



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Ciências da Saúde

Doença Celíaca: Do Conceito à Abordagem Terapêutica

Diogo José Martins Lopes

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Medicina

(ciclo de estudos integrado)

Orientadora: Professora Doutora Paula Chaves

Coorientadora: Professora Doutora Paula Maria Brinca Borralho Nunes

Covilhã, maio de 2018

Dedicatória

Dedicado a todos os que me ajudaram no meu percurso académico.

Agradecimentos

Gostava de agradecer à Professora Doutora Paula Chaves que aceitou guiar-me neste projeto e esteve sempre disponível para me ajudar em todas as fases do processo de criação desta tese. Queria agradecer também à Professora Doutora Paula Borralho pelo apoio prestado e pelo material disponibilizado presente nesta tese.

A ambas, que permitiram a realização deste trabalho, um muito obrigado.

Resumo

A Doença Celíaca (DC) é uma doença inflamatória, autoimune, do trato gastrointestinal que afeta indivíduos geneticamente suscetíveis à presença de glúten na dieta

Existindo relatos da Doença desde 250 a.C, apenas no decorrer dos dois últimos séculos surgiram abordagens diagnósticas e terapêuticas concretas com a introdução da biópsia para análise anatomopatológica e de dietas isentas de glúten.

A DC encontra-se distribuída por todo o mundo, havendo zonas com maior incidência como a Escandinava. O número de casos é subestimado e está em crescimento, facto que deverá alertar os médicos para um maior empenho no despiste desta entidade que se pode manifestar de diversas formas: clássica, oculta ou atípica e até latente, obrigando ao diagnóstico diferencial com muitas outras doenças também relacionadas com a exposição ao glúten como a Alergia ao Glúten, a Sensibilidade ao Glúten Não Associada a Doença Celíaca, a Dermatite Herpetiforme entre outras.

O desenvolvimento da DC envolve a interação entre suscetibilidade genética, exposição ao glúten e influências ambientais. Na sua patogénese estão envolvidos mecanismos de imunidade inata e da imunidade adaptativa com formação de autoanticorpos, como os dirigidos à TG2, e produção de citocinas pró-inflamatórias que desencadeiam uma resposta inflamatória provocando os danos na mucosa intestinal, responsáveis pela histopatologia típica da doença. Fatores genéticos envolvendo moléculas de apresentação de antígenos do complexo de Histocompatibilidade Humano são condições necessárias ao desenvolvimento da doença, estando atualmente a ser investigados aspetos epigenéticos que parecem desempenhar um papel mais importante do que o pensado inicialmente.

A apresentação da doença nem sempre segue os padrões típicos de manifestações gastrointestinais como distensão e desconforto abdominal, diarreia ou obstipação devendo-se estar atento a pacientes oligossintomáticos ou com sinais tão pouco específicos como a osteoporose, como acontece na população adulta, onde se tem assistido a um aumento do número de casos.

O diagnóstico definitivo é feito com base numa avaliação histopatológica do intestino delgado que apresentará alterações sugestivas da DC, contudo, abordagens mais conservadoras estão a implementar diretrizes que, em casos selecionados, poderão dispensar o uso de endoscopia e avaliação histopatológica combinando exames serológicos para pesquisa de antígenos/anticorpos e exames de genotipagem. Este tipo de abordagem utiliza-se, para já, na população pediátrica, estando a ser discutidas formas de ultrapassar a necessidade de endoscopia e biópsia em adultos.

As alterações histológicas abrangem um largo espectro de aspetos morfológicos, com diversos graus de intensidade de lesão e diferente expressão clínica. Pode observar-se desde

um ligeiro aumento do número de linfócitos intraepiteliais, linfocitose, a uma destruição maciça da arquitetura com atrofia completa das vilosidades e hiperplasia das criptas, passando por uma atrofia parcial com vilosidades encurtadas e aplanadas.

O tratamento da DC, que se mantém inalterado desde o século passado, ainda se baseia numa dieta isenta de glúten. A necessidade de adesão a este tipo de dieta torna a intervenção de um nutricionista indispensável já que as quantidades calóricas desequilibradas existentes nos produtos manipulados sem glúten estão a levar ao aumento do número de casos de obesidade entre doentes celíacos. Atualmente estão a ser estudadas novas abordagens para o tratamento da DC como as terapias intraluminais e terapias imunossupressoras, que, têm tido alguns resultados positivos, estando ainda longe da aprovação do uso generalizado. Um melhor conhecimento da fisiopatologia da doença, nomeadamente de fatores epigenéticos, poderá permitir o desenvolvimento de fármacos capazes de atuar sobre os principais antigénios e/ou anticorpos envolvidos na patogénese da DC.

Entre as complicações da DC encontra-se a Doença Celíaca Refratária, cuja prevalência varia de 0,3 a 10% dentro da população de doentes celíacos, podendo acarretar grande prejuízos na qualidade de vida, assim como um prognóstico mais reservado. Também o Linfoma de Células T associado a Enteropatia e a Jejunité Ulcerativa representam complicações raras, mas graves da DC.

O futuro da DC, que verá um aumento de incidência nos próximos anos, passará pela descoberta de métodos de diagnóstico não invasivos que ultrapassem a necessidade de endoscopia e um melhor entendimento da fisiopatologia da doença que permita o desenvolvimento de metodologias de tratamento com uma melhor adesão por parte dos doentes.

Abstract

Celiac Disease (CD) is an inflammatory immune mediated disease of the small bowel that affects genetically predisposed individuals consuming gluten on their daily diet.

There are reports of the disease since 250 b. C, but, only during the past centuries specific approaches for diagnosis and therapy were introduced, namely the use of small bowel biopsy for morphological evaluation and the gluten free diets.

CD has a worldwide distribution with some areas such as Scandinavia with high incidence. The number of recognised cases is underestimated and is growing, a fact that should alert physicians to a greater effort in the detection of this entry. Actually, it may present, as classical, occult or atypical and latent form, and the differential diagnosis between gluten related diseases such as wheat allergy, non-celiac disease gluten related sensitivity, herpetiform dermatitis, among others may be difficult.

CD development requires the interaction between genetic susceptibility, gluten exposure and environmental influences. Its pathogenesis involves innate and adaptive immune mechanisms with the formation of autoantibodies against TG2, and the production of pro-inflammatory cytokines that trigger an inflammatory response causing damage to the intestinal mucosa and leading to typical morphological findings of CD. Genetic factors concerning antigen-presenting molecules from the Major Histocompatibility Complex are necessary to the development of CD, however, epigenetic factors are currently under research being their role in the development of CD more relevant than it was previous thought.

Clinical presentation of CD does not always follow the typical picture of gastrointestinal symptoms such as bloating, abdominal discomfort, diarrhoea or constipation, and physicians should be aware of oligoasymptomatic patients or of less specific symptoms such as osteoporosis, more frequent in adult patients, where CD is increasing.

The diagnosis is supported on the evaluation of duodenal mucosa that will show the suggestive morphological pattern of CD. Presently, a more conservative approach, avoiding the endoscopic and histopathological procedures but combining antigen detection and genetic evaluation, is being implemented in selected cases. This is the case in the paediatric population but the discussion remains for the adult population.

Histological alterations comprise a large spectrum of morphologic features, with several grades and different clinical expression. The morphological spectrum of the CD ranges from a slight increasing of intraepithelial lymphocytes, lymphocytosis, to a complete distortion of the mucosal architecture with villous atrophy and crypt hyperplasia, through a partial atrophy with shortened villous.

CD treatment, that remains the same since the past century, is based on a gluten free diet. The adaptation to this type of diet requires the involvement of nutritionists since the use of gluten free products with unbalanced caloric proportions may be the responsible for the increasing number of obesity cases between celiac patients. New approaches for treatment are under research, such as intraluminal or immunosuppressor therapies, which, despite positive results, remains unapproved for the present treatment of CD. A more accurate knowledge of CD mechanisms, namely on the epigenetic factors involved, will allow the development of drugs able of acting on the main antibody-antigen reactions responsible for the disease pathogenesis.

One of the complications of CD is Refractory Celiac Disease, whose prevalence ranges from 0.3 to 10% within the population of celiac patients, can cause great losses in quality of life, and has a poor prognosis. Enteropathy Associated T Cell Lymphoma and Ulcerative Jejunitis are rare, but still serious complications of CD.

The future of CD, that will see an increasing in the number of cases in next years, will pass through the adoption of non-invasive methods to skip the need of endoscopy and through a better understanding of physiopathology allowing the development of treatments with better patient compliance.

Índice

| | |
|--|-----|
| Dedicatória | ii |
| Agradecimentos | iii |
| Resumo..... | iv |
| Abstract..... | vi |
| Lista de Tabelas | xi |
| Lista de Siglas/Acrónimos | xii |
| Introdução | 1 |
| Enquadramento Histórico..... | 2 |
| Dados Epidemiológicos | 2 |
| Classificação Doença Celíaca e outros Distúrbios relacionados com o Glúten | 3 |
| Doença Celíaca | 3 |
| Alergia ao Glúten..... | 4 |
| Sensibilidade ao Glúten Não Associada a Doença Celíaca | 4 |
| Outras Doenças Associadas à Ingestão de Glúten..... | 6 |
| Fisiopatologia | 8 |
| Imunidade Inata | 10 |
| Imunidade Adaptativa | 10 |
| Fatores Etiológicos | 11 |
| Fatores Alimentares..... | 11 |
| Fatores Genéticos | 12 |
| Fatores Ambientais..... | 14 |
| Sinais e Sintomas..... | 16 |
| Doença Celíaca na Criança | 16 |
| Doença Celíaca nos Adultos | 17 |
| Métodos de Diagnóstico | 19 |
| Diagnóstico | 19 |
| Métodos Serológicos | 20 |
| Anticorpos anti-tTG | 20 |

| | |
|---|----|
| Anticorpos anti-endomísio | 21 |
| Anticorpos anti-DGP..... | 21 |
| Anticorpos anti-gliadina | 21 |
| Outros Testes e Novos Biomarcadores | 22 |
| Biópsia Endoscópica | 23 |
| Classificação Histopatológica | 25 |
| Histopatologia..... | 26 |
| Genotipagem HLA-DQ | 27 |
| Tratamento | 28 |
| Dieta Isenta de Glúten | 28 |
| Novos Tratamentos e Tratamento Farmacológico..... | 30 |
| Reguladores da Permeabilidade Paracelular Intestinal..... | 30 |
| Glutenases | 31 |
| Vacina para o Glúten | 31 |
| Uso de grãos geneticamente modificados..... | 31 |
| Inibidores da Transglutaminase | 32 |
| Imunomoduladores | 32 |
| Microbioma e terapia baseada em Nemátodos..... | 33 |
| Sequestradores de Gliadina..... | 33 |
| Manifestações extraintestinais | 34 |
| Infertilidade..... | 34 |
| Osteoporose e Baixa Densidade Mineral óssea | 34 |
| Complicações | 35 |
| Doença Celíaca Refratária | 35 |
| Linfoma de Células T associado a Enteropatia | 36 |
| Jejunite Ulcerativa..... | 37 |
| Prognóstico | 37 |
| Conclusão..... | 39 |
| Bibliografia | 40 |

Lista de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1- Proposta de Algoritmo diagnóstico de Sensibilidade ao Glúten não relacionada com DC..... | 5 |
| Figura 2- Nova nomenclatura e classificação proposta para distúrbios relacionados com o glúten pelo “II Consensus Conference on Gluten related disorders” realizado em Londres. | 7 |
| Figura 3- A Patogénese da DC | 9 |
| Figura 4- Composição da Superfamília das Prolaminas..... | 11 |
| Figura 5- Desenvolvimento da Teoria de “Multiple Hits”. | 14 |
| Figura 6- Mucosa Duodenal | 26 |
| Figura 7- Lesão Moderada da Mucosa Duodenal. | 27 |

Lista de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1- Achados clínicos típicos de acordo com a idade. | 18 |
| Tabela 2- Resumo dos principais achados e força de Evidência dos diferentes métodos de diagnóstico quando comparados com endoscopia com biópsia como referência..... | 22 |
| Tabela 3 - Classificação Histopatológica de Marsh-Oberhuber para a DC..... | 26 |
| Tabela 4- Comparação entre DCR tipo 1 e 2, Jejunite Ulcerativa e Linfoma de Células T associado a Enteropatia | 37 |

Lista de Siglas/Acrónimos

DC - Doença Celíaca

DCR - Doença Celíaca Refratária

IgG/M/E - Imunoglobulina G/M/E

tTG - Transglutaminase Tecidual

Anti-EMA - *Anti-Endomysial Antibodies*

Anti-DGP - *Anti-Deamidated Gliadin Peptides*

TNF- α - *Tumor Necrosis Factor α*

IL - Interleucina

IFN- γ - Interferão γ

APC - *Antigen Presenting Cells*

G-CSF - *Granulocyte-Colony Stimulating Factor*

ESPGHAN- *European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition*

MHC - *Major Histocompatibility Complex*

ADN - Ácido Desoxirribonucleico

ARN - Ácido Ribonucleico

ncARN - *non coding ARN*

FODMAP - *Fermentable oligo-, di-, monossacarídes e poliols*

NASPGHAN- *North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*

ELISA- *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

AGA - *Anti Gliadin Antibodies*

I-FABP - *Intestinal Fatty Acid Binding Protein*

LAMA- *Lactulose to Mannitol Ratio*

JAK - *Janus Kinase*

Introdução

A Doença Celíaca (DC) é uma condição autoimune inflamatória que afeta maioritariamente o intestino delgado, após a ingestão de glúten em indivíduos geneticamente suscetíveis (1).

Apresentando-se frequentemente com sintomatologia gastrointestinal típica como diarreia crónica, distensão abdominal e sintomas de má absorção, nomeadamente défices nutricionais como carência de ferro, (2,3) a sua clínica é diversa podendo não haver sintomas do foro gastrointestinal, mas sim sintomas ditos atípicos como osteoporose, astenia, artralguas, infertilidade e até défices neurológicos (4,5).

Descrita desde 250 a. C (1,6), esta patologia é hoje considerada uma “doença Iceberg”, acreditando-se que os casos diagnosticados sejam apenas uma pequena percentagem dos casos totais, (7) atingindo, ainda assim, uma prevalência de 1% da população total, (1) valor que tem vindo a aumentar nos últimos anos, e que, julga-se, se dever a um aumento real do número de casos da doença.

A fisiopatologia, ainda não compreendida na totalidade, está dependente da interação de 3 aspetos fundamentais: suscetibilidade genética, exposição a proteínas gluteínicas e fatores ambientais, participando elementos quer da imunidade inata, quer da imunidade adaptativa (8).

Para o diagnóstico da DC, o “gold standard” continua a ser a observação histopatológica de fragmentos de mucosa de intestino proximal, (9) completada, contudo, com uma avaliação que inclui pesquisas serológicas e muitas vezes tipagem HLA (1,9,10). A biópsia poderá mostrar os achados típicos de DC como aumento dos linfócitos intraepiteliais, hiperplasia das criptas e atrofia, parcial ou total, das vilosidades intestinais (6). Atualmente, a ESPGHAN, apresentou uma proposta que considera uma metodologia menos invasiva, que permite o diagnóstico de DC na ausência de biópsia intestinal, caso sejam cumpridos outros critérios específicos (11).

Até ao momento, o único tratamento eficaz no controlo da DC continua a ser uma dieta isenta de glúten (12). Esta é uma terapêutica com difícil adesão por parte dos pacientes pela dificuldade em encontrar produtos específicos, pelo preço elevado que estes ainda apresentam, pelo risco de contaminação e pelas condicionantes sociais que este tipo de dieta acarreta (12,13). Estão, por isso, a ser desenvolvidas novas abordagens no tratamento desta condição, estando já alguns fármacos em fase avançada de ensaios clínicos (14,15).

Tendo, de uma maneira geral, uma progressão benigna em pacientes que adiram ao tratamento, uma pequena percentagem pode desenvolver DC Refratária (16) ou outro tipo de complicações extraintestinais como Jejunitis Ulcerativa ou Linfoma de Células T associado a Enteropatia, casos de difícil controlo e mau prognóstico devido à falta de terapêutica verdadeiramente eficaz no seu controlo (17,18).

