

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Nutrição**  
**Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos**

**Dissertação**



**PREVALÊNCIA DOS ALELOS DE RISCO DO COMPLEXO HLA DQ2 E DQ8  
EM CELÍACOS NO SUL DO BRASIL**

**Mônica Schiavon da Costa**

**Pelotas  
2018**

**Mônica Schiavon da Costa**

**PREVALÊNCIA DOS ALELOS DE RISCO DO COMPLEXO HLA DQ2 E DQ8  
EM CELÍACOS NO SUL DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito para obtenção ao título de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientador: Carlos Castilho de Barros

Co-orientadora: Fabiana Torma Botelho

Co-orientadora: Inês Claudia Schadock

**Pelotas  
2018**

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

C837p Costa, Mônica Schiavon da

Prevalência dos alelos de risco do complexo HLA DQ2 e DQ8 em celíacos no sul do Brasil / Mônica Schiavon da Costa ; Carlos Castilho de Barros, orientador ; Fabiana Torma Botelho, Inês Claudia Schadock, coorientadoras. — Pelotas, 2018.

75 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Doença celíaca. 2. Antígeno leucocitário humano. 3. HLA-DQ2. 4. HLA-DQ8. 5. Sorologia. I. Barros, Carlos Castilho de, orient. II. Botelho, Fabiana Torma, coorient. III. Schadock, Inês Claudia, coorient. IV. Título.

CDD : 641.1

Elaborada por Maria Inez Figueiredo Figs Machado CRB: 10/1612

**Mônica Schiavon da Costa**

**PREVALÊNCIA DOS ALELOS DE RISCO DO COMPLEXO HLA DQ2 E DQ8  
EM CELÍACOS NO SUL DO BRASIL**

**Dissertação aprovada, como requisito de obtenção de Título de Mestre em  
Nutrição e Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos,  
Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas.**

**Data da defesa: 11 de julho de 2018**

**Banca examinadora:**

**Carlos Castilho de Barros Prof. Dr. Adjunto da Universidade Federal de Pelotas  
(Orientador). Doutor em Biotecnologia pela Universidade de Mogi das Cruzes.**

**Fabiana Torma Botelho Prof<sup>a</sup>. Dra. Adjunta da Universidade Federal de Pelotas  
(Co-orientadora). Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela  
Universidade Federal de Pelotas.**

**Inês Claudia Schadock. Prof<sup>a</sup>. Dra. Visitante da Universidade Federal de Rio  
Grande (Co-orientadora). PhD em Ciências Biológicas pela Universidade de  
Humboldt.**

**Augusto Schneider Prof. Dr. Adjunto da Universidade Federal de Pelotas. Doutor  
em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas.**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, que me iluminou em toda essa trajetória para que eu pudesse lidar com sabedoria e persistência em todas as etapas nesses dois anos de mestrado.

Aos locais que nos receberam e que não só abriram as portas dos seus estabelecimentos, assim como divulgaram a nossa pesquisa com a intenção de atingir o maior número possível de celíacos. Agradeço a gentil colaboração da ACELBRA/SC, ACELBRA/RS, Hippo Supermercados, Confraria Kero, Armazém da Saúde e Hospital Escola da FURG.

Um agradecimento especial a Odette, Ester, Neiva, Fabiana e Helouse que nos intermediaram intensamente nas divulgações, elas fizeram a total diferença para estimular que os celíacos viessem a participar da pesquisa, que foi de fundamental importância.

Ao meu orientador Carlos Barros e co-orientadoras Fabiana Botelho e Inês Schadock por todo o conhecimento passado. Por possibilitarem que a pesquisa fosse possível, pelo auxílio em todas as etapas, da idealização do projeto até o resultado final e também pela confiança creditada em mim.

Aos meus pais, Luis Francisco e Rosa, que me deram a oportunidade da realização desse sonho e que acima disso me impulsionaram a dar o meu melhor. Agradeço também aos meus irmãos Leandro e Letícia por se fazerem presentes em todos os momentos.

À minha colega/ parceira Giovana Pegoraro, por desbravar comigo essa área de pesquisa, que pra nós foi um desafio, pela parceria em todos os momentos e por dividir comigo todos os medos, tornando-os menores. Sem você eu não teria ido tão longe.

A todos os participantes do estudo, que mesmo necessitando de deslocamento e tempo, decidiram participar da pesquisa e a todas as pessoas de que alguma forma auxiliaram na realização desse objetivo e que fizeram parte fundamental para que ele se torna-se realidade.

**Obrigada!**

## RESUMO

Costa, M. S. **Prevalência dos alelos de risco do complexo HLA DQ2 e DQ8 em celíacos no sul do Brasil**, 2018. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas/RS.

A doença celíaca (DC) é caracterizada por ser uma desordem auto-imune desencadeada pela ingestão de prolaminas presentes no glúten, sendo sua principal manifestação a lesão intestinal. Tal desordem está implicada a fatores genéticos, dentre os mais conhecidos seriam aqueles encontrados no Sistema Leucocitário Humano (HLA), região cromossômica 6p21.31, classe II (HLA-DQ). O objetivo do presente estudo foi avaliar a prevalência dos alelos HLA- DQ2 (DQA1\*05 e DQB1\*02) e HLA- DQ8 (DRB1\*04), associados ao aumento do risco à DC, e correlacionar aos métodos de diagnóstico, sintomas e outras patologias relacionadas, em celíacos residentes no sul do Brasil. Participaram do estudo 140 celíacos residentes dos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Após assinatura de termo de consentimento foram preenchidos formulários para obtenção de dados clínicos e coletadas amostras de células bucais para posterior extração de DNA genômico e genotipagem dos alelos por reação em cadeia da polimerase. Foi encontrada uma prevalência de 98% de pelo menos um dos alelos analisados. O perfil genético DQ2-AB esteve presente em 75% dos celíacos, enquanto o alelo para DQ8 apresentou prevalência de 21%. Houve associação significativa entre a ausência total dos alelos ( $p=0.003$ ) e do perfil DQ8 ( $p=0.003$ ) com o grau de lesão intestinal 4 segundo classificação de Marsh. Também houve associação do perfil genético DQ2-AB com os testes sorológicos Anti-gliadina ( $p=0.037$ ), Anti- endomisio ( $p<0.001$ ) e Anti- transglutaminase ( $p=0.032$ ). Estes dados mostram uma alta prevalência dos alelos de risco relacionados ao sistema HLA na população dos dois estados mais ao sul do Brasil. Além disso, foi encontrada associação entre perfil genético e gravidade da lesão intestinal, bem como associação do perfil DQ2-AB com resultados de testes sorológicos, indicando que o perfil genético além de influenciar na suscetibilidade da DC pode influenciar na gravidade da doença.

**Palavras-Chave:** Doença celíaca; antígeno leucocitário humano; HLA-DQ2; HLA-DQ8; anticorpos transglutaminase tecidual; IgA; sorologia.

## ABSTRACT

Costa, M. S. **Prevalence of HLA DQ2 and DQ8 complex risk alleles in celiacs in southern Brazil.** Dissertation (Master in Nutrition and Food) - Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas/RS.

Celiac disease (DC) is characterized as an autoimmune disorder triggered by the ingestion of prolamins present in gluten, being its main manifestation the intestinal lesion. This disorder is consequence of genetic factors, the most known and correlated with DC would be those found in the Human Leukocyte Antigen (HLA), chromosome region 6p21.31, class II (HLA-DQ). The objective of the present study was to evaluate the prevalence of HLA-DQ2 (DQA1\*05 e DQB1\*02) and HLA-DQ8 (DRB1\*04) alleles, which are associated with increased risk of DC, and compare these results with other findings related to the diagnosis, symptoms and the presence of other related diseases, in celiac patients living in southern Brazil. A total of 140 celiacs living in the states of Santa Catarina and Rio Grande do Sul were enrolled. After signing a consent form, forms were obtained for obtaining clinical data and collected samples of oral cells for subsequent extraction of genomic DNA and genotyping of alleles by reaction in polymerase chain. Ninety eight percent of patients had at least one of the analyzed alleles. The DQ2-AB genetic profile was present in 75% of celiac patients, while the allele for DQ8 presented a prevalence of 21%. There was a significant association between the total absence of the alleles ( $p=0.003$ ) and the DQ8 profile ( $p = 0.003$ ) with the degree of intestinal lesion 4 by the Marsh classification. Anti-gliadin ( $p = 0.037$ ), Antiendomysium ( $p<0.001$ ) and Anti-transglutaminase ( $p=0.032$ ) were also associated with the DQ2-AB genetic profile. These data show a high prevalence of risk alleles related to the HLA system in the population of the two southern states of Brazil. In addition, an association between the genetic profile and severity of the intestinal lesion was found, as well as the association of the DQ2-AB profile with serological test results, indicating that the genetic profile besides influencing the susceptibility of CD can influence the severity of the disease.

**Key words:** celiac disease; human leukocyte antigen; HLA-DQ2; HLA-DQ8; tissue transglutaminase antibodies; IgA; serology.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Demonstração da atrofia das vilosidades intestinais de acordo com a classificação de Marsh- Oberhuber.....	7
<b>Figura 2</b>	Esquema para diagnóstico da Doença celíaca (DC) em crianças e adolescentes.....	8
<b>Figura 3</b>	Esquema para diagnóstico de Doença celíaca (DC) em pacientes assintomáticos pertencentes a grupos de risco...	9
<b>Figura 4</b>	Iceberg da Doença Celíaca.....	15
<b>Figura 5</b>	Localização do complexo Antígeno leucocitário humano (HLA) no cromossomo 6.....	18
<b>Figura 6</b>	Conformação dos Haplótipos relacionados ao risco da Doença celíaca.....	20
<b>Figura 7</b>	Análise da genotipagem dos alelos de risco para DQ2.....	28
<b>Figura 8</b>	Análise da genotipagem dos alelos de risco para DQ8.....	28
<b>Figura 9</b>	Alelos analisados no estudo e possibilidades de perfil genético em celíacos.....	30
<b>Figura 10</b>	Determinação dos perfis genéticos de acordo com a genotipagem dos alelos de risco para HLA-DQ.....	31



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Classificação da DC segundo Marsh-Oberhuber.....	6
<b>Tabela 2</b>	Características dos <i>primers</i> utilizados para Reação em cadeia de polimerase (PCR) e seus respectivos tamanhos de fragmentos amplificados.....	27
<b>Tabela 3</b>	Prevalência de alelos HLA-DQ em celíacos do estado de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (n=140).....	33
<b>Tabela 4</b>	Distribuição dos sintomas relacionados à Doença Celíaca e associação com os Perfis Genéticos HLA-DQ em celíacos da região Sul do Brasil (N=140).....	35
<b>Tabela 5</b>	Frequência das patologias relacionadas à Doença Celíaca e associação com os Perfis genéticos em celíacos (n=140).....	36
<b>Tabela 6</b>	Distribuição dos celíacos de acordo com o grau de lesão intestinal classificado por Marsh-Oberhuber em relação aos perfis genéticos HLA-DQ na região sul do Brasil (N=43).....	38
<b>Tabela 7</b>	Relação dos Perfis Genéticos HLA-DQ e testes sorológicos em celíacos: Anti-gliadina, Anti-endomísio e Anti-transglutaminase.....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ANTI- AGA:** anticorpo para gliadina

**ANTI-EMA:** anticorpo para endomísio

**ANTI-TG2:** anticorpo para Transglutaminase humana 2

**DC:** Doença celíaca

**DLG:** Dieta livre de glúten

**DNA:** Ácido desoxirribonucleico

**DQ2-A:** alelo DQA1\*05

**DQ2-AB:** alelos DQA1\*05 e DQB1\*02

**DQ2-B:** alelo DQB1\*02

**DQ2:** proteína codificada pelos alelos DQA1\*05 e DQB1\*02

**DQ8:** alelo DRB1\*04

**DQ8:** proteína codificada pelo alelo DRB1\*04

**HLA-DQ:** Antígeno leucocitário humano região II (DQ) do Complexo principal de histocompatibilidade

**HLA:** Antígeno Leucocitário Humano

**IgA:** Imunoglobulina A

**PCR:** Reação em cadeia de polimerase

**TCLE:** Termo de consentimento livre e esclarecido

**TG2:** Transglutaminase humana 2

## SUMÁRIO

1. Introdução.....	1
2. Revisão bibliográfica.....	3
2.1 Definição e fisiopatologia.....	3
2.2 Diagnóstico.....	5
2.3 Tratamento da DC.....	10
2.4 Desenvolvimento dos sintomas clínicos e patologias relacionadas.....	10
2.5 Classificação da Doença celíaca.....	13
2.6 Iceberg da Doença Celíaca.....	14
2.7 Limitações dos testes sorológicos: Anti-endomisio (anti-EMA) e Anti-transglutaminase (anti-TG2).....	16
2.8 Fatores genéticos relacionados à Doença celíaca.....	17
2.9 Vantagem da determinação da genotipagem na doença celíaca frente aos demais métodos de diagnóstico.....	21
3. Justificativa.....	22
4. Objetivos.....	23
4.1 Objetivo geral.....	23
4.2 Objetivos específicos.....	23
5. Materiais e Métodos.....	24
5.1 População alvo e aspectos éticos.....	24
5.2 Avaliação do perfil clínico.....	25
5.3 Rastreamento de alelos de risco para HLA-DQ2 e DQ8 associados à Doença Celíaca.....	25
5.3.1 Coleta da amostra.....	25
5.3.2 Extração do gDNA .....	25

5.3.3 Amplificação do DNA (PCR).....	26
5.4 Retorno dos resultados.....	29
5.5 Possibilidades de perfil genético e agrupamento de dados para análise.....	29
5.6 Análise estatística.....	31
6. Resultados.....	32
6.1 Descrição da amostra e prevalência dos alelos de risco HLA-DQ em celíacos da região Sul do Brasil.....	32
6.2 Relação dos Perfis genéticos HLA-DQ com a presença de sintomas e outras patologias em celíacos.....	34
6.3 Associação entre gravidade da lesão intestinal classificada por Marsh-Oberhuber e perfis genéticos HLH-DQ em celíacos.....	37
6.4 Associação dos perfis genéticos HLA com testes sorológicos de anticorpos da doença celíaca: anti-gliadina, anti-endomísio e anti-transglutaminase.....	39
7. Discussão.....	42
8. Conclusão.....	47
Referências bibliográficas.....	48
Apêndice A- Carta de autorização da ACELBRA.....	54
Apêndice B- Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).....	55
Apêndice C- Questionário.....	59
Apêndice D- Modelo - Retorno dos resultados.....	60
Anexo 1- Parecer Consubstanciado do CEP.....	61

## 1- INTRODUÇÃO

A doença celíaca (DC) é caracterizada por ser uma patologia sistêmica imuno-mediada, desencadeada através da ingestão de prolaminas presentes no glúten, onde uma das suas principais manifestações estariam relacionada à lesão da mucosa intestinal (LUDVIGSSON et al., 2012; ROSTAMI-NEJAD et al. 2014). O processo de desenvolvimento da doença está associado a fatores ambientais e genéticos, dentre os fatores genéticos os mais citados na literatura são aqueles relacionados ao Antígeno Leucocitário Humano (HLA), região cromossômica 6p21.31, classe II, mais especificamente os alelos de risco DQA1\*05 e DQB1\*02 (HLA-DQ2) e DRB1\*04 (HLA-DQ8), que estão envolvidos na codificação das proteínas as DQ2 e DQ8 presentes nas células apresentadoras de antígenos (ROUJON et al. 2011). Estima-se que a prevalência da DC na população mundial seja entre 0,5 à 1%, e as mulheres são as mais acometidas por essa patologia (ROMANOS et al., 2009; MASHAYEKHI, KOUSHKI, ROSTAMI-NEJAD, 2015; THOMAS ET al., 2009). Além disso, se configura em uma doença cujo surgimento pode ocorrer em qualquer fase da vida (ROMANOS et al., 2014).

A DC apesar de ser uma doença que afeta principalmente o intestino delgado também é caracterizada por outros sintomas que muitas vezes se sobrepõem aos sintomas intestinais. Desta forma ela classificada em quatro tipos: típica, atípica, assintomática e potencial (LUDVIGSSON et al., 2012; LIONETTI et al., 2011). A forma típica da DC se caracteriza pelos sintomas clássicos, resultantes da atrofia das vilosidades intestinais, já a forma atípica é caracterizada por apresentar sintomas extra-intestinais, dentre os mais comuns estariam desmineralização óssea e infertilidade. Outra forma de apresentação da DC seria a assintomática, a mais subdiagnosticada, estes pacientes apresentam como principal característica a redução da qualidade de vida. Por último a classificação em potencial seriam aqueles pacientes em risco de desenvolverem formas mais graves da doença (LUDVIGSSON et al., 2012; LIONETTI et al., 2011).

Para se estabelecer o diagnóstico de DC é necessário, primeiramente, a realização de testes sorológicos para doença. Em caso de sorologia positiva, o

paciente passa para segunda fase de avaliação que consiste na realização da biópsia intestinal, considerado o “padrão ouro” para concluir o diagnóstico (HUSBY et al., 2012). Outra alternativa para rastreio ou exclusão da DC, seria a genotipagem dos alelos de risco dos genes que codificam para HLA-DQ2 e HLA-DQ8 (HUSBY et al., 2012; AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006). Estima-se que a prevalência destes alelos de risco envolvidos na codificação das proteínas DQ2 e DQ8 em celíacos seja de 95%, e que na população em geral atinja uma prevalência de até 30%, sendo que 1% da população que apresenta os alelos relacionados ao HLA desenvolvem DC (HUSBY ET al., 2012; ANDERSON et al., 2013; CASTRO-ANTUNES et al., 2011).

O uso da genotipagem é aconselhado para grupos de risco para DC, tais como parentes de primeiro grau, portadores de desordens auto-imunes e síndromes genéticas (HUSBY et al., 2012). Outra contribuição de grande relevância da identificação dos alelos de risco para HLA- DQ8 e HLA-DQ2 seriam em pacientes assintomáticos, ou seja, com a forma não-clássica da doença (HUSBY et al., 2012).

Desta forma, se torna necessário investigar a prevalência desses alelos em diferentes grupos de celíacos, com o intuito de estabelecer um padrão de distribuição desses alelos e comparar com outras pesquisas em diferentes regiões geográficas. Além disso, buscar possíveis correlações do envolvimento destes fatores genéticos com a gravidade da doença. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a prevalência dos alelos de risco do complexo HLA pela genotipagem dos alelos DQA1\*05, DQB1\*02 e DRB1\*04, e correlacionar com dados de diagnóstico, sintomas e patologias em celíacos no sul do Brasil.

## 2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Definição e fisiopatologia

A doença celíaca (DC) é caracterizada como uma enteropatia autoimune decorrente de uma intolerância permanente ao glúten dietético em indivíduos geneticamente predispostos (LUDVIGSSON et al., 2012; ROSTAMI-NEJAD et al. 2014). Tal enteropatia é caracterizada por um processo inflamatório do intestino delgado mediada por linfócitos T, onde nesses pacientes existe um aumento da infiltração dos linfócitos nas células epiteliais chegando a uma proporção de 25/100 células (LUDVIGSSON et al., 2012; YUAN et al., 2013)

O glúten é formado por um conjunto de proteínas (prolaminas) insolúveis, presentes nos alimentos como trigo, cevada e centeio, composto pelas prolaminas gliadina e glutenínas, secalinas e hordeínas, respectivamente (LUDVIGSSON et al., 2012). Essas prolaminas são constituídas de grande parte de glutaminas e prolinas que dificultam o processo de digestão a nível intestinal e são responsáveis pela ativação do sistema imunológico em celíacos (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006). Desta forma, as prolaminas parcialmente digeridas atravessam a barreira epitelial do intestino e ao atingirem a lâmina própria irão desencadear respostas imunes inadequadas relacionadas tanto a imunidade adaptativa quanto a imunidade inata (LUDVIGSSON et al., 2012; TAYLOR et al., 2015).

A imunidade adaptativa é mediada pelos linfócitos T CD4+, ativados através da apresentação de antígenos realizada pelas células apresentadoras de antígenos que contém as proteínas de superfície DQ2 e/ou DQ8 expressas pelo complexo HLA. Inicialmente, a gliadina irá sofrer ação da Enzima Transglutaminase Humana 2 ou também conhecida como Transglutaminase Tecidual, que é responsável em promover a desamidação do peptídeo do glúten, passando de resíduos de glutamina para ácido glutâmico, desta forma o peptídeo do glúten torna-se mais suscetível a ligação às proteínas DQ2 e DQ8 (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006). Após essa ligação, as células apresentadoras de antígenos que expressam DQ2 e/ou DQ8 reativas ao glúten irão ativar as células T CD4+ que são responsáveis em desencadear diversos fatores inflamatórios, tais como, liberação de interferon

gama e diversas citocinas pró-inflamatórias formando assim o processo inflamatório intestinal (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006; TAYLOR et al., 2015).

