

CORRELAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL DE MARCADORES SOROLÓGICOS PARA O DIAGNÓSTICO E ACOMPANHAMENTO DA DOENÇA CELÍACA

CLINICAL-LABORATORY CORRELATION OF SOROLOGICAL MARKERS FOR THE DIAGNOSIS AND MONITORING OF CELIAC DISEASE

Cláudia Rosana Duda

Cláudia Rosana Duda - Farmacêutica-UFPR, Especialização em Imunologia- IBPEX

João Luiz Coelho Ribas

João Luiz Coelho Ribas - Doutor em Farmacologia-UFPR, Professor – Uninter; Universidade Positivo
jlcribas@yahoo.com.br

RESUMO

A doença celíaca consiste em uma enteropatia devido a sensibilidade ao glúten, resultante de uma complexa interação entre fatores genéticos, imunológicos e ambientais. Pode se apresentar na infância ou na fase adulta. Confere alterações clínicas, histológicas e sorológicas no paciente. Pacientes apresentam sintomas como diarreia, anorexia, desnutrição, distensão abdominal e perda de peso. Pode estar associada a inúmeras outras doenças como osteoporose, epilepsia, diabetes mellitus tipo I. O tratamento dos pacientes celíacos consiste na exclusão do glúten na dieta por toda vida, corrigindo os efeitos causados pela doença. Os marcadores anti-endomísio representam marcadores sensíveis e específicos para a doença celíaca, há também a transglutaminase tecidual como principal auto-antígeno endomísial. A determinação dos anticorpos séricos antigliadina e dos auto-anticorpos antireticulina, antiendomísio e antitransglutaminase tecidual, são importantes no auxílio do diagnóstico e seguimento da doença. O presente artigo tem por finalidade revisar o estudo dos marcadores da doença celíaca mostrando a especificidade e sensibilidade dos exames e sua importância no diagnóstico e acompanhamento da doença.

Palavras-chave: Diagnóstico. Marcadores sorológicos. Doença Celíaca

ABSTRACT

Celiac disease is an enteropathy due to gluten sensitivity, resulting of a complex interaction between genetic, immunological and environmental factors. May be present in childhood or adulthood. Provides clinical, histologic and serologic the patient. Patients have symptoms such as diarrhea, anorexia, malnutrition, abdominal distension and weight loss. It may be associated with many other diseases such as osteoporosis, epilepsy, diabetes mellitus type I. The treatment of celiac patients is the exclusion of gluten in the diet throughout life, correcting the effects caused by the disease. The anti-endomysium markers represent sensitive and specific markers for celiac disease, there is also the tissue transglutaminase as the main autoantigen endomísial. A assessment of serum antigliadin antibodies and antireticulina autoantibodies, endomysium and tissue transglutaminase are important to improve diagnostic and Following the disease. This article aims to review the study of the markers of celiac disease showing the specificity and sensitivity of the tests and their importance in the diagnosis and monitoring of disease.

Keywords: Serological markers. Celiac disease.

INTRODUÇÃO

A doença celíaca é uma intolerância à ingestão de glúten, contido em cereais como cevada, centeio, trigo e malte, em indivíduos geneticamente predispostos, caracterizada por um processo inflamatório que envolve a mucosa do intestino delgado, levando à atrofia das vilosidades intestinais, (SILVA, FURLANETTO, 2012). São lesões de grau variável na região proximal do intestino delgado, causando má absorção de nutrientes, determinando sinais e sintomas da doença (SIPAHI *et al.*, 2006).

O diagnóstico da Doença Celíaca é desafiante, pois as suas formas clínicas vêm se modificando e cada vez mais são latentes e assintomáticos (NASCIMENTO *et al.*, 2012). Os marcadores utilizados são os anticorpos antiendomíio (AAE) e os anticorpos antitransglutaminase tecidual (anti-tTG), pois são sensíveis e específicos para o diagnóstico inicial da Doença Celíaca. A pesquisa da antigliadina (AGA) não é comparável aos testes citados anteriormente e está em desuso (SILVA; FURLANETTO, 2010).