Enquadramento Histórico

A doença não existia previamente ao período Neolítico, tendo aparecido aquando da plantação de grãos no Crescente Fértil há cerca de 10000 anos (1,6). Posteriormente, em 250 a. C, Aretus da Capadócia usou o termo “koiliakos”, que significa “padecer dos intestinos”, para ajudar a descrever os sintomas de um grupo de doentes com dor abdominal, diarreia, fezes descoloradas e flatulência, denominando-a condição de “Celiacs”. Só em 1888 é que surgiu a primeira abordagem dietética num Hospital Pediátrico Britânico que sugeria uma dieta com poucos farináceos como a base terapêutica (6). Mais recentemente, em 1950, Margot Shiner desenvolveu a técnica da biópsia e observou pela primeira vez as alterações histopatológicas características, abrindo o caminho para Dicke e a sua equipa que relacionaram os danos da mucosa intestinal com a DC e melhoraram a abordagem terapêutica. Os últimos avanços devem-se à descoberta de anticorpos específicos relacionados com a entidade nosológica e ao estudo de alterações genéticas responsáveis pelo desenvolvimento da doença (6).

Dados Epidemiológicos

A DC é descrita muitas vezes como “doença Iceberg” na medida em que se acredita que os casos existentes, ponta do iceberg, são apenas uma pequena parte da grande quantidade de casos que se encontram sub-diagnosticados (7). Pensa-se que exista grande número de casos por diagnosticar por motivos como a existência de pessoas com sintomatologia e clínica escassas que passam à margem do diagnóstico (1) e o facto de os meios complementares de diagnóstico serem dispendiosos e de difícil aplicabilidade em algumas partes do globo (necessidade de endoscopia, anticorpos específicos e anatomo-patologistas disponíveis) (19). Ainda assim, acredita-se que, sendo esta uma das doenças genéticas mais comuns do mundo, (20) tenha uma prevalência mundial de cerca de 1% (7), existindo zonas com prevalências maiores, como a Escandinávia (aproximadamente 1,5%), o norte de África, Índia e Médio Oriente, sendo o Saharawi a zona com maior prevalência mundial (aproximadamente 5,6%); a par de zonas onde a doença é uma raridade como a Indonésia, Coreia do Sul, Filipinas e Ilhas do Pacífico, (6), facto não só atribuível à dieta com menor teor em gluteninas, mas também a diferenças no genótipo dos indivíduos.

A DC parece afetar maioritariamente o sexo feminino numa proporção 3:1 (20), e acreditando-se que esta era uma doença fundamentalmente pediátrica, são cada vez mais os casos de diagnóstico no adulto, que seguem uma distribuição bimodal com o 1º pico na quarta década (predominantemente feminino) e um 2º pico entre a sexta e a sétima década (predominantemente masculino) (1). São estes casos de diagnóstico em adultos que contribuem para o aumento da prevalência, e acredita-se que o facto de alguns países estarem a mudar os

hábitos alimentares para dietas de alto teor em glúten esteja a contribuir para um real aumento da disseminação da doença.

Classificação Doença Celíaca e outros Distúrbios relacionados com o Glúten

Para além da DC existe uma série de distúrbios que estão também associados à ingestão de produtos que contêm glúten. Essas patologias podem assumir um carácter autoimune como a Dermatite Herpetiforme e Ataxia Associada ao Glúten que, pensando-se inicialmente serem uma manifestação extraintestinal da DC, aparecem hoje como entidades nosológicas distintas, com carácter alérgico, como a Alergia ao Glúten ou, mais recentemente, uma entidade separada como é a Sensibilidade ao Glúten Não Associado a DC. Não estando ainda esclarecidos os mecanismos etiopatogénicos de todas elas, mas, estando já descritos vários aspetos em que estas se cruzam, torna-se fundamental conhecer essas entidades para melhor compreender a DC.

Doença Celíaca

Dentro do espectro da doença são reconhecidos subgrupos de acordo com as manifestações clínicas que apresentam: DC Clássica, geralmente diagnosticada em crianças com sinais típicos como diarreia, sensação de enfartamento, anemia ferropénica e perda de peso; DC Oculta ou Atípica com sintomas intestinais ausentes ou discretos, por vezes com sintomas extraintestinais, biópsia sugestiva de DC e marcadores serológicos muitas vezes positivos; DC Latente em que o estudo genético revela positividade para genes que predispõem para a doença como HLA-DQ2 e HLA-DQ8 sem que existam as características histológicas sugestivas (21).

A DC Refratária recebe esta designação quando não existe resolução dos sintomas ou normalização histológica, mesmo após uma dieta sem glúten durante 12 meses consecutivos. (6) Esta entidade pode ser classificada como primária se o doente nunca teve resposta adequada a dieta sem glúten, ou secundária se em algum ponto no passado uma dieta sem glúten levou a uma melhoria clínico-histológica. Pode ser classificada em tipo I se os linfócitos intra-epiteliais têm fenótipo normal ou tipo II se estes linfócitos apresentam um fenótipo aberrante. De ressaltar que a Doença Refratária tipo II tem um prognóstico muito reservado apresentando uma mortalidade após 5 anos a rondar os 55%, com o Linfoma de Células T Associado a Enteropatia como a principal causa de morte (6,16).

Alergia ao Glúten

Alergia ao Glúten é uma reação adversa mediada pelo Sistema Imune a proteínas contidas no glúten e outros cereais semelhantes, cuja resposta inflamatória é mediada por anticorpos de Imunoglobulina E (22). Dependendo da via de exposição ao alergénio, a Alergia ao Glúten pode ter apresentações como: Asma Ocupacional e Rinite (também conhecida como asma dos padeiros), cujos principais sintomas incluem exantema, lacrimejo, sufusão conjuntival e sintomas respiratórios como tosse, pieira, dispneia e produção excessiva de muco; Alergia Alimentar ao Glúten que sendo uma entidade rara nos adultos pode, nas crianças, apresentar-se como choque anafilático ou até mesmo morte no decorrer da ingestão de produtos que contenham glúten. Deve ser levantada a suspeita desta condição sempre que surjam sintomas como edema periorbital e das vias respiratórias, exantema e sintomas gastrointestinais como dispepsia e diarreia sem lesão histológica das mucosas; (10,22) Anafilaxia Induzida por Exercício Dependente de Glúten é uma condição que surge no decorrer da ingestão de glúten associada a cofatores como prática de exercício físico (maioria dos casos), mas também ingestão de Ácido Acetilsalicílico, outros fármacos não esteroides, álcool e infeções. As manifestações clínicas que geralmente são despoletados pela prática de atividade física 3 a 4 horas após a ingestão de produtos ricos em glúten, podem também aparecer, em situações raras, após o fim do exercício. Estas manifestações podem incluir urticaria local ou generalizada, angioedema, dispneia, prurido, sintomas gastrointestinais, broncospasmo e choque anafilático, acompanhados por elevação dos títulos de anticorpos específicos IgE (10,23).

O diagnóstico destas condições assenta em: testes cutâneos de alergia, que têm uma baixa sensibilidade explicada pelo facto dos testes comerciais virem preparados em misturas que não contêm as frações insolúveis do glúten; em ensaios in vitro de imunoglobulina E específicas; e no *gold standard* de diagnóstico, as provas funcionais, que acarretam um risco de anafilaxia. Atualmente, foi desenvolvido um teste de ativação de basófilos assistido por citometria de fluxo que parece ser uma boa alternativa nos doentes com um risco maior de anafilaxia (22).

Sensibilidade ao Glúten Não Associada a Doença Celíaca

No decorrer do séc. XX foram sendo descobertos os mecanismos biopatogénicos da DC e sendo definidos os critérios que a permitiam identificar e classificar com algum grau de rigor. Contudo, a literatura médica foi registando casos isolados de pacientes com sintomas intestinais e extra-intestinais comuns à DC e à Alergia ao glúten mas sem critérios de diagnóstico, de uma ou de outra, que melhoravam após a introdução de uma dieta isenta de glúten. (24,25). Estes foram então agrupados numa nova entidade designada por Sensibilidade ao Glúten Não Associada a Doença Celíaca. Curiosamente, parece existir uma maior ocorrência desta patologia em mulheres que tenham familiares de 1º grau com Doença Celíaca (22).

Esta entidade apresenta-se clinicamente com sintomas intestinais como dispepsia, dor abdominal, diarreia e alterações do trânsito, e sinais extraintestinais como cansaço, desorientação e cefaleias.

Sendo muito difícil um diagnóstico que não o de exclusão uma vez que não existem marcadores serológicos sugestivos, (há anticorpos anti-gliadina IgG em 25-50% dos casos, com os restantes marcadores negativos), não há dano histológico significativo registando-se apenas lesões Marsh I num número reduzido de pacientes, nem há critérios genéticos específicos (24), torna-se imperativo fazer o diagnóstico diferencial com outras patologias como Síndrome do Cólon Irritável, DC, e Alergia ao Glúten. Neste contexto foi elaborado um algoritmo diagnóstico que consiste basicamente numa prova funcional que faz sucessivas avaliações com placebos e alimentos com glúten (fig.1).

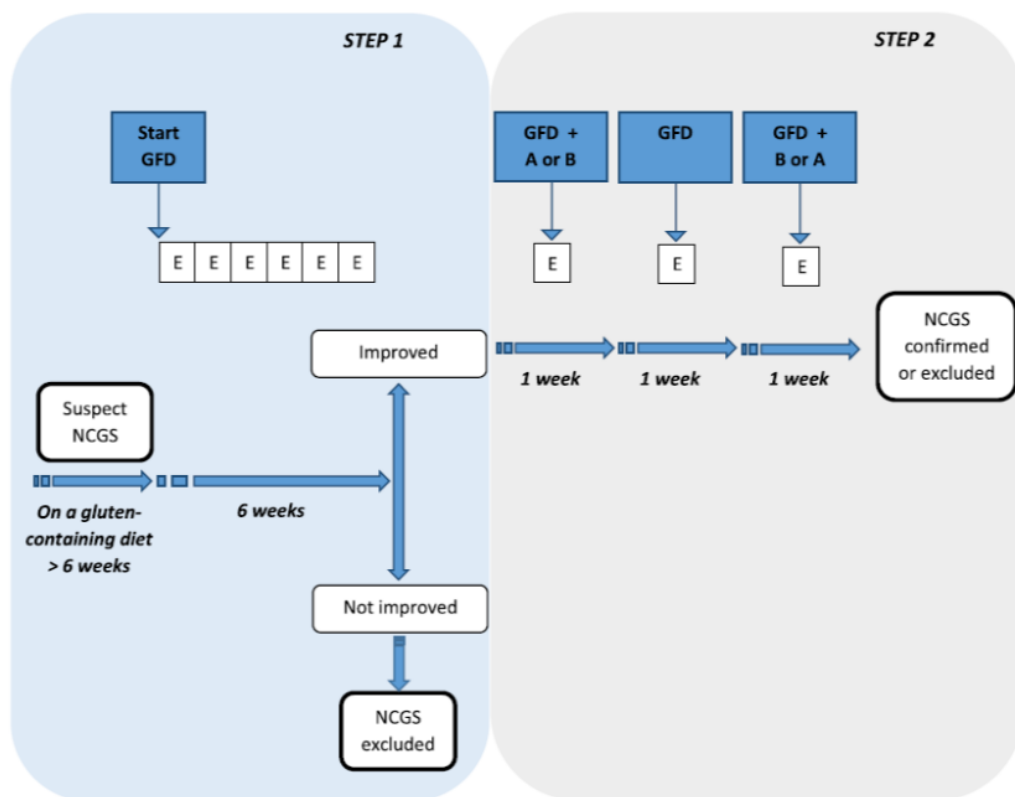


Figura 1- Proposta de Algoritmo diagnóstico de Sensibilidade ao Glúten não relacionada com DC.

A (Produto A, glúten ou placebo), B (Produto B, placebo ou glúten) e E (Questionário avaliativo)

[Bardella MT, Elli L, Ferretti F. Non Celiac Gluten Sensitivity. Curr Gastroenterol Rep. 2016;18(12):1-7. <http://dx.doi.org/10.1007/s11894-016-0536-7>]

O tratamento passa pela adoção de uma dieta isenta de glúten, sendo relatado que muitas vezes estes doentes podem também beneficiar de uma dieta baixa em FODMAPs (hidratos de carbono de cadeia curta que são fracamente absorvidos pelo intestino), o que sugere uma ligação entre algumas intolerâncias alimentares (26).

Outras Doenças Associadas à Ingestão de Glúten

Embora abordadas muitas vezes como manifestações extraintestinais da DC, a Ataxia do Glúten e a Dermatite Herpetiforme foram classificadas como patologias autoimunes associados ao glúten independentes da DC pelo “II Consensus Conference on gluten related disorders” realizado em Londres no mês de fevereiro de 2011 (Fig.2) (10).

A Dermatite Herpetiforme é uma doença do foro dermatológico caracterizada pela presença de vesículas papulares, ou herpetiformes, difusas e simétricas maioritariamente nas superfícies extensoras como os cotovelos, os joelhos e também nas nádegas ou zona sagrada, podendo, contudo, aparecer em qualquer área de superfície corporal. Na história natural desta entidade as vesículas tendem a erodir, sendo, na altura do exame físico, apenas visíveis zonas escoriadas hiperpigmentadas, o que salienta o carácter intermitente da condição (10,27). Para além das lesões dermatológicas aproximadamente 10% dos doentes refere um desconforto gastrointestinal e 65-75% apresenta atrofia intestinal típica de DC (10). O diagnóstico baseia-se na observação de depósitos fibrilares de IgA granular na pele adjacente às lesões através de imunofluorescência direta, pois as zonas afetadas revelam apenas alterações inflamatórias não específicas (28). A serologia revela os marcadores habitualmente usados no diagnóstico da DC (anti-tTG, anti-EMA, anti-GDP) (10) apresentando também, a maioria dos doentes com dermatite herpetiforme, anticorpos anti-tTG3, que podem ser usados no diagnóstico (28).

O tratamento assenta numa dieta isenta de glúten sendo que por vezes a remissão desta condição pode demorar meses ou mais. Muitas vezes tem de se associar tratamento farmacológico com dapsonas ou sulfapiridinas para melhorar os sintomas (27).

A Ataxia Associada ao Glúten é um distúrbio neurológico caracterizado pelo aparecimento de sinais neurológicos como ataxia, nistagmo, distúrbios da marcha e outras manifestações extrapiramidais muito comuns à ataxia do tipo cerebelar. Por norma não se encontram sintomas gastrointestinais (27). Na patogénese desta doença pensa-se que estejam envolvidos diversos fatores, entre eles, os défices vitamínicos, em vitamina E e vitamina B1, associados a um síndrome de mal absorção, (10) mas também um efeito tóxico exercido pela inflamação provocada pela reação cruzada de anticorpos entre as proteínas gluteínicas e as células de Purkinje (presença de anticorpos contra TG6 expressa no cérebro), (28) facto que poderá explicar a presença da ataxia ser muitas vezes do tipo cerebelar. O diagnóstico baseia-se na pesquisa de sinais imagiológicos que revelam atrofia cerebelar e pesquisa de anticorpos específicos como anti-tTG2 e anti-tTG6 (marcador relativamente específico de Ataxia do Glúten) que estão presentes em de cerca de 85% dos doentes.

O tratamento assenta na instituição de uma dieta isenta de glúten que permitirá a melhoria e estabilização da ataxia (27).

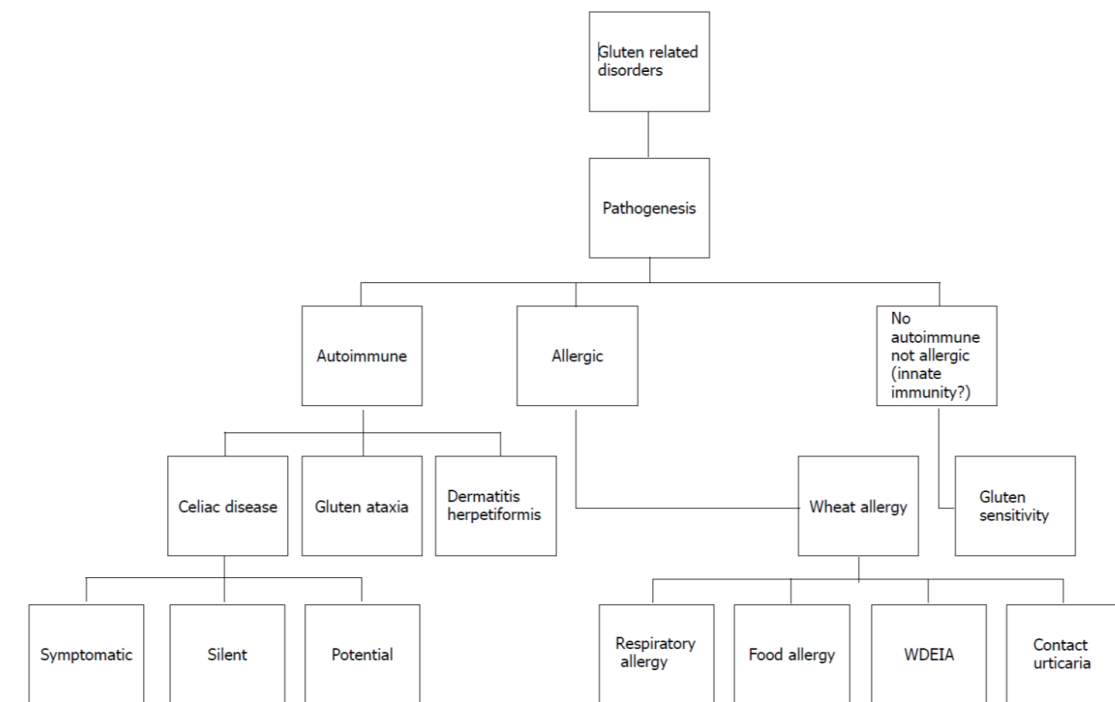


Figura 2- Nova nomenclatura e classificação proposta para distúrbios relacionados com o glúten pelo “II Consensus Conference on Gluten related disorders” realizado em Londres.