Já o processo autoimune da DC promovido pela imunidade inata está relacionada com o aumento da interleucina-15 nos enterócitos que irá promover a ativação de linfócitos T CD8+ de ação intra-epiteliais, que expressam o marcador Natural Killer (NK), capazes de reconhecer as células de estresse (expressão MICA- HLA classe I) nos enterócitos, podendo causar morte celular (GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006; TAYLOR et al., 2015). Sendo assim a lesão da mucosa intestinal surge através da combinação de diversos fatores imunológicos, aqueles relacionados ao HLA-classe II (que envolvem as proteínas DQ2 e DQ8 específicas), bem como a partir de outros genes relacionados a fatores inflamatórios (ABADIE et al., 2011).

O desencadeamento da DC pode ocorrer em qualquer fase da vida e danos recorrentes desta morbidade irão variar de acordo com a idade do surgimento (ROMANOS et al., 2014). Estima-se que essa doença tenha uma prevalência de até 1% na população europeia e americana (ROMANOS et al., 2009; MASHAYEKHI, KOUSHKI, ROSTAMI-NEJAD, 2015), chegando a uma proporção de 1:200 à 1:400 (ANTUNES et al., 2006). Além disso, é mais comum no sexo feminino chegando a atingir 2.8 vezes mais as mulheres do que homens (THOMAS ET al., 2009). No Brasil estudos mostraram que a incidência de DC é de 1:681 em Brasília, 1:273 em Ribeirão Preto, 1:417 em Curitiba e 1:214 em São Paulo (SDEPANIAN, GALVÃO, 2009; PRATESI, GANDOLFI, 2005). Entretanto, segundo dados da Associação Brasileira de Doença Celíaca de São Paulo (ACELBRA/SP), os estados com maior prevalência de DC seriam São Paulo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Paraná e Mato Grosso, sendo que 57% dos celíacos teriam início da doença em idade de até 20 anos (ASSOCIAÇÃO DE CELÍACOS DO BRASIL, SÃO PAULO, 2004).



## 2.2 Diagnóstico

O diagnóstico da DC é considerado complexo, um dos motivos para dificuldade de descobrir a doença seria que essa morbidade pode ser confundida com outras enteropatias e, além disso, a variedade de sintomas, não se limitam ao trato gastrointestinal o que pode confundir e postergar o diagnóstico (HUSBY et al., 2012).

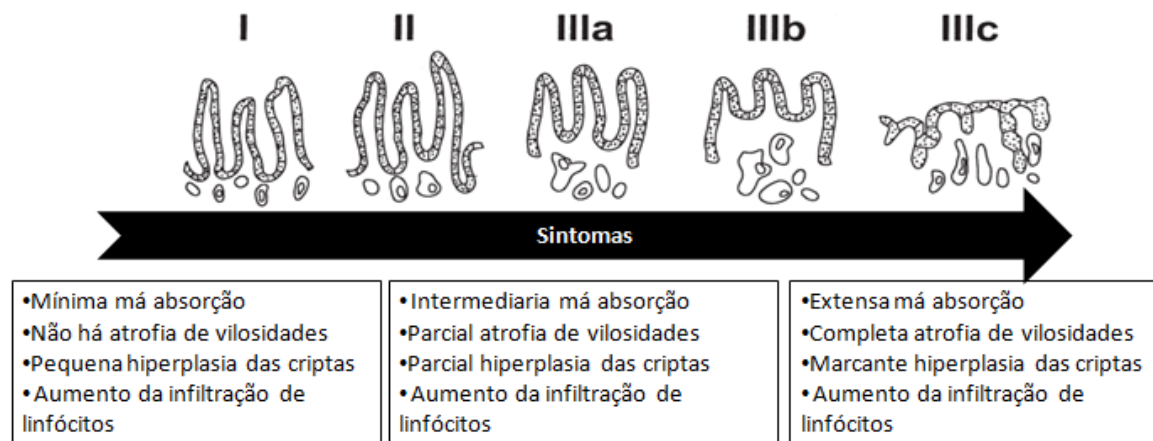
Segundo as Diretrizes da Sociedade Europeia de Gastroenterologia Pediátrica, Hepatologia e Nutrição (ESPGHAN), como primeiro passo para diagnóstico de DC seria a realização de testes sorológicos específicos para DC. Os testes sorológicos utilizados como etapa de diagnóstico da DC são divididos em dois grupos. O primeiro relacionado aos auto- anticorpos que visam avaliação de auto-antígenos que se dividem em Anti-transglutaminase tecidual (anti-TG2) e o Anti-endomísio (EMA) e o segundo grupo, refere-se aos anticorpos que visam o agente ofensor (gliadina) destaca-se o anti-gliadina (anti- AGA). Taís anticorpos são baseados na Imunoglobulina A (IgA), sendo apenas utilizado a Imonoglobulina G em casos em que o paciente apresente deficiência de IgA (BAI et al., 2016). No teste de IgA-EMA o anticorpo liga-se ao endomísio (camada de tecido conjuntivo ligado ao músculo liso) e visa o auto-antígeno transglutaminase 2, produzindo coloração específica que pode ser visualizado em imunofluorescência indireta, sendo classificado em positivo ou negativo. Este teste possui em média 80% de sensibilidade e consegue atingir 100% de especificidade para DC não tratada. Porém a grande dificuldade na sua utilização seria o custo elevado e a necessidade de profissional treinado para a realização da leitura. Outro antígeno sérico avaliado é o anti-TG2, este teste visa o mesmo auto-antígeno transglutaminase 2 do EMA, porém é utilizado o método de imunoensaio enzimático (ELISA) tornando este exame mais usual na prática clínica além de ser mais específico e sensível para avaliar a DC (BAI et al., 2016). Já em relação aos anti-AGA é utilizado peptídeos desamidados isolados do glúten como antígeno no teste de ELISA, com o objetivo de detectar anticorpos de anti-gliadina no soro. Apesar de possuírem especificidade moderada o teste sorológico anti-AGA não é mais recomendado no momento do diagnóstico devido a sua menor sensibilidade (BAI et al., 2016).

Caso haja resultado positivo para os testes sorológicos, o segundo passo para diagnóstico da DC seria a realização da biópsia intestinal. As lesões geralmente estão restritas às porções iniciais do duodeno, primeira porção-bulbo, porém podem ocorrer lesões também na segunda e terceira porção desse órgão. O guia europeu (HUSBY et al., 2012) sugere que, para lesões de primeira porção, seja feita a retirada de apenas uma amostra, porém nas porções posteriores devem ser retiradas quatro amostras do duodeno para posterior análise. Na análise histopatológica devem ser verificados: presença ou não de vilosidades normais (atrofia ou alongamento das criptas), número de linfócitos intraepiteliais e classificação de Marsh-Oberhuber (Tabela 1; Figura 1) (HUSBY et al., 2012).

**Tabela 1:** Classificação da DC segundo Marsh-Oberhuber.

<b>Marsh 0</b>	mucosa e vilosidades intestinais normais
<b>Marsh I</b>	<b>INFILTRATIVA</b> Vilosidade e mucosa normais Aumento de linfócitos intraepiteliais (25/100)
<b>Marsh II</b>	<b>HIPERPLASIA</b> Aumento de linfócitos intraepiteliais Hiperplasia das criptas Discreta atrofia das vilosidades
<b>Marsh III</b>	<b>A) Presença de atrofia das vilosidades</b> Aumento de linfócitos intraepiteliais Hiperplasia das criptas Parcial atrofia das criptas <b>B) Presença de atrofia das vilosidades</b> Aumento de linfócitos intraepiteliais Parcial hiperplasia das criptas Parcial atrofia das vilosidades <b>C) Presença de atrofia das vilosidades</b> Aumento de linfócitos intraepiteliais Total atrofia das vilosidades Hiperplasia das criptas
<b>Marsh IV</b>	<b>HIPOPLÁSICA</b> Total atrofia das vilosidades Número de linfócitos intraepiteliais normais Normal profundidade das criptas, mas existência de hipoplasia Sintomas graves de má nutrição

\* Adaptado de American Gastroenterological Association, 2006



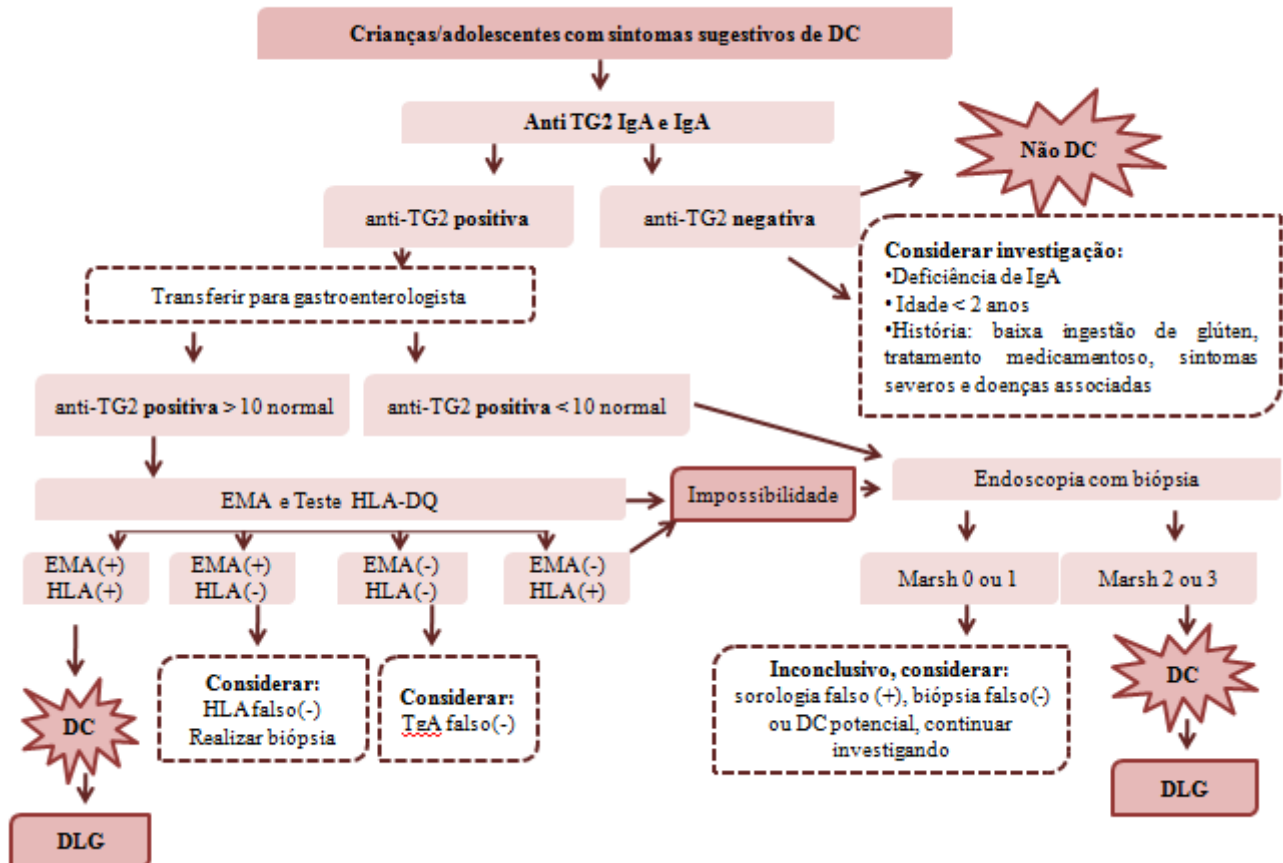
**Figura1: Demonstração da atrofia das vilosidades intestinais de acordo com a classificação de Marsh- Oberhuber.** Adaptado de American Gastroenterological Association, 2006.

A biópsia intestinal é considerada padrão ouro para diagnóstico da DC onde o grau de lesão intestinal segue os parâmetros delineados por Marsh-Oberhuber (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006). O diagnóstico final para DC da biópsia intestinal é de no mínimo Marsh II; caso a histologia esteja normal (Marsh-0) ou a contagem leucócitos for superior a 25/100 (leucócitos/células epiteliais - Marsh- I) mais testes devem ser realizados para se estabelecer o diagnóstico de DC. A biópsia intestinal é facultativa somente em criança, quando os valores para anti-TG2 forem 10 vezes superiores ao ponto de corte para predisposição, sendo que estes valores devem ser reavaliados para evitar falso-positivo e confirmados com o teste genético para HLA (HUSBY et al., 2012).

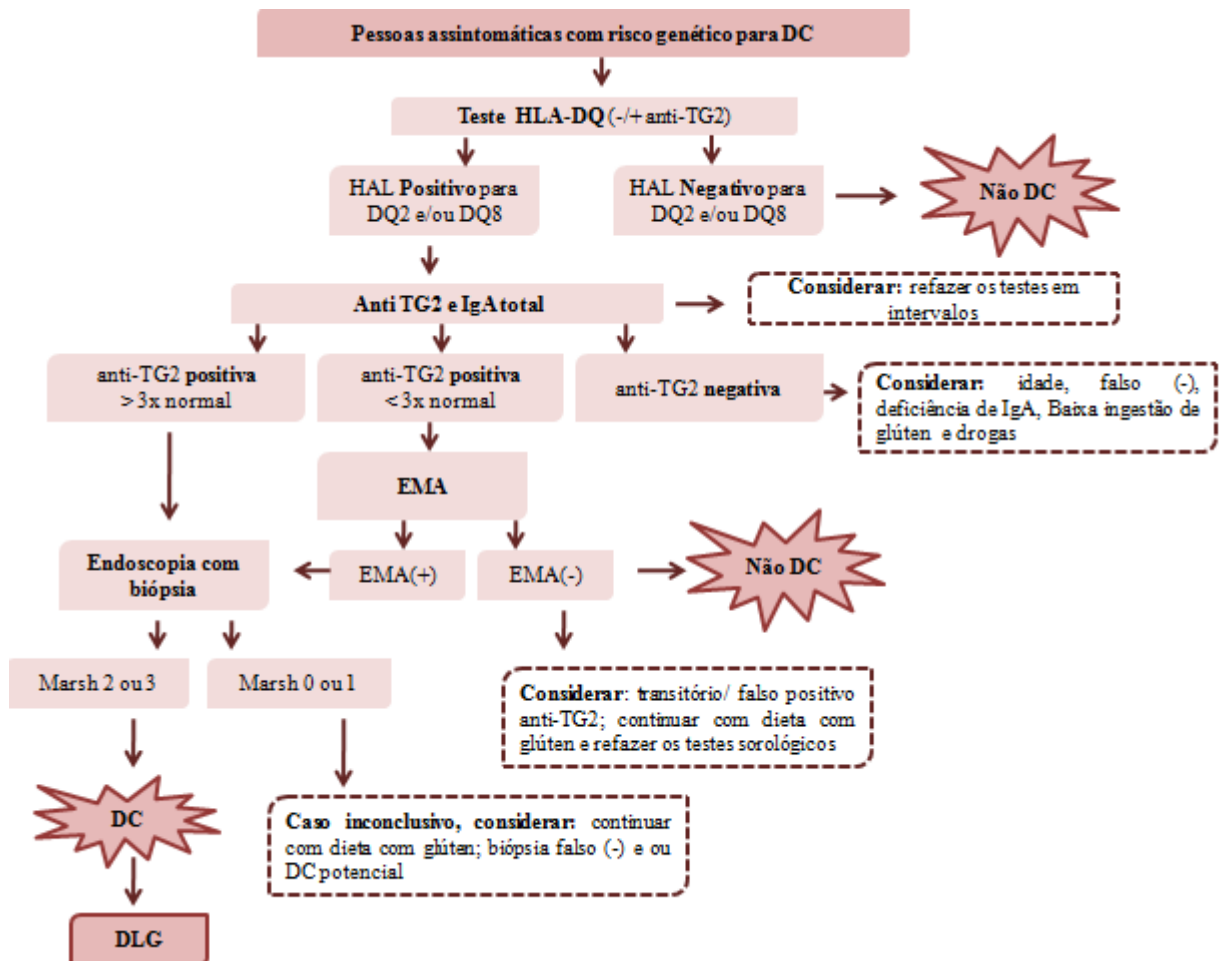
Outro método que pode ser utilizado para rastreio e exclusão da DC seriam os testes de genotipagem de alelos de risco localizados no Antígeno leucocitário humano (HLA), HLA-DQ2 e HLA-DQ8, que visam auxiliar no diagnóstico ou exclusão da doença, detectando falsos testes positivo/negativos e auxiliando assim na decisão de realização da biópsia intestinal (HUSBY et al., 2012).

Em indivíduos assintomáticos, a primeira opção para avaliar probabilidade de DC seria a genotipagem dos alelos de risco dos genes que codificam para HLA- DQ2 e HLA- DQ8, caso não haja a presença desses alelos, o teste sorológico é dispensado. A sequência para o diagnóstico em

crianças/adolescentes e pacientes assintomáticos pode ser vista na Figura 2 e 3.



**Figura 2: Esquema para diagnóstico da Doença celíaca (DC) em crianças e adolescentes.** Inicialmente as crianças/adolescentes devem ser submetidas ao teste sorológico anti-TG2/IgA e IgA, caso negativa deve ser excluída a possibilidade de doença celíaca. Porém, caso o teste anti-TG2 seja positivo deve-se dar continuidade as etapas de diagnóstico. Se os valores de anti-TG2 forem superiores 10 vezes o valor considerado normal deve-se realizar o teste sorológico para EMA (anti- EMA) e avaliar a presença de alelos de risco para DC (HLA-DQ), caso o paciente for positivo para os dois testes pode-se confirmar DC. Havendo alternância entre os resultados do teste sorológico e para o HLA-DQ é fundamental confirmação com a realização da biópsia intestinal. Em caso de biópsia classificada com lesão Marsh 0 ou 1 torna-se necessário avaliar a sintomatologia clínica do paciente e os testes sorológicos, porém se a lesão for classificada em Marsh 2 ou mais já é possível concluir o diagnóstico de DC. DC: doença celíaca; HLA-DQ: Antígeno leucocitário humano região II (DQ); Anti-TG2: Teste sorológico baseado no anticorpo transglutaminase 2; EMA: Teste sorológico para anticorpo anti-endomísio (anti-EMA); HLA- Antígeno leucocitário humano; DLG: dieta livre de glúten; TgA: Imunoglobulina A; Marsh: Classificação do grau de lesão intestinal segundo Marsh-Oberhuber. Adaptado de Husby et al., 2012.



**Figura 3: Esquema para diagnóstico de Doença celíaca (DC) em pacientes assintomáticos pertencentes a grupos de risco.** Primeiramente deve-se realizar o teste genético dos alelos de risco para o HLA-DQ, caso negativo deve ser descartada a possibilidade de DC, porém, se o teste genético for positivo deve-se seguir as etapas de diagnóstico com a realização do teste sorológico para anti-TG2. Caso o teste sorológico para TG2 seja negativo deve-se considerar outras possibilidades de diagnóstico, porém se for positivo em três vezes o valor considerado normal deve-se realizar biópsia intestinal, caso o valor seja inferior a esse é necessário ainda confirmar com teste sorológico para EMA. Caso os dois testes, Anti-TG2 e EMA forem positivos é indicada a realização de biópsia para confirmação de diagnóstico, em caso de EMA negativo deve-se seguir investigando. A biópsia classificada com lesão Marsh 0 ou 1 torna-se necessário avaliar a sintomatologia clínica do paciente e os testes sorológicos, porém se a lesão for classificada em Marsh 2 ou mais já é possível concluir o diagnóstico de DC. DC: doença celíaca; HLA-DQ: Antígeno leucocitário humano região II (DQ); Anti-TG2: Teste sorológico baseado no anticorpo transglutaminase 2; HLA- Antígeno leucocitário humano; DQ2- teste genético para detectar alelos codificantes para a proteína DQ2; DQ8: teste genético para detectar alelos codificantes para a proteína DQ8; EMA: Teste sorológico para anticorpo anti- endomísio (anti-EMA); TgA: Imunoglobulina A; Marsh: Classificação do grau de lesão intestinal segundo Marsh-oberhuber; DLG: dieta livre de glúten. Adaptado de Husby et al., 2012.

### **2.3 Tratamento da DC**

Após o diagnóstico confirmado de DC, o tratamento é baseado somente na restrição do glúten de forma permanente. Alguns pacientes com maior tempo de exposição aos sintomas, além da restrição do glúten podem vir necessitar de suplementação de alguns micronutrientes, dentre eles o ferro e o folato (ADMOU ET al., 2012; LIONETTI, CATASSI et al., 2011; RADLOVIĆ, 2013). Em alguns casos a restrição da lactose pode ser solicitada com a finalidade de auxiliar na redução dos episódios de diarreia (RADLOVIĆ, 2013).