Os testes sorológicos que avaliam o anticorpo antiendomíio e o anticorpo anti-transglutaminase, constituem importante avanço na investigação diagnóstica da Doença Celíaca, porém, há necessidade da biópsia intestinal para os casos suspeitos (BAPTISTA, 2006).

O tratamento sob dieta livre de glúten resulta em recuperação clínica e de mucosa, verificando-se a recidiva das manifestações com o retorno da inserção do glúten na alimentação (UTIYAMA, *et al.*, 2002).

O presente estudo busca mostrar a importância dos marcadores laboratoriais para o diagnóstico da Doença Celíaca e sua integração clínica-laboratorial.

DESENVOLVIMENTO

O sistema imunológico é formado por uma rede de órgãos, células e moléculas e tem como finalidade manter a homeostase do organismo, combatendo

as agressões em geral. A imunidade inata atua junto com a imunidade adaptativa e caracteriza-se pela rápida resposta à agressão, independente de estímulo prévio, sendo a primeira linha de defesa. Seus mecanismos são barreiras físicas, químicas e biológicas, componentes celulares e moléculas solúveis (SOUZA, *et al.*, 2010)

Segundo Goldsby, Kindt, Osborne (2002), Paul Ehrlich percebeu que o sistema imune, em vez de reagir contra os antígenos estranhos, poderia reagir contra seus próprios antígenos, sendo denominadas de auto-imunidade, causando as doenças autoimunes. Nas doenças autoimunes órgão-específicas e sistêmicas, observa-se perda da capacidade do sistema imunológico em distinguir o que é próprio (*self*), daquilo que não é próprio (*non-self*). Essa capacidade, denominada autotolerância é mantida nas células imunocompetentes B e T tanto por mecanismos centrais quanto por periféricos (SOUZA, *et al.*, 2010).

A doença celíaca é um transtorno autoimune do intestino delgado que ocorre em pessoas predispostas geneticamente, de todas as idades a partir da infância ou na vida adulta, quando a intolerância permanente ao glúten é desenvolvida (PORTARIA SAS/MS nº 307, 2009).

Segundo Nobre, Silva, Cabral (2007), Sipahi, Freitas, Lordello, Damião (2000), a primeira citação da doença celíaca remonta ao ano de 200 da era cristã, mas foi só em 1888 que Samuel Gee a descreveu nos termos atuais. Em meados do século vinte, Dicke *et al.* identificaram o glúten como agente causal.

Dicke, um pediatra holandês, observou que as crianças com doença celíaca melhoraram e cresceram no período da ocupação nazista da Holanda, durante a Segunda Guerra Mundial, quando a escassez de alimento privou a população da ingestão de trigo. Posteriormente, em 1950, com a normalização da ingestão de trigo, os pacientes celíacos voltaram a apresentar os sintomas (SIPAHÍ *et al.*, 2000).

Segundo Silva, Furlanetto (2010), a doença celíaca (DC) é uma intolerância à ingestão ao glúten contido em cereais como a cevada, o centeio, o trigo e o malte, em indivíduos geneticamente predispostos, causando um processo inflamatório que envolve a mucosa do intestino delgado, causando a atrofia das vilosidades intestinais, má absorção e uma variedade de manifestações clínicas já citadas anteriormente. As proteínas do glúten são relativamente resistentes às enzimas

digestivas, resultando em derivados peptídeos que podem levar à resposta imunogênica em pacientes com Doença Celíaca.

Dentre os sintomas tem merecido destaque a baixa estatura, anemia resistente a ferroterapia oral, hipoplasia de esmalte dentário, constipação intestinal, manifestações neurológicas (SDEPANIAN, MORAIS, FAGUNDES-NETO, 1999). As manifestações clínicas da Doença Celíaca podem envolver o trato gastrointestinal, bem como pele, fígado, sistema nervoso, sistema reprodutivo, ossos e sistema endócrino (SILVA, FURLANETTO, 2010). Sendo assim os pacientes celíacos não podem consumi-lo, causando sintomas como dor abdominal, perda de peso, diarreia, irritabilidade, osteoporose, infertilidade e malignidade (NASCIMENTO; BARBOSA; TAKEITI, 2012).