[Tovoli F, Masi C, Guidetti E, Negrini G, Paterini P, Bolondi L. Clinical and diagnostic aspects of gluten related disorders. World J Clin Cases WJCC 2015, Volume 3, pág.277]

Fisiopatologia

A DC é uma doença cujo desenvolvimento depende da interação de três aspetos fundamentais: suscetibilidade genética, exposição a proteínas específicas e influências ambientais, (8) da qual resulta uma resposta inflamatória local mediada pelos sistemas imunes inato e adaptativo, responsável pela sintomatologia e achados histológicos típicos desta doença.

O glúten é uma proteína que possui na sua constituição elevadas quantidades dos aminoácidos prolina e glutamina, sendo a prolina altamente resistente aos efeitos das proteases ao longo do tubo digestivo, facto que leva à acumulação de gliadina, fragmentos de glúten parcialmente digeridos, no interior do intestino delgado (29). Em situações em que a permeabilidade do intestino esteja aumentada, como é o caso de infeções, a expressão de zonulinas (proteínas que regulam a passagem de proteínas pela via paracelular) parece estar aumentada e é possível a gliadina aceder à lâmina própria da mucosa por via intra e paracelular. Aí sofre a ação da Transglutaminase Tecidual (tTG ou TG2), enzima que normalmente existe numa forma intracelular inativa, mas que é libertada e ativada após dano tecidual. (30,31) Esta enzima tem um papel crucial na imunopatogénese da DC sendo por um lado responsável pela síntese de um dos principais auto-anticorpos, o anticorpo anti-TG2, e por outro responsável por processos químicos como a desamidação e a transamidação do glúten (7).

A desamidação levada a cabo pela TG2 consiste na formação de um resíduo de ácido glutâmico (com carga negativa) (32) pela clivagem de um grupo amino ϵ da cadeia de glutamina, (30) processo capaz de gerar moléculas de glúten desamidado. Estas moléculas que por si só exercem um efeito tóxico sobre as células epiteliais, possuem também a particularidade de serem mais negativamente carregados, conseguindo maior afinidade com as proteínas de membrana HLA-DQ2 e HLA-DQ8, (7) moléculas do Complexo Major de Histocompatibilidade II, presentes em células apresentadoras de antígenos (APC), como os macrófagos, células dendríticas e linfócitos tipo B (8,30). Estes novos epítomos do glúten, ao serem expostos a linfócitos T CD4⁺ Th1 específicos para a gliadina, levam à produção de citocinas inflamatórias, maioritariamente IL-15 e Interferão- γ , mas também TNF- α , IL-21, IL-22, entre outros, capazes de promover a diferenciação dos linfócitos intraepiteliais em linfócitos citotóxicos CD8⁺, e de desencadear uma resposta inflamatória local, de qual resultam as características histológicas da Doença Celíaca, hiperplasia das criptas, atrofia das vilosidades e aumento dos linfócitos intraepiteliais (8). Por outro lado, os linfócitos T CD4⁺ apresentam os péptidos desamidados de

glúten a linfócitos B que, após diferenciação em plasmócitos, produzem anticorpos anti-GDP (32).

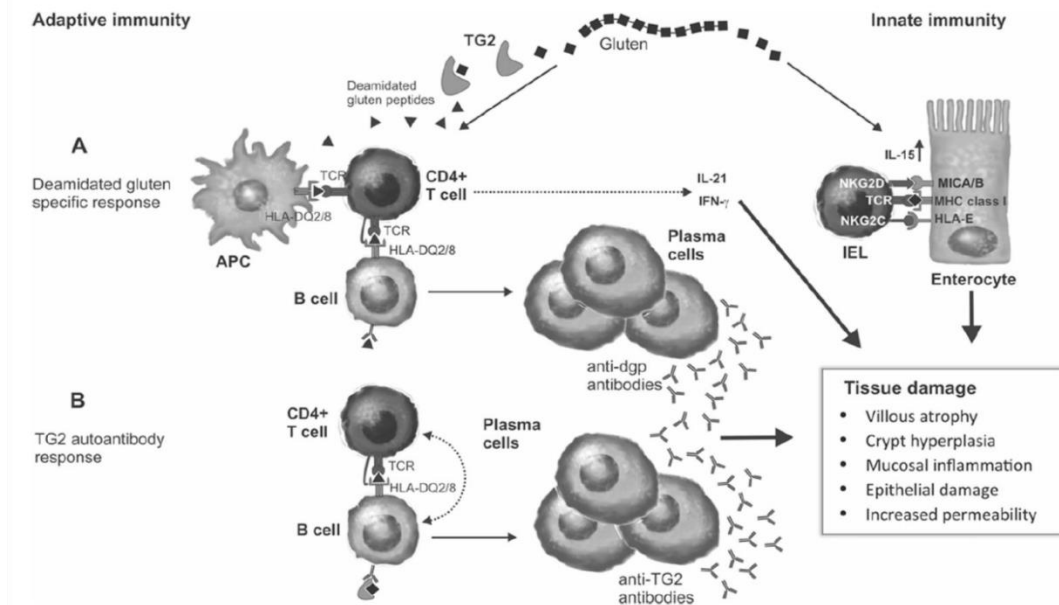


Figura 3- A Patogênese da DC envolve componentes da imunidade adaptativa e da imunidade inata. A TG2 é capaz de desamidar peptídeos derivados do glúten, aumentando assim a sua afinidade pelas moléculas HLA DQ2/8, expressas em vários tipos de células apresentadoras de antígenos. Estas células apresentadoras de antígenos apresentam os peptídeos a células T CD4 positivas específicas para o glúten que reconhecem especificamente peptídeos de gliadina desamidados. Após ativação, estas células CD4 começam uma resposta inflamatória produzindo citocinas como interferão- γ e interleucina 21. Estas células CD4 positivas também vão ajudar células B específicas para o glúten desamidado a diferenciarem-se em plasmócitos produtores de anticorpos específicos para este peptídeo. Pensa-se que a resposta TG2-anticorpo derive de uma reação cruzada envolvendo o TG2. A TG2 ainda ligada aos peptídeos de glúten, vai ser internalizada por células B reativas à TG2, degradar esse complexo, passando posteriormente a exibir na sua membrana peptídeos de glúten desamidados que vão servir de substrato para ativação destas células B por parte das células T CD4 específicas para os peptídeos, fazendo com que estas passem a produzir anticorpos contra a TG2.

Rauhavirta T, Hietikko M, Salmi T, Lindfors K. Transglutaminase 2 and Transglutaminase 2 Autoantibodies in Celiac Disease: a Review. Clin Rev Allergy Immunol 2016, pág. 7]

Como já referido, a TG2, participa também, e mais frequentemente, numa reação de transaminação da qual resulta a auto-ligação covalente de um grupo glutamina do peptídeo de gliadina a um grupo lisina da TG2, pensando-se que este possa ser um passo crucial para a produção de autoanticorpos anti-TG2 (30). Não estando ainda completamente esclarecidos os mecanismos através dos quais se geram estes anticorpos, acredita-se que a internalização dos complexos TG2-peptídeos de glúten por parte de linfócitos B sensibilizados para a TG2, possa ser um dos mecanismos possíveis. Após processos de endocitação destes complexos proteicos, vai ser permitido aos linfócitos B específicos para TG2, expressar na sua membrana, através das proteínas HLA-DQ2/8, peptídeos derivados da gliadina. Estes peptídeos são reconhecidos por linfócitos T CD4⁺ sensibilizados para derivados de glúten, que induzem os linfócitos B a diferenciarem-se em plasmócitos produtores de anti-TG2. Acredita-se que estes anticorpos, para além de serem um bom marcador da doença, possam também desempenhar um papel na patogênese da DC e de muitas das suas manifestações extra-intestinais (32).

Imunidade Inata

Sabe-se que a Imunidade Inata desempenha um papel fundamental na patogénese da DC e que decorre, principalmente, da exposição dos enterócitos aos péptidos P31-43 da gliadina (33), resultantes da ação da TG2 sobre proteínas gluteínicas condicionando lesão celular com apoptose, libertação de macrófagos e de células dendríticas, e o consequente aumento da citocina IL-15 (34).

Esta citocina vai promover a diferenciação dos linfócitos intraepiteliais em linfócitos T CD8⁺ (8), e modular a apoptose através da expressão de recetores pro e anti-apoptóticos como os NKG2D e NKG2C e NKG2A, respetivamente (32). Para além de aumentar a expressão destes recetores nos linfócitos, a IL-15 faz com que os seus ligandos também aumentem na superfície dos enterócitos, nomeadamente a proteína MICA, promovendo a sua destruição. Em paralelo age como molécula co-estimuladora na via citolítica NKG2D, libertando uma série de enzimas que destroem os enterócitos (31).

Imunidade Adaptativa

Embora ainda não se tenham descoberto todos os passos através dos quais a imunidade adaptativa participa no desenvolvimento da DC sabe-se que a Transglutaminase Tecidual e os Linfócitos T desempenham um papel preponderante na sua etiopatogénese.

Proteínas gluteínicas que consigam atravessar o epitélio de revestimento da mucosa gastrointestinal são apresentadas à TG2 que, as converte em péptidos de gliadina desamidados de maior carácter imunogénico e que, por possuírem maior carga negativa, se ligam mais fortemente às proteínas de membrana do complexo de histocompatibilidade major HLA-DQ2/DQ8 em indivíduos que geneticamente as expressam nas células APC (31). Posteriormente, as células APC, interagem com linfócitos CD4⁺ Th1 sensibilizados para as gliadinas desamidadas (8) que libertam, citocinas inflamatórias como: TNF- α , IL-1 β , IL-15, IL-21, IL-22, IFN- γ , as quais irão promover a ativação de linfócitos T CD8⁺ citotóxicos resultando em inflamação local (31). Numa reação também mediada pela interação com estes linfócitos T, linfócitos B vão-se diferenciar em plasmócitos e iniciar uma produção massiva de anticorpos tipo IgA direcionados ao glúten e à TG2 (34).

Estes anticorpos circulantes para além de marcadores fiáveis da doença, têm-se revelado como peças importantes na patogénese. Os anticorpos anti-gliadina IgA parecem ligar-se ao recetor CD71 da membrana apical dos enterócitos, escapar à degradação por parte dos lisossomas e permitir assim a transcitose de péptidos de gliadina (31). Já os anticorpos contra a TG2, que ao início se pensava atuarem via alteração da função enzimática da transglutaminase, facto não comprovado em estudos com resultados contraditórios, têm vindo a ser implicados noutras fases da etiopatogénese da doença, nomeadamente no aparecimento de muitas das manifestações extraintestinais. Nos epitélios, onde o efeito deste anticorpo foi

intensivamente estudado, foi demonstrado que este inibe a diferenciação de células T84 das criptas intestinais, reduz a ancoragem das células epiteliais à matriz TG2-fibronectina, aumenta a permeabilidade transepitelial e parece ser um fator facilitador da passagem de péptidos derivados da gliadina através da barreira epitelial. Fora das zonas epiteliais, este anticorpo, parece fazer aumentar a permeabilidade vascular (32).

Recentemente foi descoberto o papel ativo de outro tipo de linfócito T, o Th17, que através da produção de IL-17, IL-23 e IL-6 e de G-CSF (fator estimulador de formação de colónias de granulócitos), parece promover atrofia das vilosidades intestinais e fazer aumentar a população de neutrófilos, promovendo a inflamação (31,34).

Fatores Etiológicos

Fatores Alimentares

A DC só aparece se forem ingeridos produtos contendo glúten como o trigo, a cevada, o centeio e em certa medida a aveia (35). Existem algumas características na composição molecular do glúten que o parecem tornar patogénico para alguns indivíduos.

O glúten é uma das principais proteínas estruturais dos grãos (22) e obteve o seu nome devido às características que confere à massa a que dá origem que parece colar (*glue* em inglês) e ficar com propriedades mais elásticas (36).

O glúten do trigo apresenta na sua constituição gliadinas (α , γ e ω), solúveis em álcool, e gluteninas insolúveis, que são apenas parcialmente hidrolisadas pelo sistema digestivo humano, deixando assim, grandes porções desta molécula livres no intestino delgado. De grande interesse destaca-se o péptido 33-mer da α -gliadina que, como referido anteriormente, é

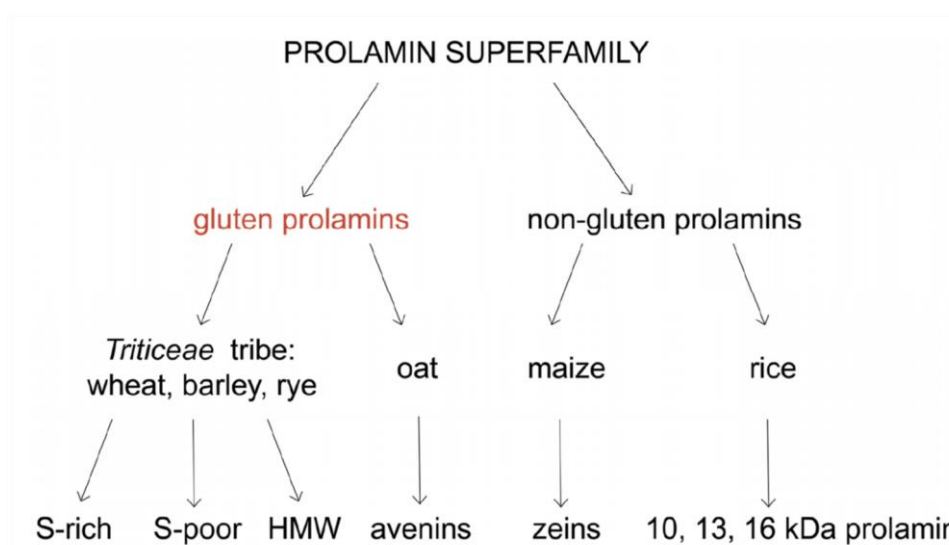


Figura 4- Composição da Superfamília das Prolaminas [Balakireva A V., Zamyatnin AA. Properties of gluten intolerance: Gluten structure, evolution, pathogenicity and detoxification capabilities. Nutrients. 2016;8(10).

altamente resistente à degradação e capaz de induzir uma resposta imunitária mediada por células T, após a sua desaminação pela tTG.

Para além do trigo, sabe-se que outras moléculas gluteínicas presentes noutros grãos são também capazes de ativar uma resposta imunitária nos doentes celíacos como as hordeínas na cevada, as secalinas no centeio e as aveninas na aveia, tendo estas últimas baixa percentagem de prolinas e resíduos de glutamina (30).

Fatores Genéticos

Complexo MHC

A DC, com vários fatores contribuindo para a sua patogénese, parece encontrar nos fatores genéticos o maior contributo para o seu desenvolvimento, (37) tendo sido demonstrado uma taxa de concordância de 80% para gémeos monozigóticos e de apenas 20% para gémeos dizigóticos. (38) Pensava-se que grande parte desta hereditabilidade fosse atribuível a genes do complexo MHC, nomeadamente, do tipo II, contudo, veio a descobri- ser que, fatores ligados com o MHC têm apenas 25% de responsabilidade no aparecimento desta condição. Depreende-se assim que esta é uma doença de origem poligénica, com uma transmissão não-Mendeliana associada a diferentes tipos de genes (38).

Proteínas do MHC, que são codificadas pelo sistema HLA no nosso código genético, mais exatamente no cromossoma 6, são proteínas que apresentam fragmentos (intracelulares capazes de ativar linfócitos T citotóxicos no caso do MHC tipo I, e extracelulares que estimulam a multiplicação de linfócitos auxiliares e conseqüentemente a proliferação de linfócitos B no caso do MHC tipo II), que, ao serem apresentados a células específicas, são capazes de induzir respostas imunes.

