: 461.
159. Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling DH, Visakorpi JK. Revised criteria for diagnostic of coeliac disease. *Arch Dis Child*. 1990; 65: 909-11.
160. Schuppan D, Zimmer KP. The Diagnosis and Treatment of Celiac Disease. *Dtsch Arztebl Int*. 2013; 110(49): 835–46.
161. Lima VM, Gandolfi L, Pires JAA, Pratesi R. Prevalência de Doença Celíaca em pacientes dispépticos. *Arq. Gastroenterol*. [online]. 2005; 42(3): 153-6.
162. Collin P, Reunala T, Pukkala E, Laippala P, et al. Coeliac disease associated disorders and survival. *GUT*. 1994; 35: 1215-18.
163. Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF. American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology*. 2006; 131(6):1981-2002.
164. Burgin-Wolff A, Gaze H, Hadziselimovic F, Huber H, Lentze MJ, Nusslé D, Reymond-Berthet C. Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease. *Arch Dis Child*. 1991; 66: 941-7.
165. Hill ID. What are the sensitivity and specificity of serologic tests for celiac disease? *Gastroenterology*. 2005 apr; 128 (4 suppl 1): S25032. Review.
166. Lewis NR, Scott BB. Systematic review: the use of serology to exclude or diagnose coeliac disease (a comparison of the endomysial and tissue transglutaminase antibody tests). *Aliment Pharmacol Ther*. 2006; 24:47-54.
167. Alessio MG, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A *et al*. Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012; 55:44-9.

168. Leffler DA, Schuppan D. Update on serologic testing in celiac disease. *Am. J. Gastroenterol.* 2010; 105: 2520–4.
169. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med.* 1997; 3: 797–801.
170. Piacentini M, Colizzi V. Tissue transglutaminase: Apoptosis versus autoimmunity. *Immunol Today.* 1999; 20: 130–4.
171. Maglio M, Tosco A, Paparo F, Auricchio R, Granata V, Colicchio B, Indolfi V, Miele E, Troncone R. Serum and intestinal celiac disease-associated antibodies in children with celiac disease younger than 2 years of age. *J Pediatr Gastroenterol. Nutr.* 2010; 50: 43–8.
172. Sugai E, Vázquez H, Nachman F, Moreno ML, Mazure R, Smecuol E, Niveloni S, Cabanne A, Kogan Z, Gómez JC, et al. Accuracy of Testing for Antibodies to Synthetic Gliadin-Related Peptides in Celiac Disease. *Clin. Gastroenterol Hepatol.* 2006; 4: 1112–17.
173. Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R, von Blomberg BME, Meijer JWR, Mulder CJJ. Sensitivity of antiendomysium and antigliadin antibodies in untreated celiac disease: Disappointing in clinical practice. *Am J Gastroenterol.* 1999; 94: 888–94.
174. Rashtak S, Ettore MW, Homburger HA, Murray JA. Comparative usefulness of deamidated gliadin antibodies in the diagnosis of celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008; 6: 426-32; quiz 370.
175. Prince HE. Evaluation of the INOVA diagnostics enzyme-linked immunosorbent assay kits for measuring serum immunoglobulin G (IgG) and IgA to deamidated gliadin peptides. *Clin Vaccine Immunol.* 2006; 13:150–151.
176. Dahlbom I, Olsson M, Forooz NK, Sjöholm AG, Truedsson L, Hansson T. Immunoglobulin G (IgG) anti-tissue transglutaminase antibodies used as markers for IgA-deficient celiac disease patients. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2005; 12: 254–258.
177. Rashtak S, Ettore MW, Homburger HA, Murray JA. Combination testing for antibodies in the diagnosis of coeliac disease: Comparison of multiplex immunoassay and ELISA methods. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008; 28: 805–813.
178. Amarri S, Alvisi P, Giorgio R, Gelli MC, Cicola R, Tovoli F, Sassatelli R, Caio G, Volta U. Antibodies to deamidated gliadin peptides: An accurate predictor of coeliac disease in infancy. *J Clin Immunol.* 2013; 33:1027–30.
179. Lagerqvist C, Dahlbom I, Hansson T, Jidell E, Juto P, Olcén P, Stenlund H, Hernell O, Ivarsson A. Antigliadin immunoglobulin A best in finding celiac disease in children younger than 18 months of age. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008; 47: 428–435.