Segundo Romaldini, Barbieri (1999); Silva, Furlanetto (2010), está bem documentada a associação da doença celíaca com outras enfermidades como a dermatite herpetiforme e a deficiência seletiva de IgA. A maioria dos pacientes com a dermatite herpetiforme apresenta alterações da mucosa intestinal semelhante às encontradas na doença celíaca, mesmo sendo frequentemente assintomáticos do ponto de vista digestivo. A deficiência da imunoglobulina A é a condição mais frequente associada a doença celíaca na infância. Outras doenças, a maioria com patogênese auto-imune, são observadas com uma frequência maior nos celíacos, entre estas estão incluídas o diabetes mellitus tipo 1 e as doenças auto-imunes da tireóide.

Considerando o espectro de sinais e sintomas, em um extremo há aqueles indivíduos com forma ativa da doença, onde há má absorção, deficiências nutricionais, manifestações clínicas atípicas. No outro extremo há pacientes assintomáticos, portadores de doença celíaca silenciosa, detectados por programas de triagem para doença celíaca. Nas duas formas há enteropatia severa (ROMALDINI, BARBIERI, 1999).

De acordo com a Portaria SAS/MS nº307 (2010), Batista (2006), Sdepanian et al. (2001) existem três formas de apresentação clínica da DC: a clássica ou típica, não clássica ou atípica e assintomática ou silenciosa.

A clássica caracteriza-se por diarreia crônica, em geral acompanhada de distensão abdominal e perda de peso. Diminuição do tecido celular subcutâneo, atrofia da musculatura glútea falta de apetite, alteração de humor. As manifestações começam entre 6 e 2 meses de idade, após a introdução do glúten.

A não clássica pode apresentar quadro mono ou oligossintomático, em que as manifestações digestivas estão ausentes ou segundo plano. Os pacientes podem apresentar manifestações isoladas, com baixa estatura, anemia por deficiência de ferro, de folato e vitamina B12, manifestações psiquiátricas, depressão, autismo, perda de peso sem causa aparente, entre outros. Tem tendência a um início mais tardio dos sintomas, acomete crianças geralmente entre 5 e 7 anos.

A forma assintomática ou silenciosa caracteriza-se por alterações sorológicas e histológicas da mucosa do intestino delgado compatíveis com DC, na ausência de manifestações clínicas.

É significativo o infiltrado de células T na lâmina própria e no epitélio das vilosidades da mucosa intestinal de celíacos. Predominam os linfócitos intra-epiteliais citotóxicos (CD8+), com receptores TCR *alfa gama* e sua contagem aumenta com o aumento do grau de lesão de mucosa (UTIYAMA, REASON, KOTZE, 2004).

Em 1960, acreditava-se que todos os linfócitos auto-reativos eram eliminados. Em 1970 foi visto que nem todos os linfócitos auto-reativos são deletados durante a maturação e são regulados através da anergia clonal ou supressão clonal. Um rompimento nesta regulação levaria a ativação dos clones auto-reativos das células T e B, gerando resposta humoral mediada por ativação no processo de lesão da mucosa intestinal(UTIYAMA, REASON, KOTZE, 2004).

Hoje em dia sabe-se que a gliadina inicia o dano na mucosa intestinal que envolve todo o processo imunológico (UTIYAMA, REASON, KOTZE, 2004). É sugerido que um receptor na superfície da célula intestinal permita que a gliadina ou uma sequência de aminoácidos específicos de gliadina se una ao enterócito. Este complexo gliadina/receptor se torna um imunógeno capaz de sensibilizar linfócitos T, que liberam linfocinas danificando diretamente.