O risco de desenvolvimento de DC, atribuído a proteínas do MHC classe II foi relatado pela primeira vez em 1970, sendo 10 anos mais tarde descoberto que os alelos que codificam a molécula HLA-DQ2 são dos principais responsáveis pela genética da DC, (38) e que, cerca de 90% dos doentes expressa os genes DQA1*05 (cadeia alfa) e DQB1*02 (cadeia beta), esta última com *dosage effect*, sendo que existe um maior risco de aparecimento da doença caso esta cadeia seja herdada por ambos os progenitores. Nos restantes 10% existe, quase invariavelmente, a presença dos genes DQA1*03 e DQB1*03:2 que codificam a molécula HLA-DQ8, sendo, nestes casos, a positividade para estes genes, um fator predisponente ao aparecimento da doença

Recentemente, utilizando técnicas de mapeamento genético mais refinadas, percebeu-se que alterações genéticas nos locais de expressão de moléculas do MHC tipo I também parecem contribuir para o aparecimento da doença. Um facto que apoia esta premissa é a ativação de linfócitos intraepiteliais citotóxicos que reconhecem unicamente moléculas do MHC classe I, linfócitos estes, que existem em grande quantidade em fases de DC ativa (39).

Fatores de risco não atribuíveis ao MHC

Cerca de 40% da população ocidental apresenta alterações nas moléculas HLA-DQ associadas a DC, sendo que apenas 1% da população, sujeita a fatores ambientais idênticos, desenvolve a patologia (38).

Dado este facto começaram a ser procuradas características genéticas fora do MHC que pudessem também estar implicadas na patogénese da DC, sendo os primeiros passos dados através de estudos GWAS (*Genome Wide Association Studies*). Estes estudos não permitiam uma fácil perceção de alterações comuns entre indivíduos, contudo, foi através de um estudo GWAS que se descobriu o primeiro *locus* não-HLA, relacionado com a IL2/IL21, no cromossoma 4 (38).

Posteriormente, usando a plataforma *ImmunoChip*, num estudo que incluiu cerca de 12000 indivíduos, foi possível confirmar a presença de alterações nos supracitados HLA-DQ e acrescentar polimorfismos de nucleótidos únicos fora deste complexo que conferem um risco acrescido de aparecimento da doença. Estas alterações estão localizadas em regiões implicadas em processos imunes, particularmente o processo de ativação e recrutamento de células T. De ressaltar que muitas destas alterações são partilhadas com outros distúrbios autoimunes, sugerindo uma origem patogénica comum nestas doenças (39).

Ainda não estando escrutinados todos os genes que possam predispor ao aparecimento de DC, os dados disponíveis demonstram o carácter poligénico da doença.

Epigenética

O termo “epigenética” tem sido usado frequentemente nos dias que correm e refere-se a mudanças fenotípicas que ocorrem num ser vivo sem que o seu código genético seja alterado. Por exemplo, alterações ambientais poderão alterar o tipo de proteínas que este passa a exprimir ou “reprimir” para melhor se adaptar ao seu meio.

Sabe-se que muitas alterações sequenciais do ADN em indivíduos com DC não ocorrem em zonas que codificam proteínas, mas sim em zonas promotoras e reguladoras de ADN ou em zonas de ARN não codificante (ncARN), moléculas de RNA transcritas a partir do ADN não codificadas em qualquer tipo de proteína, mas com função de regulação transcricional na expressão de genes. Esta regulação é feita por um lado pela ligação a alvos de ARN mensageiro, o que vai promover a sua destruição, e por outro pela alteração dos estados da cromatina.

O primeiro estudo que analisava a correlação entre DC e ncARN analisava o perfil de micro ARN de células intestinais em 2 grupos de crianças: com DC ativa e com dieta isenta de glúten. Entre os dois grupos foi encontrado um perfil diferente de expressão de microARN, incluindo alguns que se julgam estar envolvidos na diferenciação de células caliciformes.

Um segundo estudo que avaliou o mesmo perfil em adultos pareceu concluir também que existiam diferenças na expressão de microARN em pacientes com diferentes graus de lesão histológica intestinal.

Estes dois estudos vêm por em foco a participação da epigenética no desenvolvimento da DC e do seu papel na patogênese da mesma (38).

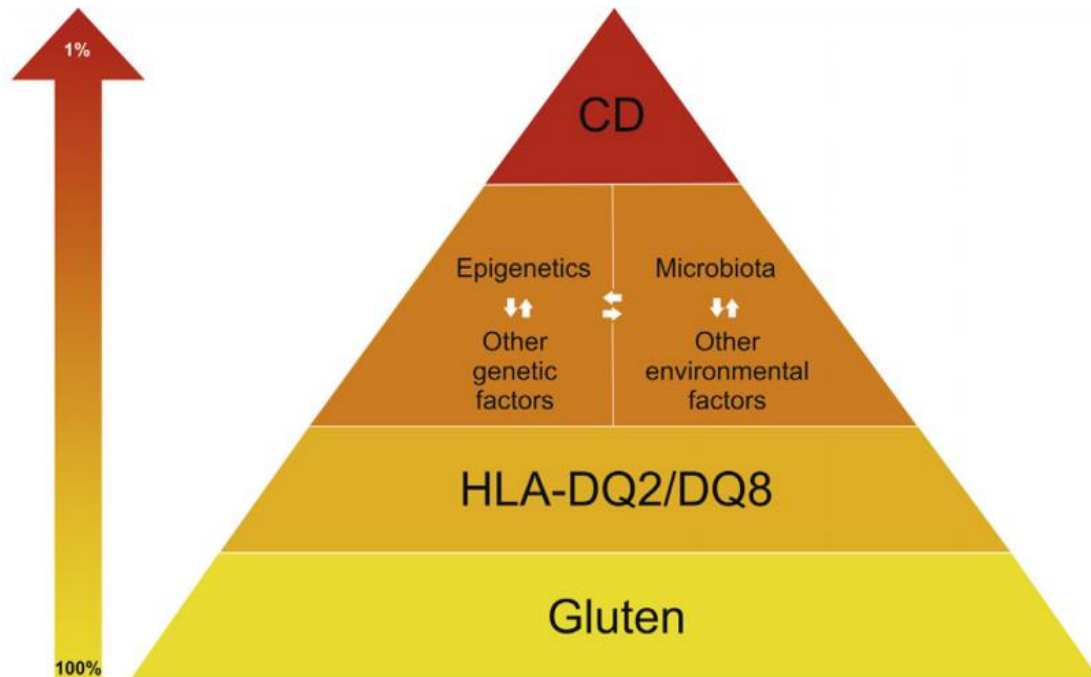


Figura 5- Desenvolvimento da Teoria de “Multiple Hits”. O glúten é a condição necessária para o desenvolvimento da DC. Os receptores HLA-DQ2/DQ8 também são outra condição virtualmente necessária para o desenvolvimento desta condição. Contudo, são necessários mais fatores para o desenvolvimento da doença: uma conjugação complexa entre outros fatores genéticos e estímulos ambientais, para além da epigenética e do microbioma que claramente também fornecem o seu contributo neste modelo patogénico.

Dieli-Crimi R, C. MC, N. C. The genetics of celiac disease: A comprehensive review of clinical implications. *J Autoimmun.* 2015;64:26-41

Fatores Ambientais

Como se pode inferir, a expressão de moléculas HLA-DQ2/DQ8 é uma condição virtualmente necessária para o desenvolvimento da DC (40) contudo, não é determinante, uma vez que existe uma grande parte da população com esta expressão, que tem uma dieta rica em glúten e não desenvolve DC, o que vem sublinhar o papel dos fatores ambientais na etiopatogénese da DC (8). Ainda que tenham surgido no passado várias hipóteses de causas ambientais como tipo de amamentação, parto vaginal vs. cesariana de emergência Vs. cesariana eletiva, mãe fumadora, etc. os dados e estudos relativos a estas hipóteses são muito discordantes, não permitindo ainda chegar a uma conclusão definitiva (41). Sabe-se, contudo, que a introdução de glúten antes dos 3 meses de idade é um fator de risco para o aparecimento de DC, pelo que muitas *guidelines* pediátricas, incluindo a da ESPGHAN (European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition), preconizam a introdução de produtos contendo glúten a partir dos 4-6 meses (31).

Dentro dos fatores ambientais também vários estudos têm referido que infecções precoces do trato gastrointestinal parecem predispor o aparecimento de DC pelo facto de aumentarem a permeabilidade do epitélio gastrointestinal e conseqüentemente a concentração de gliadinas na lâmina própria, iniciando assim o ciclo inflamatório. Tem sido também proposto um mecanismo alternativo de etiopatogénese, o “antigen mimicry”, que explica o início da resposta inflamatória com o facto de alguns epítópos de proteínas bacterianas partilharem semelhanças com epítópos de auto-antigénios e serem eles capazes de ativar células apresentadoras de antigénios, iniciando, mais uma vez, uma resposta inflamatória (31).

Sinais e Sintomas

A DC apresenta uma sintomatologia gastrointestinal típica e reconhecível pela maior parte dos médicos, contudo, existe uma quantidade significativa de doentes com esta condição que apresentam apenas sinais não específicos, ou extra-gastrointestinais como anemia, diminuição da densidade óssea e até mesmo infertilidade, o que pode dificultar o reconhecimento da entidade. Muitas destas manifestações atípicas advêm de complicações a longo prazo de DC não tratada, razão pela qual aparecem mais tipicamente em adultos, facto que contrasta com os achados nas crianças onde é observada uma maior proporção dos sintomas considerados típicos do foro gastrointestinal (5). Por este motivo torna-se pertinente dividir a clínica da criança e a clínica do adulto.

Doença Celíaca na Criança

Ainda que sejam detetados cada vez mais casos de DC em adultos, estudos mostram que, todavia, existe ainda uma maior prevalência da doença entre crianças, com início associado à introdução de glúten na dieta, sendo relatado mais frequentemente a sintomatologia clássica intestinal (42). Os sinais clássicos da DC incluem a diarreia crónica, má progressão ponderal, distensão abdominal, sintomas de má absorção como falta de ferro, vit. B12 e ácido fólico, osteopenia, e também anomalias nos testes de função hepática (3,4).

Estudos passados indicavam que, na sua grande maioria, os casos infantis de DC eram detetados antes do 1º ano de idade, contudo, diversos estudos têm vindo a mostrar que esta é uma tendência em declínio, existindo mesmo outros que relatam os 7 anos como a idade média de diagnóstico (3). Ademais, publicações Europeias e Norte Americanas, mostraram um declínio da percentagem relativa de sintomas clássicos para 15%, registando-se um crescimento na prevalência de casos atípicos e mesmo silenciosos. Isto parece ser explicado por um maior conhecimento da doença por parte dos médicos e pelo rastreio a parentes de 1º grau de indivíduos com a doença, facilitado pela disseminação de testes serológicos cada vez mais disponíveis e de sensibilidade e especificidade elevada (3,42). Outro fator relevante que parece estar a mudar o paradigma da DC é o facto de serem encontradas cada vez mais crianças com peso normal e até com excesso de peso no momento do diagnóstico, alertando para o facto de este não dever ser automaticamente descartado neste contexto.

O único fator que parece continuar inalterado desde há alguns anos é o facto da prevalência ainda ser maior no sexo feminino que no sexo masculino, sem que, contudo, tenha sido encontrado uma explicação para esta diferença (3).

Doença Celíaca nos Adultos

Nos últimos anos tem sido documentado um aumento na prevalência de casos em indivíduos adultos que, tal como referido anteriormente, apresentam diferenças na expressão clínica comparativamente às crianças, estimando-se que sintomas clássicos ocorrem em menos de 25% dos adultos. Mais uma vez, a deteção de casos assintomáticos ou oligossintomáticos que têm contribuído para este aumento, deve-se principalmente à deteção por testes serológicos específicos que detetam anticorpos anti-endomésio, anticorpos anti-transglutaminase tecidual e anticorpos anti-gliadina e permitem uma deteção eficaz da doença (de notar que os títulos de anticorpos têm uma tendência a diminuir com o aumento da idade) (5).

Nestes indivíduos é alta a presença de manifestações extraintestinais como anemia, osteoporose, astenia, artralguas, ulcerações orais, infertilidade, abortos de repetição e até mesmo sintomas de ataxia cerebelar (4,5), fazendo com que o clínico tenha de estar cada vez mais atento a sintomas subtis e não específicos para diagnosticar esta patologia. Dentro dos sintomas gastrintestinais destaca-se a dispepsia e a obstipação, que podem ser os únicos sintomas, entre outros relacionados com défices de absorção (5).

De notar que muitos doentes, essencialmente adultos, são diagnosticados não pelo tipo de sintomas, mas sim pela expressão de outra doença que pode e costuma aparecer concomitantemente com a DC. Dentro do espectro de condições que podem surgir concomitantemente destacam-se os distúrbios autoimunes sendo a Diabetes Mellitus tipo 1 o mais comumente encontrado em associação. Associam-se também outros distúrbios desta classe como a tiroidite autoimune, doença de Addison, Síndrome de Sjögren, Lúpus Sistémico Eritematoso, entre outras. Fora do espectro das doenças autoimunes encontra-se uma associação com patologia neuro-psiquiátrica como demência, depressão e ataxia do glúten e alguns casos de epilepsia. Encontra-se também documentada uma percentagem significativa de indivíduos que apresenta uma deficiência seletiva de IgA, factor que pode acarretar problemas aquando da realização de testes serológicos específicos úteis no diagnóstico da doença. Como já referido, está também documentada associação com a infertilidade (7).

O Síndrome do Cólon Irritável assume um particular interesse pois, sendo uma entidade que partilha grande número de sintomas e sinais com esta doença, após feito o seu diagnóstico, não é possível excluir automaticamente a presença concomitante de DC (43).

Atualmente tem-se ainda registado um número crescente de indivíduos que, sem preencherem critérios de diagnóstico de DC, relatam a presença de sintomas típicos como afrontamentos, dor abdominal, diarreia, obstipação e cansaço após o consumo de produtos contendo glúten, que começam uma dieta livre de glúten por iniciativa própria. Estudos apontam que a presença desta sintomatologia é muitas vezes associada ao consumo de FODMAPs e não tanto ao glúten, uma vez que este tipo de moléculas que, por sofrerem processos de formação de gás por fermentação bacteriana e terem um efeito osmótico no intestino, produzem sintomas relacionados com o trato gastrointestinal (43).

Tabela 1- Achados clínicos típicos de acordo com a idade.

Vivas S, Vaquero L, Rodríguez-Martín L, Caminero A. Age-related differences in celiac disease: Specific characteristics of adult presentation. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*

| CRIANÇAS < 2A | CRIANÇAS > 2A | ADULTOS |
|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Diarreia | Fezes moles | Dispepsia/SCI |
| Desnutrição | Défice Ferro | Défice Ferro |
| Inchaço | Dor abdominal | Obstipação |
| Vômitos | Dispepsia | Osteoporose |
| Irritabilidade | Atraso crescimento | Artrite |
| Atrofia Muscular | Enxaqueca | Hipertransaminasémia |
| Anemia | Atraso entrar Puberdade | Sintomas extraintestinas |

Métodos de Diagnóstico

Devem ser investigados para despiste de DC todos os pacientes que apresentem clínica sugestiva, ou, como têm vindo a defender alguns autores, deve ser feito o rastreio serológico a alguns grupos que parecem acarretar maior risco de desenvolver a doença, como: familiares de 1º grau, pacientes com diabetes tipo 1 e doentes com Síndrome de Down ou Síndrome de Turner em que têm sido relatadas maiores prevalências (44).

O despiste da DC pode ser feito através de diferentes tipos de exames e meios complementares de diagnóstico, sendo que, a biópsia continua a ser o *gold standard* para o diagnóstico definitivo através do estudo histológico da mucosa do intestino delgado (9). O facto da biópsia ter limitações por ser um exame invasivo, exigir elevados recursos e estar sujeita à subjetividade da interpretação morfológica e à variação inter-observador, levou ao desenvolvimento de métodos diagnósticos não invasivos como os testes serológicos com despiste de anticorpos e antígenos específicos, tipagem HLA e até marcadores serológicos de inflamação intestinal, que, pela sensibilidade e especificidade, isolados ou em conjunto, levaram alguns autores a sugerir, em grupos selecionados, a sua utilização para o diagnóstico de DC na ausência de biópsia intestinal (1,9).

Diagnóstico

Atualmente para o diagnóstico de DC usa-se uma combinação de testes serológicos com a avaliação histológica da mucosa do duodenal, existindo, contudo, variações entre as diferentes escolas, e entre a população adulta e pediátrica (10).