Após o início do tratamento estima-se um tempo de 6 meses à 1 ano para remissão total dos sintomas (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006). Em alguns casos, poderá surgir a definição de DC refratária, seriam pacientes que mesmo em dieta isenta de glúten apresentam sintomas, que podem ser classificados em dois tipos: aqueles que apresentam infiltração de linfócitos T na mucosa intestinal e aqueles não apresentam. O primeiro passo seria investigar possível contaminação cruzada dos alimentos, excluída essa possibilidade, se dá início ao tratamento medicamentoso com imunossupressores em associação a dieta isenta de glúten (ADMOU ET al., 2012).

Importante salientar que a dieta isenta de glúten deve ser adotada apenas após o diagnóstico fechado, alterações na ingestão podem gerar a remissão da doença alterando os testes sorológicos e dificultando a análise da biópsia intestinal, auxiliando para o falso negativo (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006).

### **2.4 Desenvolvimento dos sintomas clínicos e patologias relacionadas**

Varias condições patológicas estão associadas à DC, como consequência ou como fator predisponente para o desenvolvimento da doença. A deficiência de ferro seria uma consequência comum da DC (LIONETTI et al., 2011; AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006), portanto diagnóstico de anemia persistente e até o rastreio entre os pacientes já diagnosticados deve ser realizado sempre que sintomas de anemia forem

percebidos (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006). Acredita-se que a anemia esteja presente entre 12 a 69% dos celíacos no momento do diagnóstico, esse sintoma pode ser derivado de inúmeras repercussões clínicas, porém em celíacos a redução de absorção de ferro ou de vitamina B12 seriam em decorrência da lesão intestinal (LIONETTI et al., 2011).

Outro fator bem comum como resultado da DC, seria a baixa densidade mineral óssea, a Associação Americana de Gastroenterologia estima um percentual 1- 3,4% dos pacientes celíacos com tal problema. Além disso, sugere que esse percentual de prevalência ainda esteja subestimado, levando em conta a dificuldade de estabelecer um parâmetro para classificação da osteoporose e o próprio subdiagnóstico da DC (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006). As causas desse sintoma podem derivar da redução da absorção de cálcio em associação a deficiência de vitamina D, outras associações também são feitas com o estado inflamatório do paciente e liberação de citocinas pró-inflamatórias e a atuação delas no processo de reabsorção óssea (LIONETTI et al., 2011).

Já em mulheres celíacas, um sintoma comum seria a infertilidade. A Associação Americana de Gastroenterologia em sua revisão relatou uma prevalência de DC em 2,1- 4,1 % das mulheres com infertilidade inexplicável, além de sugerir que a DC esteja associada a abortos espontâneos (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006). A associação da DC e estes achados não estão bem evidenciados, mas se sugere que as deficiências nutricionais estariam implicadas no surgimento desse sintoma (LIONETTI et al., 2011).

Como consequência da DC, pode-se citar ainda a dermatite herpetiforme. Tal patologia é definida com uma doença inflamatória cutânea mais comum e específica da DC, chegando a se manifestar em 25% dos pacientes. As regiões mais afetadas costumam ser cotovelos, joelhos, ombros, linha do meio das costas, nádegas e região sacral, sendo que as manifestações cutâneas ainda são acompanhadas de prurido e cócegas. A associação da dermatite e a DC estariam implicadas com o mecanismo HLA (HLA-DQ2 e HLA-DQ8) e alterações no sistema imunitário, além disso, a ingestão do glúten

está intimamente relacionada com surgimento dos sintomas (LAURET, RODRIGO, 2013; LIONETTI et al., 2011).

As doenças hepáticas também fazem parte do grupo de doenças relacionadas à DC, principalmente em pacientes assintomáticos. Nestes pacientes pode ocorrer um aumento das transaminases, podendo ser a única manifestação clínica presente. A investigação da associação entre DC e a patogenicidade é realizada através de uma dieta isenta de glúten, onde o paciente passa a apresentar uma redução gradual das transaminases (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006). Os tipos de doenças hepáticas podem variar entre doença renal crônica, cirrose biliar primária, hepatite auto-imune, colangite esclerosante primária e esteatose hepática. O motivo para tal associação ainda é incerto, mas alguns estudos sugerem o envolvimento de alelos de risco para HLA DQ2 e DQ8 (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006; LAURET, RODRIGO, 2013).

Em relação a fatores de predisposição à DC, destacam-se as desordens auto-imunes. O Diabetes *Mellitus* tipo 1 (DM1) está associado a DC, pois compartilham dos mesmos alelos predisponentes para HLA-DQ2 e HLA- DQ8. A prevalência de celíacos portadores de DM1 varia de 2- 5% em adultos e de 3-8% em crianças (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006; LAURET, RODRIGO, 2013). Outra doença auto-imune relacionada seria associada à tireóide, a predisposição do celíaco de desenvolver alterações de tireóide seria de 2 à 7%, onde o mecanismo de associação entre essas duas patologias seria a ativação dos linfócitos T citotóxicos e a reação transglutaminase humana na tireóide, sendo que ambos os fatores estão relacionados à DC (LAURET, RODRIGO, 2013).

Um dos componentes preditores para a DC seria também os parentes de primeiro grau. De acordo com a Associação Americana de Gastroenterologia é evidente que parentes de celíacos possuem maior risco de surgimento da doença, sugerindo em seu levantamento que, os parentes de primeiro grau de celíacos apresentam 10% de chance de desenvolver a doença, enquanto os parentes de segundo grau mostraram uma variação de 2,6 - 5,5% (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006).



Por outro lado, um estudo realizado com parentes de primeiro grau de celíacos revelou que, 9,5 % deles eram soropositivos, porém 4,8% foram diagnosticados com DC segundo biópsia (DOGAN, YILDIRMAZ, OZERCAN, 2012). Nesse mesmo sentido, um estudo brasileiro também encontrou uma prevalência de 4,8% de celíacos entre parentes de primeiro grau (ALMEIDA et al, 2008).

Em relação a DC e desordens genéticas pode-se destacar o aumento da prevalência em pacientes portadores da Síndrome de Williams, Síndrome de Down e Síndrome de Turner (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006; LIONETTI et al., 2011).

## **2.5 Classificação da Doença Celíaca**

Os sintomas da DC são variáveis dependendo do indivíduo, com isso pode receber, além da classificação de Marsh, uma distinção de acordo com os tipos de sintomas declarados. Portanto a DC pode ser classificada como típica, que seria a forma clássica da doença associada a sintomas intestinais; atípica, relacionada a sintomas extra-intestinais; assintomática, também conhecida como silenciosa devido à ausência de sintomas recorrentes da doença; e a potencial ou latente, uma apresentação da DC com resultados de diagnósticos inconclusivos.

A forma típica da DC é caracterizada pela atrofia das vilosidades com comprometimento da absorção intestinal. Em decorrência desse fator, o paciente passa a apresentar sintomas de má absorção tais como: diarreia, esteatorreia e desnutrição. Secundário a esse problema, o paciente também poderá cursar de edema em decorrência à hipoalbumemia e distensão abdominal (LUDVIGSSON et al., 2012; LIONETTI et al., 2011). Acredita-se que a forma típica se manifeste, principalmente, entre 6 e 24 meses de idade e irá implicar em retardo do crescimento, perda de massa muscular e depressão (LIONETTI et al., 2011).

Por sua vez, a forma atípica da DC é mais prevalente em crianças mais velhas e adultos. Os sintomas da má absorção podem estar presentes, porém não tão grave quanto na forma típica da doença. As alterações gastrointestinais podem incluir náuseas, vômitos e distensão abdominal. Porém, é conhecida pelos seus sintomas extra-intestinais, que podem afetar qualquer parte do

corpo, relacionados a doenças hepáticas, anemias (por deficiência de ferro e B12), dermatite herpetiforme, baixa estatura (redução da liberação do hormônio de crescimento) e baixa densidade mineral óssea. Em mulheres, essa forma da DC, está relacionada a abortos, menopausa precoce e infertilidade (LUDVIGSSON et al., 2012; LIONETTI et al., 2011).

A forma silenciosa ou assintomática da DC é caracterizada por não apresentar sintomas clássicos, o indivíduo cursa de uma diminuição de qualidade de vida, percebida, muitas vezes, somente após a retirada do glúten da dieta. Dentre os sintomas que os pacientes podem apresentar, seriam: fadiga, redução da aptidão física, irritabilidade e desempenho escolar reduzido, onde em, alguns casos, podem apresentar ainda deficiência de ferro, anemia e desmineralização óssea. Esses pacientes geralmente são diagnosticados ao acaso, tais como em rastreamentos populacionais. A dieta isenta de glúten é de fundamental importância, pois auxiliam na melhora da qualidade de vida dos pacientes, além de auxiliar na remissão da lesão intestinal (LUDVIGSSON et al., 2012; LIONETTI et al., 2011).

A forma de DC em potencial descreve um grupo de pacientes que apresentam nenhuma alteração histológica, porém podem apresentar infiltração de linfócitos T na mucosa, sendo classificados com Marsh I. Além disso, também apresentam alteração nos testes sorológicos, demonstrando diagnóstico positivo para anti-TG2 e EMA. Portanto esses pacientes estão em risco de desenvolver formas mais graves da doença (LUDVIGSSON et al., 2012; LIONETTI et al., 2011). Para esses pacientes não existe um consenso da necessidade da dieta sem glúten, porém o monitoramento das vilosidades intestinais e dos demais sintomas deve ser realizado para que não ocorra pior prognóstico (LIONETTI et al., 2011).

## **2.6 Iceberg da Doença Celíaca**

O grande problema na DC seria a dificuldade de diagnóstico dentre as várias formas de apresentação da doença. A forma típica seria a mais comumente diagnosticada devido seus impactos a nível de trato gastrointestinal, com apresentação de sinais clássicos de desnutrição. Porém, o que realmente dificulta o diagnóstico seriam as formas de manifestações da

doença atípica ou assintomática, pois os sintomas abrem o leque para uma infinidade de outras patologias. Além disso, essas duas formas apresentam baixo grau de lesão intestinal o que dificulta estabelecer um padrão de lesão para diagnóstico (YUAN et al., 2013).

A partir dessas formas, surge o chamado “Iceberg da Doença Celíaca”, que retrata a epidemiologia da DC, a menor parte dos celíacos são diagnosticados (referentes à parte externa do iceberg), os demais seriam aqueles que possuem a forma não-típica (atípica ou silenciosa), que ainda não possuem diagnóstico (porção submersa; Figura 4) (LIONETTI, CATASSI et al., 2011; YUAN et al., 2013; ADMOU ET al., 2012; WEST et al., 2007). Ademais, se sugere que para cada caso de DC diagnosticado, cinco permanecem sem diagnóstico (LIONETTI, CATASSI et al., 2011; ADMOU et al., 2012) .



**Figura 4: Iceberg da Doença Celíaca.** Adaptado de Admou et al., 2012

O grande problema do subdiagnóstico seriam as implicações decorrentes da falta de tratamento clínico desses pacientes, fazendo com que eles se tornem mais propícios ao desenvolvimento de outras desordens auto-imunes tais como, *diabetes mellitus* tipo 1, doenças auto-imunes da tireóide e doença de Addison (YUAN et al., 2013), além de maior predisposição a neoplasias malignas tanto de intestino delgado como de linfomas de células T (YUAN et al., 2013; ADMOU ET al., 2012). Porém não há grandes estudos de acompanhamento sobre os possíveis impactos da não adesão ao tratamento em pacientes celíacos (WEST et al., 2007).

## **2.7 Limitações dos testes sorológicos: Anti-endomísio (anti-EMA) e Anti- transglutaminase (anti-TG2)**

Os testes sorológicos que estabelecem maior sensibilidade para rastrear a DC seriam os testes para anti- TG2 e anti-EMA (HUSBY et al., 2012). Porém, apesar de serem tidos como uma das etapas de diagnóstico de DC e de fundamental importância para indicar a continuidade da investigação da doença muitos estudos indicam a grande ocorrência de falso negativo para estes testes o que constitui um problema quando se depende dos seus resultados para a realização da biópsia intestinal (LEBWOH et al., 2012; KAPITÁNY et al., 2006).

Tentando explicar a ocorrência de falsos negativos estudos estão relatando que os resultados dos testes sorológicos possuem relação com o grau de lesão intestinal (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006; KAPITÁNY et al., 2006). Desta forma, pacientes com lesão intestinal parcial (> Marsh II) os testes de anti- TG2 e anti-EMA demonstram 50- 89% de sensibilidade, enquanto danos intestinais classificados Marsh inferior ou igual a II a sensibilidade cai para menos de 50% (AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, 2006).

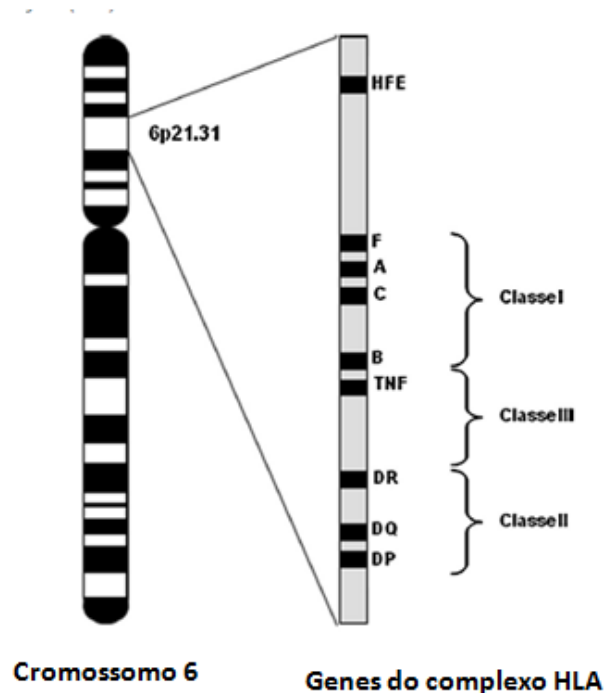
Um estudo associou valores de anti-TG2 e anti-EMA com o consumo de glúten em pacientes celíacos. Aqueles pacientes que apresentavam dieta livre ou com baixa restrição de glúten, os valores de TG2 e EMA foram superiores em 69,2% dos casos, já nos pacientes que seguiam uma dieta extremamente restritiva, os valores estiveram elevados apenas em 44,3% da amostra, sugerindo associação entre lesão intestinal e sorologia (KAPITÁNY et al., 2006). Já em outro estudo realizado no hospital da Holanda, com pacientes em investigação de DC, relatou que o anti- EMA obteve 34,2% de falso positivo, enquanto anti-TG2 obteve 17,5%, em relação a especificidade EMA apresentou 66% e TG2 88%. Estes resultados sugerem que os testes sorológicos não apresentam total segurança para o diagnóstico, porém todos os casos sintomáticos obtiveram correlação com os testes sorológicos (MUBARAK et al., 2011). Por fim, acredita-se que cerca de 10% dos pacientes diagnosticados com DC são soronegativos (LEBWOH et al., 2012).

## **2.8 Fatores genéticos relacionados à Doença celíaca**

Na literatura são relatadas duas origens distintas de fatores genéticos relacionados a predisposição à DC, região HLA e a não-HLA. A menos estuda até o momento estão relacionadas aos genes localizados fora Antígeno Leucocitário Humano (não-HLA) que apresentam envolvimento indireto com o sistema imunológico (ABADIE et al. 2011) Tais genes fora do HLA foram descobertos por estudos de associação genômica ampla (GWAS) sendo identificados cerca de 40 locus e 64 genes que podem ter associação com a DC (ABADIE et al., 2011). Desta forma os fatores não-HLA constituem cerca de 60% dos fatores genéticos relacionados à doença (ALMEIDA, 2015). Porém, são responsáveis apenas por 5% da hereditariedade genética da DC (ABADIE et al. 2011). Por outro lado, os fatores genéticos relacionados à região HLA estão presentes em 95% dos celíacos (ALMEIDA, 2015).

De acordo com a última publicação da ESPGHAN a genotipagem dos alelos relacionados ao HLA pode ser utilizado como uma boa ferramenta para o rastreio da doença e no auxílio do diagnóstico (HUSBY et al., 2012). Desta forma o teste genético para os alelos de risco do HLA são capazes de excluir a possibilidade de ter DC, mas não são suficientes para diagnosticar a doença (TAYLOR et al., 2015).

O complexo HLA está localizado no braço curto do cromossomo 6 (região 6p21.31), sendo formado por mais de 200 locos de genes. A partir do centrômero e esta dividido em três regiões, classe II (DP, DQ, DR), classe III (B, TNF) e classe I (C,A e F) e em separado o gene hemocromatose (HFE; Figura 5). Mais da metade dos genes do complexo HLA desempenham papel no sistema imunológico, codificando proteínas de superfície das células apresentadoras de antígenos (ROUJON et al. 2011).



**Figura 5: Localização do complexo Antígeno leucocitário humano (HLA) no cromossomo 6.** O complexo HLA está localizado no braço curto do cromossomo 6, região 6p21.31, e está dividido em três classes (I, II e III) mais o gene da Hemocromatose (HEF). A classe II do HLA é dividida ainda em região DR, DQ e DP, sendo que nas regiões DR e DQ estão localizados os alelos de risco para doença celíaca. Adaptado de Roujon et al. 2011.

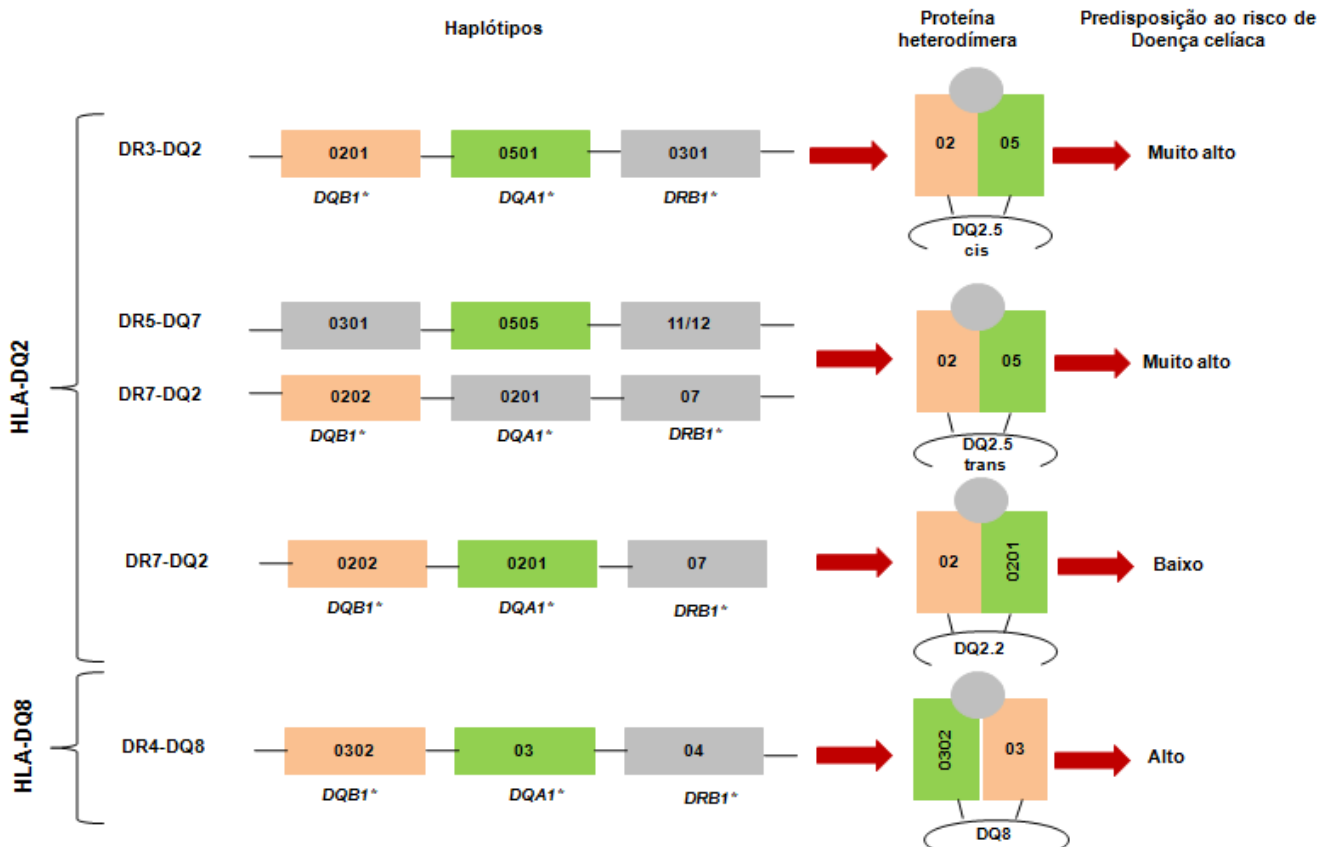
No HLA- classe II, mais precisamente as regiões DR e DQ, estão localizados os genes responsáveis em codificar as proteínas DQ2 e DQ8 envolvidas na patologia da DC. Devido à proximidade das regiões HLA-DQ e HLA-DR esses locais costumam sofrer desequilíbrio de ligação e conseqüentemente podem formar diversas combinações de haplótipos nessas regiões que por fim podem alterar o risco da DC (TAYLOR et al., 2015; STANKOVIC et al., 2014).