A porção tóxica para os pacientes celíacos é predominantemente a de prolaminas, também denominadas de gliadina (trigo), hordeína (cevada), secalina (centeio) e avenina (aveia). O alto conteúdo de glutamina (mais que 30%) e prolina (15%) nestes cereais dá a estes uma toxicidade que não se observa com as prolaminas do arroz e milho, nas quais predominam os aminoácidos alanina e leucina. A prolamina e glutenina combinadas possuem a propriedade de formar, juntamente com a água uma substância elástica e aderente, insolúvel em água, que é o glúten, extremamente importante pela textura da massa de pães (BATISTA, 2006; UTIYAMA, *et al.*, 2002; NASCIMENTO *et al.*, 2012)

Segundo Nascimento *et al.* (2012), indiscutivelmente foi demonstrada a toxicidade da gliadina no intestino dos pacientes com Doença Celíaca, porém na aveia existem especulações quanto à sua fração tóxica, sendo necessários estudos complementares, ainda assim recomenda-se a exclusão da aveia na dieta do celíaco.

A doença celíaca tem mecanismo auto-imune, e é das poucas na qual são conhecidos o fator ambiental desencadeante- o glúten, e o auto-antígeno envolvido- a transglutaminase (BATISTA, 2006).

A transglutaminase (TGI) é o principal antígeno endomisial alvo na lesão tecidual. Partes do glúten resistentes à digestão das enzimas do lúmen intestinal são transportadas através da barreira epitelial como polipeptídeos.

Estes peptídeos do glúten funcionam como substrato para a enzima tecidual transglutaminase, que se localiza predominantemente na região extracelular subepitelial da mucosa, a enzima modifica os peptídeos do glúten por processo de desaminação. Estes são conformados em neoepítomos que se ligam às moléculas HLA-DQ2 ou HLA-DQ8 na superfície das células apresentadoras de antígenos, na lâmina própria A mucosa intestinal de pacientes com Doença Celíaca apresenta uma população de linfócitos T CD4 que reconhece estes peptídeos quimicamente modificados por meio de receptores de célula T complementar (TCR) e emite resposta do tipo Th1 e/ou do tipo Th2 com secreção de citocinas, que causam a lesão intestinal (BATISTA, 2006). Os clones linfocitários ativos proliferam e produzem diversas citocinas pró-inflamatórias, responsáveis pela estimulação de células T citotóxicas, promoção de infiltrado celular e produção de metaloproteínases que

lesam a matriz extra-celular. A interleucina-15 produzida *in situ* é crucial para o desenvolvimento de linfocitose intra-epitelial e destruição da mucosa (NOBRE,SILVA,CABRAL, 2007).

Até a década de 80, o diagnóstico da DC baseava-se apenas em critérios clínicos e histológicos, dependendo de múltiplas biópsias da mucosa do intestino delgado: uma antes do tratamento, uma na fase da dieta sem glúten outra após o teste com reintrodução do glúten. Estas dificuldades estimularam as investigações com o objetivo de estabelecer métodos sorológicos que substituíssem as biópsias ou pelo menos reduzissem seu número (UTIYAMA, *et al* ,2002).

Segundo Utiyama, *et al.* (2002), desta forma embora as biópsias intestinais ainda representam o melhor para o diagnóstico de DC, os rígidos critérios de diagnóstico mudaram. Pacientes com sintomas leves ou atípicos, familiares de primeiro grau de pacientes celíacos, pacientes com diabetes mellitus insulino dependente, atualmente contam com testes sorológicos de triagem bem menos invasivos, sendo os marcadores da doença celíaca.

Os marcadores sorológicos têm desempenhado um papel fundamental no despiste da Doença Celíaca em indivíduos de alto risco. A doença preenche critérios para o *screening* em massa, dado que a detecção precoce baseada na sintomatologia pode ser difícil, é uma patologia frequente, existem testes sensíveis e específicos para o diagnóstico, há terapêutica eficaz e, se não tratada, pode acarretar morbidade e aumento de mortalidade (NOBRE, SILVA, CABRAL, 2007).

Os principais marcadores sorológicos utilizados são os seguintes anticorpos: antigliadina (AGA), antirreticulina (ARA), antiendomísio (EMA) e transglutaminase tecidual (tTG), que são os mais recentes (NASCIMENTO *et al.*, 2012).

A tabela 1 mostra os marcadores sorológicos que ajudam a confirmar a hipótese de doença celíaca (FLEURY MEDICINA E SAUDE 2002).