Para os pacientes pediátricos a NASPGHAN defende uma pesquisa inicial de anticorpos anti-tTG IgA combinada com contabilização, avaliação da IgA total, referenciação para um gastroenterologista e posterior biópsia para o diagnóstico definitivo assente em critérios histopatológicos. Já a ESPGHAN e a *British Society for Paediatrics Gastroenterology* apresentam uma proposta mais conservadora em que pode ser evitada a biópsia em pacientes com sintomatologia sugestiva e níveis de anti-tTG 10x superiores ao limite do normal, após ter sido feita a fenotipagem HLA-DQ e haver anticorpos anti-endomísio (11).

Para os adultos com sintomatologia suspeita, quer as escolas Europeias, quer as Escolas Americanas, defendem a necessidade de uma biópsia que, mesmo usando critérios e métodos padronizados, estão sujeitos a variabilidade de interpretação, pelo que devem ser sempre associados a outros parâmetros diagnósticos (11). Estes outros critérios parecem encaixar-se num paradigma “4 de 5” em que o diagnóstico é feito com base na confirmação de 4 de 5 critérios possíveis: 1- clínica concordante; 2- serologia positiva; 3- presença de alelos HLA-DQ2 ou HLA-DQ8 positivos; 4- biópsia duodenal sugestiva; 5- melhoria dos sintomas após introdução de uma dieta livre de glúten (10).

De ressaltar que muitas vezes são necessárias biópsias e serologias de repetição não só para confirmação do diagnóstico como para acompanhar a evolução natural da doença e a correta adesão a um tratamento eficaz (11).

Métodos Serológicos

Anticorpos anti-tTG

Como já referido, a tTG, é uma enzima responsável pela desaminação de péptidos de glúten, processo essencial para a patogénese da DC, contudo, a origem destes anticorpos e se eles têm um papel ativo direto no desenvolvimento da doença, continua alvo de debate (8).

Uma titulação de valores de anti-tTG é muitas vezes o primeiro passo no diagnóstico, uma vez que, tendo a vantagem de ser um método não invasivo e de fácil acesso, tem elevada especificidade e sensibilidade, superior a 95% (20). Estes anticorpos parecem também ter utilidade na avaliação do dano intestinal, estando documentada uma correlação positiva de elevada fidelidade entre o grau de dano intestinal histológico e a presença em níveis elevados de anticorpos (45). Esta correlação é tão forte que levou a novas *guidelines* como as da ESPGHAN, que dispensam a realização de biópsia em crianças e adolescentes que tenham uma titulação de anticorpos anti-tTG 10x superior ao limite (com EMA e tipagem HLA adequada) (45).

O principal isótopo da doença celíaca é o IgA, o que comprova a origem intestinal da doença, contudo, devido a uma alta prevalência de défice seletivo de IgA entre doentes celíacos tende-se a pesquisar anticorpos IgG (9).

A interpretação dos valores deste anticorpo deve ser feita de forma crítica pois existem alguns fatores que os podem enviesar. Em primeiro lugar ter em atenção que os valores absolutos encontrados são diferentes entre a população pediátrica e a população adulta, sendo que, nesta, para além de serem geralmente mais baixos, (5) estão mais sujeitos a variações interindividuais. Em segundo lugar, notar que, pelo facto deste exame ser realizado usando o método ELISA, o resultado vai ser afetado pela qualidade dos antigénios usados nos diferentes testes comerciais disponíveis (44). Em terceiro lugar ter atenção à possibilidade de seroconversões espontâneas. Por último não esquecer que a presença deste anticorpo foi documentada nalgumas condições como doença hepática, infeção gastrointestinal e nalgumas condições cardíacas (44).

O anticorpo anti-tTG é atualmente uma poderosa e indispensável arma no diagnóstico da DC, sendo necessário, contudo, mais estudos e o melhoramento de técnicas laboratoriais para que este, sozinho ou em combinação, consiga ultrapassar a biópsia num diagnóstico definitivo, principalmente na população adulta. (9)

Anticorpos anti-endomísio

O endomísio é uma camada de tecido conjuntivo que circunda as fibras musculares e, em 1984, foi detetada por fluorescência a presença de auto-anticorpos dirigidos contra este tecido no esófago de macacos (8, 28)

A pesquisa deste anticorpo é feita por imunofluorescência indireta, o que faz com que este não esteja facilmente disponível em todos os laboratórios e, também necessite de experiência por parte dos mesmos para a interpretação dos resultados (9,28). A positividade do exame vai resultar num padrão tipo “rede de peixe” observado em imunofluorescência.

Sendo este um exame que requer alguns recursos, a especificidade de 98-100%, faz com que seja muito bom a detetar casos que escapam à deteção com anti-tTG, sendo também referida positividade em indivíduos com biópsia negativa, que vêm a desenvolver DC (9). Deve-se, tal como na pesquisa contra anti-tTG, ter atenção ao facto de que cerca de 2-3% dos doentes celíacos terem uma deficiência seletiva de IgA que vai influenciar os resultados da pesquisa. (8)

Anticorpos anti-DGP

Anticorpos contra péptidos de gliadina desamidada da classe IgG parecem ter substituído largamente os testes que usavam anticorpos contra gliadina dada a maior especificidade e sensibilidade (46). Ainda que algumas escolas como a Francesa ainda não defendam o uso sistemático deste anticorpo no diagnóstico da DC, quer o Colégio Americano de Gastreenterologia quer a ESPGHAN recomendam nas suas *guidelines* a pesquisa de anticorpos anti-DGP IgG em doentes com deficiência seletiva de IgA ou em situações em que a dosagem total de IgA não esteja disponível (47).

Este anticorpo tem particular interesse no rastreio de crianças com idade inferior a 2 anos que se apresentem anti-tTG negativas, uma vez que a seroconversão de anticorpos anti-DGP precede a seroconversão de anti-tTG nos testes serológicos (46-48).

Mesmo tendo sido provada sensibilidade e especificidade elevadas, na ordem dos 90%, este ainda não conseguiu destronar os testes que usam anticorpos IgG contra a transglutaminase tecidual (48).

Anticorpos anti-gliadina

No passado, os anticorpos anti-gliadina (AGA) eram usados para estabelecer o diagnóstico de DC, o que, no presente, já não se verifica devido a uma mais baixa sensibilidade e especificidade comparativamente a outros testes mais modernos como os anticorpos anti-tTG. A medição IgA dos AGA via ELISA tem hoje apenas utilidade no diagnóstico de crianças

com menos de 18 meses, população onde estes anticorpos parecem ter uma maior sensibilidade e especificidade (8, 49).

A presença destes anticorpos parece não ser específica da DC estando presentes em pacientes com ataxia do glúten, artrite reumatoide, síndrome de Sjögren, Lúpus Eritematoso Sistêmico e até mesmo em 2-8% de pessoas saudáveis. Recentemente tem sido usada para diagnosticar doentes com Sensibilidade ao Glúten não Associada a Doença Celíaca após terem sido descartadas outras causas dado que está presente em cerca de 50% destes pacientes (49).

Tabela 2- Resumo dos principais achados e força de Evidência dos diferentes métodos de diagnóstico quando comparados com endoscopia com biópsia como referência.

John M. Eisenberg Center for Clinical Decisions and Communications Science. Diagnosis of Celiac Disease: Current State of the Evidence. Comp Eff Rev Summ Guid Clin]

| Test | Study Type | No. of Studies (Population) | Sensitivity (%) (95% CI) | Specificity (%) (95% CI) | PPV (%) (95% CI) | NPV (%) (95% CI) | Summary | SOE |
|---|-------------------|-----------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------|------------------------|--|-----|
| tTG IgA | Systematic review | 1 (M) | 93.0 (91.2 to 94.5) | 96.5 (95.2 to 97.5) | NA | NA | Excellent sensitivity and specificity | ●●● |
| | | 1 (C) | 96.4 (94.3 to 97.9) ^a | 97.7 (95.8 to 99.0) ^a | | | | |
| | Other | 16 | 92.5 (89.7 to 94.6) ^b | 97.9 (96.5 to 98.7) ^b | 89.4 (88.3 to 90.5) | 99.0 (98.8 to 99.1) | | |
| EmA IgA | Systematic review | 1 (M) | 68.0 to 100.0 | 77.0 to 100.0 | NA | NA | Lower sensitivity but equal specificity to tTG IgA tests | ●●● |
| | | 1 (C) | 82.6 to 100.0 | 98.2 (96.7 to 99.1) | | | | |
| | Other | 7 | 79.0 (71.0 to 86.0) | 99.0 (98.4 to 99.4) | 78.9 (71.0 to 85.5) | 99.1 (98.6 to 99.5) | | |
| DGP IgA | Systematic review | 1 (M) | 87.8 (85.6 to 89.9) | 94.1 (92.5 to 97.5) | NA | NA | Not as accurate as tTG IgA tests in adults and older children | ●●● |
| | | 1 (C) | 80.7 to 95.1 | 90.7 (87.8 to 93.1) | | | | |
| | Other | 2 (M) | 97.0; 96.0 | 90.7; 96.0 | NA | NA | | |
| DGP IgG in children and adults who are not IgA deficient ^c | Systematic review | 1 (A) | 75.4 to 96.7 | 98.5 to 100.0 | NA | NA | Not as sensitive as tTG IgA tests in patients who are not IgA deficient | ●●○ |
| | | 1 (C) | 80.1 to 98.6 | 86.0 to 96.9 | | | | |
| | Other | 1 (M) | 95.0 | 99.0 | NA | NA | | |
| HLA-DQ2 or HLA-DQ8 | Other | 2 | 100.0; 100.0 | 18.2; 33.3 | NA | NA | Excellent sensitivity Useful test to rule out rather than diagnose celiac disease | ●●● |
| Video capsule endoscopy | Systematic review | 1 | 89.0 (82.0 to 94.0) | 95.0 (89.0 to 99.0) | NA | NA | Very good sensitivity and excellent specificity | ●●○ |

^a Sensitivity and specificity values are for point-of-care testing.

^b Sensitivity and specificity values were obtained from pooled analyses after excluding data for threshold levels greater than those used in clinical practice (40 U/mL).

^c Evidence was insufficient regarding the accuracy of DGP IgG in individuals with IgA deficiency.

95% CI = 95-percent confidence interval; A = adults only; C = children only; DGP = deamidated gliadin peptide; EmA = endomysial antibodies; HLA = human leukocyte antigen; IgA = immunoglobulin A; IgG = immunoglobulin G; M = mixed (adults and children); NA = not applicable; NPV = negative predictive value; PPV = positive predictive value; SOE = strength of evidence; tTG = tissue transglutaminase

Outros Testes e Novos Biomarcadores

Para além dos testes levados a cabo em laboratórios existem já no mercado alguns testes rápidos que avaliam a presença de alguns anticorpos contra anti tTG ou DGP.

Um desses testes, que avalia a presença de anticorpos anti TG2, é feito a partir da hemólise de uma gota de sangue obtida do paciente e, tal como nos testes serológicos, foi encontrada uma elevada sensibilidade e especificidade. Esta é uma forma de se avaliar rapidamente a adesão a uma dieta isenta de glúten.

Por outro lado, numa tentativa de ultrapassar os testes serológicos e segundo o princípio de que os anticorpos estão presentes noutros fluidos corporais, está a tentar encontrar-se um teste que consiga detetar fielmente anticorpos específicos na saliva. Ainda que com necessidade de refinamento, este teste da saliva tem mostrado resultados promissores.

Estão ainda a ser investigados novos biomarcadores que poderão também ter um papel promissor no diagnóstico da DC como o I-FABP, proteína que é libertada para a corrente sanguínea no decorrer de lesão intestinal e parece estar aumentada em doentes celíacos não tratados. Também a deteção de microARNs específicos que reflitam uma microbiota intestinal alterada poderão permitir uma fenotipagem típica de DC (28).

Biópsia Endoscópica

Durante décadas a endoscopia com recolha de amostra para avaliação histológica era o único método de diagnóstico da DC, contudo, devido ao crescente número de casos, e também às limitações inerentes a esta técnica, criou-se uma pressão no sentido de se desenvolverem métodos serológicos que permitam substituir a técnica mais invasiva. No caso da população pediátrica, fatores como a necessidade de anestesia geral para realização de endoscopia e recolha de amostras, motivou uma adoção mais urgente de critérios diagnósticos que permitissem ultrapassar este método, tal como os adotados pela ESPGHAN. Nos próximos anos é possível que se continue a discussão e se tentem implementar critérios não invasivos na população adulta (28).

A endoscopia é um procedimento diagnóstico que permite uma avaliação da mucosa intestinal através da observação direta. Para além da avaliação macroscópica que permite detetar padrões endoscópicos não específicos, como o de tipo mosaico (28), este é um exame que permite a colheita de fragmentos para exame anatomopatológico. Sendo uma técnica que requer consideráveis recursos é o método de excelência para a avaliação de patologia do trato gastrointestinal e, mesmo sendo invasivo, não tem grande número de complicações, mas exige experiência por parte do executante (50).

Quando comparada com a população pediátrica, a população adulta apresenta diferenças características que tornam difícil o diagnóstico sem exame endoscópico. A população adulta tem sintomas e sinais menos exuberantes, critérios analíticos mais parcos e também menor expressividade histológica. Adultos sintomáticos, com títulos alterados podem apresentar 1 de 2 tipos de enteropatias na biópsia duodenal: uma com diferentes graus de atrofia das vilosidades e aumento dos linfócitos intraepiteliais, muito sugestiva de DC, ou uma enterite linfocítica, sem alteração do padrão vilositário, que pode ser causada por etiologias independentes da DC como infeção por *Helicobacter pylori*, toma de anti-inflamatórios não esteroides, infeções ou Doença de Crohn. Neste último tipo de enteropatia, mesmo após estudo adicional não invasivo, apenas a realização de biópsias adicionais após a adoção de uma dieta isenta de glúten, vai permitir afirmar o diagnóstico de DC. Adultos que se apresentem com

dispepsia, realizam rotineiramente uma endoscopia independentemente do estado serológico da DC de forma a despistar causas mais graves de patologia do trato gastrointestinal. Este tipo de fatores, tornam o uso generalizada da endoscopia a prática comum na população adulta (51).

Até recentemente, as *guidelines* existentes sugeriam fazer biópsia endoscópica a todas as crianças sintomáticas com serologias positivas para anticorpos específicos, ou mesmo negativas serologicamente, mas com sintomatologia altamente sugestiva, uma vez que as titulações serológicas sofrem alterações em diversas fases da doença. A apresentação de uma alternativa por parte da ESPGHAN veio alterar o paradigma propondo um diagnóstico em que não é necessário a realização de biópsia, contudo, verificou-se que a adoção deste modelo tem uma adesão que pode flutuar entre os 9 e os 43% por parte dos clínicos (51).

Esta falta de adesão, principalmente por parte dos gastroenterologistas americanos, mas não só, é motivada pela falta de dados relativos à realidade americana que comprove a eficácia deste modelo. A falta de uma padronização dos testes serológicos a nível mundial, o custo e o tempo necessários para alguns dos testes como a pesquisa de anticorpos anti-EMA ou exames de genotipagem HLA e os encargos que um doente com um diagnóstico errado acarreta, representam fatores que parecem fazer com que a biópsia ainda seja um método de escolha extremamente usado (51).

Como a DC apresenta alterações histológicas ao longo de todo o intestino delgado, diferentes áreas podem apresentar diferentes graus de lesão, pelo que é recomendado a colheita de pelo menos uma amostra da zona do bulbo mais, pelo menos quatro biópsias de zonas mais distais do duodeno, não biopsando apenas áreas macroscopicamente lesadas (52). Alguns favorecem a não colheita de amostras do bulbo dado que a presença de glândulas de Brunner pode dificultar a interpretação histológica (52).

Estão a ser investigadas, e algumas já a ser implementadas, técnicas que pareçam melhorar a sensibilidade da endoscopia como: a técnica de imersão de água onde é aspirado o ar do duodeno e posteriormente instilados entre 100-150mL de água, o que parece aumentar o contraste das estruturas da mucosa; a endomicroscopia confocal, onde um pequeno laser é incorporado na ponta do endoscópio para uma avaliação macroscópica e microscópica simultânea; a coloração da mucosa também permite uma melhor visualização do intestino delgado (28).

Em alguns pacientes não dispostos a realizar endoscopia ou para avaliação macroscópica de Doença Celíaca Refratária, pode usar-se a cápsula endoscópica que, obviamente, permite a observação direta da mucosa, mas não possibilita a recolha de amostras (28).

Classificação Histopatológica

Na DC, como na maior parte das entidades nosológicas, o *gold-standard* diagnóstico é o exame anatomopatológico. Isto torna a definição de critérios morfológicos bem como a aplicação dos mesmos um problema relevante entre patologistas. A subjetividade é inerente a todo o processo interpretativo e a interpretação histológica, não fugindo à regra, levanta problemas de variação inter e intraobservador em diversas áreas da patologia, nomeadamente na DC.

