



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Ciências da Saúde

Novos avanços no desenvolvimento de terapias não dietéticas para a doença celíaca

Elisabete Maria Silva Ferreira Ribeiro

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Medicina

(Ciclo de estudos integrado)

Orientador: Dr. Eduardo Pereira

Covilhã, abril de 2018

À minha família,
a base de todo o equilíbrio.

Agradecimentos

Ao terminar este trabalho desejo expressar o meu sincero reconhecimento pelo apoio e pelas contribuições de diversas pessoas e instituições, a quem estou agradecida.

Agradeço à Universidade da Beira Interior e à Faculdade de Ciências da Saúde desta universidade por me terem proporcionado um percurso académico completo e valioso, e a todos os professores e médicos que, quer na faculdade, quer em ambiente hospitalar, me facultaram conhecimentos e experiências, com paciência e exigência, contribuindo para a minha formação.

Agradeço, especialmente, ao Dr. Eduardo Pereira pela oportunidade que me deu ao aceitar ser meu orientador, pelo interesse que sempre demonstrou neste projeto, as críticas pertinentes e as sugestões oportunas que só aumentaram o valor do meu trabalho. Obrigada pelo incentivo e ensinamentos, e por me mostrar que ser médico é muito mais do que saber curar - é também *saber cuidar*.

A todos os meus amigos e colegas pelo companheirismo, amabilidade, simpatia e educação demonstradas, pelas alegrias partilhadas e pelo ânimo que constituíram sempre uma força extra para o decorrer do trabalho.

Agradeço aos meus pais pelo apoio que me deram ao longo de todo este percurso, pela minha formação como mulher e como ser humano, pelo incentivo e conselhos, e por acreditarem sempre em mim.

Aos meus irmãos, Miguel e André, pelo ânimo e pela força que sempre me deram para continuar, e, sobretudo por serem um grande exemplo para mim. Em particular, quero agradecer ao Miguel pela inigualável ajuda, dedicação e “co-orientação” especial neste trabalho.

Finalmente a todos aqueles, que de uma forma direta ou indireta me incentivaram e ajudaram no decorrer deste trabalho, o meu muito obrigada.

“In the care of the suffering, [the physician] needs technical skill, scientific knowledge, and human understanding.... Tact, sympathy, and understanding are expected of the physician, for the patient is no mere collection of symptoms, signs, disordered functions, damaged organs, and disturbed emotions. [The patient] is human, fearful, and hopeful, seeking relief, help, and reassurance.”

Harrison’s Principles of Internal Medicine, 1950

Resumo

A doença celíaca classifica-se como uma doença auto-imune, caracterizada por uma enteropatia que ocorre após contato com o glúten, em indivíduos geneticamente suscetíveis. A presença dos haplótipos HLA-DQ 2/8 está associada a uma maior predisposição para esta doença. Nestes indivíduos, o contato com o glúten desencadeia um processo inflamatório vigoroso ao nível da mucosa intestinal, resultando na atrofia das vilosidades intestinais, e consequentemente numa diminuição da capacidade de absorção de nutrientes. Esta doença surge em qualquer idade, género ou etnia, podendo apresentar-se sob diversas formas. Os sintomas mais comuns incluem o défice nutritivo, diarreia, dor abdominal, atraso no desenvolvimento e fadiga, destacando-se a forte associação que existe entre esta doença e outros distúrbios auto-imunes. Para além disso, os doentes com doença celíaca apresentam um maior risco de desenvolver linfoma não-Hodgkin e outros tipos de cancro do trato gastrointestinal.

A prevalência da doença celíaca tem aumentado desde a última metade do século XX, sendo actualmente cerca de 1% na maioria das populações ocidentais. No entanto, em Portugal, esta é, ainda, uma doença sub-diagnosticada. O diagnóstico da doença envolve a realização de testes serológicos para avaliação de anticorpos específicos, e, desta forma, os doentes são ou não sujeitos à realização de biopsia intestinal, que apresentará achados característicos.

Até à data, nenhum tratamento farmacológico está disponível para pacientes com intolerância ao glúten. Desta forma, a única abordagem eficaz é uma dieta específica, sem glúten, ao longo da vida. Esta dieta isenta de glúten resulta, por vezes, numa elevada carga emocional e social para o doente, estando, de facto, associada a um maior risco de desenvolvimento de perturbações do humor. Neste sentido, é urgente o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para esta doença. As novas estratégias terapêuticas baseiam-se na fisiopatologia da doença, incluindo desde modificações quimio-enzimáticas do glúten, até mecanismos de supressão da resposta imunitária.

O presente trabalho pretende rever e analisar criticamente a doença, desde a sua epidemiologia, fisiopatologia e formas de apresentação, até métodos de diagnóstico e os avanços mais recentes no que respeita ao desenvolvimento de potenciais alternativas à dieta isenta de glúten.

Palavras-Chave

Doença celíaca; glúten; enteropatia; HLA-DQ2/8; novas terapias não-dietéticas.

Abstract

Celiac disease is an autoimmune disease characterized by an enteropathy that occurs after ingestion of gluten, in genetically susceptible individuals. The presence of HLA-DQ 2/8 haplotypes is associated with a greater susceptibility to this disease. In these individuals, the ingestion of gluten triggers a vigorous inflammatory response in the intestinal mucosa, resulting in the atrophy of intestinal villi, and consequently a decrease in nutrient absorption capacity. This disease arises in any age, gender or ethnicity, and can occur in different ways. The most common symptoms include nutritional deficit, diarrhea, abdominal pain, developmental delay and fatigue, highlighting the strong association between this disease and other autoimmune disorders. In addition, patients with celiac disease have higher risk of developing non-Hodgkin's lymphoma and other types of cancer of gastrointestinal tract.

The prevalence of celiac disease has increased since the last half of the 20th century and is now about 1% in most western populations. However, in Portugal, this is still an underdiagnosed disease. Diagnosis of the disease involves serological tests for the evaluation of specific antibodies and, therefore, patients are or are not indicated for intestinal biopsy, which have characteristic findings.

Until this date, no pharmacological treatment is available for patients with gluten intolerance. In fact, the only effective approach is a specific, gluten-free, lifelong diet. This gluten-free diet results in a high emotional and social burden for the patient and is associated with an increased risk of depressive disorders. Thus, the process of adherence to this diet becomes a demanding process, that justifies the need for further investigations in order to develop new therapeutic approaches for this disease. New therapeutic strategies are based on the pathophysiology of the disease, ranging from chemo-enzymatic modifications of gluten to mechanisms of suppression of the immune response.

This review intends to critically analyse the disease, from its epidemiology, pathophysiology and forms of presentation, to diagnostic methods and the latest advances in the development of potential alternatives to the gluten-free diet.

Keywords

Celiac disease; gluten; enteropathy; HLA-DQ2/8; new non-dietary therapies.

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract.....	vi
Lista de Figuras.....	ix
Lista de Tabelas.....	x
Lista de Acrónimos.....	xi
1. Introdução	1
2. Metodologia.....	4
3. Epidemiologia da doença.....	5
4. Classificação da doença	6
5. Manifestações Clínicas	8
5.1 Formas de apresentação da doença	8
5.2 Manifestações gastrointestinais e extraintestinais	8
5.3 Associação da DC com outras doenças	10
6. Fisiopatologia da doença	12
7. Diagnóstico.....	16
7.1 Biopsia intestinal	17
7.2 Endoscopia digestiva alta	18
7.3 Serologia	18
7.4 Genotipagem	19
8. Seguimento Clínico	20
9. Complicações e Prognóstico	21
9.1 Morbilidades psicossociais.....	23
10. Tratamento	26
10.1 Dieta isenta de glúten	26
10.2 Novas abordagens terapêuticas	28
10.2.1 Desenvolvimento de linhas de trigo geneticamente modificadas com baixo teor em gliadinas	30
10.2.2 Terapias enzimáticas	30
10.2.3 Terapias de modulação da resposta imunitária	31
10.2.3.1 Antagonistas da IL-15	31
10.2.3.2 Agonistas IL-10	32
10.2.3.3 Antagonistas IFN- γ e anti-TNF α	32
10.2.3.4 Anticorpos anti-CD3	32
10.2.3.5 Anticorpos anti-CD20	33
10.2.4 Probióticos.....	33
10.2.5 Alteração da permeabilidade ao nível do epitélio.....	33

10.2.5.1	Antagonistas do receptor da zonulina (ATA-1001).....	33
10.2.5.2	Bloqueio do transporte transcelular	34
10.2.6	Inibidores da TG2.....	34
10.2.7	Bloqueadores HLA-DQ2 e HLA-DQ8	35
10.2.8	Sequestradores de glúten	35
10.2.9	Moduladores da adesão - antagonista do receptor CCR9	35
10.2.10	Vacinação	35
10.2.11	Outras estratégias	36
12.	Conclusão	38
	Referências	39

Lista de Figuras

Figura 1: Interação do glúten e dos factores imunes, genéticos e ambientais, como base da patogénese da DC.....	12
Figura 2: Algoritmo do diagnóstico da DC..	16
Figura 3: Diferença entre a mucosa intestinal normal (esquerda) e a mucosa intestinal de um doente com DC não tratada (direita), com acentuada atrofia das vilosidades intestinais.	17
Figura 4: Mecanismos de ação das principais terapêuticas não dietéticas, com base na fisiopatologia da doença.....	37

Lista de Tabelas

Tabela 1: Prevalência da DC na Europa, com base em estudos populacionais	5
Tabela 2: Principais fatores envolvidos na patogênese da DC	14
Tabela 3: Classificação da lesão da mucosa intestinal, escala de Marsh-Oberhuber	18
Tabela 4: Classificação da lesão da mucosa intestinal, escala de Corazza	18
Tabela 5: Quadro-resumo das principais terapêuticas não dietéticas para a DC.....	29

Lista de Acrónimos

DC	Doença Celíaca
ATt	Anticorpos anti-transglutaminase tecidual
TG2	Transglutaminase tecidual
EC	Enzyme Commission Number
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
AAG	Anticorpos anti-gliadina
AAE	Anticorpos anti-endomísio
DIG	Dieta isenta de glúten
DGS	Direção Geral da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
DCR	Doença celíaca refratária
IgA	Imunoglobulina A
EEG	Eletroencefalografia
IFN- γ	Interferão gama
TNF α	Fator de necrose tumoral α
MHC	Complexo de histocompatibilidade
IL-15	Interleucina 15
LIEs	Linfócitos intra-epiteliais
NK	Células natural killer
VIH	Vírus da imunodeficiência humana
EDA	Endoscopia digestiva alta
AAR	Anticorpos anti-reticulina
LTAE	Linfoma de células T associado a enteropatia
DCR1	Doença celíaca refratária tipo 1
DCR2	Doença celíaca refratária tipo 2
QALY	Ano de vida ajustado pela qualidade
HTA	Hipertensão arterial
PEP	Endopeptidases de prolina
AN-PEP	Endopeptidase de prolina derivada de <i>Aspergillus niger</i>
Treg	Células T reguladoras
IL-10	Interleucina 10
JAK	Tirosina cinase do tipo <i>Janus Kinase</i>
Teft	Células T efetoras

1. Introdução

A doença celíaca (DC) pode classificar-se como uma doença auto-imune. Nos indivíduos geneticamente suscetíveis, o contato com o glúten é responsável por uma enteropatia (1). Apesar de apresentar características imunológicas em comum com a doença inflamatória intestinal, a DC distingue-se por apresentar um desencadeante conhecido - o glúten ou proteínas similares presentes no centeio e na cevada, pela presença dos haplótipos HLA-DQ2 e HLA-DQ8, e pela produção de anticorpos anti-transglutaminase (ATt). A transglutaminase tecidual (TG2; EC 2.3.2.13) é responsável pela desamidação dos resíduos de glutamina presentes nos péptidos resultantes da digestão do glúten, aumentando assim a afinidade para os haplótipos HLA-DQ2 e HLA-DQ8, o que por sua vez induz a ativação das células T CD4+. O resultado é um processo inflamatório vigoroso ao nível da mucosa intestinal que conduz à fraca absorção de nutrientes, entre outros sintomas (2, 3).