São citados na literatura quatro haplótipos que apresentam maior relação com a DC. Dentre eles três estão relacionados à codificação da proteína DQ2, sendo eles: haplótipo DR3/DQ2 na posição cis (onde a proteína codificada é denominada também de proteína DQ2.5), haplótipo DR5/DQ7 em associação ao haplótipo DR7/DQ2 na posição trans (onde a proteína

codificada é denominada também de proteína DQ2.5) e o haplótipo DR7-DQ2 (onde a proteína codificada é denominada também de proteína DQ2.2). Já para a proteína DQ8, o haplótipo DR4-DQ8 é responsável pela codificação desta (ABADIE et al., 2011). Estes haplótipos são formados pelos genes DQB1, DQA1 e DRB1, e seus respectivos alelos que são responsáveis por codificar as cadeias alfa de beta que constituem as proteínas DQ2 e DQ8 (ABADIE et al., 2011).

Desta forma a proteína DQ2.5 (cis) é codificada pelo DQB1\*0201 e DQA1\*0501 do mesmo haplótipo DR3-DQ2 e confere risco muito alto para DC. Já a proteína DQ2.5 (trans) é codificada pelo DQB1\*0202 e pelo DQA1\*0505, dos haplótipos DR7-DQ2 e DR5-DQ7, ou seja, formada por dois haplótipos distintos e também confere risco muito alto para DC. O que difere essas duas proteínas seria apenas um resíduo de peptídeo na cadeia DQA, DQA1\*0501 (DQ2.5 cis) vs DQA1 0505 (DQ2.5 trans) e um resíduo na cadeia DQB, DQB1\*0201 (DQ2.5 cis) vs DQB1\*0202 (DQ2.5 trans). Em relação à funcionalidade dessas proteínas na gravidade da DC não existe diferença, ambas conferem risco muito alto, porém diferem no risco genético (ABADIE et al., 2011).

Em relação à proteína DQ2.2, que é codificada pelo DQB1\*0202 e DQA1\*0201 do único haplótipo DR7-DQ2, esta confere risco baixo para DC. Seu risco é reduzido em relação a proteína DQ2.5 devido sua conformação de aminoácidos, a DQ2.5 possui uma tirosina na posição 22, enquanto a proteína DQ2.2 apresenta uma fenilalanina, com isso apresenta menor estabilidade com as partículas de glúten, indicando menor probabilidade de ativação dos linfócitos T (ABADIE et al., 2011). Já a proteína DQ8, quando codificada pelos alelos DQB1\*0302 e DQA1\*03 do haplótipo DR4-DQ8, confere risco alto para DC (ABADIE et al., 2011). A conformação dos haplótipos, os genes, alelos e seus respectivos produtos proteicos podem ser visto na figura 6.



**Figura 6: Conformação dos Haplótipos relacionados ao risco da Doença celíaca.** Os alelos de risco para doença celíaca (DC) são responsáveis em codificar as proteínas DQ2 e DQ8 (pertencentes ao Angíneno leucocitário humano- HLA) envolvidas na apresentação do glúten como um antígeno. Nesse processo participam quatro haplótipos que possuem os alelos de risco para DC que codificam as proteínas heterodímeras DQ2 e DQ8 (cadeia alfa e beta), sendo eles: DR3-DQ2, DR5-DQ7 e DR7-DQ2 que codificam para proteína DQ2 e o DR4-DQ8 que codifica para proteína DQ8. Os haplótipos são formados pelos genes DQB1, DQA1 e DRB1 e seus respectivos alelos. A proteína DQ2.5 cis (também conhecida como DQ2) é codificada pelo haplótipo DR3-DQ2 com os genes e alelos DQB1\*0201 e DQA1\*0501 e confere risco muito alto para DC. A proteína DQ2.5 trans (também conhecida como DQ2) é codificada por dois haplótipos DR5-DQ7 e o DR7-DQ2 através dos genes e alelos DQB1\*0202 e DQA1\*0505 e confere risco muito alto para DC. Já a proteína DQ2.2 (também conhecida como DQ2) é codificada somente pelo haplótipo DR7-DQ2 e seus respectivos genes e alelos DQB1\*0202 e DQA1\*0201 e confere risco baixo para DC. A proteína DQ8 é codificada pelo haplótipo DR4-DQ8 e seus respectivos genes e alelos DQB1\*0302 e DQA1\*03 e confere risco alto para DC. Adaptado de Abadie et al., 2011.

Com a identificação do fator genético preditor para DC e a indicação recente da utilização desse parâmetro como auxílio no diagnóstico da doença estudos estão emergindo com objetivo de avaliar a prevalência em diversas



populações e as possíveis interações desses fatores genéticos com a apresentação clínica da doença.

### **2.9 Vantagem da determinação da genotipagem da doença celíaca frente aos demais métodos de diagnóstico**

A dificuldade do diagnóstico da DC, principalmente na forma não-típica, é o principal fator para subestimar o percentual de celíacos na população. Os diversos fatores envolvidos para se estabelecer a clínica da doença encontram limitações, em todas as etapas do diagnóstico. As alterações intestinais não são exclusivas da DC e dependendo do grau de conhecimento do patologista os resultados podem variar. Além disso, as lesões são irregulares oscilando de atrofia total da mucosa até uma infiltração por linfócitos, e como consequência os testes sorológicos irão acompanhar o grau de lesão intestinal podendo influenciar em falsos negativos. Agregando a todos esses fatores ainda está a necessidade de que durante a investigação o paciente siga uma dieta habitual, sem restrição de glúten.

Diante de todos esses desafios para o diagnóstico da DC a genotipagem de alelos emergem como uma possibilidade de rastreio e auxílio no diagnóstico (OLLIKKA et al., 2009). Para tanto, se torna necessário rastrear a real prevalência desses genes no desencadeamento da DC em diferentes amostras de celíacos, bem como, reconhecer padrões genéticos que conduzem a maior suscetibilidade a doença.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a prevalência dos alelos de risco do complexo HLA DQ2 (DQA1\*05 e DQB1\*02) e DQ8 (DRB1\*04) e associar com dados de diagnóstico, sintomas e outras patologias em celíacos no sul do Brasil.

### 3- JUSTIFICATIVA

A utilização da genotipagem do HLA-DQ (DQ2 e DQ8) foi indicada pela ESPGHAN como forma de rastreio de possíveis candidatos à DC. A distribuição desse marcador genético varia entre 30 - 40% na população em geral, porém em celíacos a prevalência pode ser de até 95%, sendo que os demais fatores predisponentes ao desenvolvimento dessa patologia estariam implicados a outros marcadores genéticos. Estudos estão emergindo com o propósito de elucidar a real contribuição do HLA-DQ no desencadeamento da DC em diferentes grupos populacionais de celíacos. Além de buscar associação de tais fatores genéticos com padrões de sintomas da doença, bem como outros achados que possam vir a facilitar o diagnóstico e consequentemente minimizar o tempo para obtenção do diagnóstico.

O esclarecimento dos fatores genéticos envolvidos, sua prevalência entre celíacos e sua relação com sintomas, lesão intestinal e outros parâmetros de diagnóstico podem auxiliar no conhecimento do mecanismo pelo qual a DC se desenvolve em diferentes populações. Além disso, traçar um perfil de prevalência de fatores genéticos predisponentes pode fomentar uma maior utilização destes testes, bem como o conhecimento de possíveis associações dos alelos com outros fatores ainda não elucidados na literatura.

## **4- OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo Geral**

Avaliar a prevalência dos alelos de risco do complexo HLA pela genotipagem dos alelos DQA1\*05, DQB1\*02 e DRB1\*04, e associar com dados de diagnóstico, sintomas e outras patologias em celíacos no sul do Brasil.

### **4.2 Objetivos Específicos**

Avaliar a frequência dos alelos HLA- DQ2 (DQA1\*05 e DQB1\*02) e HLA-DQ8 (DRB1\*04) e determinar a prevalência total dos alelos em celíacos.

Verificar associação entre os alelos para a proteína DQ2 (DQA1\*05 e DQB1\*02) e DQ8 (DRB1\*04) ao grau de lesão intestinal (Classificação de Marsh-Oberhuber), sintomatologia e diagnóstico. Além de verificar entre os celíacos estudados a associação dos fatores genéticos com doenças relacionadas a DC.

Associar a presença dos alelos com outros métodos utilizados para rastreio da DC, tais como os testes sorológicos, anti-transglutaminase humana, anti-endomísio e anti-gliadina.

Possibilitar aos celíacos estudados o conhecimento do fator genético desencadeador da doença.

## **5- MATERIAIS E MÉTODOS**

### **5.1 População alvo e aspectos éticos**

Trata-se de um estudo descritivo, do tipo transversal, que foi realizado nas cidades de Florianópolis e Blumenau no estado de Santa Catarina e Porto Alegre, Santa Maria, Rio Grande e Pelotas no estado do Rio Grande do Sul, abrangendo assim uma parte da região Sul do Brasil. O convite para participar do estudo foi realizado por meio de divulgação em meios de comunicação, tais como o site e outras mídias vinculadas a Associação Brasileira de Celíacos do Brasil do estado de Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

Para se obter um poder de 95% e uma margem de até 5% de erro, foi idealizada uma amostra inicial de 191 celíacos, de acordo com o programa G\*Power, porém devido à exigência de biópsia intestinal no momento do diagnóstico a amostra atingida foi de 140 celíacos. Foram incluídos no estudo indivíduos de qualquer idade, desde que apresentassem diagnóstico confirmado de DC através de biópsia intestinal.

Foi realizado esclarecimento prévio às unidades ligadas a Associação Brasileira de Celíacos do Brasil, detalhando objetivos e etapas do estudo, obtendo assim o consentimento para divulgação da pesquisa em seus meios de comunicação, sendo firmado compromisso por meio de carta de anuência (APÊNDICE A). Além de ser esclarecido diretamente aos participantes e/ou responsáveis os objetivos do estudo e parâmetros éticos, sobre a confidencialidade dos sujeitos e a utilização dos dados somente para fim de pesquisa, bem como método de coleta de material genético e coleta de dados clínicos. Sendo assim, os participantes que aceitaram participar da pesquisa, assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (APÊNDICE B), regulamentando sua participação.

O projeto de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas (Nº parecer: 1.842.808; Anexo 1), seguindo as normas estabelecidas pela Resolução 466 de 12 de dezembro de 2012 e atendendo ao código de Ética dos Nutricionistas.

## **5.2 Avaliação do perfil clínico**

A fim de avaliar o perfil dos celíacos foi adaptado um questionário já validado e testado na mesma população, constituído de questões abertas e fechadas (CASSOL et al., 2007; APÊNDICE C).

O questionário abordou dados de identificação do paciente, bem como critérios de investigação sobre idade de diagnóstico. Também foi questionado sobre a sintomatologia apresentada pelos celíacos quando obteve o diagnóstico ou quando ingeriam glúten na dieta e patologias associadas à DC. Para avaliar o método de obtenção do diagnóstico da DC, foi também questionado quais exames e testes no qual o paciente se submeteu: biópsia, testes sorológicos (anti-gliadina, anti- endomísio e anti- transglutaminase) e genotipagem de alelos HLA e, seus respectivos resultados. O questionário foi aplicado por pesquisador previamente treinado, sendo juntamente efetuado coleta de células bucais, mediante assinatura do termo do TCLE.

## **5.3 Rastreamento de alelos de risco para HLA DQ2 e DQ8 associados à Doença Celíaca**

### 5.3.1 Coleta da amostra

Os celíacos que preencheram os requisitos para estudo e concordaram em participar da pesquisa mediante assinatura do TCLE tiveram suas células bucais coletadas. Para a coleta de células bucais, o indivíduo deveria enxaguar a boca com água mineral e em seguida esfregar o *swab* várias vezes nas bochechas. Após, o *swab* foi fechado em sua embalagem inicial e identificado, sendo armazenado em caixa térmica com gelo para posterior armazenamento em freezer. Esse procedimento de coleta de células bucais foi realizado em duplicada para eventuais necessidades de repetir as análises. Neste mesmo momento, foi aplicado o questionário, previamente validado, com o objetivo de caracterizar a amostra.

### 5.3.2 Extração do gDNA

O *swab* contendo as células bucais foi encubado em um tubo de 1,5mL, com 400 µL de EAR Buffer (100mM TRIS HCl pH8.5, 5mM EDTA pH 8, 0.2%

SDS e 200mM NaCl) e 10 µL de proteinase K por 4 horas a 55 °C em banho seco. Após este processo foi realizada a inversão do *Swab* e *spin* na velocidade de 15000 rotações por minuto (Nova-Intrumensts®) e em seguida foi retirado o algodão. Após, foi adicionado 100 µL de solução de precipitação de proteína (Ácido acético 11.5ml, Acetato de potássico 60ml e água destilada 28.5ml) gelada e levado a centrifuga durante 5 minutos na rotação de 13500/min. O sobrenadante é salvo em um novo tubo de 1,5 mL com 500 µL de isopropanol (álcool isopropílico, PA) que posteriormente foi agitado e deixado a temperatura ambiente por 5min seguida de centrifugação a 13500 rotações por 5 minutos. No final desse processo é formado o pellet que foi lavado com etanol 70% e centrifugado. Após o microtubo foi seco a temperatura ambiente por 15 minutos e no banho seco por mais por 10 minutos. Por fim, o gDNA é resuspendido em 50 µL de TE Buffer (10mM TRIS HCL pH 7.4 e 1mM EDTA pH 8). Método de extração de gDNA adaptado de MILLER, DYKES e POLESKY (1988).

Para critério de confirmação da extração, após a obtenção do gDNA das amostras elas foram testadas para gene controle por meio da reação em cadeia de polimerase afim de verificar a confiabilidade da extração. O gene utilizado foi para ECA, padrão já usado no laboratório e realizado de acordo com a metodologia de Aranalde et al (2016). Os *primers* utilizados e tamanhos de fragmentos amplificados para o gene controle pode ser visualizado na Tabela 2.

### 5.3.3 Amplificação do DNA (PCR)

A amplificação dos alelos de risco para a DC foi realizada por meio da reação em cadeia de polimerase (PCR), sendo que os alelos amplificados neste estudo foram o DQA1\*05 e DQB1\*02 (DQ2) e DRB1\*04 (DQ8). A reação de amplificação foi realizada em volume final de 20 µl, sendo que para avaliar o haplotipo DQ8 a reação foi constituída de 10 µl de Gotaq, 6 µl de água *milly* Q e 1 µl de cada primers, concentração inicial dos primers de 5pmol/ µl. Já para a reação de DQ2 foi constituída de 10 µl de gotaq, 4 µl de água *milli* Q e 4 µl da mistura dos quatro primers a 5pmol/ µl (40µl de cada um dos primers referentes a subunidade alfa do DQ2 e 20µl de cada primer para subunidade beta do

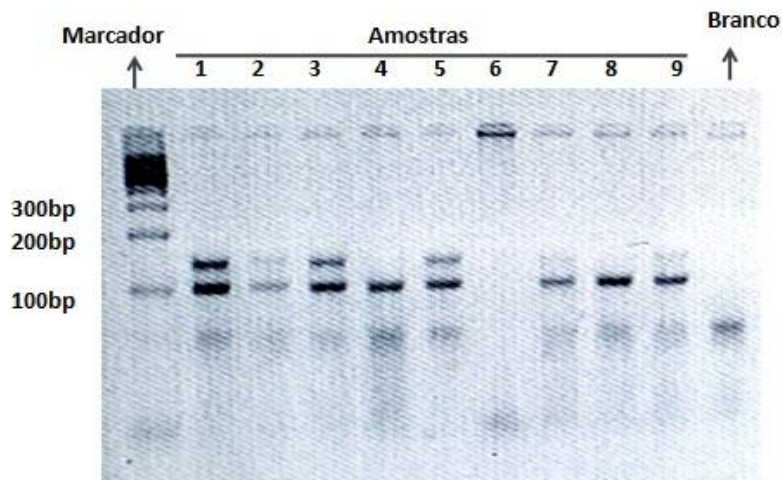
DQ2). Em ambas as reações foram utilizadas 2 µl de amostra. Os primers utilizados e os respectivos tamanhos de fragmentos amplificados estão descritos na Tabela 2.

Após a preparação à reação foi levada ao termociclador (AMPLITHERM®) programado para realizar a desnaturada inicial a 95 °C por 5 minutos e, em seguida, realizar 35 ciclos de desnaturação a 95 °C por 20 segundos, anelamento a 56 °C por 10 segundos e a extensão a 72 °C por 50 segundos. Sendo precedido por uma extensão final de 72 °C por 5 segundos. Para confirmação do tamanho do fragmento amplificado, foi utilizado o método da eletroforese, sendo utilizado para a corrida das amostras gel de agarose a 3% (KASVI®) adicionado de Sybr Safe (Invitrogen®- Thermo Fisher Scientific), para possibilitar a visualização do fragmento de DNA em luz ultravioleta. Assim, 10µl do produto da PCR foram aplicados no gel e submetidos à eletroforese em tampão de corrida TBE (tris base 89mM, ácido bórico 89mM e EDTA- 2mM com pH 8.0). Para avaliação de tamanho de fragmento foi utilizado um marcador de 100pb DNA (Ladder PROMEGA®), por fim, os fragmentos foram visualizados em luz ultravioleta, método descrito por SACCHETTI *et al.* (2001). Os *primers* que foram utilizados estão representados na Tabela 2 e o resultado final da PCR estão ilustradas nas Figuras 7 e 8.

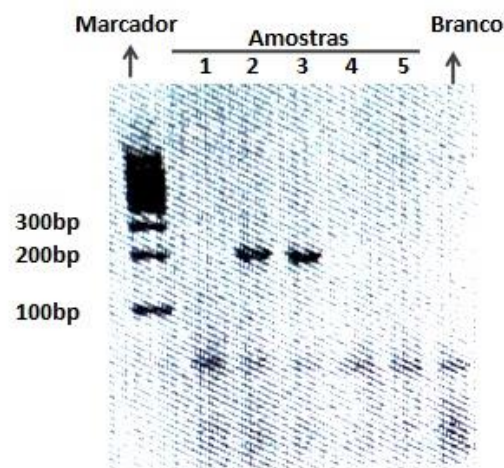
**Tabela 2:** Características dos *primers* utilizados para Reação em cadeia de polimerase (PCR) e seus respectivos tamanhos de fragmentos amplificados.

	<i>Nomes dos primers</i>	<i>Sequência</i>	<i>Comprimento dos produtos da PCR (bp)</i>
	<b><i>Primers para os alelos analisados no estudo</i></b>		
	hDQA1*0501f	5'-AGCAGTTCTACGTGGACCTGGGG-3'	144
	hDQA1*0501r	5'-GGTAGAGTTGGAGCGTTTAATCAGA-3'	
<b>HLA</b>	hDQB1*0201f	5'-CGCGTGCGTCTTGTGAGCAGAAG-3'	110
	hDQB1*0201r	5'-GGCGGCAGGCAGCCCCAGCA-3'	
	hDRB1*04f	5'-GGTAAACATGAGTGTCAATTTCTTAAAC-3'	217
	hDRB1*04r	5'-GTTGTGTCTGCAGTAGGTGTC-3'	
	<b><i>Primers controle</i></b>		
<b>ECA</b>	hECAf	5'-GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3'	190
	hECAr	5'-GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3'	490

pb: pares de base; **Primers HLA:** hDQA1\*0501f, hDQA1\*0501r e hDQB1\*0201f, hDQB1\*0201r para DQ2; hDRB1\*04f, hDRB1\*04r para DQ8 (adaptado de Sacchetti, 1997); **Primers controle ECA:** *primers* para o gene controle ECA- hECAf e hECAr (adaptado de Aranalde et al., 2016).



**Figura 7: Análise da genotipagem dos alelos de risco para DQ2.** Imagem de gel de agarose (3%) após eletroforese mostrando resultado da genotipagem por meio de Reações em cadeia de polimerase para os alelos DQA1\*05 (codifica subunidade alfa da proteína DQ2) com tamanho de fragmento de 144pb) e o alelo DQB1\*02 (codifica subunidade beta da proteína DQ2) com tamanho de fragmento de 110pb. Marcador: de 100pb, indica o tamanho de fragmento do DNA amplificado possibilitando sua localização no gel. Branco: Reação sem amostra para controle de contaminações.