Os critérios de classificação histopatológica, em permanente revisão e atualização, são a arma de que os patologistas se socorrem para um diagnóstico padronizado. Ao longo da história da DC foram propostos vários modelos de classificação anatomopatológica, sendo o modelo proposto por Marsh, (53) posteriormente modificado por Oberhuber, o mais utilizado atualmente (54,55).

A classificação Marsh (53) descreve quatro tipos de lesões: Tipo 1, infiltrativa, em que se observa um maior número de linfócitos intraepiteliais; Tipo 2, infiltrativo-hiperplásico, caracterizado por um aumento do número de linfócitos intraepiteliais acrescido de uma hiperplasia das criptas intestinais; Tipo 3, destrutivo, em que se verificam todas as características anteriores mais atrofia das vilosidades; Tipo 4, atrófica/hipoplásica, com um número normal de linfócitos intraepiteliais, e criptas atróficas e ausência de vilosidades (56). Em 1999 Oberhuber, numa revisão ao sistema classificativo de Marsh, subdividiu o tipo 3 em 3a, 3b e 3c, significando atrofia moderada, marcada e total respetivamente (56). Atualmente, usam-se técnicas de imunocitoquímica para pôr em evidência a presença e a localização dos linfócitos T CD3+ (52,55).

A morfometria avançada na qual variáveis como altura das criptas, proporção de profundidade e contagem de linfócitos intraepiteliais são medidas em separado, conferindo a este método elevado grau de precisão (28).

Tabela 3 - Classificação Histopatológica de Marsh-Oberhuber para a DC.

Odze RD, Goldblum JR, editors. Odze and Goldblum surgical pathology of the GI Tract, liver, biliary tract, and pancreas 3rd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015

| CLASSIFICAÇÃO DE MARSH-OBERHUBER PARA A DOENÇA CELÍACA | | | |
|--|---|--------------|-----------------------|
| Tipo | Linfócitos intraepiteliais / 100 células epiteliais | Criptas | Aparência Vilosidades |
| Pré-infiltrativo <u>Tipo 0</u> | Normal <40 | Normal | Normal |
| Infiltrativo <u>Tipo 1</u> | >40 | Normal | Normal |
| Hiperplásico <u>Tipo 2</u> | >40 | Hipertrófico | Normal |
| Destrutivo <u>Tipo 3a</u> | >40 | Hipertrófico | Atrofia moderada |
| Destrutivo <u>Tipo 3b</u> | >40 | Hipertrófico | Atrofia severo |
| Destrutivo <u>Tipo 3c</u> | >40 | Hipertrófico | Destruição |
| Atrófico <u>Tipo 4</u> | >40 | Atrófico | Destruição |

Histopatologia

Uma mucosa duodenal normal apresenta uma relação entre altura de vilosidades sobre profundidade das criptas numa razão entre 3:1 e 5:1, sendo ainda normal encontrar a presença de cerca de 20 linfócitos intraepiteliais por cada 100 células epiteliais. Na lâmina própria encontram-se plasmócitos, linfócitos e eosinófilos ocasionais (57).

As lesões do tipo Infiltrativo e Hiperplásico distinguem-se da lesão Pré-infiltrativa pela presença de maior número de Linfócitos Intraepiteliais, sendo que, na lesão tipo infiltrativo a arquitetura da mucosa duodenal ainda se encontra preservada. Na lesão do tipo Hiperplásico as criptas da mucosa duodenal apresentam-se alongadas. Tanto a lesão Hiperplásica como a Infiltrativa podem ser vistas em doentes celíacos, em familiares de 1º grau de doentes celíacos e doentes com Dermatite Herpetiforme, pelo que o estabelecimento do diagnóstico de DC sem a presença de outros dados clínicos se torna muito difícil.

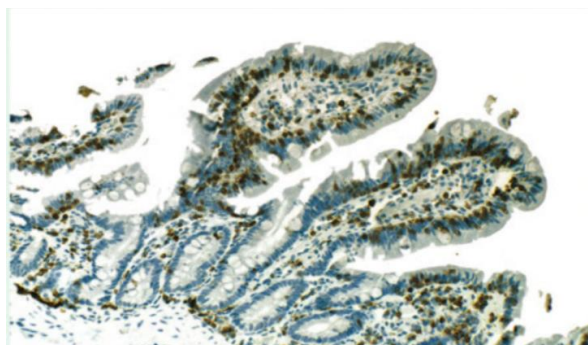


Figura 6- Mucosa Duodenal com arquitetura das vilosidades preservada e aumento dos linfócitos intraepiteliais mais evidente no topo das vilosidades

Odze RD, Goldblum JR, editors. Odze and Goldblum surgical pathology of the GI Tract, liver, biliary tract, and pancreas 3rd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015

Nas lesões do tipo Destrutivo, considerada a lesão clássica da DC, existe destruição da arquitetura normal da mucosa duodenal por diminuição da altura das vilosidades combinada com hiperplasia das criptas. Nas amostras é passível de se encontrar uma sobreposição de classificação 3a, 3b e 3c ao fazer uma avaliação anatomopatológica. Nos casos mais severos, 3c, observa-se depleção de mucina, aumento dos núcleos e destruição do epitélio colunar (57).

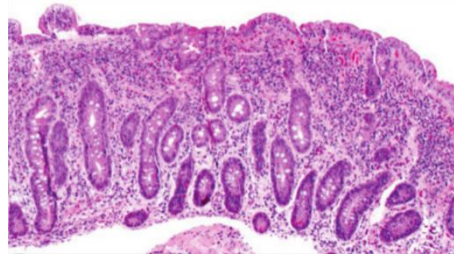


Figura 7- Lesão Moderada da Mucosa Duodenal com atrofia das vilosidades e hiperplasia das criptas

Odze RD, Goldblum JR, editors. *Odze and Goldblum surgical pathology of the GI Tract, liver, biliary tract, and pancreas* 3rd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015

As lesões do tipo Atrófico são raríssimas e semelhantes às lesões encontradas na DC Refratária, que muitas vezes está associada à não adesão a uma dieta isenta de glúten

Genotipagem HLA-DQ

As moléculas HLA-DQ são proteínas do tipo MHC classe II presentes nas membranas de células apresentadoras de antígenos cuja função é o reconhecimento de antígenos. A molécula, um heterodímero, é composta por uma subunidade α e por uma β . Por norma uma pessoa produz 2 tipos diferentes de cada subunidade, conseguindo produzir 4 isoformas diferentes de moléculas HLA-DQ, cada uma com afinidades diferentes para diferentes tipos de célula. Estas moléculas são importantes nos processos de imunidade adquirida e no desenvolvimento de tolerância a auto-antígenos que, quando perdida, pode gerar doenças autoimunes como a DC.

Em casos clinicamente suspeitos, com aumento do número de linfócitos intraepiteliais e marcadores serológicos negativos é necessário excluir em absoluto DC para se fazer o diagnóstico diferencial com outras entidades. É aqui que a genotipagem HLA-DQ adquire elevada importância dado o valor preditivo negativo de cerca de 100% (58).

O genótipo não permite afirmar que estes indivíduos irão desenvolver DC, mas é útil no rastreio de indivíduos de alto risco, nomeadamente com Diabetes Tipo 1, Síndrome de Down ou Síndrome de Turner, permitindo afirmar, com grau de certeza, que esta não se desenvolverá em casos negativos (58).

Tratamento

Sidney Haas, um pediatra americano, foi dos primeiros a obter resultados positivos quando tratou uma série de crianças com a chamada “dieta da banana”. Também, durante a II Guerra Mundial, numa época de escassez de produtos relacionados com centeio, um médico Holandês, apercebeu-se que o estado de saúde de crianças com DC tinha melhorado, tendo-lhe, em 1952, sido reconhecido o mérito de relacionar o aparecimento da doença com a ingestão de proteínas do centeio (6).

Atualmente, e desde há décadas, o único tratamento verdadeiramente eficaz e disponível para o tratamento da DC é uma dieta isenta de glúten. A adesão a este tipo de dieta nem sempre é fácil, quer pela dificuldade em encontrar produtos com glúten, quer pelos défices nutricionais a que o consumo destes alimentos pode levar. Para além disso, o facto da *Food and Drug Administration*, considerar produtos “sem glúten” aqueles que contenham até 20 partes por milhão de glúten, indivíduos suscetíveis a esta pequena quantidade, correm algum risco de, mesmo seguindo uma dieta rigorosa (12).

Pelas dificuldades supracitadas, pelo número crescente de doentes diagnosticados nos últimos anos e pela dificuldade em manter a doença estável, principalmente em adultos, tornou-se importante novas abordagens para o tratamento da doença (59). Os primeiros passos, decorrentes do melhor entendimento da patogénese da DC, envolvem principalmente novos fármacos que, na sua maioria, se encontram em fases de teste, mas que parecem ser promissores para um futuro próximo (59).

Dieta Isenta de Glúten

Na atualidade são cada vez mais as pessoas que adotam uma dieta sem glúten, mesmo sem pertencer a uma das 3 condições que o exigem, DC, Sensibilidade ao Glúten e Alergia ao Glúten, sob o pretexto de praticar uma alimentação mais saudável, o que pode, nem sempre, ser o caso, fazendo com que a indústria dos produtos sem glúten seja das indústrias alimentares com maior crescimento no mundo (60). Dentro dos produtos contendo glúten podemos incluir todos aqueles derivados do trigo, cevada e centeio.

De facto, uma dieta isenta de glúten continua a ser o melhor método para controlar os sintomas, melhorar a condição histopatológica e os resultados serológicos da DC, fazendo diminuir a probabilidade de desenvolver as complicações associadas à DC, nomeadamente o, Linfoma de Células T Associado a Enteropatia, a probabilidade de desenvolver adenocarcinoma do intestino delgado e até mesmo o risco de morte (60). Podem, contudo, existir problemas quer na disponibilidade de produtos de qualidade sem glúten, quer decorrentes da própria aplicação deste tipo de regime alimentar.

Em primeiro lugar, os produtos classificados como “sem glúten” têm uma tendência a ser mais caros e a estar menos disponíveis que os seus homólogos com glúten, não existindo, na maior parte das vezes, qualquer tipo de apoio, governamental ou outro, nos custos destes alimentos, o que torna o tratamento de difícil acesso a alguns estratos sociais (15).

Em segundo lugar a qualidade dos produtos isentos de glúten nem sempre é a melhor quer, devido a défices de macro e micronutrientes, quer, devido ao teor relativo de glúten que alguns ainda parecem ter. De uma maneira geral, este tipo de produtos, parece, ironicamente, estar associado a um maior risco de obesidade (que se tem vindo a verificar nos últimos anos entre os doentes celíacos), devido a um elevado índice glicémico e à elevada concentração de lípidos saturados (61). Em concomitância são observados défices vitamínicos como de vitamina B12, D e B6, carências iónicas como magnésio, zinco, cálcio e ferro e muitas vezes falta de fibra (61,62). Por estes motivos é fortemente recomendado aconselhamento junto de nutricionistas assim como reavaliações periódicas do estado nutricional dos doentes (61).

Dentro da qualidade dos produtos ditos sem glúten, há que ter a noção que, tendo o Codex Alimentarius definido o rótulo “isento de glúten” com um *cut-off* de 20ppm, existem variações locais para atribuição deste rótulo dentro de diversos países, que podem variar de 3ppm na Austrália, Nova Zelândia e Chile, até outros países como Itália, Espanha, Canadá, Estados Unidos da América e Reino Unido que decidiram adotar o limite do Codex como o aceitável (60). Sabe-se que existe uma grande variabilidade no espectro da DC e que, até quantidades muito reduzidas de glúten podem ser suficientes para provocar sintomas em alguns doentes (12). A causa destas quantidades residuais muitas vezes assenta no facto de que muitas cozinhas e outras instalações, mesmo usando produtos adaptados, os cozinham em equipamento partilhado com produtos contendo glúten, resultando num fenómeno de contaminação (60).

Em terceiro lugar, é relatado um decréscimo na qualidade de vida destes doentes, em parte devido às limitações sociais a que ficam sujeitos, principalmente os adultos que parecem ter maior dificuldade em aceitar o diagnóstico (13). Para além disso, são descritas situações de aumento de ansiedade entre estes doentes (60). É contudo reconhecido que, de uma maneira geral, as crianças tendem a aceitar melhor o diagnóstico e possuem melhor qualidade de vida (63).

Uma dieta isenta de glúten pode ser um tratamento de difícil adesão com algumas questões complexas que precisam ser consideradas e resolvidas aquando da sua implementação. Na maioria dos casos, os médicos de Medicina Geral e Familiar não possuem as competências necessárias para aconselharem efetivamente os doentes Celíacos pelo que é indicado reencaminhar estes doentes para tratamento especializado de forma a obterem um melhor aconselhamento possível (62).

Novos Tratamentos e Tratamento Farmacológico

Ainda que uma dieta isenta de glúten seja, até à data, o único método aprovado para o tratamento a longo prazo da DC, as questões que a sua implementação acarreta, fizeram com que fossem sido estudados métodos farmacológicos para o tratamento da doença e dos seus sintomas e, ainda que não exista atualmente nenhum fármaco aprovado para o tratamento desta patologia, existem já alguns que se encontram em fases de ensaios clínicos (14,15). As várias propostas de novos tratamentos podem ser divididas em 3 classes: terapias intraluminais como ingestão de grãos de glúten geneticamente modificados, os inibidores das zonulinas, enzimas orais e inibidores da transglutaminase; terapias imunossupressoras, como as terapias direcionadas a elementos específicos da cascata inflamatória da Doença Celíaca; Imunoterapias como a vacina Nexvax2 (12,13).

Reguladores da Permeabilidade Paracelular Intestinal

Doentes com DC revelam um defeito na regulação do transporte por via paracelular, verificando-se, nestes doentes, um aumento da permeabilidade entre células epiteliais quando expostas ao glúten, passo fundamental na patogénese desta doença (59).

O Acetato de Lorazitido, também conhecido como AT-1001, é um octapéptido sintético relacionado com uma toxina produzida pela bactéria *Vibrio Colerae*, que, ao atuar localmente, reduz a permeabilidade intestinal ao bloquear os recetores de zonulina prevenindo assim o rearranjo na conformação da actina em resposta a estímulos, como a presença de glúten (14,59).

Não tendo ainda conseguido passar para a fase III de estudos clínicos, os resultados obtidos em vários ensaios de fase II fizeram com que se começassem a desenhar propostas para avançar para uma fase III (12). Dos estudos já feitos concluiu-se que este fármaco, para além de ter um perfil de segurança e efeitos adversos comparáveis aos do placebo, parece ter reduzido os sintomas quer em pacientes submetidos ao “*gluten challenge*” quer em pacientes somente em regime de dieta isenta de glúten (62). Contudo, usando o método LAMA (exame que permite avaliar a permeabilidade intestinal avaliando a excreção de manitol e lactulose), foram observados resultados desanimadores no que diz respeito ao aumento da permeabilidade provocada por glúten (14,62). Assim, não tendo para já indicação para o uso em doentes com DC, este fármaco parece apresentar aspetos promissores no que diz respeito à melhoria dos sintomas e qualidade de vida destes pacientes (14).

Glutenases

Como já referido, o glúten, contém na sua constituição alto teor de prolínas e glutaminas, fazendo com que esta molécula seja apenas parcialmente hidrolisada pelo trato gastrointestinal, permitindo assim que as porções imunogénicas fiquem expostas e desencadeiem uma resposta inflamatória típica desta condição (64). Sabendo que existem numerosos fungos e bactérias como *Aspergillus niger*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Sphingomonas capsulata* e *Myxococcus xanthus* que produzem prolil-endopeptidases, enzimas específicas capazes de degradar as porções não digeríveis pelo ser humano, começou a investigar-se a hipótese de usar preparados orais de glutenases numa tentativa de reduzir ou prevenir, a apresentação de péptidos imunogénicos no intestino delgado (15,64).

A ALV003 é uma preparação oral que resulta da combinação 1:1 de ALV001 (endopeptidase cisteínica EP-B2 derivada do endosperma da cevada em germinação) e de ALV002 (prolil-endopeptidase da bactéria *Sphingomonas capsulata*) que foi estudada em diversos ensaios de fase I e fase II (59). Nos primeiros ensaios de fase I foi comprovada a segurança e a reduzido número de efeitos adversos (59), sendo que num dos estudos de fase II se concluiu que a toma de ALV003 foi capaz de reduzir as lesões intestinais provocadas pelo glúten em pacientes numa dieta isenta de glúten que mesmo assim contenha até 2g de glúten diárias. Diversos ensaios de fase II estão a decorrer no momento de forma a avaliar possíveis aplicações no futuro (59,64).