A prevalência da DC tem aumentado nas últimas décadas, sendo atualmente de aproximadamente 1% na população mundial. Na Europa, a prevalência da DC varia entre 1:200 a 1:400, sendo considerada ainda uma doença sub-diagnosticada (4). Em Portugal, até ao momento, existem apenas dados preliminares baseados na avaliação de casos diagnosticados nas unidades de gastroenterologia pediátrica na zona de Braga que indicam uma prevalência de cerca de 1:134. Esta prevalência vai de encontro à prevalência referida noutros estudos em países europeus, permitindo inferir que a DC é também em Portugal, uma doença sub-diagnosticada (5).

A DC pode surgir em qualquer idade, género ou etnia, com diversas formas de apresentação. Numa fase inicial, pode ter desde uma forma de apresentação clássica, incluindo sintomas como diarreia, desconforto e dor abdominal e má absorção, até uma forma de apresentação assintomática, o que justifica que alguns indivíduos com esta condição não estejam, ainda, diagnosticados (4). Para além de manifestações intestinais, a DC pode incluir manifestações extraintestinais tais como dermatite herpetiforme, artralgias, fadiga, cefaleias, neuropatia periférica, osteoporose, anemia (por défice de ferro ou de vitamina B12) e aumento das enzimas hepáticas (6).

A DC clássica ocorre, frequentemente, em conjunto com outras doenças auto-imunes, tais como diabetes mellitus tipo 1 (DM1), tiroidite auto-imune, hepatite auto-imune, dermatite herpetiforme e alopecia auto-imune. Os doentes com DC estão em risco de desenvolver linfoma não-Hodgkin, adenocarcinoma do intestino delgado, entre outros tipos de cancro do trato gastrointestinal. De acordo com os dados obtidos num estudo de coorte retrospectivo realizado na Suécia, os pacientes com DC apresentam um risco duas a quatro vezes superior de desenvolver linfoma não-Hodgkin e trinta vezes superior de desenvolver adenocarcinoma do intestino delgado (3, 7). Em relação ao diagnóstico da DC, este passa numa primeira fase pelos testes serológicos, tendo sido descritos vários anticorpos relacionados com a doença,

tais como os anticorpos (Acs) anti-gliadina (AAG), Acs anti-endomísio (AAE) e os Acs anti-transglutaminase tecidual (ATt). Desta forma, a pesquisa destes anticorpos permite selecionar quais os indivíduos que necessitam de biópsia. O diagnóstico da DC é relativamente simples, incluindo, essencialmente, uma biópsia duodenal, com os achados característicos de linfocitose intraepitelial, hiperplasia das criptas e atrofia das vilosidades intestinais, e uma resposta positiva a uma dieta isenta de glúten (DIG). Apesar de, na maioria dos casos, o diagnóstico ser facilmente estabelecido, em cerca de 10% dos casos tal não acontece por falta de concordância entre os achados clínicos, serológicos e histológicos. Ainda que as técnicas de diagnóstico da doença estejam bem estabelecidas, o rastreio populacional da DC não está indicado (5, 8).

Atualmente, não existe tratamento farmacológico disponível para doentes com intolerância ao glúten - a única abordagem eficaz é uma dieta rigorosa, isenta de glúten, ao longo de toda a vida. Assim, todos os alimentos que contenham glúten de trigo, ou proteínas com estrutura primária similar ao glúten, presentes no centeio, cevada e seus derivados devem ser eliminados da dieta, dado que, mesmo em pequenas quantidades, estes podem ser prejudiciais. A eliminação do glúten da dieta geralmente induz uma melhoria clínica em dias ou semanas e uma recuperação histológica de meses a anos. Embora os anticorpos produzidos em resposta à exposição ao glúten desapareçam após o início da dieta, estes não são úteis para avaliar a recuperação da mucosa (1). Contudo, a DIG conduz muitas vezes a problemas de índole psicológico, emocional e social, apresentando também algumas limitações ao nível nutricional. De facto, esta dieta associa-se a determinados défices nutricionais, dado que alguns dos alimentos isentos de glúten apresentam um menor conteúdo proteico e maior conteúdo lipídico (9). Assim, após o diagnóstico estabelecido, deve ser assegurado ao doente um acompanhamento específico, nomeadamente em relação a défices nutritivos, incluindo avaliação de ácido fólico, vitamina B12, vitaminas lipossolúveis, ferro e cálcio (8). Para além dos défices nutritivos que podem ocorrer com a DIG, esta pode também estar associada a uma baixa adesão por parte do doente, particularmente em adolescentes, dificultando a melhoria clínica. O facto de a DIG apresentar algumas restrições e os produtos isentos de glúten serem mais caros e menos disponíveis, acarreta um impacto moderado nas atividades sociais dos doentes. Efetivamente, verifica-se um aumento de cerca de 80% no risco de desenvolvimento de depressão associado à DC (10). Atendendo às limitações impostas pela DIG, os doentes devem ser acompanhados por uma equipa multidisciplinar, qualificada, que monitorize os défices nutricionais e as melhorias clínicas, mas também capacite o doente para uma melhor auto-gestão da doença e da dieta (1).

Neste contexto, o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para esta doença é desejado tanto por clínicos como por pacientes. Atualmente, as alternativas terapêuticas em investigação/validação envolvem várias áreas, desde a modificação químico-enzimática do glúten até ao uso de bloqueadores da transglutaminase tecidual e antagonistas das moléculas HLA DQ2/8, mecanismos estes que interferem com a resposta imunitária característica da DC.

O presente trabalho pretende analisar criticamente a epidemiologia, a fisiopatologia e formas de apresentação, as estratégias de diagnóstico e algumas das complicações da doença, bem como o desenvolvimento de potenciais abordagens terapêuticas.

2. Metodologia

Por forma a aprofundar o estado da arte sobre a doença celíaca e os principais avanços na abordagem terapêutica da doença realizou-se uma pesquisa bibliográfica na base de dados PubMed utilizando as palavras-chave “celiac disease” AND “gluten” AND “gluten-free diet” AND “novel therapies in celiac disease”. A pesquisa e análise crítica dos artigos científicos decorreu desde março de 2017 até fevereiro de 2018. A seleção dos artigos utilizados nesta revisão bibliográfica foi feita de acordo com os seguintes critérios:

- revisões sistemáticas redigidas em língua inglesa e portuguesa, com data posterior a 1997, inclusive;
- revisões sistemáticas de estudos de caso-controlo e ensaios clínicos, com validade científica;
- publicações dirigidas a *outcomes* para doença celíaca/glúten; dieta isenta de glúten/terapêuticas não dietéticas;
- publicações de estudos recentes acerca de novos avanços em terapêuticas moleculares para a doença celíaca;
- estudos epidemiológicos da doença celíaca em Portugal e na Europa;
- publicações acerca do impacto biopsicossocial da doença celíaca.

Posteriormente foram também consultados websites de entidades oficiais, como Direção-Geral da Saúde (DGS) e Organização Mundial da Saúde (OMS), privilegiando guidelines de orientação clínica, atualizadas, para a abordagem da doença celíaca. Após a seleção e análise crítica do total de 40 artigos encontrados, de acordo com os critérios supracitados, foram selecionados 13 artigos - 10 artigos direcionados para a fisiopatologia, diagnóstico e tratamento da doença, e 3 artigos direcionados para os impactos biopsicossociais da doença. Os artigos selecionados serviram de apoio para a análise e discussão crítica do presente trabalho.

3. Epidemiologia da doença

A prevalência da DC tem aumentado nas últimas décadas, sendo atualmente a intolerância alimentar mais comum a nível mundial (4). Com efeito, ainda que sub-diagnosticada, o aumento da prevalência desta doença parece estar relacionado, por um lado, com uma maior consciencialização sobre as variadas formas de apresentação clínica da doença, e, por outro, com o aparecimento de novos métodos auxiliares de diagnóstico (8). O aparecimento de marcadores serológicos melhorou, substancialmente, a precisão das estimativas da prevalência da DC. Estes têm sensibilidade, especificidade e preço adequados à execução de estudos populacionais, permitindo estimar, após biopsia em indivíduos com serologia positiva, a prevalência da doença. Têm sido descritos diversos anticorpos associados à DC, cuja sensibilidade e especificidade é limitada, uma vez que são também observados noutras patologias auto-imunes (1, 5). Os AAE detectados pelo método de imunofluorescência indireta são considerados o marcador mais sensível (85-100%) e mais específico (95-100%) para o diagnóstico da doença (4).

A prevalência da DC, atualmente, a nível mundial é de aproximadamente 1%, sendo superior em indivíduos caucasianos de ascendência europeia (8, 11). A doença é duas a três vezes mais comum em mulheres, sendo que esta prevalência no sexo feminino diminui após os 65 anos de idade (1). A nível mundial, os estudos publicados até à data indicam que a prevalência é muito baixa na África Subsariana (sendo rara a doença nesta região) e na China; por sua vez, na Europa e nos EUA a prevalência da doença é superior (3).

Um estudo epidemiológico sobre a intolerância ao glúten permitiu verificar a existência de algumas diferenças na incidência e prevalência da doença nos países Europeus - em Espanha e na Alemanha verifica-se uma baixa prevalência, ao invés do Reino Unido e da Finlândia que apresentam prevalência mais elevada. A tabela que se segue mostra a prevalência da DC observada na Europa, com base em estudos populacionais, onde foram utilizados testes serológicos (12).

Tabela 1: Prevalência da DC na Europa, com base em estudos populacionais. Adaptado de (11).

País	Prevalência
Portugal *	1:134
Espanha	1:389
Reino Unido	1:100
Alemanha	1:500
Finlândia	1:99
Suécia	1:190

*dados preliminares baseados na avaliação de casos diagnosticados nas unidades de gastroenterologia pediátrica, na zona de Braga

4. Classificação da doença

A DC classifica-se como uma doença auto-imune, na qual ocorre a produção de auto-anticorpos específicos. A ingestão de glúten desencadeia, em indivíduos geneticamente suscetíveis, uma reação inflamatória vigorosa ao nível do epitélio intestinal. Os aspetos relativos aos mecanismos inflamatórios e de auto-imunidade são explicados, com mais detalhe, nos capítulos seguintes.