**Figura 8: Análise da genotipagem dos alelos de risco para DQ8.** Resultado final do produto da reação em cadeia de polimerase corrido em gel de agarose (3%) para o alelo DRB1\*04 (que codifica a subunidade beta e alfa da proteína DQ8) com tamanho de fragmento de DNA amplificado de 217pb. Marcador: de 100pb, indica o tamanho de fragmento do DNA amplificado possibilitando sua localização no gel. Branco: Reação sem amostra para controle de contaminações.

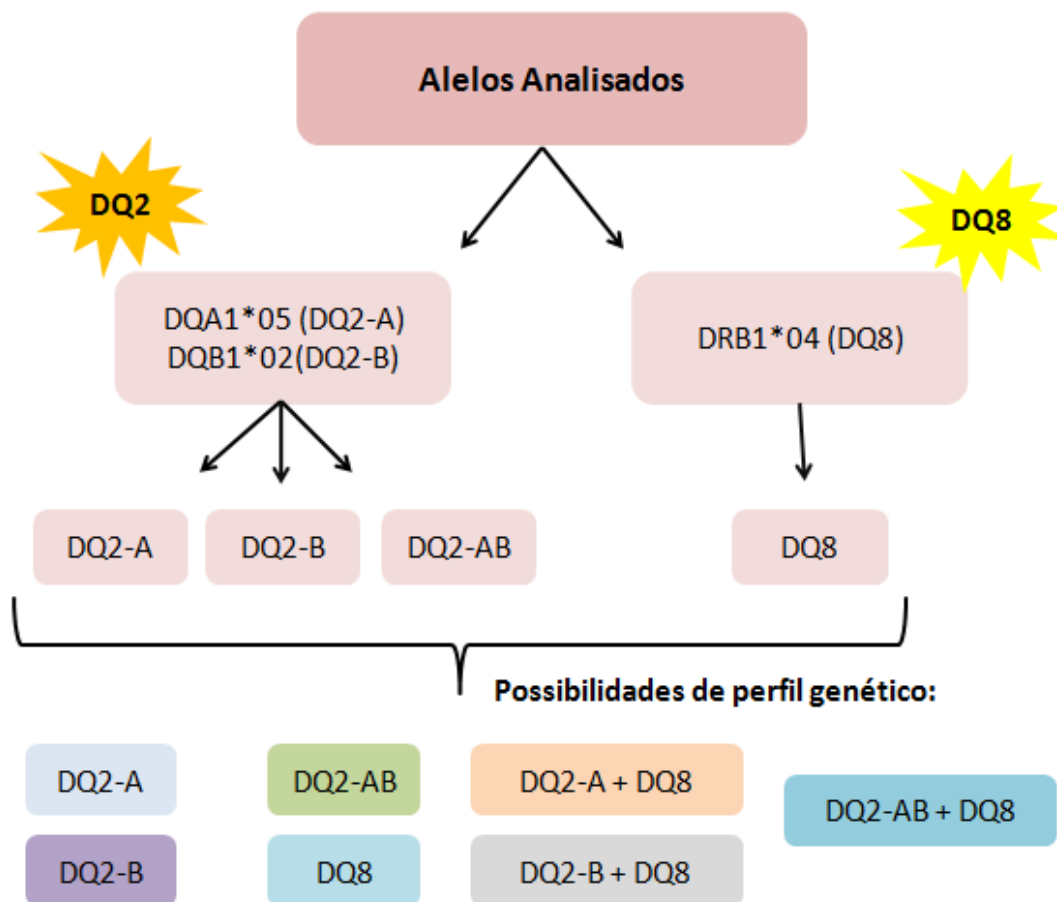


#### **5.4 Retorno dos resultados**

Os resultados obtidos dos testes realizados foram retornados aos participantes ou seus respectivos responsáveis por meio dos contatos telefônicos ou e-mail, passados no momento da coleta dos dados. Esses resultados foram enviados de forma confidencial e irão auxiliar os celíacos na descoberta dos fatores genéticos relacionados a sua patologia. O modelo de resultado enviado pode ser visto no Apêndice D.

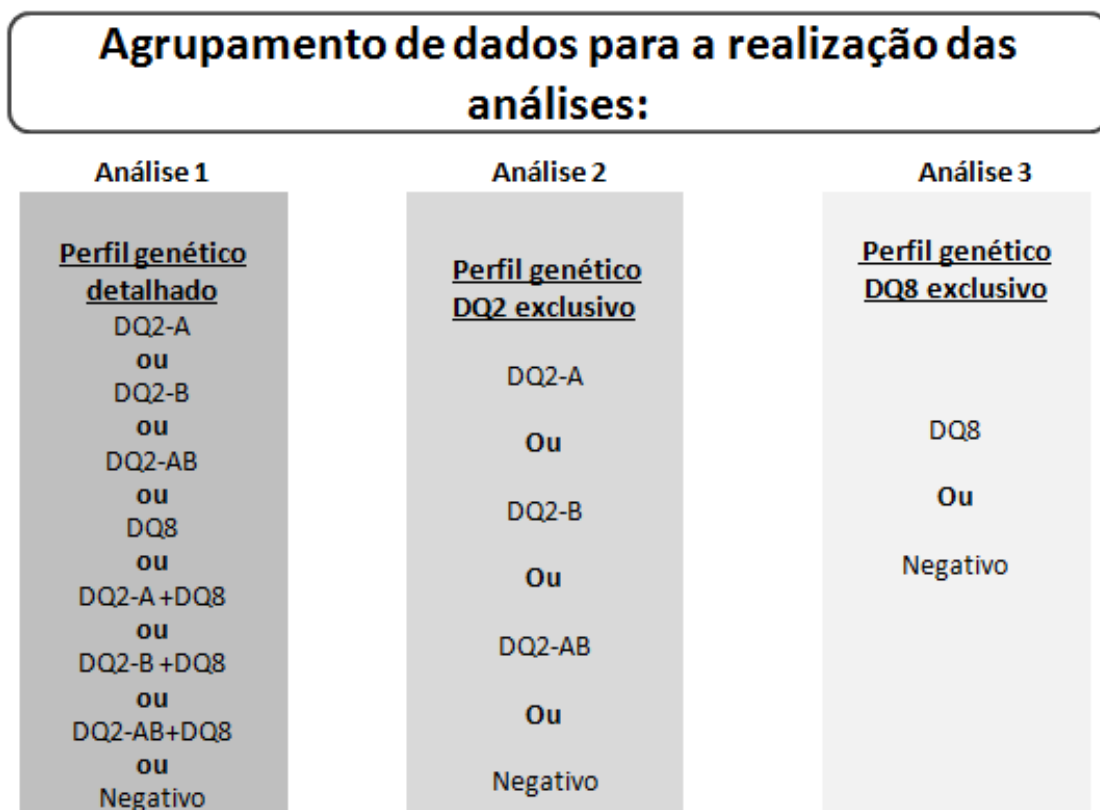
#### **5.5 Possibilidades de perfil genético e agrupamento de dados para análise**

No presente estudo foram avaliados três alelos relacionados à DC. Dois referentes à proteína DQ2, o alelo DQA1\*05 (subunidade alfa) e o alelo DQB1\*02 (subunidade beta). Já para a proteína DQ8 foi analisado um único alelo, o DRB1\*04. Desta forma podemos encontrar seguintes possibilidades de perfil genético referente aos alelos analisados: pacientes positivos apenas para subunidade alfa da proteína DQ2 (perfil DQ2-A) ou apenas para subunidade beta do HLA-DQ2 (perfil DQ2-B), ou ainda positiva para as duas subunidades (perfil DQ2-AB). Além disso, podemos encontrar pacientes positivos somente para o alelo do DQ8 (perfil DQ8), bem como pacientes que apresentavam o alelo para a proteína DQ8 e mais os alelos referentes à proteína DQ2 (perfil DQ2-A + DQ8; DQ2-B + DQ8; DQ2-AB + DQ8). Para melhor compreensão das possibilidades de perfil genético ver figura 9.



**Figura 9: Alelos analisados no estudo e possibilidades de perfil genético em celíacos.** Foram analisados no estudo três alelos que fazem parte dos quatro haplótipos relacionados à doença celíaca (DC). O alelo DQA1\*05 denominado de DQ2-A que codifica a unidade alfa da proteína heterodímera DQ2, DQB1\*02 denominado DQ2-B, que codifica a subunidade beta da proteína DQ2 e o alelo DRB1\*04 que participa da codificação da proteína DQ8. Desta forma o paciente pode ser positivo para qualquer um dos alelos, bem como para todos. Sendo assim o paciente pode ser: positivo DQ2-A ou ser positivo para DQ2-B ou ainda ter os dois alelos, DQ2-AB. Bem com pode ser positivo somente para o DQ8, ou ainda ser positivo para DQ8 e possuir alelos para DQ2 (DQ-A +DQ8, DQ2-B+DQ8, DQ2-AB +DQ8). (Fonte: próprio autor)

Para melhor compreensão da relação do fator genético com os demais pontos analisados no estudo, tais como, sintomas, grau de lesão intestinal, teste sorológicos e outras patologias foi realizado três agrupamentos de dados. O primeiro grupo denominado Perfil genético detalhado leva em consideração todas as possibilidades de perfil genético expressos pelos celíacos considerando os três alelos analisados. O segundo agrupamento considerou apenas os alelos referentes ao DQ2 (DQA1\*05 e DQB1\*02) e o terceiro considerou somente o alelo referente ao DQ8 (DRB1\*04; ver figura 10).



**Figura 10: Determinação dos perfis genéticos de acordo com a genotipagem dos alelos de risco para HLA-DQ.** Os resultados das genotipagens foram agrupados para análise estatística em: Perfil genético detalhado, que levou em consideração os três alelos analisados no estudo referentes às proteínas DQ2 e DQ8, outra análise somente dos alelos relacionados à proteína DQ2 (Perfil genético DQ2 exclusivo) e por último somente do alelo relacionado à proteína DQ8 (Perfil genético DQ8 exclusivo).

### 5.6 Análise estatística

Os dados foram inicialmente preparados em planilha de Microsoft Office Excel®, sendo utilizado posteriormente para análise o software STATA® versão 12.0. Foram realizadas médias e desvios padrões para descrever variáveis contínuas e para avaliar associação entre perfil genético e demais variáveis foi utilizado o teste do qui-quadrado de Pearson. Já para analisar cada genótipo contra o restante da amostra foi utilizado teste exato de Fisher. O nível de significância considerado no estudo foi de  $p < 0.05$ .

## 6. RESULTADO

### 6.1 Descrição da amostra e prevalência dos alelos de risco HLA-DQ em celíacos da região sul do Brasil

O presente estudo contou com uma amostra de 140 celíacos que residiam nos estados de Santa Catarina (n=72) e Rio Grande do Sul (n=68). A média de idade foi de 35 anos ( $\pm 16$ ) e 87% da população estudada era do sexo feminino.

Em relação à prevalência dos alelos nos celíacos foram feitas três análises: Perfil genético detalhado, Perfil genético DQ2 exclusivo e Perfil genético DQ8 exclusivo. Na avaliação do Perfil genético detalhado pode-se observar que 98% dos celíacos aprestaram pelo menos um alelo de risco do HLA classe II relacionado à DC. Sendo que os celíacos que possuíam as duas subunidades Alfa e Beta (perfil DQ2-AB) para DQ2 corresponderam a 66% da amostra. Já considerando o Perfil genético DQ2 exclusivo, que levou em consideração apenas os alelos DQA1\*05 (subunidade alfa) e DQB1\*02 (subunidade Beta), 90% da amostra possuíam pelo menos um destes alelos, sendo que 75% foram positivas para as duas subunidades (perfil DQ2-AB). Em relação ao Perfil genético DQ8 exclusivo, considerando apenas o alelo DRB1\*04 (marcador do haplótipo DR4-DQ8), 21% da amostra foi positiva.

Comparando a distribuição dos perfis genéticos analisados e os estados de origem dos celíacos, não foi encontrada nenhuma diferença significativa. Os resultados referentes aos Perfis genéticos e a distribuição dos mesmos entre os estados podem ser vistos na Tabela 3.

**Tabela 3:** Prevalência de alelos HLA-DQ em celíacos do estado de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (n=140)

Alelos - Perfis Genéticos	Perfil Genético	Prevalência % (n)	Estado de Origem		Valor p*
Perfil genético detalhado			RS	SC	
Negativo	<b>Negativos</b>	2.1 (3)	0.0 (0)	2.1 (3)	0.108
DQA1* 05	<b>DQ2- A</b>	3.6 (5)	3.6 (5)	0.0 (0)	
DQB1*02	<b>DQ2- B</b>	7.9 (11)	5.0 (7)	2.9 (4)	
DQA1* 05 e DQB1*02	<b>DQ2- AB</b>	65.7 (92)	32.1 (45)	33.6 (47)	
DRB1*04	<b>DQ8</b>	7.9 (11)	3.6 (5)	4.3 (6)	
DQA1* 05 e DRB1*04	<b>DQ2- A + DQ8</b>	0.7 (1)	0.0 (0)	0.7 (1)	
DQB1*02 e DRB1*04	<b>DQ2-B + DQ8</b>	2.9 (4)	1.4 (2)	1.4 (2)	
DQA1* 05, DQB1*02 e DRB1*04	<b>DQ2-AB + DQ8</b>	9.3 (13)	2.9 (4)	6.4 (9)	
<b>Perfil genético DQ2 exclusivo</b>					
Negativos	<b>Negativos</b>	10.0 (14)	35.7 (5)	64.3 (9)	0.190
DQA1* 05	<b>DQ2 A</b>	4.3 (6)	83.3 (5)	16.7 (1)	
DQB1*02	<b>DQ2-B</b>	10.7 (15)	60.0 (9)	40.0 (6)	
DQA1* 05 e DQB1*02	<b>DQ2-AB</b>	75.0 (105)	46.7 (49)	53.3 (56)	
Total Positivos		90.0 (126)			
<b>Perfil genético DQ8 exclusivo</b>					
Negativo	<b>Negativo</b>	79.3 (111)	51.4 (57)	48.7 (54)	0.198
DRB1*04	<b>DQ8</b>	20.7 (29)	37.9 (11)	62.1 (18)	
Total Positivos		20.7 (29)			
Total por estado			48.6 (68)	51.4 (72)	

Alelos-Perfis genéticos vs Perfil Genético: DQA1\*05= **DQ2-A**; DQB1\*02= **DQ2-B**; DQA1\*05 e DQB1\*02= **DQ2-AB**; DRB1\*04= **DQ8**; DQA1\*05 e DRB1\*04= **DQ2-A + DQ8**; DQB1\*02 e DRB1\*04= **DQ2-B + DQ8**; DQA1\*05, DQB1\*02 e DRB1\*04= **DQ2-AB + DQ8**. \*Valor p referente à associação entre Perfil Genético e estado de origem.

## **6.2 Relação dos Perfis genéticos HLA-DQ com a presença de sintomas e outras patologias em celíacos**

Para avaliar a relação do perfil genético com a presença de sintomatologia, foi investigado junto aos celíacos quais sintomas foram comuns na época do diagnóstico da doença ou quando tinham contato com glúten. Dentre os sinais/sintomas extraintestinais, observou-se que, a anemia esteve presente em 46% da amostra, seguida de aftas (39%) e dificuldade de ganhar peso (38%). Já em relação à sintomatologia intestinais, 77% dos participantes relataram distensão abdominal, 73% dor abdominal e 60% diarreia, por outro lado, 48% da amostra relataram constipação.

Em relação à associação entre perfis genéticos e a sintomatologia, observou-se que, considerando o Perfil genético detalhado, houve uma tendência à associação em relação ao sintoma emagrecimento com o perfil DQ2-A ( $p= 0.070$ ). Já levando em consideração o Perfil genético DQ2 exclusivo, essa associação foi significativa ( $p= 0.002$ ), sendo que 100% dos celíacos que foram positivos apenas para o alelo relacionado ao perfil DQ2-A relataram emagrecimento. Os demais sintomas não apresentaram associação significativa com os perfis genéticos (Tabela 4).

Além da investigação dos sintomas, também foi abordado com os participantes a presença de outras comorbidades. Dentre as patologias mais citadas pelos celíacos, a intolerância à lactose estava presente em 49% dos indivíduos estudados, seguida de hipotireoidismo (24%) e osteopenia (19%) (Tabela 5). Já as síndromes como Down, Turner e Williams, apesar da literatura mostrar relação com a DC, no presente estudo, não foi encontrado nenhum celíaco com a presença dessas síndromes. Em relação aos perfis genéticos e a presença de outras patologias na análise considerando o Perfil genético DQ2 exclusivo foi encontrada tendência a associação entre alergia à proteína do leite de vaca com o perfil DQ2-A ( $p=0.078$ ). Já para as demais análises e patologias não foram encontradas associações significativas (Tabela 5).

**Tabela 4:** Distribuição dos sintomas relacionados à Doença Celíaca e associação com os perfis genéticos HLA-DQ em celíacos da região Sul do Brasil (N=140)

Perfis Genéticos	Prevalência do Perfil genético % (n)	Anemia% (n)	Aftas% (n)	Dificuldade de ganhar Peso% (n)	Emagrecimento % (n)	Leões de pele % (n)	Dificuldade de ganhar altura% (n)	Distensão abdominal % (n)	Dor abdominal % (n)	Diarréia % (n)	Constipação % (n)
<b>Perfil genético detalhado</b>											
Negativo	2.1 (3)	33.3 (1)	33.3 (1)	33.3 (1)	0.0 (0)	33.3 (1)	33.3 (1)	66.7 (2)	100.0 (3)	66.7 (2)	66.7 (2)
DQ2- A	3.6 (5)	20.0 (1)	100.0 (5)	60.0 (3)	100.0 (5) <sup>a</sup>	40.0 (2)	20.0 (1)	100.0 (5)	100.0 (5)	80.0 (4)	60.0 (3)
DQ2- B	7.9 (11)	63.4 (7)	27.3 (3)	18.2 (2)	36.4 (4)	45.5 (5)	18.2 (2)	90.9 (10)	63.3 (7)	54.6 (6)	45.5 (5)
DQ2- AB	65.7 (92)	43.5 (40)	37.0 (34)	39.1 (36)	34.1 (31)	29.4 (27)	16.3 (15)	75.0 (69)	70.7 (65)	62.0 (57)	45.6 (42)
DQ8	7.9 (11)	27.3 (3)	36.4 (4)	36.4 (4)	45.6 (5)	63.6 (7)	18.2 (2)	72.7 (8)	81.8 (9)	63.6 (7)	45.6 (5)
DQ2- A + DQ8	0.7 (1)	100.0 (1)	0.0 (0)	100.0 (1)	100.0 (1)	100.0 (1)	0.0 (0)	0.0 (0)	100.0 (1)	100.0 (1)	0.0 (0)
DQ2-B + DQ8	2.9 (4)	75.0 (3)	50.0 (2)	50.0 (2)	50.0 (2)	50.0 (2)	75.0 (3)	100.0 (4)	75.0 (3)	25.0 (1)	75.0 (3)
DQ2-AB + DQ8	9.3 (13)	69.2 (9)	46.2 (6)	30.8 (4)	37.7 (4)	30.8 (4)	15.4 (2)	76.9 (10)	69.2 (9)	46.2 (6)	53.9 (7)
Valor p*		0.186	0.201	0.645	<b>0.070</b>	0.315	0.219	0.353	0.709	0.662	0.862
<b>Perfil genético DQ2 exclusivo</b>											
Negativos	10.0 (14)	28.6 (4)	35.7 (5)	35.7 (5)	35.7 (5)	57.1 (8)	21.4 (3)	71.4 (10)	85.7 (12)	64.3 (9)	50.0 (7)
DQ2 A	4.3 (6)	33.3 (2)	83.3 (5)	66.7 (4)	100.0 (6) <sup>b</sup>	50.0 (3)	16.7 (1)	83.3 (5)	100.0 (6)	83.3 (5)	50.0 (3)
DQ2-B	10.7 (15)	66.7 (10)	33.3 (5)	26.7 (4)	40.0 (6)	46.7 (7)	33.3 (5)	93.3 (14)	66.8 (10)	46.7 (7)	53.3 (8)
DQ2-AB	75.0 (105)	46.7 (49)	38.1 (40)	38.1(40)	33.7 (35)	29.5 (31)	16.2 (17)	75.2 (79)	70.5 (74)	60.0 (63)	46.7 (49)
Valor p*		0.197	0.155	0.400	<b>0.013</b>	0.117	0.450	0.418	0.262	0.461	0.964
<b>Perfil genético DQ8 exclusivo</b>											
Negativo	79.3 (111)	46.4 (49)	38.7 (43)	37.8 (42)	36.4 (40)	31.5 (35)	17.2 (19)	77.5 (86)	72.1 (80)	62.2 (69)	46.9 (52)
DQ8	20.7 (29)	55.2 (16)	41.4 (12)	37.9 (11)	41.4 (12)	48.3 (14)	24.1 (7)	75.9(22)	75.9 (22)	51.7 (15)	51.7 (15)
Valor p*		0.289	0.795	0.993	0.620	0.092	0.387	0.854	0.683	0.307	0.640
<b>Prevalência Total</b>	<b>100.0 (140)</b>	<b>46.4 (65)</b>	<b>39.3 (55)</b>	<b>37.9 (53)</b>	<b>37.4 (52)</b>	<b>35.0 (49)</b>	<b>18.6 (26)</b>	<b>77.1 (108)</b>	<b>72.9 (102)</b>	<b>60.0 (84)</b>	<b>47.9 (67)</b>

Perfis Genéticos: DQA1\*05= **DQ2-A**; DQB1\*02= **DQ2-B**; DQA1\*05e DQB1\*02= **DQ2-AB**; DRB1\*04= **DQ8**; DQA1\*05 e DRB1\*04= **DQ2-A + DQ8**; DQB1\*02 e DRB1\*04= **DQ2-B + DQ8**; DQA1\*05, DQB1\*02 e DRB1\*04= **DQ2-AB + DQ8**. \*Valor p referente à associação entre Perfil Genético e sintoma utilizando o teste do qui-quadrado de Pearson; a: associação significativa entre perfil genético DQ2-A e sintoma emagrecimento levando em consideração Teste exato de Fisher p=0.006 e segundo o teste do qui-quadrado adicional p= 0.003; b: associação significativa entre perfil genético DQ2-A e sintoma emagrecimento levando em consideração Teste exato de Fisher p=0.002 e segundo o teste do qui-quadrado adicional p= 0.001.