TABELA 1: Testes sorológicos para o diagnóstico da doença celíaca

TESTE	Ig pesquisado	Técnica	Sensibilidade(%)	Especificidade(%)
Antigliadina	IgA/IgG	ELISA	>IgG-65-85	IgG-73-90
			IgA-75-90	IgA-82-95
			Ambas-95	Ambas-80
Antiendomísio	IgA	IFI	85-98	97-100
Antitransglutaminase	IgA	ELISA-ag.cobaia		

Fonte: Fleury Medicina e Saúde, 2002

Segundo Batista (2006), os anticorpos anti gliadina (AGA) foram os primeiros marcadores sorológicos descritos na DC e são dirigidos à proteína cereal absorvida pela mucosa intestinal. São predominantemente das classes IgA e IgG, detectados por meio da técnica imunoenzimática (ELISA). São de fácil execução e baixo custo, porém tem sensibilidade (50-60%) e especificidade (60-70%) reduzidas para diagnóstico da DC. Níveis elevados destes anticorpos podem ser encontrados em pacientes com outras doenças gastrointestinais e também podem ser detectados em indivíduos normais. No entanto, Segundo Fleury Medicina e Saúde (2002), a presença de anticorpos contra gliadina, endomísio e transglutaminase é indicativo da Doença Celíaca.

Ainda segundo Ribeiro, Gonçalves (2015), os prováveis marcadores da doença celíaca são:

1. Presença de anticorpos antiendomísio, anti gliadina , anti-reticulina;
2. Grande quantidade de linfócitos intra-epiteliais nas vilosidades;
3. Aumento da densidade de linfócitos intra-epiteliais, expressando receptor gama delta da célula T;

4. Sinais de atividade da imunidade celular mediada da mucosa, como a expressão de CD25 e B7 pelas células mononucleares da lâmina própria;
5. Expressão aumentada de moléculas MHC classe II no epitélio e adesão de moléculas na lâmina própria;

Os anticorpos antigliadina estão presentes no sangue, saliva e secreções gastrointestinais. Uma grande parte dos anticorpos IgA e IgG antigliadina está presente nas secreções duodenais dos pacientes com doença celíaca. Sua sensibilidade e especificidade variam em adultos e crianças. A antigliadina IgG pode ser detectada em outras doenças e está ausente em 10% a 40% dos pacientes celíacos. Sua principal importância diagnóstica se dá no fato dela estar presente em pacientes com deficiência de IgA. Os testes com anticorpos antigliadina IgA e IgG são úteis na suspeita da doença e na confirmação das mudanças vistas à biópsia. Os testes para os anticorpos antigliadina IgG são mais sensíveis, porém menos específicos do que o teste para os anticorpos antigliadina IgA (SIPAH, *et al.* 2006).

Ainda segundo Sipah, *et al.* (2006), foi descoberto anticorpo antiendomísio (IgA) em pacientes com dermatite herpetiforme e doença celíaca.

O diagnóstico da Doença Celíaca, segundo consensos atuais, exige o exame histopatológico da mucosa do intestino delgado e a demonstração de alterações vilositárias no uso do glúten. A presença de sorologia positiva reforça a hipótese diagnóstica e o seu desaparecimento, bem como dos sintomas após três a seis meses da isenção do glúten, dispensa repetir a biópsia para firmar o diagnóstico (MOURA, *et al.*, 2012)

CONCLUSÃO

Os marcadores sorológicos desempenham um papel importante, devido a sua elevada sensibilidade e especificidade, na investigação diagnóstica, assim como na monitorização da adesão e resposta à terapêutica. São identificados vários padrões histológicos que englobam linfocitose intra-epitelial, hiperplasia das criptas e diversos graus de atrofia vilositária.

Verifica-se que o conjunto de marcadores é que vai direcionar o diagnóstico ou prognóstico da doença celíaca, sendo de grande importância no auxílio aos portadores da mesma.

REFERÊNCIAS

BATISTA, M. L.. **Doença celíaca: uma visão contemporânea.** Revista Pediatria, São Paulo, 2006;28(4):262-71. Disponível em: <<http://www.pediatriasaopaulo.usp/brupload/pdf> >. Acesso em: 29/12/2014 às 17:01hs.