No momento atual, tem-se assistido à adoção da DIG por parte de indivíduos que não apresentam diagnóstico de DC, sem que daí advenha um benefício claro para a sua saúde. Baseados essencialmente em depoimentos e sem evidências científicas, os indivíduos sem intolerâncias ao glúten que seguem uma DIG reclamam geralmente uma melhoria da percepção da sua saúde, perda de peso e aumento de energia. No entanto, deve ser referido que nenhuma evidência científica indica que indivíduos sem intolerâncias ao glúten tenham algum benefício em seguir uma DIG. De facto, um trabalho recente com o objetivo de estudar a associação da ingestão de glúten a longo prazo com o desenvolvimento de doença coronária mostrou que não há qualquer associação entre a ingestão de glúten e o desenvolvimento da doença, indicando ainda que, evitar o glúten pode resultar na redução do consumo de grãos integrais benéficos, afetando desta forma o risco cardiovascular. Por último, os autores referem que a promoção da DIG entre pessoas sem intolerâncias ao glúten não deve ser encorajada (13).

Neste sentido, é necessário uniformizar conceitos e esclarecer outras sintomatologias associadas à ingestão de glúten que não a doença celíaca como por exemplo a *sensibilidade ao glúten não-celíaca*. O termo *sensibilidade ao glúten não-celíaca* abrange manifestações imunológicas, morfológicas ou sintomáticas que são desencadeadas pela ingestão de glúten em indivíduos cujo diagnóstico de DC foi excluído. Apesar de não ser claro quais os componentes do trigo responsáveis por esta condição, pode verificar-se a ativação de uma resposta imune, sem que ocorra enteropatia ou presença de auto-anticorpos, contrariamente ao que ocorre na DC (3, 14). Para além da distinção entre os conceitos supracitados, é necessário distinguir as diferentes formas de DC, tendo em conta as suas principais características. A DC pode não ser acompanhada de quaisquer sintomas, tomando neste caso a designação de DC assintomática. Por outro lado, esta pode caracterizar-se por sintomas clinicamente evidentes (gastro e extra-gastrointestinais) associados à ingestão de glúten. Os sintomas associados à doença são abordados em detalhe no capítulo seguinte. A DC sintomática pode, então, ser subdividida em duas formas: uma forma clássica, na qual existe um quadro de má absorção, e uma forma não-clássica, na qual não existe quadro de má absorção (1, 14).

A DC é considerada *potencial* quando existem serologias positivas, sem que haja alterações a nível da mucosa intestinal. Por sua vez, quando ocorre persistência e recorrência do

quadro clínico e da atrofia das vilosidades intestinais, apesar de uma DIG por mais de 12 meses, a DC designa-se refratária (DCR) (12, 14).

5. Manifestações Clínicas

A DC apresenta uma grande diversidade de manifestações e associações, pelo que se torna importante conhecer as principais formas de apresentação da doença por forma a otimizar o diagnóstico.

5.1 Formas de apresentação da doença

As manifestações da doença podem ser *clássicas*, incluindo sinais e sintomas de má absorção, como diarreia, perda de peso ou atraso no crescimento, ou *não-clássicas*, as quais não incluem um quadro de má absorção. O espectro clínico da doença é muito amplo na medida em que alguns dos doentes podem apresentar-se assintomáticos, enquanto outros podem apresentar uma grande variedade de sintomas (sintomas gastrointestinais e extraintestinais) (14, 15).

As formas de apresentação da doença também variam de acordo com a faixa etária e com a idade em que é estabelecido o diagnóstico (8). Com efeito, a forma de apresentação clássica da DC é mais comum em crianças do que em adultos. Nesta forma de apresentação predominam os sintomas gastrointestinais como a diarreia e distensão abdominal, vômitos, irritabilidade, anorexia e obstipação, podendo ocorrer também atraso do crescimento. Nos doentes mais jovens a apresentação da doença é mais subtil, podendo muitas vezes ser confundida com síndrome do cólon irritável. No entanto, nos jovens, o quadro extraintestinal é predominante, incluindo anemia, sintomas neurológicos e baixa estatura. Nos adultos a apresentação clínica pode incluir, para além da diarreia e do desconforto abdominal, anemia, osteoporose, e outras doenças auto-imunes associadas (8, 15).

5.2 Manifestações gastrointestinais e extraintestinais

As principais manifestações da DC ocorrem ao nível gastrointestinal, incluindo sintomas como diarreia, dor e distensão abdominal, vômitos, obstipação, e sintomas relacionados com alterações da absorção intestinal (8, 12). No entanto, menos de 50% dos casos diagnosticados na idade adulta apresentam manifestações gastrointestinais, sendo que as manifestações extraintestinais são também frequentes (15, 16).

As manifestações extraintestinais da DC podem estar relacionadas com os depósitos de anticorpos ATt, do tipo IgA (imunoglobulina A), a nível extracelular - no fígado, nos rins, nos gânglios linfáticos e no tecido muscular (17). Como manifestações extraintestinais podem ocorrer défices nutricionais, atraso no crescimento, com consequente baixa estatura, alterações reprodutivas, neurológicas, hepáticas, dermatite herpetiforme, hipoplasia do esmalte dentário, úlceras aftosas, entre outras (15). A dermatite herpetiforme caracteriza-se por uma

erupção cutânea frequentemente simétrica, com prurido intenso associado, que ocorre mais frequentemente nos cotovelos, joelhos, nádegas e couro cabeludo. Esta alteração cutânea é muito sensível à ingestão de pequenas quantidades de glúten (14, 15).

Na DC também é comum a existência de alterações leves a nível hepático, sendo que a forma mais frequente de envolvimento hepático é a elevação isolada das transaminases - prontamente reversível com uma DIG - sem alterações histológicas específicas (1). Outras alterações hepáticas possíveis incluem hepatite auto-imune (que ocorre em cerca de 9% dos doentes), cirrose biliar primária, colangite esclerosante e esteatose hepática não alcoólica (1, 15). Os adultos com DC podem ter um risco aumentado de aterosclerose precoce e, para além disso, aqueles que também apresentam DM1 têm uma progressão mais rápida das complicações microvasculares (18).

Há doentes que apresentam alterações do estado reprodutivo, nomeadamente atraso na puberdade e na menarca, amenorreia, abortos espontâneos e menopausa precoce. Alterações da libido e da fertilidade também podem ocorrer em doentes do sexo masculino (1). No entanto, ainda que alguns estudos indiquem que as mulheres com DC apresentam maior risco de problemas de infertilidade, um estudo mais recente demonstrou que este risco é igual ao da população em geral (19). Muito frequentemente os doentes apresentam alterações nutricionais que advêm da má absorção. Nestas incluem-se o défice de ferro, vitamina B12, vitamina B6, zinco, cálcio e vitamina D (20). O défice de ferro foi relatado em adultos recém-diagnosticados, numa taxa igual ou inferior a 50% e, de facto, a anemia por défice de ferro e a fadiga dela resultante chega a ser a forma de apresentação da doença em cerca de 8-15% dos casos (21-23). No entanto, uma DIG permite, geralmente, a recuperação da anemia ferro-pénica em cerca de 6 a 12 meses (15). Foi relatado em doentes com DC um maior desenvolvimento de doença óssea metabólica decorrente do défice de cálcio e de vitamina D (24). Esta diminuição da densidade mineral óssea relatada é superior nos doentes do sexo masculino em comparação com os doentes do sexo feminino. Por sua vez, em crianças, a osteoporose pode ser revertida com DIG, com retorno da densidade óssea para valores densitométricos normais. Pelo contrário, nos adultos, a densidade mineral óssea melhora com a DIG, mas raramente se normaliza (1). Consequentemente, dado o maior risco de desenvolvimento de doença óssea metabólica, estes doentes apresentam um maior risco de fraturas (1, 15).

Em associação com a deficiente absorção de vitamina B12, ácido fólico, cobre e vitamina D foram também documentados alguns distúrbios neurológicos. As manifestações do espectro neurológico incluem, sobretudo, neuropatia periférica, ataxia, défices de função cognitiva, síndromes epiléticas, entre outros (1, 15). As alterações neurológicas são mais comuns nos doentes adultos do que nas crianças (25). A neuropatia periférica e a ataxia são as manifestações neurológicas mais comuns. De facto, em cerca de 39% dos doentes a neuropatia periférica pode mesmo preceder o diagnóstico da DC (15, 26, 27). Estes dois distúrbios neurológicos são esporádicos e idiopáticos, manifestando-se na presença de positividade serológica para a DC, com ou sem enteropatia associada (16). Para além da neuropatia periférica e da ataxia também podem ocorrer outras manifestações como convulsões, cefaleias, dificuldades de

aprendizagem e atraso no desenvolvimento, hipotonia, síndrome de hiperatividade e déficit de atenção, entre outros (15). Relativamente a estes distúrbios neurológicos ainda não é claro se estes são despoletados apenas com base nos efeitos cumulativos dos défices nutricionais, ou se, ao invés, resultam de uma interação entre fatores nutricionais, imunológicos e inflamatórios desencadeados pela sensibilidade ao glúten (28). Para além destes fatores, num estudo realizado entre 1977 e 2001, que avaliou imagiologicamente e por eletroencefalografia (EEG) a presença de sintomas ou distúrbios neurológicos em crianças com DC diagnosticada, foi documentada a presença de múltiplas lesões focais na substância branca (28). Estas lesões podem ser de origem isquémica, resultantes de uma vasculite, ou causadas por desmielinização inflamatória. Ainda que o seu valor prognóstico seja desconhecido, não se pode excluir que estas lesões possam também interferir com funções cognitivas, podendo representar uma manifestação extraintestinal da DC (29).

Para além dos distúrbios neurológicos, até um terço dos adultos diagnosticados com DC apresenta história de distúrbios psiquiátricos como depressão ou distúrbios de personalidade e, mais raramente, psicose. No entanto, apesar desta ligação com distúrbios do foro psiquiátrico, provavelmente não existe nenhuma relação entre a DC e o autismo (15).

5.3 Associação da DC com outras doenças

As doenças auto-imunes ocorrem muito mais frequentemente nos doentes com DC em comparação com a população em geral. A prevalência destes distúrbios associados parece aumentar substancialmente com o aumento da idade em que é estabelecido o diagnóstico, sendo esta relação estatisticamente mais significativa em crianças (1, 8). A maior associação da DC com outras doenças auto-imunes adquire particular relevância clínica - primeiro porque estas condições podem agravar o quadro clínico da DC; segundo, os doentes podem apresentar apenas sintomas decorrentes de outros distúrbios auto-imunes, o que pode dificultar o diagnóstico da doença; e, por último, o facto da ausência de glúten na dieta poder melhorar o controlo de algumas destas doenças (1). De facto, a DC associa-se a diversas patologias, quer patologias auto-imunes, quer síndromes cromossómicas. A DM1 e a tiroidite auto-imune são as doenças auto-imunes mais comuns em associação com a DC. Com efeito, a DC é observada em cerca de 10% dos doentes com DM1 e em cerca de 7% dos doentes com distúrbios auto-imunes da tiróide (nomeadamente relacionado com o hipotiroidismo de causa auto-imune). Para além disso, está comprovado que os doentes com DC têm um risco de 2,4 vezes superior de desenvolverem DM1 antes dos 20 anos de idade (30). A associação destas doenças auto-imunes pode dever-se ao facto de as três estarem relacionadas com os alelos HLA DQ2/8.

A DC associa-se ainda a outras patologias, tais como miocardite auto-imune, cardiomiopatia dilatada idiopática, síndrome de Sjögren, lúpus eritematoso sistémico, deficiência de IgA, doença de Addison, nefropatia de IgA, alopecia areata, atopia, vasculite sistémica e cutânea, psoríase, artrite juvenil idiopática e polimiosite (1, 15, 31). Para além destas doen-

ças, verifica-se uma maior prevalência de hepatite auto-imune, cirrose biliar primária e colangite auto-imune, sendo a relação com esta última menos significativa (1, 32). Relativamente aos síndromes cromossômicos destaca-se a associação da DC com os síndromes de Turner, Williams e Down (8).