**Tabela 5:** Frequência das patologias relacionadas à Doença Celíaca e associação com os perfis genéticos em celíacos (n=140)

Perfis Genéticos	Prevalência do Perfil Genético % (n)	Intolerância à lactose % (n)	Hipotireoidismo % (n)	Osteopenia % (n)	Dermatite Herpetiforme % (n)	Alergia a proteína do leite de vaca %	Abortos de Repetição % (n)	Infertilidade % (n)	Doença auto-imune da tireóide % (n)	Osteoporose % (n)	Diabetes Mellitus Tipo 1 % (n)
<b>Perfil genético detalhado</b>											
Negativo	2.1 (3)	100.0(3)	33.3 (1)	0.0 (0)	33.3(1)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)
DQ2- A	3.6 (5)	60.0 (3)	40.0 (2)	40.0 (2)	0.0 (0)	40.0 (2)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)
DQ2- B	7.9 (11)	81.8 (9)	27.3 (3)	18.2 (2)	18.2 (2)	18.2 (2)	18.2 (2)	0.0 (0)	9.1 (1)	0.0 (0)	0.0 (0)
DQ2- AB	65.7 (92)	46.7 (43)	25.0 (23)	18.5 (17)	12.0 (11)	5.4 (5)	4.4 (4)	4.4 (4)	5.4 (5)	4.4 (4)	2.2 (2)
DQ8	7.9 (11)	36.4 (4)	9.1 (1)	18.2 (2)	18.2 (2)	18.2 (2)	9.1 (1)	9.1 (1)	0.0 (0)	9.1 (1)	9.1 (1)
DQ2- A + DQ8	0.7 (1)	100.0 (1)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)
DQ2-B + DQ8	2.9 (4)	50.0 (2)	25.0 (1)	25.0 (1)	25.0 (1)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.7 (1)	0.0 (0)
DQ2-AB + DQ8	9.3 (13)	30.8 (4)	15.4 (2)	15.4 (2)	0.0 (0)	7.7 (1)	7.7 (1)	15.4 (2)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)
Valor <i>p</i> *		0.109	0.869	0.917	0.628	0.147	0.708	0.698	0.922	0.507	0.852
<b>Perfil genético DQ2 exclusivo</b>											
Negativos	10.0 (14)	50.0 (7)	14.3 (2)	14.3 (2)	21.4 (3)	14.3 (2)	7.1 (1)	7.1 (1)	0.0 (0)	7.1(1)	7.1 (1)
DQ2 A	4.3 (6)	66.7 (4)	33.3(2)	33.3 (2)	0.00(0)	33.3 (2)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)
DQ2-B	10.7 (15)	73.3(11)	26.7 (4)	20.0 (3)	20.0 (3)	13.3 (2)	13.3 (2)	0.0 (0)	6.7 (1)	6.7 (1)	0.0 (0)
DQ2-AB	75.0 (105)	44.8 (47)	23.8 (25)	18.1 (19)	10.5 (11)	5.7 (6)	4.8 (5)	5.7 (6)	4.8 (5)	3.8 (4)	1.9 (2)
Valor <i>p</i> *		0.168	0.784	0.784	0.376	<b>0.078</b>	0.53	0.716	0.762	0.846	0.540
<b>Perfil genético DQ8 exclusivo</b>											
Negativo	79.3 (111)	52.3 (58)	26.1 (29)	19.2 (21)	12.6 (14)	8.1 (9)	5.4 (6)	3.6 (4)	5.4 (6)	3.6 (4)	1.8 (2)
DQ8	20.7 (29)	37.9 (11)	13.8 (4)	17.2 (5)	10.3 (3)	10.3 (3)	6.9 (2)	10.3 (3)	0.0 (0)	6.9 (2)	3.6 (1)
Valor <i>p</i> *		0.170	0.164	0.836	0.739	0.702	0.758	0.138	0.201	0.436	0.586
<b>PrevalênciaTotal</b>		<b>49.3 (69)</b>	<b>23.6 (33)</b>	<b>18.6 (26)</b>	<b>12.1 (17)</b>	<b>8.6 (12)</b>	<b>5.7 (8)</b>	<b>5.0 (7)</b>	<b>4.3 (6)</b>	<b>4.3 (6)</b>	<b>2.1 (3)</b>

Perfis Genéticos: DQA1\*05= **DQ2-A**; DQB1\*02= **DQ2-B**; DQA1\*05 e DQB1\*02= **DQ2-AB**; DRB1\*04= **DQ8**; DQA1\*05 e DRB1\*04= **DQ2-A + DQ8**; DQB1\*02 e DRB1\*04=**DQ2-B + DQ8**; DQA1\*05, DQB1\*02 e DRB1\*04= **DQ2-AB + DQ8**. \*Valor *p* referente à associação entre Perfil Genético e patologia utilizando o teste de qui-quadrado de Pearson.



### **6.3 Associação entre gravidade da lesão intestinal classificada por Marsh-Oberhuber e perfis genéticos HLA-DQ em celíacos**

Buscando encontrar uma possível associação entre perfil genético e gravidade da doença em celíacos, foi investigado o grau de lesão intestinal estabelecido por Marsh- Oberhuber descrito na biópsia intestinal.

No presente estudo o perfil genético detalhado apresentou associação significativa entre a ausência dos alelos analisados no estudo com grau de lesão intestinal 4 segundo a classificação de Marsh-Oberhuber ( $p=0.003$ ). Bem como o perfil DQ8 também apresentou associação com o maior grau de lesão intestinal ( $p=0.003$ ). Na análise do Perfil genético DQ2 exclusivo houve associação significativa entre a ausência dos alelos para o HLA-DQ2 com o grau de lesão intestinal 4 ( $p<0.001$ ). Já levando em consideração o Perfil genético DQ8 exclusivo, não houve relação significativa entre perfil e lesão intestinal. A distribuição dos celíacos em relação ao perfil genético e lesão intestinal estão descritos na Tabela 6.

**Tabela 6:** Distribuição dos celíacos de acordo com o grau de lesão intestinal classificado por Marsh-Oberhuber em relação aos perfis genéticos HLA-DQ na região sul do Brasil (N=43)

Perfil Genético	Perfil Genético- Prevalência % (n)	Classificação de Marsh- Oberuber (n)				Valor $p^*$	Valor $p \chi^2$
		1	2	3	4		
<b>Perfil genético detalhado</b>							
Negativo	2.3 (1)	0	0	0	1	<b>0.018</b>	<b>0.003</b>
DQ2- A	4.7 (2)	0	0	2	0		0.907
DQ2- B	9.3 (4)	1	0	3	0		0.639
DQ2- AB	62.8 (27)	2	1	23	1		0.598
DQ8	2.3 (1)	0	0	0	1		<b>0.003</b>
DQ2- A + DQ8	0.0 (0)	–	–	–	–		–
DQ2-B + DQ8	4.7 (2)	0	0	2	0		0.907
DQ2-AB + DQ8	13.9 (6)	1	1	4	0		0.363
<b>Perfil genético DQ2 exclusivo</b>							
Negativos	4.7 (2)	0	0	0	2	<b>0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
DQ2 A	4.7 (2)	0	0	2	0		0.907
DQ2-B	13.9 (6)	1	0	5	0		0.745
DQ2-AB	76.7 (33)	3	2	27	1		0.271
<b>Perfil genético DQ8 exclusivo</b>							
Negativo	79.1 (34)	3	1	28	2	0.668	
DQ8	20.9 (9)	1	1	6	1		

Relação alelos e Perfil Genético: DQA1\*05= **DQ2-A**; DQB1\*02= **DQ2-B**; DQA1\*05 + DQB1\*02= **DQ2-AB**; DRB1\*04= **DQ8**; DQA1\*05 + DRB1\*04= **DQ2-A + DQ8**; DQB1\*02 + DRB1\*04= **DQ2-B + DQ8**; DQA1\*05 + DQB1\*02 + DRB1\*04= **DQ2-AB + DQ8**. \*Valor p referente à associação entre a distribuição do Perfil Genético e grau de lesão intestinal utilizando o teste do qui-quadrado de Pearson. Valor p  $\chi^2$  referente à associação de cada perfil genético com o grau de lesão intestinal utilizando o teste de qui-quadrado de Pearson.

#### **6.4 Associação dos perfis genéticos HLA-DQ com testes sorológicos de anticorpos da doença celíaca: anti-gliadina (anti-AGA), anti-endomísio (anti-EMA) e anti- transglutaminase (anti-TG2).**

Com propósito de elucidar o papel do fator genético no desenvolvimento da doença, buscou-se encontrar relação entre Perfis genéticos e a eficácia dos testes atualmente utilizados como forma de diagnóstico. Dentre os celíacos estudados, 75% tiveram sorologia positiva para DC no teste para anti-AGA, seguida de 79% para anti-EMA e 85% para anti-TG2, respectivamente (Tabela 7).

Em relação à análise utilizando o perfil genético detalhado, todos os testes sorológicos apresentaram ter associação com o perfil genético. Para o teste de anti-AGA observou-se que pacientes positivos apenas para uma subunidade do DQ2 (perfis DQ2-A ou DQ-B) apresentaram menor ocorrência de testes positivos para DC (0 a 42% de positividade). Por outro lado, os pacientes positivos para as duas subunidades (perfil DQ2-AB) obtiveram 85% de sorologia positiva para doença ( $p=0.037$ ). Já em relação aos testes de anti-EMA e anti-TG2, a associação entre perfil genético e resultado dos testes sorológicos ocorreram com a mesma tendência. Os pacientes que possuíam apenas uma subunidade do DQ2 (perfis DQ2-A ou DQ2-B) apresentaram menor percentual de positividade para os testes, enquanto os pacientes que apresentaram as duas subunidades (perfil DQ2-AB) apresentaram 91% de positividade para anti-EMA ( $p<0.001$ ) e anti-TG2 ( $p=0.032$ ). Em adição a isso, observou-se que para o teste de anti-EMA obteve-se uma associação inversa do perfil DQ2-A com resultados de teste sorológicos (0% dos pacientes foram positivos para anti-EMA,  $p=0.043$ ). Já para o teste de anti-TG2 a associação inversa aconteceu com o perfil DQ8, onde apenas 25% dos celíacos foram positivos para este teste ( $p=0.009$ ; Tabela 7).

Em relação ao Perfil genético DQ2 exclusivo, a associação entre perfil genético e resultado da sorologia se manteve significativa. Os pacientes positivos apenas para uma subunidade do DQ2 (perfis DQ2-A ou DQ2-B) apresentaram menor percentual de positividade quando comparados com aqueles celíacos que apresentaram as duas subunidades do DQ2 (perfil DQ2-AB). Já em relação ao perfil genético DQ8 exclusivo, somente o teste para anti-

EMA apresentou associação significativa com os pacientes negativos para o alelo de risco relacionado ao DQ8 ( $p=0.016$ ), sendo que 84% dos celíacos negativos para o perfil DQ8 foram positivos para anti-endomísio (Tabela 7).

**Tabela 7:** Relação dos Perfis Genéticos HLA-DQ e testes sorológicos em celíacos: Anti-gliadina, Anti-endomísio e Anti-transglutaminase.

Perfis Genéticos	Teste sorológicos positivos (%) n								
	Anti- gliadina			Anti-endomísio			Anti-transglutaminase		
Perfil genético detalhado	Valor p Fisher	Teste x <sup>2</sup>	Valor p Teste x <sup>2</sup>	Valor p Fisher	Teste x <sup>2</sup>	Valor p Teste x <sup>2</sup>	Valor p Fisher	Teste x <sup>2</sup>	Valor p Teste x <sup>2</sup>
Negativo	100.0 (1)	1.000	0.565	100.0 (1)	1.000	0.599	100.0 (1)	1.000	0.675
DQ2- A	0.0 (0)	0.058	<b>0.012</b>	0.0 (0)	<b>0.043</b>	<b>0.006</b>	33.3 (1)	0.056	<b>0.010</b>
DQ2- B	42.9 (3)	0.056	<b>0.034</b>	50.0 (3)	0.108	0.074	80.0 (4)	0.561	0.736
DQ2- AB	85.0 (34)	<b>0.037</b>	<b>0.023</b>	91.7 (44)	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	91.4 (53)	<b>0.032</b>	<b>0.013</b>
DQ8	80.0 (4)	1.000	0.803	33.3 (1)	0.114	0.051	25.0 (1)	<b>0.009</b>	<b>0.001</b>
DQ2- A + DQ8	0.0 (0)	–	–	0.0 (0)	–	–	0.0 (0)	–	–
DQ2-B + DQ8	66.7 (2)	1.000	0.72	50.0 (1)	0.385	0.318	100.0 (2)	1.000	0.550
DQ2-AB + DQ8	71.4 (5)	1.000	0.797	62.5 (5)	0.355	0.239	87.5 (7)	1.000	0.846
Valor p*	<b>0.048</b>			<b>0.002</b>			<b>0.002</b>		
<b>Perfil genético DQ2 exclusivo</b>									
Negativos	83.3 (5)	1.000	0.635	50.0 (2)	0.199	0.152	40.0 (2)	<b>0.022</b>	<b>0.003</b>
DQ2 A	0.00 (0)	0.058	<b>0.012</b>	0.0 (0)	<b>0.043</b>	<b>0.006</b>	33.3 (1)	0.056	<b>0.010</b>
DQ2-B	50.0 (5)	0.103	<b>0.043</b>	50.0 (4)	0.058	<b>0.036</b>	85.7 (6)	1.000	0.967
DQ2-AB	83.0 (39)	<b>0.050</b>	<b>0.022</b>	87.5 (49)	<b>0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	90.9 (60)	<b>0.007</b>	<b>0.002</b>
Valor p*	<b>0.01</b>			<b>0.001</b>			<b>0.001</b>		
<b>Perfil genético DQ8 exclusivo</b>									
Negativo	76.0 (38)			84.2 (48)	<b>0.026</b>	<b>0.016</b>	88.1 (59)		
DQ8	73.3 (11)			53.9 (7)	<b>0.026</b>	<b>0.016</b>	71.4 (10)		
Valor p*	0.833			<b>0.016</b>			0.111		
<b>Total</b>	<b>75.4 (49)</b>			<b>78.6 (55)</b>			<b>85.2 (69)</b>		

Perfis Genéticos: DQ2-A= DQA1\*05; DQ2-B= DQB1\*02; DQ2-AB=DQA1\*05 e DQB1\*02; DQ8= DRB1\*04; DQ2-A + DQ8= DQA1\*05 e DRB1\*04; DQ2-B + DQ8= DQB1\*02 e DRB1\*04; DQ2-AB + DQ8= DQA1\*05, DQB1\*02 e DRB1\*04; Anti-gliadina(n=65), Anti-endomísio(n=70) e Anti-Transglutaminase (n=81); Valor p\* referente à associação entre Perfil Genético e exame sorológico utilizando o teste de qui-quadrado de Pearson. Valor p x<sup>2</sup> referente à associação de cada perfil genético com os resultados dos testes sorológicos utilizando o teste de qui-quadrado de Pearson. Valor p Teste Fisher referente à associação de cada perfil genético com os resultados dos testes sorológicos utilizando o teste exato de Fisher.

## 7. DISCUSSÃO

A DC é caracterizada por se tratar de uma doença inflamatória do intestino delgado de origem auto-imune desencadeada por fatores ambientais, dentre eles a ingestão do glúten. Sabe-se que seus reflexos se estendem a nível sistêmico e, portanto os sintomas são variados, sendo que apesar disso alguns pacientes podem ter ausência de sintomas (HUSBY, S; KOLETZKO, S.; KORPONAY-SZABO, I. R. et al. 2012). A dificuldade de estabelecer um diagnóstico é um dos fatores estimuladores para encontrar novos métodos para rastreio da doença. Frente a isso, surgem os testes genéticos como método não invasivo de direcionamento na investigação da doença. No presente trabalho os alelos de risco do sistema HLA-DQ foram genotipados em pacientes com DC confirmada residentes nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Além da descrição da distribuição destes alelos nesta população, também foram identificadas associações dos perfis genéticos com sintomatologia, gravidade da lesão intestinal e resultados sorológicos.

De acordo com os achados no presente estudo a prevalência de pelo menos um dos alelos HLA-DQ chegou a 98% dos celíacos, conseqüentemente apenas 2% dos indivíduos estudados teriam causas genéticas não relacionadas às variantes analisadas. Em relação à presença de cada um dos alelos, observou-se que para os alelos de risco referentes ao DQ2 (DQA1\*05 e DQB1\*02) foi obtida uma prevalência de 75%, enquanto do alelo para DQ8 a prevalência foi de 21%. Estes valores são semelhantes ao estudo realizado na população pediátrica no Hospital Universitário Infantil em Belgrado, na Sérvia, onde foi observada a prevalência de 97.3% de pelo menos um dos alelos nos celíacos (STANKOVIĆ, B *et al.*, 2014). Porém, neste mesmo estudo, a prevalência dos alelos para DQ2 foi de 94,5%, enquanto que do DQ8 foi de apenas 2,7% (STANKOVIĆ, B *et al.*, 2014). Comparando os estudos pode-se observar que, apesar de haver uma alternância em relação à prevalência dos alelos para DQ2 ou para DQ8 nas duas populações, a prevalência total dos alelos se manteve. Comparando com um estudo brasileiro, realizado no Recife/PE, com 73 celíacos, observou-se uma prevalência dos alelos de risco do HLA-DQ2 e DQ8 em 94% dos pacientes, já para os alelos referentes ao

DQ2 a prevalência foi de 75.3% e do DQ8 foi 24.6% (Castro-Antunes M. M. *et al.*, 2011). Levando em consideração este estudo, a distribuição dos alelos para DQ2 e DQ8 foi semelhante à encontrada no presente estudo, porém na região sul apesar da distribuição dos alelos serem semelhantes foi encontrada maior prevalência dos alelos nos celíacos. Desta forma podemos concluir que a avaliação da prevalência dos alelos de risco para DC realizada no presente estudo foi efetiva para caracterizar os fatores genéticos relacionados ao desenvolvimento da DC. Além disso, no presente estudo foi encontrada distribuição semelhante dos alelos nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, evidenciando a efetividade da utilização destes alelos como um das etapas de diagnóstico da DC na população estudada.

Em relação à prevalência dos sintomas que estão associados à DC, foi possível observar uma grande variedade de queixas dos celíacos quando em contato com o glúten na dieta. As principais estão relacionadas aos sintomas clássicos da doença celíaca, ou seja, sintomatologia a nível intestinal, tais como distensão e dor abdominal, diarreia e constipação. Diante dos sintomas relatados neste estudo, podemos observar que a DC apesar de se tratar de uma doença inflamatória e que, portanto leva redução na capacidade de absorção intestinal, nem sempre resulta em diarreia. Como observado, o sintoma diarreia esteve presente em 60% dos celíacos, bem como a constipação esteve em 48% deles. Além disso, a anemia que se espera dessa população nem sempre está presente, pois neste estudo, 47% dos celíacos apresentaram anemia. No estudo realizado por Basturk, *et al.* (2017), em crianças e adolescentes com DC na Turquia, foi relatado que as principais queixas foram diarreia (83%), dor abdominal (41%), retardo crescimento (38%) e distensão abdominal (41%). Neste mesmo estudo não foi significativa a associação entre os alelos e os sintomas analisados, porém observaram que nos pacientes negativos para os alelos de risco do HLA os sintomas foram menos frequentes. No presente estudo foi encontrada associação do perfil genético DQ2-A com o sintoma emagrecimento, onde 100% dos pacientes portadores deste alelo apresentaram esse sintoma. Em outro estudo realizado por Saeed, *et al.*(2017) com 59 celíacos de até 18 anos de idade, na Arábia Saudita, foi relatado que a maior prevalência dos sintomas se deu na forma

não clássica da DC, estando a maior parte dos sintomas relacionada a redução do crescimento (87%), dor abdominal (58%) e apenas 18% relataram diarreia, diferente do que foi observado nos celíacos da região sul do Brasil. Isso demonstra a grande variabilidade dos sintomas em celíacos e a grande importância de estudos nesta população em nossa região.