FLEURY MEDICINA E SAUDE. **Marcadores Sorológicos Ajudam a Confirmar a Hipótese de Doença Celíaca.** Disponível em: <<http://www.fleury.com.br/medicos/> . > Acesso em: 24/02/2015 às 15:26hs.

GOLDSBY, R. A.; KINDT, T. J.; OSBORNE, B. A. **KUBY Imunologia.** 4. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2002. p 497.

MOURA, *et al.*. **Triagem sorológica para doença celíaca em adolescentes e adultos jovens, estudantes universitários.** Rev. Bras. Saúde Matern. Infant., Recife, 12(2): 121 abr./jun., 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf>> Acesso em 11/05/2015 às 17:54 hs.

NASCIMENTO, K. O.; JACINTHO, M. I. M.; TAKEITI, Cristina Yoshi. **Doença Celíaca: Sintomas, Diagnóstico e Tratamento Nutricional.** Saúde em revista. 6indd. 2012 . Disponível em: < <http://www.google.com.br/> > Acesso em: 10/02/2015 às 19:36 hs.

NOBRE, S.R.; SILVA, T.; CABRAL, J.E. Pina. **Doença Celíaca Revisitada.** GE-J Port Gastrenterol 2007; 14: 184-193. Disponível em: < <http://www.scielo.oces.mctes.pt/scielo.php?pid> > . Acesso em: 09/02/2015 às 18:20 hs.

PORTARIA SAS/MS nº 307, de 17 de setembro de 2009. **Doença Celíaca**. Disponível em: < <http://www.saudedireta.com.br/docsupload> >. Acesso em: 24/02/2015 às 15:45 hs

ROMALDINI, C. C.; BARBIERI, D. **Anticorpos Séricos na Doença Celíaca**. Arq. Gastroenterol. Vol.36 nº.4 São Paulo Oct./Dec. 1999. Disponível em < <http://www.scielo.br/scielo.php> > . Acesso em: 24/02/2015 às 15:24 hs.

SDEPANIAN, MORAIS, FAGUNDES-NETO. **DOENÇA CELÍACA: a evolução dos conhecimentos desde sua centenária descrição original até os dias atuais**. Arq. Gastroenterol. V. 36-no. 4 – out/dez. 1999. Disponível em <http://www.scielo.br/pdf> > Acesso em: 11/05/2015 às 18:12 hs.

SILVA, T. S. da G.; FURLANETTO, T. W.. **Diagnóstico de Doença Celíaca em Adultos**. Ver. Assoc. Med. Bras. 2010: 56(1): 122-6. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf> > Acesso em: 29/12/2014 às 17:04 hs.

SIPAHI *et al.* **Doença Celíaca no Adulto**. RBM Revista Brasileira de Medicina. São Paulo, 2006. Disponível em: <www.moreirajr.com.br/revistas.asp> Acesso em: 29/12/2014 às 17:07 hs.

SOUZA, *et al.* **Sistema Imunitário-Parte III . O delicado equilíbrio do sistema imunológico entre os pólos de tolerância e autoimunidade**. Ver . Bras. Reumatol. São Paulo, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf>> Acesso em: 13/05/2015 às 17:48 hs.

UTIYAMA, S. R. da R. et al. **Correlação dos Anticorpos Anti-Endomísio e Antitransglutaminase com a Doença Celíaca**. RBAC, vol. 34(1):39-45, 2002. Disponível em < <http://www.scholar.google.com.br/scholar> > Acesso em: 14/04/2015 às 16:43 hs.

UTIYAMA, S. R. da R. et al. **Aspectos Genéticos e Imunopatogênicos da Doença Celíaca: Visão Atual**. Arq. Gastroenterol. vol.41 nº2 São Paulo Apr/June 2004. Disponível em: < <http://www.scielo.br/scielo.php> > Acesso em: 25/02/2015 às 17:01 hs.

Correlação clínico-laboratorial de marcadores sorológicos para o diagnóstico e acompanhamento da
doença celíaca