Ainda que, como referido, a associação com estas doenças agrave o quadro clínico da própria DC, os mecanismos envolvidos neste processo ainda não são conhecidos (1).

6. Fisiopatologia da doença

A DC é uma doença auto-imune cujo principal desencadeante ambiental conhecido é o glúten. De facto, trata-se de uma enteropatia que ocorre após o contacto com o glúten em indivíduos geneticamente suscetíveis (haplótipos HLA-DQ2 e HLA-DQ8), resultando da interação entre fatores ambientais, genéticos e imunológicos (3, 8).

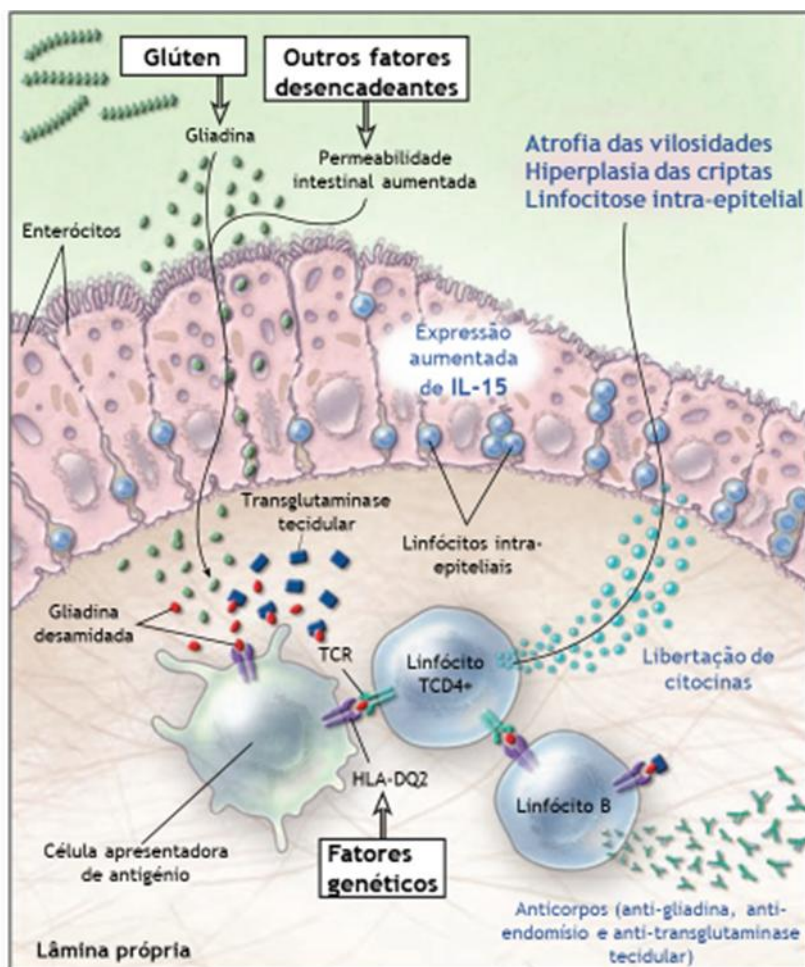


Figura 1: Interação do glúten e dos factores imunes, genéticos e ambientais, como base da patogénese da DC. Adaptado de (8).

O glúten corresponde a um complexo proteico encontrado no trigo, sendo composto por duas frações distintas - as gliadinas e as gluteninas. As gliadinas correspondem à fração proteica solúvel em álcool, já as gluteninas, ao possuírem pontes dissulfeto intermoleculares, necessitam de um agente redutor para a sua solubilização. Neste momento sabe-se que tanto os péptidos derivados das gliadinas como das gluteninas podem ser tóxicos para os indivíduos que sofrem desta doença. No entanto, as gliadinas apresentam maior potencial imunogénico (33, 34). Existem outras proteínas com estrutura primária e propriedades imunoestimuladoras

semelhantes ao glúten do trigo e que podem ser encontradas na cevada, no centeio e derivados destes cereais, podendo também desencadear DC em indivíduos geneticamente suscetíveis (3, 8). Para além disso, uma pequena minoria dos doentes também apresenta reação após ingestão de aveia (35, 36).

As gliadinas e as gluteninas, sendo ricas em resíduos de glutamina e prolina, são parcialmente resistentes às enzimas gastrointestinais - gástricas, pancreáticas, e libertadas pelas vilosidades intestinais - e, desta forma, são incompletamente digeridas. Assim, os péptidos com tamanho considerável, ricos em glutamina e prolina mantêm-se no lúmen intestinal, sendo depois transportados através do epitélio intestinal (3, 37). A passagem dos péptidos através da membrana epitelial para a lâmina própria pode ocorrer por via transcelular e por via paracelular (3, 38).

A via transcelular pode ocorrer quer por transcitose estimulada pelo interferão gama (IFN- γ), quer por retrotranscitose com IgA (38, 39). Na via paracelular, a gliadina liga-se ao receptor CXCR3, um receptor de quimiocinas, o que induz a libertação de zonulina. As zonulinas estão envolvidas na regulação das junções de oclusão, e, ao aumentar a sua libertação, há um aumento da permeabilidade epitelial, permitindo a passagem da gliadina para a mucosa intestinal (12, 40).

A elevada concordância da doença em gémeos monozigóticos e a ocorrência familiar da mesma, demonstra o papel fundamental que a genética assume na patogénese da DC (8). A DC associa-se a mais de 250 genes do complexo de histocompatibilidade (MHC) e não-MHC, sendo que o principal fator são os genes HLA-DQ, ou seja, genes que codificam os péptidos DQ2 e DQ8 no complexo HLA, do cromossoma 6p21 (12) (tabela 2). A isoforma DQ2 ocorre em cerca de 90-95% dos doentes e a isoforma DQ8 ocorre em 5-10% dos doentes (38). Os genes HLA contribuem em menos de 50% para o desenvolvimento da DC. Há, de facto, vários genes não-HLA identificados que poderão influenciar também a suscetibilidade para a DC (8).

Cerca de 30% da população caucasiana apresenta os alelos que codificam as proteínas HLA-DQ2 e HLA-DQ8, mas verifica-se que a DC ocorre em apenas 1 em cada 100 indivíduos, o que permite inferir que a DC resulta não só destes fatores genéticos, mas provavelmente de uma interação com fatores ambientais. É necessário que o indivíduo apresente o alelo que codifica HLA-DQ2 e HLA-DQ8, mas isto, por si só, não é suficiente para que a doença se desenvolva (12, 41). Estudos genómicos indicaram outros genes que parecem estar envolvidos na patogénese da doença, tal como o gene CTLA4. Além disso, este gene tem sido implicado numa maior propensão para o desenvolvimento de DM1, o que pode elucidar acerca da forte associação que existe entre a DC e a DM1 (42).

A DC envolve uma resposta imunológica aos péptidos provenientes do glúten ingerido, gerando-se uma reação inflamatória vigorosa da mucosa intestinal. Esta reação inflamatória caracteriza-se pela proliferação de células inflamatórias na lâmina própria e no epitélio, com consequente atrofia das vilosidades intestinais (8). O epitélio intestinal desempenha um papel fulcral na patogénese da doença na medida em que modula a interação entre o agente desen-

cadeante e o sistema imunológico. A resposta imunológica inclui quer uma resposta imune inata, quer uma resposta imune adaptativa (8, 12).

Em relação à resposta imune inata, esta é desencadeada ao nível do epitélio intestinal e caracteriza-se por um aumento da produção de interleucina 15 (IL-15) por parte das células epiteliais e das células dendríticas da lâmina própria (8, 43). O aumento da IL-15 por um lado resulta na activação de linfócitos intra-epiteliais (LIEs) e, por outro, aumenta a permeabilidade da barreira epitelial. Estes linfócitos ativados expressam receptores de células *natural killer* (NKG2D) e CD9/NKG2A (8) e reconhecem os enterócitos que expressam o antígeno MIC-A e MIC-B (antígeno de superfície celular induzido por stress), acabando por os destruir (3, 8). A proliferação destes linfócitos leva à expansão da mucosa intestinal, com alongamento das criptas intestinais e encurtamento/atrofia das vilosidades intestinais (12).

A resposta imune adaptativa ocorre sobretudo na lâmina própria e é mediada por células TCD4+ que reagem aos péptidos do glúten ligados a moléculas HLA-DQ2 e DQ8 nas células apresentadoras de antígeno. De uma forma geral, na submucosa do intestino delgado ocorre a desamidação dos resíduos de glutamina, resultantes da digestão do glúten conduzida pela TG2, numa reação dependente de cálcio. Esta desamidação resulta num aumento da imunogenicidade dos mesmos pois a alteração das cargas dos péptidos vai aumentar a afinidade destes para os haplótipos HLA-DQ2 e HLA-DQ8 das células apresentadoras de antígenos (3, 8). Estas células irão ativar as células TCD4+, desencadeando a resposta inflamatória exacerbada que serve de base ao desenvolvimento da DC através da produção de citocinas pró-inflamatórias, nomeadamente o IFN- γ (2, 3, 44). Gera-se, assim, uma cascata inflamatória na qual são libertadas metaloproteinases e outros mediadores que causam lesão tecidual (3, 8, 12, 45). Durante esta resposta imunológica ocorre produção de ATt, cujo processo ainda não é bem conhecido (3). Alguns estudos epidemiológicos permitiram estabelecer um conjunto de fatores ambientais que estão na base da patogénese da DC (tabela 2).

Tabela 2: Principais fatores envolvidos na patogénese da DC. Modificado de (12).

Factor	Mecanismo
Glúten	Induz ativação de células T, com libertação de citocinas pró-inflamatórias e conseqüente lesão tecidual
HLA-DQ2 e HLA-DQ8	Aumento da suscetibilidade ao desenvolvimento de DC; envolvidos na apresentação do glúten
Idade de introdução do glúten na alimentação	Aumento da suscetibilidade para a produção de auto-anticorpos
Interrupção precoce da amamentação	Diminuição da proteção contra infeções
Infeções gastrointestinais	Aumento da produção de IFN- γ e outras citocinas
Tabagismo; fármacos	Efeito inconclusivo

Destes, o fator mais preponderante é a exposição ao glúten. A quantidade e a idade em que o glúten é introduzido na alimentação, e o padrão de aleitamento materno, foram sugeridos como influências para o desenvolvimento da doença (3, 8). A inclusão de glúten na dieta antes dos quatro meses de idade está associada a um aumento considerável do risco de desenvolvimento de auto-anticorpos relacionados com a DC, em comparação com a exposição ao glúten entre os quatro e os seis meses de idade (8, 12)(tabela 2). Mais recentemente, com o objetivo de clarificar a relação entre a introdução precoce ou tardia do glúten e o risco de desenvolvimento de DC, foram realizados dois ensaios clínicos, nos quais as crianças foram aleatoriamente selecionadas para introdução do glúten entre os 4 e os 6 meses de idade ou entre os 6 e os 12 meses de idade. Ainda que os resultados obtidos nestes estudos tenham diferido em alguns aspetos, a principal conclusão é concordante - o momento da introdução do glúten em crianças susceptíveis não parece influenciar o desenvolvimento da doença celíaca na infância (46).