180. Romanos J, van Diemen CC, Nolte IM, Trynka G, Zhernakova A *et al.* Analysis of HLA and non-HLA alleles can identify individuals at high risk for celiac disease. *Gastroenterology*. 2009 Sep;137(3):834-40, 840.e1-3.
181. Memeo L, Jhang J, Hibshoosh H, Green PH, Rotterdam H, Bhagat G. Duodenal intraepithelial lymphocytosis with normal villous architecture: common occurrence in *H. pylori* gastritis. *Mod Pathol*. 2005; 18:1134-44.
182. Oberhuber G. Histopathology of celiac disease. *Biomed Pharmacother. Biomédecine pharmacothérapie* [Internet]. 2000 Aug;54(7):368–72
183. Kelly CP, Bai JC, Liu E, Leffler DA. Advances in Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Gastroenterology* [Internet]. 2015;148(6):1175–86.
184. Weir DC, Glickman JN, Roiff T, Valim C, Leichtner AM. Variability of histopathological changes in childhood celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2010; 105: 207–212.
185. Nenna R, Pontone S, Pontone P, Petrarca L, Mennini M, Standoli M, Mastrogiorgio G, Bonamico M, Magliocca FM. Duodenal Bulb in Celiac Adults. *J. Clin. Gastroenterol*. 2012; 46:302–7.
186. Lebowl B, Kapel RC, Neugut AI, Green PHR, Genta RM. Adherence to biopsy guidelines increases celiac disease diagnosis. *Gastrointest Endosc*. 2011; 74: 103–109.
187. Niveloni S, Fiorini A, Dezi R, Pedreira S, Smecuol E, Vazquez H, Cabanne A, Boerr LA, Valero J, Kogan Z, et al. Usefulness of videoduodenoscopy and vital dye staining as indicators of mucosal atrophy of celiac disease: Assessment of interobserver agreement. *Gastrointest Endosc*. 1998; 47: 223–9.
188. Wilcox CM, Muñoz-Navas M, Sung J. *Atlas de Endoscopia Gastrointestinal Clínica*, 3 ed. Rio de Janeiro: Dilivros, 2014, p.340, 341.
189. Bonatto, MW. Diagnóstico endoscópico da Doença Celíaca. *Endoscopia Terapêutica*. 2015 Set [online]. s/p.
190. Godfrey JD, Brantner TL, Brinjikji W, Christensen KN, Brogan DL, Van Dyke CT, Lahr BD, Larson JJ, Rubio-Tapia A, Melton LJ, Zinsmeister AR, Kyle RA, Murray JA. Morbidity and mortality among older individuals with undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology* 2010; 139: 763-769.
191. Çekin AH, Çekin Y, Sezer C. Celiac disease prevalence in patients with iron deficiency anemia. *Turk J Gastroenterol*. 2012; 23:490-495.
192. Mahadev S, Laszkowska M, et al. Prevalence of Celiac Disease in patients with Iron Deficiency Anemia – A systematic review with meta-analysis. *Gastroenterology*. 2018; 155:374-382.

193. McLean E, Cogswell M, Egli I, Wojdyla D, de Benoist B. Worldwide prevalence of anaemia, WIIO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993-2005. *Public Health Nutr.* 2009; 12: 444-54.
194. Gisbert JP, Gomollón F. A guide to diagnosis of iron deficiency and iron deficiency anemia in digestive diseases. *World J Gastroenterol.* 2009 Oct 7; 15(37): 4638-63.
195. Yates JM, Logan EC, Stewart RM. Iron deficiency anaemia in general practice: clinical outcomes over three years and factors influencing investigations. *Postgrad Med J.* 2004;80: 405-410.
196. Kepezyk T, Kadakia SC. Prospective evaluation of gastrointestinal tract in patients with iron-deficiency anemia. *Dig Dis Sci.* 1995; 40: 1283-1289.
197. Khatoon S, Ahmed A, Yousaf S. Iron Deficiency Anaemia in Pakistan: Celiac Disease an Underlying cause, *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2018; 30(3): 372-6.
198. Choi J, Masaratana P, Latunde-Dada GO, Arno M, Simpson RJ, McKie AT. Duodenal reductase activity and spleen iron stores are reduced and erythropoiesis is abnormal in Dcytb knockout mice exposed to hypoxic conditions. *J Nutr.* 2012; 142: 1929–1934.
199. Colgan SP, Taylor CT. Hypoxia: an alarm signal during intestinal inflammation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2010; 7: 281–287.
200. Collins JF, Anderson GJ. Molecular mechanisms of intestinal iron transport. In: *Physiology of the Gastrointestinal Tract* (5th ed.). New York, NY: Elsevier, 2012.
201. Liu K, Kaffes A. Iron deficiency anaemia: a review of diagnosis, investigation and management. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology.* 2012; 24(2): 109-116.
202. Yip R. Iron deficiency: contemporary scientific issues and international programmatic approaches. *J Nutr.* 1994; 124: 1479S-1490S.
203. Paiva AA, Rondó PHC, Guerra-Shinohara EM. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. *Rev Saúde Pública.* 2000; 34: 421-26.
204. Dale JC, Burrin MF, Zinsmeister AR. Diurnal variation of serum iron, iron-binding capacity, transferrin saturation, and ferritin levels. *Am J Clin Pathol.* 2002; 117(5): 802-8.
205. Short M, Domagalski JE. Iron Deficiency Anemia : Evaluation and Management. *American Family Physician.* 2013 jan 15; 87(2): 98-104.
206. Cook JD, Baynes RD, Skikne B. Iron deficiency and the measurement of iron status. *Nutr Res Rev.* 1992; 5(1): 189-202.
207. Carvalho MC, Baracat ECE, Sgarbieri VC. Anemia ferropriva e Anemia de Doença Crônica: Distúrbios do Metabolismo de Ferro. *Segurança alimentar e Nutricional.* 2006; 13(2): 54-63.