Vacina para o Glúten

Está atualmente a ser desenvolvida uma vacina que pretende provocar uma dessensibilização ao glúten, provocando tolerância a esta proteína por parte de doentes Celíacos. A vacina Nexvax2 foi testada em estudos clínicos de fase I que revelaram a presença de efeitos adversos como náuseas e vómitos, efeitos que foram sugeridos pelos autores do estudo como resultado da ativação do sistema imune semelhante a uma exposição ao glúten (59,65).

Uso de grãos geneticamente modificados

Grãos modificados geneticamente de forma a serem deletadas zonas altamente imunogénicas de certos loci do glúten, nomeadamente no cromossoma 6 e no cromossoma 1, e também grãos selecionados especificamente por possuírem baixo número de porções capazes de ativar linfócitos T, têm vindo a ser estudados no sentido de vir a ser possível introduzir alimentos geneticamente modificáveis que sejam inócuos para os doentes celíacos (62).

Inibidores da Transglutaminase

A transglutaminase desempenha um papel crucial na patogénese da Doença Celíaca dado que, ao participar na desaminação do glúten, participa na consequente ativação de células inflamatórias via HLA DQ2/8. Existem 3 classes de inibidores da transglutaminase: inibidores competitivos, inibidores reversíveis e inibidores irreversíveis (13).

Dentro dos inibidores competitivos, a Cistamina, mostrou-se capaz de bloquear a proliferação de células T que respondiam à apresentação de proteínas gluteínicas em culturas *ex vivo* de células do intestino delgado de doentes com DC. Também a KCC009, um inibidor reversível, foi testado em ratos tendo sido mostrada uma boa disponibilidade oral e elevada eficiência na inibição da transglutaminase (59).

De uma maneira geral, estes estudos ainda em fase embrionária no que toca a uma aplicação prática deste tipo de agentes em humanos, mostram uma elevada eficácia no que diz respeito à inibição da tTG, contudo, levantam questões quanto à segurança do seu uso dado que esta enzima participa noutras ações fisiológicas humanas, nomeadamente na inflamação, sendo necessária pesquisa de inibidores da transglutaminase cada vez mais específicos para a transglutaminase intestinal (13,59).

Imunomoduladores

Têm sido desenvolvidas estratégias para minorar a atividade inflamatória provocada pelas células T na Doença Celíaca, tendo-se optado por duas classes de fármacos: os corticoides e os fármacos biológicos (13,59). Este tipo de terapia torna-se ainda mais importante no controlo da DC Refratária, quer tipo I, quer tipo II, em cujo tratamento estão também incluídos anti-inflamatórios, imunossuppressores, agentes quimioterapêuticos e terapia com transplante autólogo de células estaminais (62).

O Budonésido (glicocorticoide) tem revelado eficácia clínica quer em doentes com DC Refratária, quer não refratária, tendo a contrapartida de atuar preferencialmente na porção distal do intestino delgado (13).

Inibidores não específicos das JAK como o Tofacitinib, que atuam através da redução dos níveis de IL-15, que já foram aprovados para o tratamento de doença como a Artrite Reumatóide, mostraram particular interesse na DC pelo facto de se ter conseguido reverter a inflamação intestinal típica da doença em ratos (59). Ainda direcionados a esta interleucina estão em fase de estudo anticorpos monoclonais dirigidos a esta proteína, não tendo sido, para já, obtidos resultados positivos (13).

Tem sido encontrado de forma consistente um aumento do número de linfócitos T periféricos que expressam o recetor CCR9 em doentes celíacos, tendo sido testadas hipóteses

de tratamento com inibidores deste recetor como o CCX282-B, e sido realizados estudos que ainda aguardam publicação de resultados (59).

Tem-se investigado também o efeito de agonistas IL-10, anticorpos anti-IFN- γ , anticorpos anti-TNF- α como o Infliximab, anticorpos anti-CD20 entre outros, existindo, tal como muitos descritos até agora, necessidade de se comprovar eficácia nos casos de DC (59).

Microbioma e terapia baseada em Nemátodos

Estão comprovadas alterações específicas da flora microbiana intestinal nalguns doentes Celíacos com doença ativa ou a seguirem uma dieta isenta de glúten, tendo sido sugeridas terapias moduladoras usando probióticos/antibióticos, não existindo até ao momento qualquer evidência científica para o uso de formulações específicas para estes pacientes (65).

De acordo com a hipótese da higiene, infeções crónicas, incluindo infeções parasitárias intestinais, ajudam a regular o sistema imunitário e a prevenir doenças autoimunes como alergias (59). Recentemente, um estudo clínico envolvendo 12 doentes celíacos adultos que foram inoculados com o nemátodo *Necator americanus*, obteve resultados positivos mostrando melhorias na qualidade de vida, alteração do score Marsh e da contagem de linfócitos intraepiteliais e redução de células T que expressam IFN γ . Não se podem desconsiderar alguns efeitos adversos decorrentes desta terapia como anemia, que deve ser antecipada e tratada (65).

Sequestradores de Gliadina

Foi desenvolvido um polímero sintético não absorvível, BL-7010, cujo objetivo é a sequestração de péptidos de gliadina no lúmen do intestino delgado prevenindo, desta forma, a sua absorção e posterior reação imunogénica e inflamatória (62). Tendo já sido feitos estudos *in vivo* usando ratos como modelos, é necessário aguardar pelos resultados de estudos de fase I e II para verificar a eficácia e aplicabilidade do fármaco.

Manifestações extraintestinais

Ainda que os casos clássicos de Doença Celíaca se apresentem predominantemente com os sintomas típicos desta condição como diarreia, flatulência e défices nutricionais e de minerais, os casos considerados atípicos apresentam-se com sintomas predominantemente extraintestinais que incluem estomatite aftosa, osteopatia, diabetes mellitus e problemas relacionados com a fertilidade (4). Como já referido, a Dermatite Herpetiforme e a Ataxia Associada ao Glúten foram classificadas como patologias associadas ao glúten independentes da DC pelo “*II Consensus Conference on gluten related disorders*” realizado em Londres no mês de fevereiro de 2011, pelo que não devem ser agrupadas com as restantes complicações extraintestinais da Doença Celíaca (63).

Infertilidade

Pela primeira vez em 1970 foi descrita uma relação entre infertilidade e doentes celíacos tendo sido posteriormente realizados vários estudos numa tentativa de melhor elucidar esta hipótese (66).

De uma maneira geral a DC não é pesquisada em casos de Infertilidade feminina não explicada (cerca de 15% na realidade Norte Americana), sabendo-se, contudo que a prevalência de DC nestes casos pode chegar a percentagens que variam entre os 4-8% (67). Não estando ainda definida uma causa, a falta de minerais e micronutrientes, nomeadamente zinco, selénio, ferro, folato e vitamina B12, parece ser responsável em parte por estes casos, para além de estar associado a outras complicações ginecológico-obstétricas como menarca precoce, amenorreia e antecipação da menopausa, abortos espontâneos e recorrentes e partos pré-termo associados a baixo peso fetal (66,67).

Não existindo para já normas que recomendem o rastreio de DC, existem já relatos na literatura médica que o recomendam, alertando que a infertilidade pode ser uma primeira manifestação retardada de uma mulher com DC, por vezes com mais de 10 anos de evolução. Nestes casos tem-se mostrado útil a implementação de uma dieta isenta de glúten para melhorar os parâmetros de infertilidades (66,67).

Osteoporose e Baixa Densidade Mineral óssea

A osteoporose é uma doença sistémica caracterizada por baixa densidade óssea e deterioração da arquitetura óssea com conseqüente aumento do risco de fraturas e fragilidade nos ossos, diagnosticada através de osteodensitometria (68). Osteoporose, juntamente com densidade mineral baixa e osteopenia são complicações frequentes de doentes celíacos, podendo os seus efeitos ter repercussões quer na população adulta com o aumento do risco de

fraturas, quer na população pediátrica onde o crescimento e estatura final podem estar alterados (69). A causa desta condição parece ser multifatorial estando implicado em primeiro lugar o déficit de absorção de cálcio, vitamina D e outros minerais constituintes da massa óssea como o zinco, seguido de um efeito direto de citocinas pró-inflamatórias que desregulam a formação e reabsorção óssea, e finalizando com os defeitos endócrinos como o hiperparatiroidismo secundário e o hipogonadismo (68).

Tendo alguns estudos mostrado que quer doentes sintomáticos, quer doentes assintomáticos apresentem níveis mais baixos de densidade mineral óssea no momento do diagnóstico, o tratamento com uma dieta isenta de glúten parece ajudar ao aumento do pico de massa óssea (68,69).

Complicações

Na maioria dos casos, os doentes celíacos, respondem positivamente ao tratamento baseado numa dieta isenta de glúten, contudo, existe uma percentagem que continua a demonstrar sintomas típicos desta condição mesmo após o início do tratamento e, ainda que na maioria dos casos a persistência de sintomas se deva a uma fraca adesão ao tratamento, existem casos minoritários onde esta se deve a DC Refratária verdadeira (16).

Nalguns casos de DC Refratária mais agressivos, a persistência de inflamação intestinal e agressão contínua da mucosa intestinal parecem predispor o aparecimento de outras das duas grandes complicações da DC: a Jejunite Ulcerativa e o Linfoma de Células T associado a Enteropatia (17). Todas estas condições são raras e sem um regime terapêutico padronizado e cientificamente comprovado (18).

Doença Celíaca Refratária

A DC Refratária, com uma prevalência que varia entre os 0,3-10% dentro dos doentes Celíacos, é atualmente classificada como persistência de sintomas de má absorção em conjunto com atrofia das vilosidades que persistem após 1 ano de se ter iniciado uma dieta isenta de glúten (70). A doença apresenta um pico de incidência na 6ª década de vida, estando o sexo feminino maioritariamente afetado (2).

Sendo uma identidade heterogénea, a DC Refratária, pode inicialmente ser dividida em primária quando não responde a uma dieta isenta de glúten desde o início da doença, ou secundária, quando já respondeu ao tratamento adequado, mas que deixou de responder (70). Mais importante que esta distinção em primária e secundária, é a classificação em tipo 1 e 2, sendo que a primeira, bastante mais prevalente, apresenta populações de linfócitos intraepiteliais de fenótipo normal, enquanto que a segunda apresenta populações aberrantes de linfócitos intraepiteliais (2,70). Ainda que a presença de linfócitos intraepiteliais com um

imunofenótipo aberrante deva apontar prontamente para DC Refratária tipo 2, estes podem ocorrer em indivíduos normais, sabendo-se ainda que as características mais comuns são a perda de CD8 de membrana e expressão de CD3 intracelular (2,70).

Também para efeitos de prognóstico é muito importante distinguir as duas entidades uma vez que a DC Refratária tipo 2 tem uma mortalidade ao fim de 5 anos de cerca de 55%, contra os 7% da DC Refratária tipo 1 (16), facto explicado pela associação com Jejunite Ulcerativa e Linfoma de Células T associado a Enteropatia (70). Ainda que a DC Refratária tipo 1 também possa evoluir para Linfoma de Células T associado a Enteropatia este acontecimento é muitíssimo mais raro e associado a uma taxa de sobrevivência correspondente de <90% (2).

O diagnóstico é desafiador e muitas vezes de exclusão pelo que deve ser feita uma avaliação clínica, histopatológica, laboratorial e radiológica, de forma a ser possível distinguir os dois subtipos (16). Para a avaliação fenotípica dos linfócitos intraepiteliais usam-se técnicas imunohistoquímicas e de citometria de fluxo (2). Outro aspeto importante é a necessidade de se descartar a presença de Linfoma de Células T associado a Enteropatia, sendo sugerida a realização de endoscopia por cápsula e métodos imagiológicos como a ressonância magnética (71).

Para o tratamento inicial de ambos os tipos de DC Refratária são usados corticosteroides, budenosido, estando descritos diferentes taxas de sucesso entre a literatura (2). O tratamento da DC Refratária tipo 2 é muitas vezes mais complexo, existindo centros especializados que obtiveram resultados bastante positivos associando prednisolona com uma tiopurina (azatioprina, mercaptopurina ou tioguanina) (16). O tratamento da DC Refratária continua a ser bastante complexo, pelo que, o doente deve ser reencaminhado para centros especializados onde possa receber um tratamento mais personalizado e adequado à sua doença e co-morbilidades.

Linfoma de Células T associado a Enteropatia

O Linfoma de Células T associado a Enteropatia é um tipo raro e agressivo de linfoma de células T extranodal que, originando-se no trato gastrointestinal, representa cerca de 10-25% dos linfomas primários desta zona (17). Podendo-se dividir em tipo I e II, sabe-se que o tipo I está fortemente associado com a DC, parecendo a sua génese estar relacionada com a inflamação na mucosa provocada por esta patologia, facto que é corroborado pelo aparente aumento do risco em doentes com um diagnóstico tardio (17).

Perda de peso associado a um agravamento da dor abdominal e dos episódios de diarreia num doente com história de sensibilidade ao glúten devem fazer levantar a suspeita de Linfoma de Células T associado a Enteropatia, sendo por vezes, situações urgentes como obstrução ou perfuração intestinal o sintoma inicial desta condição (17).

Não existe para já um tratamento padronizado desta condição sendo a cirurgia usada frequentemente como método quer diagnóstico quer de tratamento, seguido, por vezes, de quimioterapia, num contexto prognóstico de menos de 10 meses indicado pela maioria dos estudos realizados (17).

Jejunite Ulcerativa

Jejunite Ulcerativa é outra complicação conhecida da DC e é caracterizada pela presença de lesões ulcerativas no intestino delgado, sendo o jejuno proximal a principal localização. Apresenta-se com febrícula, défices nutricionais e sintomas de má absorção, podendo por vezes complicar-se com perfuração e hemorragia (71).

O tratamento cirúrgico pode levar a uma remissão a longo prazo, especialmente em casos em que as lesões se circunscrevem a apenas 1 segmento do intestino (71).

Tabela 4- Comparação entre DCR tipo 1 e 2, Jejunite Ulcerativa e Linfoma de Células T associado a Enteropatia.

Malamut G, Cellier C. Refractory celiac disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;8(3):323-8.]

| Investigation | Refractory coeliac disease | | Ulcerative jejunitis | Enteropathy-associated T-cell lymphoma |
|--|---|---|--|--|
| | Type 1 | Type 2 | | |
| Intra-epithelial lymphocyte (IEL) phenotype | More than 70% of IELs are surface CD3 ⁺ and CD8 ⁺ | Majority have an aberrant IEL CD3 ⁺ /CD8 ⁻ phenotype and rarely have normal CD3 ⁺ and CD8 ⁺ | Mucosal ulceration with villous atrophy and IEL in adjacent mucosa | Neoplastic cells are CD3 ⁺ and large cell variants are CD30 ⁺ ; background IELs are mostly phenotypically abnormal (CD3 ⁺ /CD8 ⁻) |
| Histopathology | Identical to any Marsh classification of coeliac disease | Marsh ≥ II | Mucosal ulceration with villous atrophy and IEL in adjacent mucosa | Infiltration of medium-sized or large pleomorphic lymphoid cells |
| T-cell receptor gamma gene rearrangement polymerase chain reaction | Polyclonal | Monoclonal | Monoclonal | Monoclonal |

Prognóstico

A literatura relativamente à mortalidade dos doentes com DC é contraditória, existindo estudos que sugerem que estes doentes possuem taxas e causas de mortalidade semelhantes à população em geral, e outros que, por exemplo, sugerem um risco dobrado de aparecimento de cancro com conseqüente diminuição da esperança de vida (8,72). Contudo, uma análise de risco competitivo, que comparava as causas de morte entre doentes celíacos e a população geral concluiu que estes doentes não têm um maior risco de desenvolver cancro ou patologia respiratória, cardiovascular ou digestiva quando comparados com a população geral, denotando apenas um risco mínimo acrescido de 0,15% de morrer por linfoma não-Hodgkin até 10 anos após o diagnóstico (73).

O aparecimento de DC Refratária e de outro tipo de complicações como o de Linfoma de Células T associado a Enteropatia, levam a um prognóstico muito mais grave e desfavorável como acima referido (2).

Conclusão

A Doença Celíaca é uma condição que, já afetando uma considerável população e vendo atualmente um número crescente de casos, necessita de ser investigada e abordada com maior atenção dado que, muitas vezes, se apresenta de maneira atípica e diferente daquela que os profissionais de saúde poderão estar à espera.

Uma dieta isenta de glúten continua a ser o único tratamento disponível para a tratar e, tendo-se a noção que, esta é um tipo de dieta cada vez mais popular na sociedade atual, mesmo entre pessoas que não apresentem esta condição, continua a ser um tratamento que acarreta dificuldades económicas e muitas vezes nutricionais, resultando, como se tem vindo a assistir, num aumento de casos de obesidade entre celíacos, o que suporta o manejo multidisciplinar destes casos, nomeadamente com acompanhamento de nutricionista.