Além disso, apesar da amamentação ter sido referida como tendo um efeito protetor na patogénese da DC, estes ensaios clínicos não encontraram associação entre a idade de introdução do glúten, a amamentação contínua e o desenvolvimento da DC (3, 47). De facto, não há evidência de que a duração da amamentação ou a manutenção da amamentação quando o glúten é introduzido influenciam o risco de desenvolver DC (46). Por outro lado, a ocorrência de infeções gastrointestinais, tal como a infeção por rotavírus durante a infância, mostrou ter um papel importante no desenvolvimento de DC. Um estudo transversal realizado nos EUA sugere uma associação protetora entre a colonização gástrica por *H. pylori* e a DC. Relativamente à exposição ao tabaco os dados são inconclusivos, visto que alguns estudos sugerem uma associação protetora entre DC e tabagismo, mas outros sugerem o contrário. Para além do tabaco, foi documentada uma associação entre a DC e fármacos, como os inibidores da bomba de prótons e determinados antibióticos (3)(tabela 2).

7. Diagnóstico

Uma abordagem precisa, efetiva e aceitável para o diagnóstico da DC baseia-se na presença de um quadro clínico sugestivo, na avaliação de anticorpos (AAE e ATt), acompanhados da confirmação histológica obtida por biópsia duodenal (1, 8). Na maioria dos doentes o diagnóstico é facilmente estabelecido. No entanto, cerca de 10% dos casos são de difícil diagnóstico pelo facto de não haver coerência entre os achados clínicos, serológicos e histológicos (8). Estima-se que, na Europa, cerca de 2 a 5 milhões de doentes não estejam, ainda, diagnosticados, o que torna a DC uma doença sub-diagnosticada nos dias de hoje. Assim, é necessário aprimorar as estratégias de diagnóstico da doença, nomeadamente o diagnóstico precoce em doentes de maior risco (1, 48). Nestes incluem-se, sobretudo, familiares de primeiro grau, doentes com dermatite herpetiforme, anemia ferropénica de causa inexplicada, tireoidite auto-imune, DM1, infertilidade sem causa aparente, episódios de abortos recorrentes, hipoplasia do esmalte dentário, doença hepática auto-imune, síndrome de Sjögren, Turner e Down, síndrome do cólon irritável, osteoporose inexplicada e epilepsia com calcificações occipitais. Ainda que sub-diagnosticada o rastreio populacional não é recomendado, pois a eficiência, aceitabilidade e os custos do rastreio em massa não são conhecidos, e não há ainda evidência de que esta estratégia promova uma redução na morbimortalidade associada à doença (1, 3). Na Figura 2 estão esquematizadas as diferentes etapas envolvidas no diagnóstico da DC.

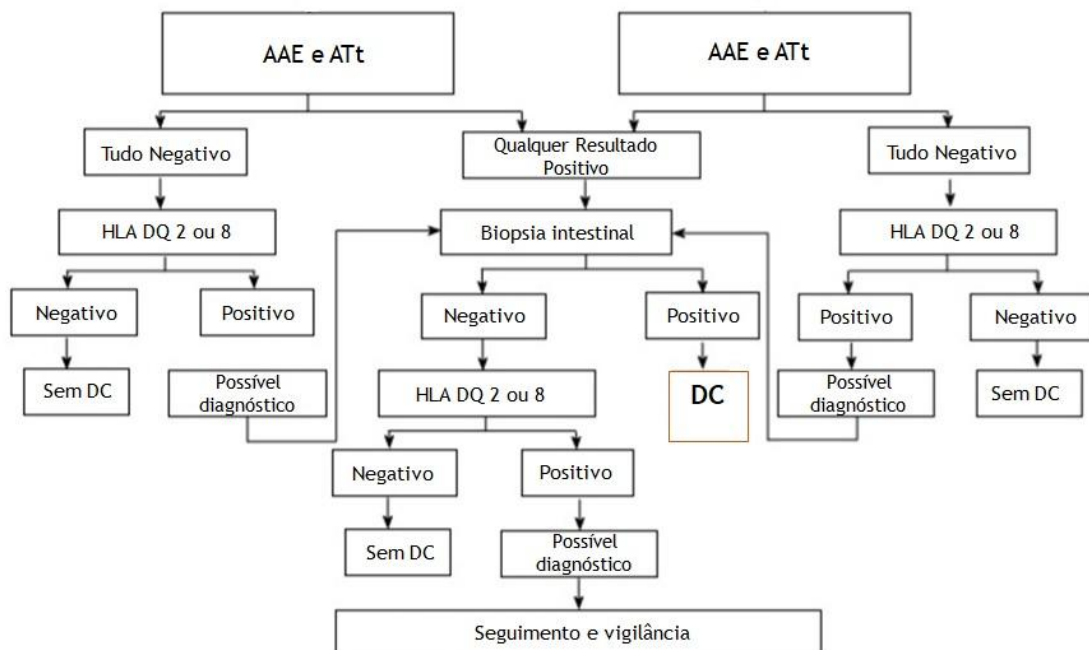


Figura 2: Algoritmo do diagnóstico da DC. Modificado de (12).

7.1 Biopsia intestinal

O *gold standard* no diagnóstico da DC é a biopsia duodenal, devendo ser sempre efetuada em situações em que a suspeita clínica é elevada, independentemente do resultado dos testes serológicos (8). Para melhores resultados devem ser obtidos, preferencialmente, quatro a seis fragmentos do duodeno distal e do bulbo duodenal (1).

Na biopsia são encontrados os achados típicos da doença - linfocitose intra-epitelial, sinais inflamatórios da mucosa, hiperplasia das criptas e atrofia das vilosidades intestinais (1, 49). Estes achados histológicos são característicos da doença, mas não são específicos, podendo ocorrer noutras patologias, tais como na doença de Whipple, doença de Crohn, síndrome de Zollinger-Ellison, linfoma intestinal, enteropatia pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH), gastroenterite eosinofílica, entre outras (3, 8).

Nos doentes que se apresentam sintomáticos, com alterações histológicas ambíguas e serologia negativa ou inconclusiva, poderá ser necessária a realização de uma segunda biopsia (1, 50).

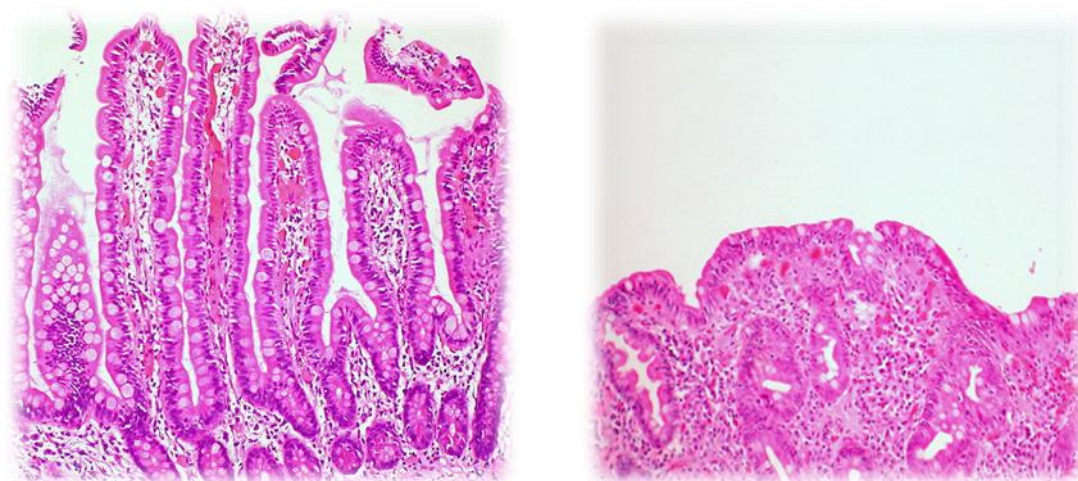


Figura 3: Diferença entre a mucosa intestinal normal (esquerda) e a mucosa intestinal de um doente com DC não tratada (direita), com acentuada atrofia das vilosidades intestinais. Imagens originais de Ed Uthman, utilizadas mediante licença pública do tipo Creative commons attribution 2.0 generic license.

A presença, no estudo histológico, de linfocitose intra-epitelial, sinais inflamatórios da mucosa, hiperplasia das criptas e atrofia das vilosidades intestinais e uma resposta favorável à DIG permitem estabelecer o diagnóstico da doença (50). Existem escalas que permitem classificar a lesão da mucosa intestinal. A classificação proposta por Marsh e revista por Oberhuber, subdivide a lesão da mucosa intestinal em seis categorias distintas, usando como critérios a hiperplasia das criptas, a atrofia das vilosidades intestinais e o número de LIEs (1).

Tabela 3: Classificação da lesão da mucosa intestinal, escala de Marsh-Oberhuber (1,12). -, ausente; +, presente; a, leve; b, moderado; c, total.

Classificação	Linfócitos intra-epiteliais	Hiperplasia das criptas	Atrofia das vilosidades
0 (pré-infiltrativo)		Mucosa Normal	
1 (lesões infiltrativas)	Aumentado	-	-
2 (lesões hiperplásicas)	Aumentado	+	-
3a, 3b, 3c (lesão destrutiva)	Aumentado	+	a, leve; b, moderada; c, total
4 (lesões atróficas)	Aumentado	-	+ (total)

O sistema de classificação de Corazza, mais recente, subdivide a lesão da mucosa em três categorias distintas, tendo por base os mesmos critérios (1).

Tabela 4: Classificação da lesão da mucosa intestinal, escala de Corazza (1,12). -, ausente; +, presente.

Classificação	Linfócitos intra-epiteliais	Hiperplasia das criptas	Atrofia das vilosidades
A (lesões não atróficas)	Aumentado	-	-
B (lesões atróficas)	B1 Aumentado	+	+ (vilosidades reduzidas mas ainda detectáveis)
	B2 Aumentado	-	+ (total)

7.2 Endoscopia digestiva alta

A endoscopia digestiva alta (EDA) é útil, sobretudo, no auxílio da realização da biopsia. A mucosa intestinal pode apresentar um aspecto variável, mas na EDA são encontradas alterações típicas de atrofia das vilosidades intestinais, tais como a redução/ausência das pregas duodenais, e um padrão micronodular da mucosa (1, 51). As alterações da mucosa intestinal encontradas na EDA são características mas não são específicas desta patologia (1).

7.3 Serologia

O diagnóstico inclui também uma avaliação serológica. Os testes serológicos mais sensíveis para o diagnóstico são os da classe IgA. Para além destes, estão também disponíveis testes serológicos para os anticorpos anti-reticulina (AAR), para os AAG, para os ATt e AAE (8, 12). Os AAR e os AAG não são suficientemente sensíveis ou específicos para o diagnóstico da doença, exceto em crianças com menos de 18 meses de idade. No entanto, os anticorpos de péptidos de gliadina desamidados parecem promissores no diagnóstico da doença (1).

Os testes mais utilizados são os dos AAE e dos ATt e, para além de apresentarem elevada sensibilidade e especificidade (superior a 90%), os seus valores de titulação estão relacionados com o grau de lesão da mucosa intestinal (1, 8).