208. Lima CSP, Reis ARC, Grotto HZW, Saad STO, Costa FF. Comparison of red cell distribution width and a red cell discriminant function incorporating volume dispersion for distinguishing iron deficiency from beta thalassemia trait in patients with microcytosis. *São Paulo Med J*. 1996; 114(5); 1265-9.
209. Fairbanks VF, Beutler E. Iron deficiency. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U, eds. *Williams. Hematology*. 6th ed. New York. Mc Graw Hill; 2001: 447-470.
210. Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, Camaschella C. Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism. *Cell*. 2010; 142: 24-28.
211. Gulec S, Anderson GJ, Collins JF. Mechanistic and regulatory aspects of intestinal iron absorption. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2014; 307: G397–G409.
212. Grotto HZW. Fisiologia e metabolismo do ferro. *Rev Bras Hemoter*. 2010; 32(Supl 2): 8-17.
213. Anderson GJ, Frazer DM, McLaren GD. Iron absorption and metabolism. *Curr Opin Gastroenterol*. 2009; 25: 129-135.
214. Frazer DM, Wilkins SJ, Becker EM, Vulpe CD, McKie AT, Trinder D, Anderson GJ. Hepcidin expression inversely correlates with the expression of duodenal iron transporters and iron absorption in rats. *Gastroenterology*. 2002; 123: 835–844.
215. Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Grandchamp B, Kahn A, Vaulont S. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98: 8780–8785.
216. Annibale B, Severi C, Chistolini A, Antonelli G, Lahner E, Marcheggiano A, Iannoni C, Monarca B, Delle FG. Efficacy of gluten-free diet alone on recovery from iron deficiency anemia in adult celiac patients. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 132-137
217. Hershko C, Patz J. Ironing out the mechanism of anemia in celiac disease. *Haematologica* 2008; 93: 1761-1765
218. Harper JW, Holleran SF, Ramakrishnan R, Bhagat G, Green PH. Anemia in celiac disease is multifactorial in etiology. *Am J Hematol* 2007; 82: 996-1000.
219. Maslovsky I. Intravenous iron in a primary-care clinic. *Am J Hematol* 2005; 78: 261-264.
220. Vici G, Belli L, Biondi M, Polzonetti V. Gluten free diet and nutrient deficiencies: A review. *Clin Nutr* 2016; Epub ahead of print.
221. OMS Organização Mundial da Saúde, Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas, Anemia por deficiência ferro. Portaria SAS/MS nº 1.247, de 10 de novembro de 2014.
222. Leonard MM, Sapone A, Catassi C, Fasano A. Celiac Disease and nonceliac gluten sensitivity: A review. *JAMA*. 2017 August 15; 318(7): 647-56.