A nova abordagem diagnóstica proposta pela ESPGHAN é cada vez mais atrativa na população pediátrica e apresenta elevadas percentagens de sensibilidade e especificidade, permitindo um diagnóstico menos invasivo e que poderá permitir menos encargos para o SNS. No paciente adulto, a biópsia, associada a métodos serológicos, continua a ser o melhor método diagnóstico e deve ser pedida sem receio pois, um diagnóstico atempado e precoce com instituição de tratamento permite um prognóstico mais favorável no que diz respeito a uma menor progressão para DC Refratária, Jejunite Ulcerativa e Linfoma de Células T associado a Enteropatia, que continuam a ser as complicações mais temíveis da DC.

As novas terapias em desenvolvimento, embora ainda não recomendadas para um uso sistemático, parecem promissoras no que diz respeito, não à cura da doença, mas sim à melhoria dos sintomas e respetiva qualidade de vida destes doentes no futuro.

Bibliografia

1. Disease C. Celiac Disease. October. 2007;1326(September):1731-43.
2. Woodward J. Improving outcomes of refractory celiac disease: Current and emerging treatment strategies. *Clin Exp Gastroenterol*. 2016;9:225-36.
3. Shahraki T, Hill ID. Clinical spectrum of celiac disease in children in sistan and Baluchestan province. *Arch Iran Med*. 2016;19(11):762-7.
4. Karaca N, Yilmaz R, Aktun LH, Batmaz G, Karaca Cetin. Is there any relationship between unrecognized Celiac disease and unexplained infertile couples? *Turkish J Gastroenterol*. 2015;26(6):484-6.
5. Vivas S, Vaquero L, Rodríguez-Martín L, Caminero A. Age-related differences in celiac disease: Specific characteristics of adult presentation. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* [Internet]. 2015;6(4):207-12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26558154><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4635160>
6. Mocan O, Dumitrașcu DL. The Broad Spectrum of Celiac Disease and Gluten Sensitive Enteropathy. *Clujul Med* [Internet]. 2016;89(3):335. Available from: <http://www.clujulmedical.umfcluj.ro/index.php/cjmed/article/view/698>
7. Ciccocioppo R, Kruzliak P, Cangemi GC, Pohanka M, Betti E, Lauret E, et al. The spectrum of differences between childhood and adulthood celiac disease. *Nutrients*. 2015;7(10):8733-51.
8. Green PHR, Lebwohl B, Greywoode R. Celiac disease. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2015;135(5):1099-106. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2015.01.044>
9. Mills JR, Murray JA. Contemporary celiac disease diagnosis: is a biopsy avoidable?. *Curr Opin Gastroenterol* [Internet]. 2016;32(2):80-5. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=prem&NEWS=N&AN=26784474>
10. Tovoli F, Masi C, Guidetti E, Negrini G, Paterini P, Bolondi L. Clinical and diagnostic aspects of gluten related disorders. *World J Clin Cases WJCC* [Internet]. 2015;3(3):275-84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4360499/><http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4360499/pdf/WJCC-3-275.pdf>

11. J.F. L, L. A, C. C, S.E. C, M.G. G, P.H.R. G, et al. Transition from childhood to adulthood in coeliac disease: The Prague consensus report. *Gut* [Internet]. 2016;65(8):1242-51. Available from: <http://gut.bmj.com/content/by/year%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed14&NEWS=N&AN=20160346660>
12. Wungjiranirun M, Kelly CP, Leffler DA. Current Status of Celiac Disease Drug Development. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2016;(March):1-8. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ajg.2016.105>
13. Szaflarska-Poplawska A. Non-dietary methods in the treatment of celiac disease. *Prz Gastroenterol*. 2015;10(1):12-7.
14. Khaleghi S, Ju JM, Lamba A, Murray JA. The potential utility of tight junction regulation in celiac disease: focus on larazotide acetate. *Therap Adv Gastroenterol* [Internet]. 2016;9(1):37-49. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26770266>
15. Freeman HJ. Emerging drugs for celiac disease. *Expert Opin Emerg Drugs*. 2015;20(1):129-35.
16. Nasr I, Nasr I, Beyers C, Chang F, Donnelly S, Ciclitira PJ. Recognising and managing refractory coeliac disease: A tertiary centre experience. *Nutrients*. 2015;7(12):9896-907.
17. Ondrejka S, Jagadeesh D. Enteropathy-Associated T-Cell Lymphoma. *Curr Hematol Malig Rep* [Internet]. 2016;11(6):504-13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11899-016-0357-7>
18. Van De Water JMW, Nijeboer P, De Baaij LR, Zegers J, Bouma G, Visser OJ, et al. Surgery in (pre)malignant celiac disease. *World J Gastroenterol*. 2015;21(43):12403-9.
19. Horwitz A, Skaaby T, Kårhus LL, Schwarz P, Jørgensen T, Rumessen JJ, et al. Screening for celiac disease in Danish adults. *Scand J Gastroenterol* [Internet]. 2015;50(7):824-31. Available from: <http://10.0.12.37/00365521.2015.1010571%5Cnhttp://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=aph&AN=102579875&site=ehost-live>
20. Hawamdeh H, Al-Zoubi B, Al Sharqi Y, Qasrawi A, Abdelaziz Y, Barbar M. Association of Tissue Transglutaminase Antibody Titer with Duodenal Histological Changes in Children with Celiac Disease. *Gastroenterol Res Pract*. 2016;2016.
21. Freeman HJ. Celiac disease: A disorder emerging from antiquity, its evolving classification and risk, and potential new treatment paradigms. *Gut Liver*. 2015;9(1):28-37.

22. Elli L, Branchi F, Tomba C, Villalta D, Norsa L, Ferretti F, et al. Diagnosis of gluten related disorders: Celiac disease, wheat allergy and non-celiac gluten sensitivity. *World J Gastroenterol*. 2015;21(23):7110-9.
23. Scherf KA, Brockow K, Biedermann T, Koehler P, Wieser H. Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*. 2016;46(1):10-20.
24. Bardella MT, Elli L, Ferretti F. Non Celiac Gluten Sensitivity. *Curr Gastroenterol Rep* [Internet]. 2016;18(12):1-7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11894-016-0536-7>
25. Liao F, Xu H, Torrey N, Road P, Jolla L. *HHS Public Access*. 2015;2(74):1613-5.
26. Cui C, Basen T, Philipp AT, Yusin J, Krishnaswamy G. Celiac disease and nonceliac gluten sensitivity. *Ann Allergy, Asthma Immunol* [Internet]. 2017;118(4):389-93. Available from: <http://dx.doi.org/doi:10.1136/bmj.h4347>
27. Leffler DA, Green PHR, Fasano A. Extraintestinal manifestations of coeliac disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2015;12(10):561-71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2015.131>
<http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrgastro.2015.131>
28. Kurppa K, Taavela J, Saavalainen P, Kaukinen K, Lindfors K. Novel diagnostic techniques for celiac disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2016;4124(February):1-11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26838683>
29. Koning F. Recent insight in the pathophysiology of coeliac disease: Relevance to rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2015;33:8-10.
30. Balakireva A V., Zamyatnin AA. Properties of gluten intolerance: Gluten structure, evolution, pathogenicity and detoxification capabilities. *Nutrients*. 2016;8(10).
31. Agarwal S, Kovilam O, Zach TL, Agrawal DK. Immunopathogenesis and therapeutic approaches in pediatric celiac disease. *Expert Rev Clin Immunol* [Internet]. 2016;8409(March):1-13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26999328>
32. Rauhavirta T, Hietikko M, Salmi T, Lindfors K. Transglutaminase 2 and Transglutaminase 2 Autoantibodies in Celiac Disease: a Review. *Clin Rev Allergy Immunol* [Internet]. 2016;1-16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12016-016-8557-4>
33. Barone MV, Zimmer KP. Endocytosis and transcytosis of gliadin peptides. *Mol Cell Pediatr* [Internet]. 2016;3(1):8. Available from: <http://www.molcellped.com/content/3/1/8>
34. Murch S. Recent Advances in Celiac Disease. *Indian J Pediatr*. 2016;83(12-13):1428-35.

35. Pellegrini N, Agostoni C. Nutritional aspects of gluten-free products. *J Sci Food Agric*. 2015;95(12):2380-5.
36. Barak S, Mudgil D, Khatkar BSS. Biochemical and Functional Properties of Wheat Gliadins: A Review. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2015;55(3):357-68. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24915383>
37. Torinsson Naluai Å. The influence of heredity versus environment on coeliac disease. *Gut* [Internet]. 2016;65(11):1779-80. Available from: <http://gut.bmj.com/lookup/doi/10.1136/gutjnl-2016-312185>
38. Dieli-Crimi R, Cénit MC, Núñez C. The genetics of celiac disease: A comprehensive review of clinical implications. *J Autoimmun*. 2015;64:26-41.
39. Marco Sarno, Valentina Discepolo, Riccardo Troncone RA. Risk factors for celiac disease.
40. Kuja-Halkola R, Lebwohl B, Halfvarson J, Wijmenga C, Magnusson PKE, Ludvigsson JF. Heritability of non-HLA genetics in coeliac disease: a population-based study in 107 000 twins. *Gut* [Internet]. 2016;gutjnl-2016-311713. Available from: <http://gut.bmj.com/content/early/2016/05/20/gutjnl-2016-311713.full>
41. Scripts L. HHS Public Access. 2015;20(10):1878-91.
42. Balaban V, Popp A, Vasilescu F, Ene A, Jinga M. Celiac Disease Phenotype in Clinically Diagnosed Romanian Adults and Children. *Maedica -a J Clin Med Maedica A J Clin Med J Clin Med*. 2016;11(116):109-14.
43. van Gils T, Nijeboer P, Ijssennagger CE, Sanders DS, Mulder CJJ, Bouma G. Prevalence and characterization of self-reported gluten sensitivity in The Netherlands. *Nutrients*. 2016;8(11):1-9.
44. Ludvigsson JF, Card TR, Kaukinen K, Bai J, Zingone F, Sanders DS, et al. Screening for celiac disease in the general population and in high-risk groups. *United Eur Gastroenterol J* [Internet]. 2015;3(2):106-20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25922671>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4406899>
45. Di Tola M, Marino M, Goetze S, Casale R, Di Nardi S, Borghini R, et al. Identification of a serum transglutaminase threshold value for the noninvasive diagnosis of symptomatic adult celiac disease patients: a retrospective study. *J Gastroenterol*. 2016;51(11):1031-9.
46. Lammi A, Arikoski P, Simell S, Kinnunen T, Simell V, Paavanen-Huhtala S, et al. Antibodies to deamidated gliadin Peptide in diagnosis of celiac disease in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2015;60(5):626-31.

47. Zucchini L, Giusti D, Gatouillat G, Servettaz A, Tabary T, Barbe C, et al. Interpretation of serological tests in the diagnosis of celiac disease: Anti-deamidated gliadin peptide antibodies revisited. *Autoimmunity*. 2016;49(6):414-20.
48. John M. Eisenberg Center for Clinical Decisions and Communications Science. Diagnosis of Celiac Disease: Current State of the Evidence. *Comp Eff Rev Summ Guid Clin* [Internet]. 2007;108(5). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27583323>
49. Czaja-Bulsa G. Non coeliac gluten sensitivity - A new disease with gluten intolerance. *Clin Nutr*. 2015;34(2):189-94.
50. Teriaky A, Alnasser A, Mclean C, Gregor J, Yan B. The Utility of Endoscopic Biopsies in Patients with Normal Upper Endoscopy. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2016;2016.
51. Elitsur Y, Sigman T, Watkins R, Porto AF, Leonard Puppa EL, Foglio EJ, et al. Tissue Transglutaminase Levels Are Not Sufficient to Diagnose Celiac Disease in North American Practices Without Intestinal Biopsies. *Dig Dis Sci*. 2017;62(1):175-9.
52. Montén C, Bjelkenkrantz K, Gudjonsdottir AH, Browaldh L, Arnell H, Naluai ÅT, et al. Validity of histology for the diagnosis of paediatric coeliac disease: a Swedish multicentre study. *Scand J Gastroenterol* [Internet]. 2016;51(4):427-33. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/00365521.2015.1101486>
53. Marsh MN. Antigen Challenge. 1990;(i):111-4.
54. Peña AS. What is the best histopathological classification for celiac disease? Does it matter? *Gastroenterol Hepatol from Bed to Bench*. 2015;8(4):239-43.
55. Mubarak A, Wolters VM, Houwen RHJ, Ten Kate FJW. Immunohistochemical CD3 staining detects additional patients with celiac disease. *World J Gastroenterol*. 2015;21(24):7553-7.
56. Elli L, Zini E, Tomba C, Bardella MT, Bosari S, Conte D, et al. Histological evaluation of duodenal biopsies from coeliac patients: the need for different grading criteria during follow-up. *BMC Gastroenterol* [Internet]. 2015;15:133. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=medl&NEWS=N&AN=26467310>
57. Odze RD, Goldblum JR, editors. *Odze and Goldblum surgical pathology of the GI Tract, liver, biliary tract, and pancreas* 3rd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015
58. Almeida LM, Gandolfi L, Pratesi R, Uenishi RH, Almeida FC De, Selleski N, et al. Presence of DQ2.2 associated with DQ2.5 increases the risk for celiac disease. *Autoimmune Dis*. 2016;2016.

59. Veeraraghavan G, Leffler D a, Kaswala DH, Mukherjee R. Celiac disease 2015 update: new therapies. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2015;9(November):913-27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25864708>
60. Bascun KA, Vespa MC, Araya M. Celiac disease: understanding the gluten-free diet. *Eur J Nutr*. 2017;56(2):449-59.
61. Vici G, Belli L, Biondi M, Polzonetti V. Gluten free diet and nutrient deficiencies: A review. *Clin Nutr* [Internet]. 2016;35(6):1236-41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2016.05.002>
62. Kurada S, Yadav A, Leffler DA. Current and novel therapeutic strategies in celiac disease. *Expert Rev Clin Pharmacol* [Internet]. 2016;9(9):1211-23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27322016>
63. Biagetti C, Gesuita R, Gatti S, Catassi C. Quality of life in children with celiac disease: A paediatric cross-sectional study. *Dig Liver Dis* [Internet]. 2015;47(11):927-32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2015.07.009>
64. Kaukinen K, Lindfors K. Novel treatments for celiac disease: Glutenases and beyond. *Dig Dis*. 2015;33(2):277-81.
65. McCarville JL, Caminero A, Verdu EF. Pharmacological approaches in celiac disease. *Curr Opin Pharmacol* [Internet]. 2015;25:7-12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2015.09.002>
66. Singh P, Arora S, Lal S. Celiac Disease in Women With Infertility. 2015;0(0):1-7.
67. Giovanni Casella, 1 Guido Orfanotti, 2 Loredana Giacomantonio, 2 Camillo Di Bella, 3 Valentina Crisafulli, 4 Vincenzo Villanacci, 4 Vittorio Baldini 1 and Gabrio Bassotti. Celiac disease and obstetrical-gynecological contribution.
68. Kotze LMS, Skare T, Vinholi A, Jurkonis L, Nisihara R. Impact of a gluten-free diet on bone mineral density in celiac patients. *Rev Esp Enfermedades Dig*. 2016;108(2):84-8.
69. Choudhary G, Gupta RK, Beniwal J. Bone Mineral Density in Celiac Disease. *Indian J Pediatr* [Internet]. 2016;1-5. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=emed18b&AN=613881633%5Cnhttps://www.mobilelibrary.com/vlib/order/OpenURLReceive.aspx?sid=OVID:embase&id=pmid:&id=doi:10.1007%2Fs12098-016-2273-1&issn=0019-5456&isbn=&volume=&issue=&spage>
70. Nasr I, Nasr I, Campling H, Ciclitira PJ. Approach to patients with refractory coeliac disease. *F1000Research* [Internet]. 2016;5(0):2544. Available from: <https://f1000research.com/articles/5-2544/v1>

71. Malamut G, Cellier C. Refractory celiac disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014;8(3):323-8.
72. Biagi F, Corazza GR. Do different patients with coeliac disease have different mortality rates? *Gut* [Internet]. 2015;64(8):1187-8. Available from: <http://gut.bmj.com.helios.uta.fi/content/64/8/1187.long>
73. Abdul Sultan A, Crooks CJ, Card T, Tata LJ, Fleming KM, West J. Causes of death in people with coeliac disease in England compared with the general population: a competing risk analysis. *Gut* [Internet]. 2015;64(8):1220-6. Available from: <http://gut.bmj.com.queens.ezp1.qub.ac.uk/content/64/8/1220.full?sid=18b46db8-4458-4fdf-be15-cf793b043f2a>