No entanto, ainda que ajudem a estabelecer o diagnóstico da doença, podem ocorrer resultados falsos positivos, como na doença hepática e outras síndromes que cursam com inflamação intestinal (12). Além disso, a deficiência selectiva de IgA é mais comum nos doentes com DC do que na população em geral, podendo ser entre 10 a 16 vezes superior para os doentes com DC (1, 8). Desta forma, a IgA deve sempre ser quantificada, e, se ausente, está recomendada a medição de IgG anti-endomísio e IgG anti-transglutaminase tecidual (8, 12).

Embora a serologia seja um bom método de seleção de doentes para biopsia, um resultado negativo não deve impedir a realização de biopsia em indivíduos cujo diagnóstico de DC é muito provável, dada a sintomatologia (1).

7.4 Genotipagem

O alelo HLA-DQ2 é identificado em cerca de 90 a 95% dos doentes com DC, sendo o alelo HLA-DQ8 identificado nos restantes doentes. No entanto, estes alelos ocorrem em 30-40% da população em geral. Desta forma, é possível que existam indivíduos portadores do alelo que não tenham a doença, pelo que, a ausência destes alelos tem um elevado valor preditivo negativo (8, 12). A sensibilidade (HLA-DQ2, 70% a 99,8%; HLA-DQ8, 1,6% a 38%) e a especificidade (HLA-DQ2, 69% a 77%; HLA-DQ8, 77%-85%) dos testes de genotipagem significam que um resultado positivo não é suficiente para diagnosticar a doença. Para além disso, a presença de HLA-DQ2/8 em doentes com serologias positivas é fortemente sugestivo do diagnóstico, mas não é patognomónico da doença (12).

Dado o elevado valor preditivo negativo, a genotipagem HLA-DQ2/8 é útil para excluir a doença em indivíduos de alto risco - como familiares em primeiro grau e doentes com DM1. Esta avaliação é ainda útil para excluir o diagnóstico em indivíduos que não incluem glúten nas suas dietas, ou em casos em que os resultados serológicos e histológicos são inconclusivos (1, 8, 50).

8. Seguimento Clínico

A DC pressupõe uma abordagem multidisciplinar, envolvendo gastroenterologistas e nutricionistas. As consultas de seguimento dos doentes devem ocorrer 3 a 6 meses após o diagnóstico e, posteriormente com uma periodicidade anual (10).

A avaliação da adesão terapêutica é um fator crucial destas consultas. Desta forma, os estudos indicam que os testes periódicos para ATt IgA e AAG IgA são o método de eleição para avaliar a adesão terapêutica na medida em que, após a normalização destes valores, um aumento subsequente dos mesmos é indicativo de exposição ao glúten. No entanto, a capacidade destes testes para determinar a completa adesão à terapêutica é limitada. A realização de biopsia durante o seguimento dos doentes não é mandatária. No entanto, esta deve ser considerada em doentes com persistência do quadro clínico e níveis serológicos elevados, para exclusão de outras complicações associadas à doença (10, 52).

Deste modo, nas consultas de seguimento clínico para além do estudo serológico, deve solicitar-se um estudo bioquímico, com hemograma e contagem celular, glicemia capilar, estudo do ferro, vitamina B12, vitamina D, cálcio e avaliação da função tiroideia. Nas crianças, para além destes exames é necessária uma avaliação estreita do desenvolvimento pubertário (52). É importante que os doentes adquiram uma dieta específica, sem glúten, mas equilibrada, na qual incluam vitaminas, cálcio, ferro e fibras. Assim, os doentes devem ser acompanhados em consultas de nutrição - nestas, para além de ser revisto o estado nutricional do doente, por forma a excluir défices nutricionais, deve existir educação e informação dietética suficientes para capacitar o doente a auto-gerir a sua dieta. Relativamente à periodicidade destas consultas, idealmente, devem ocorrer a cada 3-6 meses até haver normalização clínica, e após isso a cada 1-2 anos. Este acompanhamento é particularmente importante para mulheres em idade fértil e durante a gravidez. Para além da consulta de nutrição, se necessário e se solicitado pelo doente, este deverá ser encaminhado para consultas de apoio psicológico (50, 52).

9. Complicações e Prognóstico

Alguns doentes, mesmo seguindo uma dieta restrita e isenta de glúten, apresentam persistência ou reaparecimento da sintomatologia (8). A DC pode ser refratária e, para além disso, podem surgir complicações mais graves como a jejunoileíte ulcerosa, o adenocarcinoma do intestino delgado ou o linfoma de células T associado a enteropatia (LTAE) (linfoma do tipo não-Hodgkin) (53).

A DC é refratária em cerca de 5% dos doentes, sendo que nestes doentes não ocorre resposta, quer histológica quer clínica, à DIG. Desta forma, os doentes podem apresentar persistência (DCR primária) ou reaparecimento (DCR secundária) dos sintomas como diarreia, dor abdominal e má absorção, com atrofia das vilosidades intestinais, mesmo após um período de 6 a 12 meses cumprindo uma dieta sem glúten (1, 8). A DCR é mais prevalente no sexo feminino, e pode ser classificada de duas formas: DCR tipo 1 (DCR1), na qual os LIEs apresentam um fenótipo normal (CD3+, CD8+) e a DCR tipo 2 (DCR2), na qual ocorre uma expansão clonal aberrante dos LIEs, com um fenótipo anormal (CD3 +, CD8 -). A DCR2 ocorre mais frequentemente em indivíduos com homozigotia HLA-DQ2, e está associada a um risco de 37%-60% de desenvolvimento de LTAE (8, 50).

A jejunoileíte ulcerosa apresenta características imunopatológicas que são comuns com a DCR2. Com efeito, a jejunoileíte caracteriza-se, sobretudo, pela ocorrência de múltiplas ulcerações que evoluem para estenoses da parede intestinal. As principais manifestações associadas são a dor e distensão abdominais, febre baixa e perda de peso; complicações resultantes de obstrução, hemorragia e perfuração estão associadas a elevadas taxas de mortalidade (1, 54).

Um estudo de coorte retrospectivo, realizado na Suécia, demonstrou que os doentes com DC apresentam um risco de dois a quatro vezes superior de desenvolver linfoma não-Hodgkin e um risco trinta vezes superior de desenvolver adenocarcinoma do intestino delgado (3, 7). O desenvolvimento do linfoma geralmente é indicado pela recidiva dos sintomas, mesmo após um período prolongado de DIG (8, 23). Deste modo, quando um doente refere sintomas como perda de peso inexplicável, mal-estar geral, dor abdominal, diarreia, febre, entre outros, deve suspeitar-se de um LTAE. O LTAE localiza-se mais frequentemente no jejuno, podendo ocorrer também no íleo e até mesmo em locais extra-intestinais, como o fígado, osso e cérebro. Este tipo de linfoma é mais comum no sexo masculino, com um pico de incidência por volta dos 60 anos, e apresenta uma taxa de mortalidade a dois anos de 15-20% (1, 8). Os principais fatores de risco envolvidos no desenvolvimento do linfoma em doentes com DC são a idade avançada, a DCR2 e a atrofia total das vilosidades intestinais ao diagnóstico. Desta forma, tendo em conta o risco de evolução para LTAE, todos os doentes com doença refratária devem ter um seguimento semestral ou anual (8).

Vários estudos reportaram que a taxa de mortalidade é superior nos doentes com DC em comparação com a população em geral, o que pode ser justificado, em parte, pelo atraso no diagnóstico das complicações mais graves da doença. De facto, estes doentes têm um risco duas vezes superior de desenvolver neoplasias, tais como LTAE e adenocarcinoma do intestino delgado, da orofaringe e do esófago (1, 50).

No entanto, a principal causa de morte nos doentes com DC é o LTAE, cujo tratamento passa sobretudo por quimioterapia ou transplante de medula óssea (1).

9.1 Morbilidades psicossociais

De uma forma geral a sintomatologia da DC responde positivamente a uma dieta isenta de glúten, que é até ao momento a única terapia disponível. Desta forma, ao longo da vida, o doente deve adotar uma dieta específica, da qual deve eliminar os alimentos que contenham glúten ou proteínas com estrutura primária similar ao glúten, presentes no centeio, cevada e seus derivados (1). No entanto, esta dieta não é inócua na medida em que conduz, muitas das vezes, a problemas de índole psicológico, emocional e social, para além de algumas limitações nutricionais que a ela estão associadas. Assim, tendo em conta os inconvenientes que possam advir desta dieta, a adesão à mesma fica, muitas das vezes, condicionada, o que leva, por si só, a um agravamento da sintomatologia da doença (1, 55).

Nos últimos anos tem havido um maior interesse na perceção que os doentes têm acerca da sua doença, nomeadamente no impacto que esta representa na sua qualidade de vida (10). Desta forma, os aspetos que devem ser abordados não se restringem apenas aos parâmetros biológicos e fisiológicos, mas também aos parâmetros psicológicos e sociais da doença. Os distúrbios de humor, nomeadamente distúrbios de ansiedade e distúrbios depressivos estão frequentemente associados à doença o que, de certa forma, acarreta um grande impacto na qualidade de vida destes doentes e na sua adesão à DIG (10, 56). Estudos recentes, baseados em instrumentos multidimensionais de avaliação de distúrbios crónicos, avaliaram e relacionaram a qualidade de vida dos doentes com o diagnóstico da doença e a DIG. Apesar de os doentes com diagnóstico confirmado e assintomáticos terem relatado melhor qualidade de vida em comparação com os doentes que, ao diagnóstico, se encontram sintomáticos, o papel da DIG ainda não está bem esclarecido (10). Os estudos não são consistentes na medida em que uns demonstram que há um decréscimo da qualidade de vida associado à falta de adesão à DIG, enquanto outros não relataram diferenças na qualidade de vida entre os doentes que aderem totalmente a uma DIG e doentes que aderem apenas parcialmente, ou não aderem à DIG. Relativamente à diferença entre géneros, foi relatada menor qualidade de vida no sexo feminino, em comparação com o sexo masculino (56, 57).

Os distúrbios de ansiedade são também comuns entre os doentes com DC, mas de acordo com um estudo recente, a ansiedade não é nem mais comum nem mais grave nestes doentes em comparação com a população em geral. No entanto, quando presente, a ansiedade parece ser superior antes do diagnóstico e tendencialmente diminui após um ano de DIG. Este distúrbio é mais comum no sexo feminino e foi associado, sobretudo, com problemas relacionados com a compra e preparação dos alimentos, a disponibilidade e o custo dos mesmos e ainda com problemas de isolamento social (10, 57). De facto, alguns doentes relatam que encontram várias barreiras para uma completa adesão à DIG, nomeadamente em relação à disponibilidade, rotulagem e ao custo dos alimentos isentos de glúten (57).

Relativamente à depressão associada à DC alguns estudos mostram, por um lado, que os doentes apresentam um quadro depressivo no momento do diagnóstico da doença, havendo

melhoria do quadro com o início da DIG; por outro lado, há estudos que indicam que o quadro depressivo de alguns doentes permanece ou piora, mesmo após iniciar uma DIG (10).

Na generalidade, a depressão e a ansiedade são distúrbios comumente associados à DC, sendo que as causas subjacentes podem variar consoante os diferentes estágios da doença. Assim, antes do diagnóstico estes distúrbios podem estar relacionados com as preocupações dos doentes em relação à sua condição física e ao seu quadro clínico; no momento do diagnóstico, os exames complementares que são necessários para que este seja confirmado podem gerar alguma ansiedade; por fim, o doente mantém preocupações acerca de como gerir a sua doença e a DIG, e as limitações que estas podem implicar nas suas interações sociais (57). Estudos retrospectivos quantificaram o QALY (ano de vida ajustado pela qualidade) associado à doença e concluíram que este é inferior no sexo feminino e que aumenta após o início da DIG, em ambos os sexos (56).