223. Brasil, Ministério da Saúde, Resolução 466, de 12 de dezembro de 2012. Brasília - Distrito Federal: CNS.
224. Green PH, Stavropoulos SN, Panagi SG, et al. Characteristics of adults celiac disease in the USA: results of a national survey. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 126-131.
225. Paez MA, Gramelspacher AM, Sinacore J, et al, Delay in Diagnosis of Celiac Disease in patients without Gastrointestinal Complaints, *The American Journal of Medicine* 2017; 130(11)
226. Kurien M, Evans KE, Hopper AD, et al. Duodenal bulb biopsies for diagnosing adult celiac disease: is there an optimal biopsy site? *Gastrointest Endosc* 2012; 75: 1190- 96.
227. Mooney PD, - Kurien M, Evans KE, et al. Clinical and immunologic features of ultra-short celiac disease. *Gastroenterology* 2016; 150: 1125-34.
228. Sharma A, Mews C, Jevon G, Ravikumara M. Duodenal bulb biopsy in children for the diagnosis of celiac disease: experience from Perth, Australia. *J Paediatr. Child Health* 2013; 49: 210-14.
229. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, et al. American College of G.ACG clinical Guidelines: Diagnosis and management of Celiac Disease. *Am. J Gastroenterol* 2013; 108: 656-76.
230. Ludvigsson JF, Bai JC, Biagi F, et al. Diagnosis and Management of adult Coeliac Disease: Guidelines from the British Society of Gastroenterology. *GUT* 2014; 63: 1210-28.
231. Volta U, Fabbri A, Parisi C, Piscaglia M, Caio G, Tovoli F, et al. Old and new serological tests for celiac disease screening. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 4: 31-35.
232. Stern M. Working Group on Serologic Screening for Celiac Disease. Comparative evaluation of serologic tests for celiac disease: a European initiative towards standardization. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31: 513-19.
233. Emami MH, Karimi S, Nemati A. Do endoscopic markers still play a role in the diagnosis of celiac disease? *Indian J Gastroenterol* 2008; 27: 183-5.
234. Ransford RA, Hayes M, Palmer M, et al. A controlled, prospective screening study of celiac disease presenting as iron deficiency anemia. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35:228–233.
235. Annibale B, Lahner E, Chistolini A, et al. Endoscopic evaluation of the upper gastrointestinal tract is worthwhile in premenopausal women with iron-deficiency anaemia irrespective of menstrual flow. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38:239–245.
236. Mandal AK, Mehdi I, Munshi SK, et al. Value of routine duodenal biopsy in diagnosing coeliac disease in patients with iron deficiency anaemia. *Postgrad Med J* 2004; 80: 475–477.
237. Ferguson C, Dickey W. Gastrointestinal investigation of iron deficiency anaemia detected by pre-blood donation screening. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 1386–1387.

238. Ertekin V, Tozun MS, Kucuk N. The prevalence of celiac disease in children with iron-deficiency anemia. *Turk J Gastroenterol* 2013; 24: 334–338.
239. Kalayci AG, Kanber Y, Birinci A, et al. The prevalence of coeliac disease as detected by screening in children with iron deficiency anaemia. *Acta Paediatr* 2005; 94: 678–681.
240. Gonen C, Yilmaz N, Yalcin M, et al. Diagnostic yield of routine duodenal biopsies in iron deficiency anaemia: a study from Western Anatolia. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19: 37–41.
241. Ucardag D, Guliter S, Ceneli O, et al. Celiac disease prevalence in patients with iron deficiency anemia of obscure origin. *Turk J Gastroenterol* 2009; 20: 266–270.
242. Karaman K, Akbayram S, Kar S, et al. Prevalence of celiac disease in children with iron deficiency anemia in Van Lake Region of Turkey. *J Pediatr Hematol Oncol* 2016; 38:143–146.
243. Grisolano SW, Oxentenko AS, Murray JA, et al. The use fullness of routine small bowe biopsies in evaluation of iron deficiency anemia. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38: 756-60.
244. Bai JC, Fried M, Corazza GR, et al. World Gastroenterology organisation global guidelines on celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47: 121-6.
245. Fagundes-Neto U, Scaletsky IC. The gut at war: the consequences of enteropathogenic *Escherichia coli* infection as a factor of diarrhea and malnutrition. *Sao Paulo medical journal* 2000; 118: 21–9.
246. Ludvigsson JF, Card TR, Kaukinen K, Bai J, Zingone F, Sanders DS, et al. Screening for celiac disease in the general population and in high-risk groups. *United Eur Gastroenterol J [Internet]* 2015; 3(2):106–20.
247. Bai D, Brar P, Holleran S, Ramakrishnan R, Green PHR. Effect of gender on the manifestations of celiac disease: Evidence for greater malabsorption in men. *Scand J Gastroenterol [Internet]* 2005; 40(2):183–7.
248. Barker CC, Mitton C, Jevon G, et al. Can tissue transglutaminase antibody titers replace small-bowel biopsy to diagnose celiac disease in select pediatric populations? *Pediatrics* 2005; 115: 1341–6.
249. Tortora R, Imperatore N, Capone P, et al. The presence of anti-endomysial antibodies and the level of anti-tissue transglutaminases can be used to diagnose adult coeliac disease without duodenal biopsy. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 40: 1223-29.
250. Hershko C. Assessment of Iron Deficiency. *Journal of the European Hematology Association*, 2018.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE**Universidade de Brasília
Programa de Pós-Graduação Ciências da Saúde****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE**