A DC se relaciona a algumas outras patologias específicas. No presente estudo as patologias mais frequentes entre os celíacos foram intolerância a lactose, hipotireoidismo e osteopenia. A intolerância à lactose pode ocorrer de forma secundária à DC, ocasionada pela lesão da mucosa intestinal, todavia tais pacientes apresentavam a intolerância independente de estar com uma dieta isenta de glúten, mostrando que possivelmente exista uma associação entre essas patologias que não se limita somente ao trato gastrointestinal, porém até o momento não existe relato da associação dos alelos com a intolerância primária à lactose na literatura. No entanto não foi objetivo do presente trabalho analisar a origem da intolerância à lactose. Em relação ao hipotireoidismo, acredita-se que esteja relacionado a desordens imunomediadas, um dos possíveis mecanismos de associação entre essas duas patologias seria a ativação dos linfócitos T citotóxicos e a reação da transglutaminase humana na tireóide, sendo que ambos os fatores estão relacionados à DC (LAURET; RODRIGO, 2013). Dentre os celíacos estudados, 23% apresentaram hipotireoidismo e de acordo com a publicação Libro Blanco de la Enfermedad Celíaca (Ministério da Saúde da Comunidade de Madri) aproximadamente 5 a 20% dos celíacos possuem disfunção tireoidiana e desta forma os celíacos da região sul do Brasil estão acima do esperado. A terceira enfermidade mais prevalente entre os celíacos estudados foi a osteopenia (18.6%). As causas desse sintoma podem derivar da redução da absorção de cálcio em associação a deficiência de vitamina D, outras associações também são feitas com o estado inflamatório do paciente e a consequente liberação de citocinas pró-inflamatórias que poderiam influenciar nos processos de reabsorção óssea (LIONETTI; CATASSI, et al., 2011). A Associação Americana de Gastroenterologia estima que um percentual de 1- 3,4% dos pacientes celíacos apresentam osteopenia e desta forma os celíacos da região sul do Brasil possuem maior prevalência dessa comorbidade.



Em relação a gravidade da lesão intestinal, podemos observar que, 53% dos celíacos estudados foram positivos para o perfil DQ2-AB e apresentaram lesão intestinal Marsh 3, porém essa associação não chegou a ser significativa o que possivelmente pode ter sido influenciado pelo menor número de celíacos que possuíam relatos de lesão intestinal (n=43). Por outro lado, os pacientes negativos para os alelos relacionados ao HLA-DQ2 (negativos para todos os alelos) e positivo somente para o perfil DQ8, apresentaram associação com o grau de lesão intestinal Marsh 4. Este grau de lesão configura o último estágio da classificação da doença e é caracterizado por atrofia total das vilosidades intestinais acompanhado de um processo de desnutrição grave (HUSBY et al., 2012).

No estudo realizado por Murray *et al.* (2007) com 84 celíacos em Minnesota (EUA), encontrou uma prevalência de 79% de pelo menos um dos alelos relacionados ao HLA-DQ e não foi encontrada associação entre o perfil genético e grau de lesão intestinal. Já no estudo realizado por Rostami- Nejad *et al.* (2014), com 59 pacientes, a prevalência dos alelos foi de 97% nos celíacos, e também não obteve associação significativa entre os alelos e lesão intestinal, porém constatou que houve uma menor prevalência dos alelos nos graus de lesão intestinal mais leves (Marsh 1 e 2), mostrando que poderia haver associação do genótipo com a severidade da doença. Diferente do que foi encontrado no presente estudo a pesquisa realizada por Mashayekhi *et al.* (2015), analisando os alelos de risco do HLA-DQ em 90 celíacos, foi observada tendência à associação destes alelos com a severidade da doença, constatando que os pacientes negativos para o HLA-DQ (12.5% dos celíacos) tiveram grau de lesão intestinal Marsh 1 e 2, enquanto apenas 1.4% dos celíacos com grau de lesão Marsh 3 foram negativos para o HLA-DQ. Desta forma a presença dos alelos estaria associada à maior grau de lesão intestinal, o que difere dos resultados encontrados no presente estudo onde a ausência dos alelos se caracterizou por maior grau de lesão intestinal. Cabe ressaltar que para uma melhor avaliação da relação dos fatores genéticos com a gravidade da lesão intestinal são necessários estudos mais conclusivos.

No presente estudo também foi encontrada a associação entre perfil genético e os testes sorológicos para DC. A sorologia atualmente utilizada para

diagnóstico dos celíacos se configura com testes para anti-AGA, anti-EMA e anti-TG2. Acredita-se que utilizando todos os parâmetros sorológicos possíveis seja atingida uma sensibilidade e especificidade de 90% para DC (MILLS, A. J. R. e MURRAYB, J. A., 2016). Frente a isso, os celíacos no presente estudo, apresentaram 25% de sorologia negativa para anti-AGA, 21% para anti- EMA e 15% para anti-TG2. Estes resultados concordam com descrito na literatura de que cerca de 3- 28% dos celíacos apresentam sorologia negativa (HANIF, F. M., 2017). Outra observação do presente estudo foi que os celíacos positivos para apenas uma subunidade de risco do DQ2 (Perfis DQ2-A ou DQ2-B) apresentaram menor percentual de positividade para DC quando comparados aos pacientes positivos para as duas subunidades (perfil DQ2-AB). Essa associação teve diferença significativa para todos os testes sorológicos e está relacionado aos alelos referentes ao HLA-DQ2. Na literatura o único estudo encontrado que buscou investigar associação do perfil genético com a sorologia foi o realizado por Murray *et al.* (2007), com 84 pacientes celíacos, avaliou os alelos de risco HLA para DQ2 e para DQ8 e não encontrou associação entre anti- EMA e o alelo DQB1\*02 (DQ2-A). Desta forma os resultados encontrados no nosso estudo sugerem que a genotipagem pode ser usada como um preditivo do risco para DC e pode ter um papel importante na forma de diagnóstico desta condição.

Em relação aos dados relatados no presente estudo, torna-se necessário salientar algumas limitações que podem interferir nos resultados encontrados, dentre elas podemos citar a questão do número de participantes da pesquisa, principalmente com dados de grau de lesão intestinal segundo estabelecido por Marsh, este parâmetro de classificação da análise histológica embora esteja bem estabelecido na literatura como critério de diagnóstico não foi utilizado na maioria dos celíacos estudados. Além disso, a origem dos dados da lesão intestinal, que foram obtidos das biopsias dos pacientes, e que, portanto são de distintos laboratórios e podem variar de acordo com o ponto de vista do patologista e como consequência interferir na classificação da severidade do dano intestinal.

## 8. CONCLUSÃO

Podemos concluir que celíacos da região sul do Brasil apresentaram uma alta prevalência dos alelos de risco para DC relacionado ao complexo HLA-DQ2 (DQA1\*05 e DQB1\*02) e HLA-DQ8 (DRB1\*04), sendo que apenas 2% dos celíacos estudados não apresentaram estes alelos. Frente a este dado evidenciamos a alta efetividade da realização do teste genético para o HLA-DQ na eliminação da possibilidade da DC em caso de teste genético negativo para os alelos analisados em celíacos da região sul do Brasil. Além disso, foi possível observar que ausência dos alelos relacionados ao HLA-DQ2 estão associado com maior gravidade do dano intestinal, frente às outras possibilidades genéticas. Somando a isso, ainda foi possível estabelecer associação do perfil DQ2-AB com resultados sorológicos, indicando que tal perfil genético influencia em resultados sorológicos positivos para DC.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIE, V.; SOLLID, L. M.; BARREIRO, L. B.; JABRI, B. Integration of Genetic and Immunological Insights into a Model of Celiac Disease Pathogenesis. **Annual Review of Immunology**. v.29, p.493–525. 2011.

ADMOU, B.; ESSAADOUNI, L.; KRATI, K.; ZAHER, K.; SBIHI, M.; CHABAA, L. et al. Atypical Celiac Disease: From Recognizing to Managing. **Hindawi Publishing Corporation Gastroenterology Research and Practice**. 2012. Doi:10.1155/2012/637187.

ALMEIDA, P. L.; GANDOLFI, L.; MODELLI, I. C.; MARTINS, R. C.; ALMEIDA, R. C.; PRATESI, R. Prevalence of Celiac Disease Among First Degree Relatives of Brazilian Celiac Patients. **Arq. Gastroenterol**. v. 45(1). 2008.

AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION (AGA). Institute Technical Review on the Diagnosis and Management of Celiac Disease. **Institute Gastroenterology**. v.131. 2006.

ANDERSON, R. P.; HENRY, M. J.; TAYLOR, R.; DUNCAN, E. L.; DANNOY, P.; COSTAL, M. J.; A Novel Serogenetic Approach Determines the Community Prevalence of Celiac Disease and Informs Improved Diagnostic Pathways. **BioMed Central Medicine**. v.11. 2013.

ACELBRA/SP. Associação de Celíacos do Brasil, São Paulo. Disponível em: <<http://www.ancelbra.org.br/2004/estatisticas.php>>. Acesso em: 10 de setembro de 2016.

ANTUNES, H.; ABREU, I.; NOGUEIRAS, A.; SÁ, C.; GONÇALVES, C; CLETO, P. et al. Primeira Determinação de Prevalência de Doença Celíaca numa População Portuguesa. **Acta Medica Portuguesa**. v.19. p.115-120. 2006.

ARANALDE, L. C.; PEDERZOLI, B. S.; MARTEN, T.; BARROS, F. C.; BASSO, R. P.; SILVEIRA, J. M. The ACTN3 R577X polymorphism affects the lipid profile and the prognosis of nutritional intervention in HIV-positive patients. **Nutrition Research**. v.36(6),p.564-74.2016. DOI:10.1016/j.nutres.2016.02.002.

AZIZ, I., PEERALLY, M. F., BARNES, JODIE-HANNAH, KANDASAMY, V., WHITELEY, J. C., PARTRIDGE, D. et al. **British Medical Journal**. v.66, p.1563–1572, 2017. DOI:10.1136/gutjnl-2016-312271.

BAI J. C.; CIACCI, C.; CORAZZA, G. R.; FRIED, M.; OLANO, C.; ROSTAMI-NEJAD, M. *et al.* Celiac disease. World Gastroenterology Organisation global guidelines. 2016.

BASTURK, A., ARTAN, R. E YILMAZ, A. The incidence of HLA-DQ2/DQ8 in Turkish children with celiac disease and a comparison of the geographical distribution of HLA-DQ. **Gastroenterology**. V.12 (4), p. 256–261. 2017. DOI: <https://doi.org/10.5114/pg.2017.72099>.

BERGSENG, E., DØRUM, S., ARNTZEN M., NIELSEN, M., NYGÅRD, S., BUUS, S. *et al.* Different binding motifs of the celiac disease-associated HLA molecules DQ2.5, DQ2.2, and DQ7.5 revealed by relative quantitative proteomics of endogenous peptide repertoires. **Immunogenetics**. v.67, p.73–84. 2015. DOI: 10.1007/s00251-014-0819-9.

CASSOL C. A., De PELLEGRIN C P, WAHYS M..L C., PIRES M. M. S., e NASSAR S. M. Perfil clínico dos membros da Associação dos celíacos do Brasil – regional de Santa Catarina (ACELBRA-SC). **Arquivos de Gastroenterologia**. v. 44 (3). 2007.

CASTRO-ANTUNES, M. M.; CROVELLA, S.; BRANDÃO, L. A. C.; GUIMARAÃES, R. L.; MOTTA M. E. F. A.; SILVA, G. A. P.; Fequency distribution of HLA DQ2 and DQ8 in celiac patients and first-degree relatives in Recife, northeastern Brazil. **CLINICS**. v.66(2), p.227-231. 2011. DOI:10.1590/S1807-5932201100020000.

DE ALMEIDA, R. Beyond genome wide association studies in celiac disease by exploring the noncoding genome. **Journal of Internal Medicine**. v.269(6), p. 591-603. 2015.

DOGAN, Y.; YILDIRMAZ, S.; OZERCAN, I. H. Prevalence of Celiac Disease Among First-degree Relatives of Patients With Celiac Disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**. v. 55 (2). 2012.

HANIF, F. M., MANDHWANI, R. K., LUCK, N. H., ABBAS, Z., MUBARAK, M., S., LAEEQ, M. Clinicopathological Study of Seronegative Celiac Disease in Adults in Pakistan: A Pilot Study. **Middle East Journal of Digestive Diseases**. v.9 (2). 2017. DOI: 10.15171/mejdd.2017.57.

HUSBY, S; KOLETZKO, S.; KORPONAY-SZABO, I. R.; MEARIN, M. L.; PHILLIPS, A.; SHAMIR, R. *et al.* European Society for Pediatric

Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**. V.54(1). 2012.

LAURET, E.; RODRIGO, L. Celiac Disease and Autoimmune-Associated Conditions. **Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International**. 2013.

LEBWOHL, B.; RUBIO-TAPIA, A.; ASSIRI, A.; NEWLAND, C.; Guandalini, S. Diagnosis of Celiac Disease. **Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America**. v.22, p. 661–677. 2012.

LERARDI, E., LOSURDO, G., PISCITELLI, D., GIORGIO, F., SORRENTINO, C., PRINCIPI, M. *et al.* Seronegative celiac disease: where is the specific setting? **Gastroenterol Hepatol Bed Bench**. v.8(2), p.110-116. 2015.

Libro Blanco de la Enfermedad Celíaca. ALLUÉ, I. P. (Direção e coordenação). Ed: ICM. **Ministério da Saúde da Comunidade de Madri**. 2008.

LIONETTI, E.; CATASSI, C. New Clues in Celiac Disease Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Manifestations, and Treatment. **International Reviews of Immunology**. v.30. p.219–231. 2011.

LUDVIGSSON, F. J.; LEFFLER, A. D.; BAI, J. C.; BIAGI, F.; FASANO, A. *et al.* The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. **Original Article**. 2012. Doi:10.1136/gutjnl-2011-301346.

KAPITÁNY, A.; TÓTH, L.; TUMPEK, J.; CSÍPO, I.; SIPOSS, E.; WOOLLEY, N. *et al.* Diagnostic significance of HLA-DQ typing in patients with previous coeliac disease diagnosis based on histology alone. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**. v.24, p.1395–1402. 2006. Doi:10.1111/j.1365-2036.2006.03133.x.

MASHAYEKHI, K.; KOUSHKI, K.; ROSTAMI-NEJAD, M. The Correlation Between Hla-DQ2 and DQ8 Haplotypes and Abnormal Histology in Patients with Celiac Disease. **International Journal of Analytical, Pharmaceutical and Biomedical Sciences**. v. 4 (2). 2015.

MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research: Oxford Journals**. v.16(13). 1988

MILLS, A, J. R. e MURRAYB J. A. Contemporary celiac disease diagnosis: is a biopsy avoidable? **Current Opinion in Gastroenterology**. V. 32(2). 2016.

MUBARAK, A.; WOLTERS, V. M.; GERRITSEN S. A. M.; GMELIG-MEYLING, F. H. J.; KATE, F. J. W. T.; HOUWEN, R. H. J. A Biopsy Is Not Always Necessary to Diagnose Celiac Disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**. v. 52(5). 2011. Doi: 10.1097/MPG.0b013e3181ef8e50.

MURRAY, J. A.; MOORE, S. B.; DYKE, C. T. V.; LAHR, B. D.; DIERKHISING, R. A.; ZINSMEISTER, A. et al. HLA DQ Gene Dosage and Risk and Severity of Celiac Disease. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**. v.;5. P.1406–1412. 2007. Doi:10.1016/j.cgh.2007.08.2013.

OLLIKKA, P.; RAUSSI, H. M.; JAAKKOLA, V. L.; HOVINEN, J., HEMMILÄ, I.; Genotyping of celiac disease-related-risk haplotypes using a closed-tube polymerase chain reaction analysis of dried blood and saliva disk samples. **Analytical Biochemistry**. v.386, p. 20–29. 2009.

PALLAV, K.; KABBANI, T.; TARIQ, S.; VANGA, R.; KELLY, C. P.; LEFFLER, D. A.; Clinical Utility of Celiac Disease-Associated HLA Testing. **Digestive Diseases and Sciences**.v. 59. P. 2199–2206. 2014.

PIETZAK, M. M.; SCHOFIELD, T. C.; MCGINNISS, M. J.; NAKAMURA, R. M.; Stratifying Risk for Celiac Disease in a Large At-Risk United States Population by Using HLA Alleles. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**.v.7. p.966–971. 2009.

PRATESI, R.; GANDOLFI, L. Celiac disease: a disease with many faces. **Jornal de Pediatria (Rio Janeiro)**. v.81(5), p.357-358. 2005.

RADLOVIĆ, N. Celiac disease. **School of Medicine, University of Belgrade**.v. 141. Pag. 122- 126. 2013.

ROMANOS, J.; A. ROSÉN, V.; KUMAR, G.; TRYNKA, L.; FRANKE, A.; SZPERL, J.; GUTIERREZ-ACHURY, et al. Improving celiac disease risk prediction by testing non-HLA variants additional to HLA variants .**Digital access**

to scholarship at Harvard. v.63 (3). p. 415-422. 2014. doi:10.1136/gutjnl-2012-304110.

ROMANOS, J.; DIEMEN, C. C.V.; NOLTE, I. M; TRYNKA, G.; ZHERNAKOVA, A.; FU, J.; BARDELLA, M. T.et al. Analysis of HLA and Non-HLA Alleles Can Identify Individuals at High Risk for Celiac Disease. **Gastroenterology**. v.137. p.834–840. 2009.

ROSTAMI-NEJAD, M.; ROMANOS, J.; ROSTAMI, K.; GANJI, A.; EHSANI-ARDAKANI, M. J.; BAKHSHIPOUR, A. R.et al. Allele and haplotype frequencies for HLA-DQ in Iranian celiac disease patients. **World Journal of Gastroenterology**. v. 20 (20), p.6302-6308. 2014. Doi: 10.3748/wjg.v20.i20.6302.

ROUJON, P.; GUIDICELLI, G.; MOREAU, J.F.; TAUPIN, J.L. Immunogénétique de la maladie coeliaque. **Pathologie Biologie**. v.61. p. 5–11. 2013.

SACCHETTI, L.; SARRANTONIO, C.; PASTORE, L.; CARLINO, V.; CALCAGNO, G.; FERRAJOLO, A. et al.. Rapid identification of HLA DQA1\*0501, DQB1\*0201, and DRB1\*04 Alleles in celiac disease by a PCR-Based methodology. **Clinical Chemistry**. v. 43. 1997.

SACCHETTI, L.; TINTO, N.; CALCAGNO, G.; IMPROTA, P.; SALVATORE. Multiplex PCR typing of the three most frequent HLA alleles in celiac disease. **Clinica Chimica Acta**. p.205-207. 2001.

SAEED, A., ASSIRI, A., ASSIRI, H., ULLAH, A., RASHID, M. Celiac disease in Saudi children: Evaluation of clinical features and diagnosis. **Saudi Medical Journal**. v. 38(9). 2017.

SANDSTROM, O.; ROSÉN, A.; LAGERQVIST, C.; CARLSSON, A.; HERNELL, O.; HOGBERG, L. et al. Transglutaminase IgA Antibodies in a Celiac Disease Mass Screening and the Role of HLA-DQ Genotyping and Endomysial Antibodies in Sequential Testing. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**. v.57, (4). 2013. DOI: 10.1097/MPG.0b013e31829ef65d.

SDEPANIAN, V. L.; GALVÃO, L. C. Gastroenterologia: Doença celíaca. In: Campos Júnior D, Burns DAR, org. Tratado de Pediatria da Sociedade Brasileira de Pediatria. 3ªed. Barueri: Manole. p.1075-82. 2009.



STANKOVIĆ, B., RADLOVIĆ, N., LEKOVIĆ, Z., RISTIĆ, D., RADLOVIĆ, V., NIKČEVIĆ, G. HLA genotyping in pediatric celiac disease patients. **Bosnian Journal of Basic Medical Sciences**. v.14(3), p.171-176. 2014.