Para além da morbilidade causada pela doença no próprio doente, um estudo transversal realizado pelo Centro Médico da Universidade da Colômbia, entre 2014 e 2015, demonstrou que a doença acarreta algum peso na qualidade de vida dos parceiros/cuidadores do doente. Cerca de um terço dos indivíduos envolvidos no estudo refere que a doença do parceiro apresenta uma carga leve a moderada na sua qualidade de vida estando diretamente relacionada com a gravidade do quadro clínico e com as restrições financeiras e sociais impostas pelo tratamento disponível (58). Os distúrbios referidos podem, no entanto, ser justificados por diversos mecanismos. De facto, antes de haver um diagnóstico definitivo, estes podem simplesmente advir do mal-estar geral que a própria doença causa. Por outro lado, tendo em conta que na DC ocorre um síndrome de má absorção, levando a défices nutricionais, pode ocorrer uma hipoperfusão cerebral que, ao danificar a barreira hematoencefálica, aumenta a sua exposição a metabolitos irritativos (10). Para além disso, os distúrbios podem também ser explicados pela forte associação que existe entre a DC e outras doenças autoimunes, nomeadamente doenças tiroideias e DM1. Nas reações imunes pode ocorrer um aumento de citocinas que exercem um efeito importante nos circuitos cerebrais reguladores do humor o que, de certa forma, justifica o facto de a DC e as patologias da tiroide constituírem, em simultâneo, um fator de risco importante para distúrbios depressivos e transtornos de pânico (55).

A DC apresenta um impacto psicológico considerável que pode ser justificado quer por processos bioquímicos inerentes à própria doença, quer pela percepção subjetiva do doente acerca desta. Os doentes apresentam vulnerabilidade para se adaptarem a esta condição crónica, principalmente em relação ao impacto social que esta adquire nas suas vidas (57). Ainda que os estudos sobre o impacto da doença e da DIG não sejam consistentes, é necessário ter em conta que as limitações de humor que possam advir quer da doença, quer do seu tratamento, podem condicionar uma melhor ou pior adesão à dieta e, desta forma, levar a um agravamento do quadro clínico. Ansiedade e depressão são queixas comuns entre os doentes, implicando uma menor qualidade de vida para os mesmos e embora estas queixas possam melhorar com o tempo após o início da DIG, alguns doentes permanecem com morbilidade

significativa (10). De facto, mais de 40% dos doentes diz-se insatisfeito com a DIG, manifestando interesse em novas terapias, o que justifica a necessidade de promover investigações nesta área (56).

Tendo em conta o impacto que a doença apresenta na qualidade de vida dos doentes e a única terapêutica disponível no momento, os profissionais de saúde devem promover uma abordagem holística da doença, garantindo um seguimento multidisciplinar aos doentes, devendo incluir uma consulta de nutrição e de apoio psicológico (10, 57).

10. Tratamento

10.1 Dieta isenta de glúten

A única abordagem disponível e eficaz para a DC é uma dieta restrita, sem glúten. A eliminação do glúten da dieta geralmente induz melhoria clínica em dias ou semanas, e recuperação histológica em meses ou anos (8). Para além disso, esta abordagem pode prevenir o desenvolvimento de complicações relacionadas com a doença, nomeadamente o LTAE (59). Esta dieta específica deve acompanhar-se de suporte nutricional e reposição de vitaminas e minerais (8). Os doentes com DCR, para além da dieta, podem beneficiar de corticoterapia. Os corticóides, como a prednisolona e o budenosido podem induzir remissão clínica e recuperação da mucosa, nomeadamente na DCR1, e em cerca de 75% dos doentes com DCR2 (60). Os corticóides podem, no entanto, induzir dependência, e, nestes casos, pode ser necessário recorrer a agentes imunossuppressores, como azatriopina, ciclosporina e infliximab. Estes imunossuppressores, por sua vez, devem ser usados com precaução na medida em que podem promover a progressão para o linfoma (8, 60).

Ao longo da vida, o doente deve adotar uma dieta específica, eliminando todos os alimentos que contenham glúten, ou proteínas com estrutura semelhante ao glúten, presentes no centeio, cevada e seus derivados. Ainda que muito variável entre doentes, a ingestão diária de 50mg destes alimentos pode ser prejudicial (1). A inclusão de aveia na dieta não é consensual na medida em que, por reação cruzada, o doente pode ter uma resposta prejudicial à ingestão da mesma, devendo, por isso, ser evitada nas formas mais graves da doença, ou limitada a cerca de 50-60mg diários nas formas moderadas (61). No entanto, há estudos que sugerem que este alimento é tolerado pela maioria dos doentes, melhorando o seu estado nutricional e a sua qualidade de vida (8).

O *Codex Alimentarius* considera um alimento isento de glúten quando este é naturalmente sem glúten ou quando apresenta um nível de glúten inferior a 20mg/Kg na sua composição (9). Estes alimentos, para além de terem um custo mais elevado, não têm a mesma disponibilidade no mercado, pelo que nem sempre são de fácil acesso a todos os doentes. Há ainda alimentos processados que, por contaminação cruzada, apresentam glúten na sua constituição e, deste modo, os doentes devem ter atenção reforçada na leitura dos rótulos (9). Por forma a manter uma dieta nutritiva e variada e tendo por base a restrição na ingestão de glúten, os doentes devem optar por outros grãos e outras fontes de amido, isentas de glúten, bem como carne, frutas, vegetais e produtos lácteos. No entanto, numa fase inicial, estes últimos devem ser evitados pela difícil digestão dos mesmos, em consequência da atrofia das vilosidades intestinais (1, 8).

A DIG associa-se a alguns défices nutricionais, uma vez que os alimentos sem glúten apresentam um menor conteúdo proteico e maior conteúdo lipídico, para além de que apre-

sentam um maior conteúdo de sódio, e menor conteúdo de fibras (9). Assim, tendo em conta as características destes alimentos, esta dieta está igualmente associada a algumas complicações como a obesidade e a hipertensão arterial (HTA). No entanto, os estudos não são consistentes - há, por um lado, estudos que demonstram que os doentes que não consomem glúten apresentam um maior risco de obesidade, HTA e hiperglicemia, sem alterações no perfil lipídico. Consequentemente, apresentam maior probabilidade de desenvolver um síndrome metabólico e, por vezes, esteatose hepática. No entanto, há estudos que consideram que os doentes que seguem uma DIG não têm risco aumentado de desenvolver obesidade ou HTA (9, 10).

A completa adesão à DIG está dependente de fatores ambientais e individuais, sendo que as taxas de adesão entre doentes adultos variam entre 36% a 96% (9). Assim, os inconvenientes associados a esta dieta, quer a nível pessoal/social quer a nível nutricional reforçam a necessidade do desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas (1, 8, 9).

10.2 Novas abordagens terapêuticas

A rápida expansão da população com DC, especialmente na idade adulta, e os inconvenientes associados à DIG, permitiram perceber que esta, por si só, está frequentemente associada a resultados sub-ótimos nestas populações (6). Existem, atualmente, como ilustrado na tabela 5, estratégias promissoras para o tratamento da DC, que se baseiam sobretudo na fisiopatologia da doença (59). As novas abordagens terapêuticas para a DC são apresentadas de seguida (figura 4).

Tabela 5: Quadro-resumo das principais terapêuticas não dietéticas para a DC (1, 6, 62).

Classe terapêutica		Alvo	Mecanismo de ação
Modificação do Trigo	Engenharia genética	Glúten antes da ingestão	Modificação genética do trigo visando a diminuição do teor em gliadinas
Terapias enzimáticas	PEP	Péptidos do glúten	Clivagem dos péptidos de gliadina em sequências mais seguras
	AN-PEP		
	STAN-1		
	ALV-003		
Terapias de modulação da resposta imunitária	Antagonistas IL-15	IL-15	Diminuem a atividade citolítica dos IELs, diminuindo a apoptose dos enterócitos
	Agonistas IL-10	IL-10 e células T tipo 1, reguladoras	A expansão de células T reguladoras do tipo 1, mediada por IL-10, suprime a resposta imune às gliadinas
	Anticorpo anti-IFN γ (fontolizumab) e Anticorpo anti-TNF α	IFN- γ e TNF α , respetivamente	Regulam negativamente a resposta inflamatória mediada pelas células Th1
	Anticorpos anti-CD3	Células T	Silenciamento das células T reativas ao glúten
	Anticorpos anti-CD20	Células B	Diminuição da resposta imune por parte das células B
Probióticos	<i>Bifidobacterium infantis</i> e <i>Bifidobacterium lantis</i>	Microbiota intestinal	Melhoram a sintomatologia dos doentes
Alteração da permeabilidade das células epiteliais	Antagonista do receptor da zonulina (ATA-1001)	Zonulina	Impede a passagem dos péptidos do glúten, por modelação das junções de oclusão, para a lâmina própria
	Bloqueio do transporte transcelular	Receptores de transferrina envolvidos no transporte transcelular dos péptidos do glúten	Impede a via alternativa de passagem dos péptidos de glúten para a lâmina própria
Inibidores da TG2	Reversíveis, irreversíveis ou competitivos	TG2	Inibe a desamidação do glúten por parte da TG2
Bloqueadores HLA-DQ2 e HLA-DQ8		HLA-DQ2/8	Inibem a apresentação dos antígenos (péptidos do glúten) às células T
Sequestradores de glúten	Ligantes poliméricos P [HEMA-co-SS]	Glúten	Esta molécula ao ligar-se ao glúten impede a sua digestão <i>in vitro</i> , diminuindo a formação de péptidos imunotóxicos
Moduladores da adesão	Antagonista do receptor CCR9 (CCX282-B)	Moléculas de adesão	Bloqueiam a interação entre a integrina $\alpha 4/\beta 7$ dos linfócitos com a MADCAM-1 expressa nas células endoteliais da mucosa intestinal, diminuindo assim o recrutamento de LIEs
	Anticorpo anti-integrina $\alpha 4$ (natalizumab)		
	Anticorpo anti-integrina $\alpha 4/\beta 7$ (MLN-02)		
	Antagonista da integrina $\alpha 4$ (T-0047)		
Vacinação/outras estratégias	Vacinas peptídicas (Nexvax2)	Células dendríticas	Manipulação de células dendríticas, como veículo para as vacinas, por forma a induzir imunidade contra os epítomos imunotóxicos

10.2.1 Desenvolvimento de linhas de trigo geneticamente modificadas com baixo teor em gliadinas

Uma das estratégias utilizadas consiste na redução do teor de gliadinas do trigo através de tecnologias de abordagem genética com o intuito de diminuir a imunotoxicidade do glúten. Esta desintoxicação do glúten foi conseguida através da utilização da tecnologia de RNA de interferência para silenciar a expressão de determinadas gliadinas e mais recentemente através da tecnologia CRISPR. Ambas as aproximações demonstraram resultados promissores para o desenvolvimento potencial de um produto que possa vir a ser consumido com segurança por doentes com DC (59).

Apesar dos processos referidos reduzirem a toxicidade do glúten quando este é ingerido, mantêm-se alguns dos problemas económicos e sociais que possam estar associados à dieta, como por exemplo a menor disponibilidade destes alimentos no mercado e o maior custo associado (1).