O (a) Senhor(a) está sendo convidado(a) a participar da pesquisa: “Prevalência da Doença Celíaca em Pacientes com Anemia Ferropriva em Brasília”

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não será divulgado, sendo mantido rigoroso sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

A sua participação nessa pesquisa será por meio de consulta médica, com exames laboratoriais.

Informamos que o(a) Senhor(a) pode se recusar a responder a qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a). Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração e nem prejuízo de nenhuma forma ao seu tratamento e investigação.

Caso haja algum dano direto resultante dos procedimentos de pesquisa, você poderá ser indenizado(a), obedecendo-se às disposições legais vigentes no Brasil.

Se você concordar em participar, por favor, assine as duas vias do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, após todos os esclarecimentos e entregue ao pesquisador que for entrevistá-lo(a). Você receberá uma cópia assinada.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Universidade de Brasília podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sobre a guarda do pesquisador.

Se o(a) senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor entre em contato com Dr. Wandregíselo Ponce de Leon Júnior, pelo telefone: (61) 9 8206.2489, em horário comercial, podendo ser ligação a cobrar.

Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde (CEP-FEPECS). As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidos através do telefone: (61)3325-4940 ou do e-mail comitedeetica.secretaria@gmail.com .

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

Nome: Brasília, _____ de 2017

Dr. Wandregíselo Ponce de Leon Júnior

Pesquisadores responsáveis: Dr. Wandregíselo Ponce de Leon Júnior – E-mail:
wandrejr@hotmail.com

APÊNDICE B – Formulário de Coleta de Dados

Dados de identificação:

Nome: _____

Idade: _____ Sexo: Masculino () Feminino ()

Procedência: _____ Naturalidade: _____

Ferritina: _____ Hematócrito: _____ Hb: _____

Sintomas:

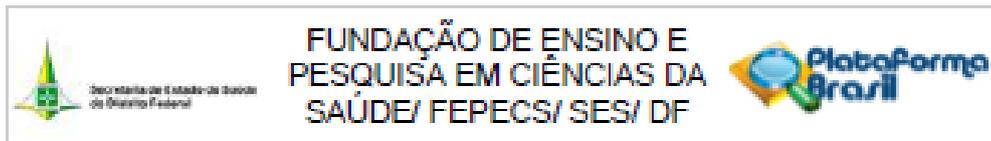
	SIM	NÃO
Borborigmos		
Dor Abdominal		
Diarréia		
Fezes duras		
Tenesmo		
Urgência para defecar		
Excesso de gases		
Plenitude pós-pradial		
Saciedade Precoce		
Dor Epigástrica		
DM		
Queda de Cabelo		
Outros Sintomas		
Constipação		
Aftas		
Cansaço exagerado		
Dermatite		
Cefaléia		
Dor articular		
Perda de Peso		
Parentes com DC		

Classificação dos Sintomas:

Leves (+), Moderados (++), Intensos (+++)

Informações de Exames Secundários:

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PREVALÊNCIA DA DOENÇA CELÍACA EM PACIENTES COM ANEMIA FERROPRIVA EM BRASÍLIA

Pesquisador: WANDREGISELO PONCE DE LEON JUNIOR

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 75375817.7.0000.5553

Instituição Proponente: HOSPITAL REGIONAL DE TAGUATINGA - HRT

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.401.589

Apresentação do Projeto:

Resposta as pendências elencadas pelo CEP/FEPECS do projeto: "PREVALÊNCIA DA DOENÇA CELÍACA EM PACIENTES COM ANEMIA FERROPRIVA EM BRASÍLIA", CAAE nº 75375817.7.0000.5553, conforme descrição abaixo.

CEP:

1. Projeto com pendências.

Corrigir o telefone e o e-mail do CEP no TCLE, para que o participante da pesquisa possa obter as informações ou contactar o CEP/FEPECS, se necessário. Ver modelo formulários na página da Fepecs.