TAYLOR, A. K.; LEBWOHL, B.; SNYDER, C. L.; e GREEN, P. Celiac Disease Synonyms: Coeliac Disease, Celiac Sprue, Nontropical Sprue, Gluten-Sensitive Enteropathy. **GeneReviews**. 2015.

THOMAS H. J.; AHMAD T.; RAJAGURU, C.; BARNARDO, M.; WARREN, B. F.; JEWELL, D. P. Contribution of histological, serological, and genetic factors to the clinical heterogeneity of adult-onset coeliac disease. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**. v.44(9), p.1076–83. 2009.

WEST, J.; LOGAN, R. F. A.; HILL, P. G.; KHAW, K. T. The Iceberg of Celiac Disease: What Is Below the Waterline? **Clinical Gastroenterology and Hepatology**. v.5. p.59–62. 2007.

YUAN, J., GAO J.; LI, X.; LIU, F.; WIJMENGA, C.; CHEN, H., et.al. The Tip of the “Celiac Iceberg” in China: A Systematic Review and Meta-Analysis. (2013) The Tip of the “Celiac Iceberg” in China: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Plos One**. V.6. 2013. Doi:10.1371/journal.pone.0081151.

## APÊNDICE A

### CARTA DE AUTORIZAÇÃO DA ACELBRA

#### UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS

#### OFÍCIO PARA AUTORIZAÇÃO DE PESQUISA PARA REALIZAÇÃO DE DISSERTAÇÃO NA ASSOCIAÇÃO DE CELÍACOS DO BRASIL

Prezado (a) Senhor (a):

Venho por meio deste solicitar sua autorização para a realização do estudo intitulado: “Prevalência dos alelos de risco do complexo HLA DQ2 (DQA1\*0501 e DQB1\*0201) e DQ8 (DRB1\*04) em celíacos no sul do Brasil”, nesta instituição.

Esse estudo será desenvolvido por alunos e professores do Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da UFPel, sob orientação da Professora Dra. Fabiana Torma Botelho, Professora Dra. Ines Claudia Schadock e Professor Dr. Carlos Castilho de Barros. O objetivo desse estudo é rastrear a presença de alelos HLA DQ2 e DQ8 da Doença Celíaca (DC) entre os celíacos. A análise dos alelos será realizada pela coleta de saliva dos celíacos vinculados a ACELBRA, que serão encaminhadas para o Laboratório de Nutrifogenômica da Faculdade de Nutrição/UFPel, para posterior análises dos alelos no DNA. Realizando as análises dos alelos, teremos a prevalência dos genes envolvidos na DC dentre os participantes. Esses resultados irão contribuir para determinar a prevalência dos genes entre os celíacos estudados, além de possibilitar comparação com achados de outros estudos, bem como, elucidar o papel da genotipagem como uma ferramenta nas etapas da investigação da DC. Teremos o compromisso ético de preservar os sujeitos envolvidos no estudo, assim como a instituição. A pesquisa não apresenta nenhum risco para os indivíduos e para a instituição e os dados/resultados do estudo serão retornados para os seus participantes.

Na certeza de contar com vosso apoio, desde já agradeço colocando-me ao seu inteiro dispor para outros esclarecimentos.

Atenciosamente,

Mônica Schiavon da Costa- Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, UFPel. Telefone: (53) 8411- 5124, e-mail: monica\_schiavon@yahoo.com.br, Fabiana Torma Botelho – Prof. da Faculdade de Nutrição da UFPel, telefone: (53) 8105.0759, e-mail: fabibotelho@hotmail.com, Ines Claudia Schadock– e-mail: i.schadock@ymail.com e Carlos Castilho de Barros – Prof. da Faculdade de Nutrição da UFPel, e-mail: barroscppel@gmail.com.

Considerando as informações acima, confirmo ter sido informado (a) por escrito e verbalmente dos objetivos desta pesquisa. Desta forma, Eu \_\_\_\_\_, responsável pela Associação Brasileira de Celíacos do Brasil, Santa Catarina (ACELBRA-SC), autorizo a realização desta pesquisa nessa instituição.

---

**Assinatura e carimbo**

## APÊNDICE B

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA CELÍACOS OU RESPONSÁVEIS

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Pesquisadores responsáveis:** Mônica Schiavon da Costa, Carlos Castilho de Barros, Fabiana Torma Botelho e Ines Claudia Schadock. **Instituição:** Universidade Federal de Pelotas. **Endereço:** Rua Gomes Carneiro, nº 1. Centro. Pelotas – RS Telefone: (53) 8105.0759.

Eu \_\_\_\_\_ concordo em participar da pesquisa “Prevalência dos alelos de risco do complexo HLA DQ2 (DQA1\*0501 e DQB1\*0201) e DQ8 (DRB1\*04) em celíacos no sul do Brasil”. Que tem por objetivo determinar a prevalência dos genótipos HLA-DQ2 (DQA1\*0501 e DQB1\*0201) e HLA-DQ8 (DRB1\*04) e associar a presença dos alelos com o grau de lesão intestinal em celíacos.

O rastreamento dos alelos será realizado através da saliva para posterior análise em laboratório. No primeiro encontro, será preciso coletar minha saliva, após um enxágue da boca com água tratada e posterior coleta de saliva com cotonete de cabo alongado, esfregando várias vezes nas bochechas e responderei a um questionário sobre meus dados clínicos. Terei um segundo encontro, onde irei obter os resultados e orientações educativas.

Fui informado que a justificativa para realização desse estudo se baseia na necessidade da identificação de fatores genéticos prevalentes na DC com o propósito de evidenciar fatores desencadeadores envolvidos. Fui ainda, informado que receberei retorno sobre as análises dos alelos realizadas, bem como orientações nutricionais que possibilitem melhoria na qualidade de vida, por meio de palestra. Recebi a informação de que não existem riscos no estudo e o benefício de participar na pesquisa é o fato que os resultados serão incorporados ao conhecimento científico e posteriormente a situações de ensino-aprendizagem, além de contribuir para uma maior divulgação da DC. Como já me foi dito, a minha participação será voluntária, não havendo nenhuma forma de recompensa lucrativa em participar da pesquisa e poderei interrompê-la a qualquer momento e que os resultados serão usados somente para fins de pesquisa, sendo que as nossas identidades permanecerão confidenciais durante todas as etapas do estudo.

**CONSENTIMENTO:** Recebi claras explicações sobre o estudo, todas registradas neste formulário de consentimento. Os investigadores do estudo responderam e responderão, em qualquer etapa do estudo, a todas as minhas perguntas, até a minha completa satisfação. Portanto, estou de acordo em participar do estudo. Este Formulário de Consentimento Pré-Informado será assinado por mim e arquivado na instituição responsável pela pesquisa.

ASSINATURA: \_\_\_\_\_ DATA: \_\_/\_\_/\_\_

Testemunha: \_\_\_\_\_ Data: \_\_/\_\_/\_\_





Porto. Rua Gomes Carneiro, nº 1), contatos: (53) 8105.0759/8405.5627 ou email-fabibotelho@hotmail.com.

**ASSINATURA DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** \_\_\_\_\_

DATA: \_\_/\_\_/\_\_

\_\_\_\_\_  
Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina UFPel. (53)3284-4960

## APÊNDICE C QUESTIONÁRIO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS

PESQUISA: "Prevalência dos alelos de risco do complexo HLA DQ2 (DQA1\*0501 e DQB1\*0201) e DQ8 (DRB1\*04) em pacientes celíacos no sul do Brasil"

Pesquisadores responsáveis: Prof Dr. Carlos C. de Barros, Profª Dra. Fabiana T. Botelho e Profª Dra. Ines Schadock  
Pesquisadores Principais: Monica Schiavom da Costa e Giovana Ribeiro Pegoraro

**1- Nome do associado:** \_\_\_\_\_

**2- Data de nascimento:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**3- Sexo:** ( ) masculino ( ) feminino

**4- Cor:** ( ) branca ( ) mulata ( ) negra ( ) amarela

**5- Você considera sua origem:**

( ) italiana ( ) brasileira ( ) alemã ( ) portuguesa

( ) espanhola ( ) asiática ( ) outras: \_\_\_\_\_ ( ) não sei

**6- Você tem algum familiar com doença celíaca?** ( ) sim ( ) não ( ) não sei

Se sim, qual o grau de parentesco? \_\_\_\_\_

**7- Qual era sua idade na época em que foi diagnosticada a doença celíaca:** \_\_\_\_\_

**8- Quanto tempo você levou para obter o diagnóstico da doença celíaca (da investigação ao diagnóstico)?** \_\_\_\_\_

**9- Assinale se você apresentou esses sintomas antes do diagnóstico:**

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> aftas                            | <input type="checkbox"/> anemia                         |
| <input type="checkbox"/> diarreia                         | <input type="checkbox"/> emagrecimento                  |
| <input type="checkbox"/> dor abdominal                    | <input type="checkbox"/> barriga inchada                |
| <input type="checkbox"/> constipação ("prisão de ventre") | <input type="checkbox"/> lesões de pele                 |
| <input type="checkbox"/> dificuldade em ganhar peso       | <input type="checkbox"/> não apresentava nenhum sintoma |
| <input type="checkbox"/> dificuldade em ganhar altura     | <input type="checkbox"/> outros – Quais? _____          |

**10- Já realizou biópsia do intestino delgado?** ( ) sim ( ) não ( ) não sei

**11- Se sim, quantas vezes?** \_\_\_\_\_

\* Dessas, quantas foram com dieta contendo glúten? \_\_\_\_\_

\* E quantas foram em dieta sem glúten? \_\_\_\_\_

**12- Caso tenha realizado biópsia intestinal**, qual foi o resultado da biópsia no qual obteve diagnóstico (grau de lesão intestinal/Marsh em dieta com glúten)? \_\_\_\_\_

**13- Você já realizou testes genéticos para doença celíaca?** ( ) sim ( ) não ( ) não sei

Se sim: ( ) positivo DQ2 ( ) positivo DQ2 e DQ8

( ) positivo DQ8 ( ) negativo ( ) outros. Quais? \_\_\_\_\_

**14- Assinale se você realizou algum dos exames abaixo na época do diagnóstico e qual o resultado:**

- ( ) dosagem de anticorpos anti-gliadina IgA: ( ) normal ( ) alterado ( ) não lembro  
 ( ) dosagem de anticorpos anti-gliadina IgG: ( ) normal ( ) alterado ( ) não lembro  
 ( ) dosagem de anticorpos anti-endomísio: ( ) normal ( ) alterado ( ) não lembro  
 ( ) dosagem de anticorpos anti-transglutaminase: ( ) normal ( ) alterado ( ) não lembro  
 ( ) não sei

**15- Assinale se você possui ou possuía alguma das doenças abaixo:**

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Hipotireoidismo               | <input type="checkbox"/> Infertilidade                                |
| <input type="checkbox"/> Diabetes Mellitus tipo 1      | <input type="checkbox"/> Abortos de repetição                         |
| <input type="checkbox"/> Síndrome de Turner            | <input type="checkbox"/> Dermatite herpetiforme                       |
| <input type="checkbox"/> Síndrome de Williams          | <input type="checkbox"/> Deficiência de IgA                           |
| <input type="checkbox"/> Síndrome de Down              | <input type="checkbox"/> Osteoporose                                  |
| <input type="checkbox"/> Osteopenia                    | <input type="checkbox"/> Intolerância à proteína do leite de vaca     |
| <input type="checkbox"/> Doença auto-imune de tireóide | <input type="checkbox"/> Outras – Qual/Quais? _____                   |
| <input type="checkbox"/> Doença auto-imune de fígado   | <input type="checkbox"/> Não possui ou possuía nenhuma dessas doenças |
| <input type="checkbox"/> Intolerância à lactose        |   |

**APÊNDICE D**  
**MODELO- RETORNO DOS RESULTADOS**



**Universidade Federal de Pelotas**  
**Faculdade de Nutrição**  
**Programa de Pós-graduação em Nutrição e Alimentos**



**Pesquisa:** "PREVALÊNCIA DOS ALELOS DE RISCO DO COMPLEXO HLA DQ2 (DQA1\*0501 e DQB1\*0201) e DQ8 (DRB1\*04) EM CELÍACOS NO SUL DO BRASIL"

**Pesquisadores responsáveis:** Mônica Schiavon da Costa, Giovana Ribeiro Pegoraro Fabiana Torma Botelho, Inês Claudia Schadock e Carlos Castilhos Barros

**Nome do(a) participante:**

\_\_\_\_\_

**Resultado da genotipagem dos alelos:**

DQA1\*0501 (Alelo  $\alpha$  do HLA-DQ2): \_\_\_\_\_

DQB1\*0201 (Alelo  $\beta$  do HLA-DQ2): \_\_\_\_\_

DRB1\*04 (HLA-DQ8): \_\_\_\_\_

**Observação:** A identificação dos alelos utilizados no presente estudo foi feita utilizando a técnica de PCR (reação em cadeia da polimerase), com adaptações do método realizado por SACCHETTI et al., (1997)\*. Desta forma, na comparação de métodos distintos poderá haver discrepâncias devido a diferentes frequências de resultados falso positivo ou falso negativo inerentes de cada método.

\*SACCHETTI, L.; SARRANTONIO, C.; PASTORE, L.; CARLINO, V.; CALCAGNO, G.; FERRAJOLO, A.; et al. Rapid identification of HLA DQA1\*0501, DQB1\*0201, and DRB1\*04 alleles in celiac disease by a PCR-based methodology. Clinical Chemistry, v.4, 1997.



## ANEXO 1 PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UFPEL - FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DE PELOTAS



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** PREVALÊNCIA DE ALELOS HLA-DQ2 E HLA-DQ8 EM CELÍACOS CADASTRADOS NA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CELÍACOS DO BRASIL, SANTA CATARINA (ACELBRA-SC)

**Pesquisador:** Mônica Schiavon da Costa

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 62204916.0.0000.5317

**Instituição Proponente:** Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.842.808

#### **Apresentação do Projeto:**

A doença celíaca (DC) é caracterizada por ser uma desordem auto-imune desencadeada pela ingestão de prolaminas presentes no glúten, sendo que uma das suas principais manifestações seria a nível intestinal. Tal desordem estaria implicada com anticorpos para DC e fatores genéticos, dentre os mais conhecidos e correlacionados com a DC seriam aqueles encontrados no Sistema Leucocitário Humano (HLA), região cromossômica 6p21.31, classe II (HLA-DQ), mais especificamente os alelos HLA- DQ2 (DQA1\*0501 e DQB1\*0201) e HLA- DQ8 (DRB1\*04, que são responsáveis em codificar as proteínas DQ2 e DQ8. Esses genes estariam presentes entre 25 a 30% da população em geral, já entre celíacos a prevalência de tal fator genético pode chegar até 95%. Sendo assim, apenas 5% dos celíacos teriam desencadeado a doença devido a outros fatores genéticos. A partir disso, o rastreamento do HLA-DQ foi incluído nas etapas do diagnóstico da DC, sendo requerido principalmente para pacientes assintomáticos e no rastreio de grupos de risco para DC. Vários estudos vem sendo realizados entre celíacos com o intuito de investigar a participação de tal genes na síntese da doença, buscando estabelecer a real prevalência dos mesmo em celíacos e além disso, estabelecer uma possível associação genética com a gravidade dos sintomas. Diante disso, o objetivo desse estudo é a rastreabilidade de alelos HLA- DQ2 (DQA1\*0501 e DQB1\*0201) e HLA-DQ8 (DRB1\*04) em celíacos cadastrados na Associação dos

<b>Endereço:</b> Rua Prof Araujo, 465 sala 301		<b>CEP:</b> 96.020-360
<b>Bairro:</b> Centro	<b>Município:</b> PELOTAS	
<b>UF:</b> RS	<b>Telefone:</b> (53)3284-4960	<b>Fax:</b> (53)3221-3554
		<b>E-mail:</b> cep.famed@gmail.com

UFPEL - FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DE PELOTAS



Continuação do Parecer: 1.842.808

Celiacos do Brasil- Santa Catarina.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Determinar a prevalência dos genótipos HLA-DQ2 (DQA1\*0504 e DQB1\*0201) e HLA-DQ8 (DRB1\*04) em celiacos cadastrados na Associação de Celiacos do Brasil, Santa Catarina (ACELBRA- SC).

**Objetivo Secundário:**

Avaliar a prevalência do alelo HLA- DQ2 (DQA1\*0504 e DQB1\*0201) em celiacos;

Determinar a prevalência do alelo HLA-DQ8 (DRB1\*04) entre os celiacos;

Avaliar a prevalência total do HLA-DQ2 (DQA1\*0504 e DQB1\*0201) e HLA-DQ8 (DRB1\*04) em pacientes com DC;

Verificar associação entre os genes DQ2 (DQA1\*0504 e DQB1\*0201) e DQ8 (DRB1\*04) e grau de lesão intestinal (Classificação de Marsh);

Associar a prevalência de doença celíaca entre os gêneros;

Verificar entre os celiacos estudados a associação com doenças relacionadas ao aumento da predisposição.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

- Com relação aos riscos, os autores escreveram "Os riscos em participar do presente estudo são mínimos, visto que o questionário aborda assuntos comuns do conhecimento clínico dos participantes e a amostra coletada (saliva) é obtida de maneira simples e indolor." Considero adequado.

- Com relação aos benefícios, os autores escreveram neste item do formulário da Plataforma Brasil: "A utilização da genotipagem do HLA-DQ (DQ2 e DQ8) foi indicada pela Diretriz da Sociedade Europeia de Gastroenterologia Pediátrica, Hepatologia e Nutrição como forma de rastreio de possíveis candidatos à DC. A distribuição desse marcador genético varia entre 30- 40% na população em geral, porém em celiacos a prevalência pode ser de até 95%, sendo que os demais fatores predisponentes ao desenvolvimento dessa patologia estariam implicados a outros marcadores genéticos. Estudos estão emergindo com o propósito de elucidar a real contribuição do HLA-DQ no desenvolvimento da DC em diferentes grupos populacionais de celiacos. Além de, buscar associação de fatores genéticos que possuem maior associação com o desenvolvimento da doença, bem como, investigar associação com grau de lesão intestinal. O esclarecimento dos fatores genéticos envolvidos e a sua prevalência entre celiacos podem determinar o mecanismo

Endereço: Rua Prof Araujo, 465 sala 301

Bairro: Centro

CEP: 96.020-360

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3284-4960

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cep.famed@gmail.com

UFPEL - FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DE PELOTAS



Continuação do Parecer: 1.842.808

pelo qual a DC se desenvolve em diferentes populações. Além disso, traçar um perfil de prevalência de fatores genéticos predisponentes pode fomentar uma maior utilização destes testes na prática clínica local.”

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de um estudo descritivo, do tipo transversal, que será realizado na Associação de Celiacos do Brasil de Santa Catarina (ACELBRA-SC), entidade de iniciativa popular e sem fins lucrativos. Será realizado o rastreamento de alelos HLA-DQ2 (DQA1\*0504 e DQB1\*0201) e HLA-DQ8 (DRB1\*04) entre os celiacos cadastrados na associação e que frequentam as reuniões da ACELBRA- SC. Será realizado convite por e-mail e divulgação em meios de comunicação, tais como, o site da ACELBRA-SC. Além disso, será realizada apresentação prévia do projeto nas reuniões para estimular a participação e detalhar os objetivos do projeto, indicando o público alvo e as contribuições desta pesquisa na identificação da prevalência dos alelos DQ2 e DQ8 entre os celiacos

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

OK

**Recomendações:**

OK

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

OK

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	qualificacao.jpg	01/12/2016 22:14:13	Patricia Abrantes Duval	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_823504.pdf	10/11/2016 22:47:30		Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto_Monica.pdf	10/11/2016 22:46:16	Mônica Schiavon da Costa	Aceito
Outros	Carta_autorizacao_ACELBRA.pdf	10/11/2016 22:45:06	Mônica Schiavon da Costa	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLE_celiacos_ou_responsaveis.pdf	10/11/2016 22:02:17	Mônica Schiavon da Costa	Aceito

Endereço: Rua Prof Araujo, 465 sala 301

Bairro: Centro

CEP: 96.020-360

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3284-4960

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cep.famed@gmail.com

UFPEL - FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DE PELOTAS



Continuação do Parecer: 1.842.808

Ausência	TCLE_celiacos_ou_responsaveis.pdf	10/11/2016 22:02:17	Mônica Schiavon da Costa	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado_Monica.pdf	10/11/2016 21:59:54	Mônica Schiavon da Costa	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

PELOTAS, 01 de Dezembro de 2016

---

**Assinado por:**  
**Patricia Abrantes Duval**  
(Coordenador)

Endereço: Rua Prof Araujo, 465 sala 301  
Bairro: Centro CEP: 96.020-360  
UF: RS Município: PELOTAS  
Telefone: (53)3284-4960 Fax: (53)3221-3554 E-mail: cep.famed@gmail.com