RESPOSTA DO PESQUISADOR:

- foi realizada a correção no TCLE e submetido nova versão ao CEP/FEPECS.

PENDÊNCIA ATENDIDA.

Objetivo da Pesquisa:

Sem alterações.

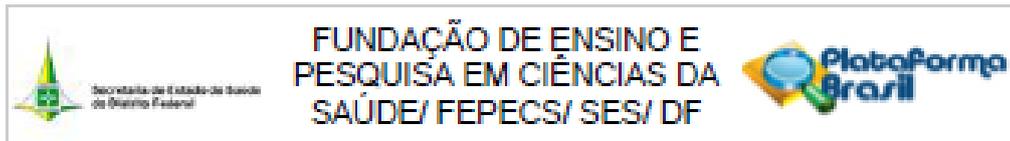
Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Sem alterações.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Sem alterações.

Endereço: SMHN 2 Qd 801 BLOCO A - FEPECS
 Bairro: ASA NORTE CEP: 70.710-004
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3325-4055 Fax: (61)3325-4651 E-mail: comitedeeticosecretaria@gmail.com



Continuação do Parecer: 2-401.509

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Sem alterações.

Condições ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pendências atendidas pelo pesquisador. Projeto aprovado.

Solicitamos ao pesquisador enviar os relatórios ao CEP/FEPECS e executar a pesquisa conforme foi aprovada a versão pelo CEP/FEPECS.

Considerações Finais a critério do CEP:

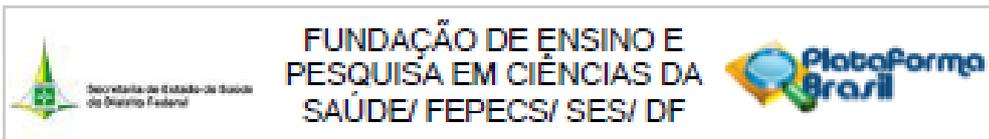
Pendências atendidas pelo pesquisador. Projeto aprovado.

Solicitamos ao pesquisador enviar os relatórios ao CEP/FEPECS e executar a pesquisa conforme foi aprovada a versão pelo CEP/FEPECS.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_842549.pdf	03/11/2017 13:04:43		Aceito
Outros	Carta_de_encaminhamento_da_3_pendencia.pdf	03/11/2017 13:04:17	WANDREGISELO PONCE DE LEON JUNIOR	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_corrigido.docx	03/11/2017 13:03:39	WANDREGISELO PONCE DE LEON JUNIOR	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investidor	PROJETO_CEP.doc	22/08/2017 15:43:54	WANDREGISELO PONCE DE LEON JUNIOR	Aceito
Cronograma	cronograma.doc	22/08/2017 14:44:21	WANDREGISELO PONCE DE LEON JUNIOR	Aceito
Outros	Lattes_Lenora_Gandoff.pdf	22/08/2017 14:36:51	WANDREGISELO PONCE DE LEON JUNIOR	Aceito
Outros	lattes_Wandregisele_Ponce_de_Leon_Junior.pdf	22/08/2017 14:36:27	WANDREGISELO PONCE DE LEON JUNIOR	Aceito
Orçamento	cep_planilha_orcamento.doc	18/08/2017 04:57:29	WANDREGISELO PONCE DE LEON JUNIOR	Aceito
Declaração de instituição e Infraestrutura	termo_de_anuencia_assinado.pdf	18/08/2017 04:53:49	WANDREGISELO PONCE DE LEON JUNIOR	Aceito

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS
 Bairro: ASA NORTE CEP: 70.710-904
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3325-4265 Fax: (61)3325-4261 E-mail: combedestilo.secretaria@gmail.com



FUNDAÇÃO DE ENSINO E
PESQUISA EM CIÊNCIAS DA
SAÚDE/ FEPECS/ SES/ DF

Continuação do Parecer: 2-401.589

Folha de Rosto	folha_de_rosto_assinada.pdf	18/08/2017 04:50:45	WANDREGISELO PONCE DE LEON JUNIOR	Aceito
----------------	-----------------------------	------------------------	---	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BRASILIA, 27 de Novembro de 2017

Assinado por:
Geisa Sant Ana
(Coordenador)

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS
Bairro: ASA NORTE CEP: 70.710-904
UF: DF Município: BRASÍLIA
Telefone: (61)3325-4055 Fax: (61)3325-4051 E-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com