10.2.2 Terapias enzimáticas

Os péptidos do glúten possuem um elevado teor em resíduos de glutamina e prolina o que o torna particularmente resistente à proteólise por parte das enzimas digestivas (3). Por forma a minimizar esta resistência à digestão a nível gastrointestinal estão em estudo várias terapêuticas enzimáticas que permitem a fragmentação do glúten em porções não imunotóxicas (6, 12). Assim, o tratamento com estas endopeptidases leva a uma redução da resposta imune das células T a nível intestinal (3, 12)

Existem diversos microrganismos, como o *Aspergillus niger*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Sphingomas capsulata* e *Myxococcus xanthus* que são capazes de produzir endopeptidases de prolina (PEP), hidrolisando os péptidos de gliadina. As endopeptidases produzidas por estes microrganismos são capazes de exercer a sua função no pH do trato gastrointestinal, sendo moderadamente resistentes a esse ambiente (59). Para além dos microrganismos, as sementes de cereais contêm uma mistura de proteases endógenas capazes de degradar o glúten durante o seu crescimento (59).

A endopeptidase ALV003 é uma combinação, numa proporção de 1:1, de uma endopeptidase de cisteína EP-B2, derivada de endosperma de cevada levemente germinada (ALV001) com uma PEP obtida a partir da bactéria *Sphingomonas capsulata* (ALV002). As duas endopeptidases são activas e estáveis em pH gástrico, e a EP-B2 exhibe atividade contra a gliadina- α 2. Os péptidos resultantes sofrem degradação pela ALV002, tornando-se menos imunotóxicos (59). As duas enzimas actuam de forma sinérgica, pelo que é mais eficaz a combinação enzimática do que a ação isolada. Nos estudos realizados, a ALV003 foi bem tolerada e não apresentou reações adversas (6). A eficácia desta enzima foi comparada com um placebo num ensaio clínico de fase IIa. Neste ensaio, verificou-se que nos pacientes que receberam tratamento com ALV003 não houve alterações histológicas na biópsia intestinal, enquanto que o

grupo placebo demonstrou agravamento das lesões da mucosa e para além disso, verificou-se um aumento do número de LIEs no grupo controlo (59). No entanto, não foi observada nenhuma diferença em relação à sintomatologia dos doentes e à quantificação de anticorpos nos dois grupos. Este ensaio clínico permitiu concluir que esta endopeptidase pode ser útil na prevenção da lesão da mucosa intestinal em doentes que ingerem, inadvertidamente, quantidades moderadas de glúten (6, 12, 59). Deste modo, verificou-se que apesar de não haver melhoria sintomática com a ALV003, há diminuição da lesão da mucosa intestinal (12).

A AN-PEP é outra endopeptidase com propriedades de hidrólise do glúten. Derivada de *Aspergillus niger* e testada em ensaios clínicos, mostrou não ser eficaz na prevenção da lesão da mucosa intestinal induzida por ingestão diária de 7g de glúten, mas apresenta uma eficácia considerável para ingestão de doses inferiores de glúten. Para além disso, esta endopeptidase parece apresentar alguma utilidade no pré-tratamento de alimentos com vestígios de glúten. No entanto, são necessários mais estudos para clarificar a eficácia deste fármaco e a sua potencialidade enquanto agente terapêutico da DC (2, 6).

A STAN-1 é uma combinação de endopeptidases, com propriedades de hidrólise do glúten, ainda sob ensaios clínicos de fase II (6).

Uma outra estratégia utilizada consiste na adição de *Lactobacili* durante a fermentação da farinha. Estes lactobacilos são capazes de fragmentar os péptidos do glúten, ricos em prolina e glutamina, e desta forma diminuem a imunotoxicidade do glúten (2, 12).

10.2.3 Terapias de modulação da resposta imunitária

A DC é uma doença auto-imune na qual fatores ambientais, em conjunto com a predisposição genética, levam a uma desregulação dos mecanismos envolvidos na resposta de tolerância e de inflamação a um agente agressor. As células T reguladoras (Treg), nomeadamente os subtipos CD4, CD5 e FOXP3 desempenham um papel importante na tolerância imunitária a um agente agressor. No entanto, na DC estas células modulam a resposta imunitária através de várias citocinas, como a interleucina 10 (IL-10), IL-15, IFN- γ e TNF- α . Assim, este tem sido um ponto importante para investigação de novas abordagens terapêuticas, como forma de reestabelecer um equilíbrio entre os mecanismos de tolerância à agressão e os mecanismos da resposta inflamatória (6). Desta forma, os agentes que suprimem as citocinas inflamatórias ou amplificam a atividade reguladora são possíveis alvos terapêuticos, adquirindo maior importância na abordagem da DCR (2, 6).

As terapêuticas apresentadas de seguida têm como principal alvo as células T, dado o importante papel destas na modulação da resposta imunitária.

10.2.3.1 Antagonistas da IL-15

A IL-15 é uma citocina responsável pela ativação e proliferação de linfócitos T e células NK (6). Na DC a expressão de IL-15 encontra-se aumentada o que induz um aumento do número de LIEs (3, 59). Para além disso a IL-15 associa-se à destruição tecidual através de uma

casca mediada por uma proteína tirosina-cinase da família *Janus Kinase* (JAK). O tofacitinib é um inibidor inespecífico das JAKs e, apesar de estar clara a sua eficácia no tratamento da artrite reumatóide, na DC a sua eficácia ainda está pouco elucidada. De momento está a ser desenvolvido, em ensaios de fase I com doentes com DCR, um anticorpo monoclonal mAB Mik-b-1 que bloqueia a actividade da IL-15 (6). O bloqueio desta citocina para além de diminuir a passagem da gliadina, promove a integridade da camada epitelial, limitando desta forma a destruição tecidual (12). Esta abordagem é também útil na DCR na medida em que o bloqueio da IL-15 reduz a atividade dos LIÉs contra as células epiteliais, e consequentemente diminui a apoptose de enterócitos. Assim, esta abordagem parece prevenir uma posterior transformação celular, como o linfoma (59).

10.2.3.2 Agonistas IL-10

A IL-10 inibe a secreção de citocinas pró-inflamatórias por parte das células T, pelo que a potencialização da sua atividade parece ser benéfica na terapêutica da doença (6). Com efeito, um estudo realizado com base em biópsias de doentes com DC demonstrou que a IL-10 suprimiu a activação das células T. No entanto, estes resultados não foram satisfatórios num estudo realizado com 10 doentes com DCR, que receberam 8 µg/Kg de IL-10 recombinante, via subcutânea, durante 3 meses. De facto, neste estudo apenas um indivíduo apresentou regressão completa da atrofia das vilosidades intestinais (6). Para além disso, após descontinuação da IL-10 recombinante, os doentes apresentaram recorrência dos sintomas, o que faz com que os agonistas da IL-10 não constituam uma opção terapêutica promissora para a DC (59).

10.2.3.3 Antagonistas IFN-γ e anti-TNFα

O IFN-γ e o TNF-α desempenham um importante papel na patogénese da DC. Uma outra abordagem no tratamento da DC passa pela utilização de anticorpos monoclonais anti-TNFα, como o infliximab, o certolizumab e o adalimumab; e anticorpos anti-IFNγ, como o fontolizumab. Até à data, o infliximab é o único anticorpo monoclonal testado para a DC (59).

10.2.3.4 Anticorpos anti-CD3

A molécula CD3 é um co-recetor para as células T, pelo que anticorpos contra esta molécula podem levar à supressão das células T ativadas pelo glúten, reduzindo a resposta inflamatória das mesmas (6). Esta terapia pretende promover a tolerância ao glúten, uma vez que induz a ação das células Treg. No entanto, as células T efetoras (Teff) de alguns doentes com DC ativa tornam-se resistentes à supressão pelas células Treg, questionando a eficácia desta terapia (6, 59).

10.2.3.5 Anticorpos anti-CD20

Para além das células T, as células B também desempenham um papel importante na patogénese da doença, através da mediação da produção de auto-anticorpos específicos (6). A principal estratégia utilizada para a supressão da resposta das células B são os anticorpos anti-CD20. Em diversos distúrbios auto-imunes, como a artrite reumatóide e a esclerose múltipla, a depleção de células B por meio de anticorpos anti-CD20 foi eficaz. No entanto, esta abordagem não é totalmente eficaz na DC na medida em que não impede a formação, na mucosa intestinal, de células produtoras de IgA, nem elimina a produção de ATt (59). Desta forma, ainda que haja vários antagonistas CD20 disponíveis no mercado, o seu papel no tratamento da DC não está bem esclarecido (2, 6).

10.2.4 Probióticos

A microbiota intestinal desempenha um papel fundamental na manutenção do estado de saúde, e o seu desequilíbrio - a disbiose - tem sido implicada na patogénese de várias doenças inflamatórias e auto-imunes, como a DC (6).

De acordo com alguns estudos, os doentes com DC apresentam redução da concentração de *Bifidobacterium* nas amostras fecais e nas biopsias duodenais. Em crianças com DC estas bactérias não estão presentes no duodeno e estão em concentrações mais baixas nas amostras fecais em comparação com indivíduos saudáveis (2, 6). Para além disso, vários estudos mostraram que não houve uma reposição da microbiota nos doentes que seguiram uma DIG, o que torna importante a inclusão de agentes probióticos na abordagem terapêutica da doença (6, 63). De acordo com a OMS, um probiótico corresponde a um “microrganismo vivo, que quando administrado em quantidades adequadas confere benefício à saúde do hospedeiro” (63). Os efeitos benéficos dos probióticos podem manifestar-se através de diversos mecanismos tais como a produção de inibidores contra agentes patogénicos, bloqueio de locais de adesão, competição por nutrientes, degradação de recetores de toxinas, e regulação da imunidade (59, 63).

Os estudos demonstram que *Bifidobacterium infantis* e *Bifidobacterium lantis* apesar de não reduzirem a permeabilidade da barreira intestinal, como seria esperado, melhoram a sintomatologia dos doentes (6).

10.2.5 Alteração da permeabilidade ao nível do epitélio

10.2.5.1 Antagonistas do receptor da zonulina (ATA-1001)

As junções de oclusão entre as células epiteliais são estruturas dinâmicas que regulam a permeabilidade paracelular - isto é, regulam a passagem de fluidos, macromoléculas e componentes bacterianos através do espaço paracelular (2). Ao contrário do que ocorre normalmente, na DC a permeabilidade das células epiteliais intestinais está aumentada. Isto ocorre porque há uma expressão anormal das proteínas da camada epitelial e um aumento da per-

meabilidade devido à zonulina (59). Assim, antagonistas do receptor de zonulina parecem ser uma estratégia terapêutica promissora para a DC.

O acetato de larazotide (AT-1001) é um octapéptido derivado da toxina Zonula Occludens, secretada por *Vibrio cholerae* que, ao reduzir a permeabilidade das junções de oclusão, impede o transporte paracelular das gliadinas (6, 12). Estudos *in vitro* provaram que o acetato de larazotide reduz a permeabilidade paracelular. No entanto, em ensaios clínicos os mesmos resultados não foram obtidos. Nestes, a permeabilidade intestinal induzida pelo glúten não foi afetada, mas houve redução da sintomatologia (59). Este fármaco reduz a permeabilidade da via paracelular de transporte das gliadinas através das junções de oclusão, mas as gliadinas são transportadas também por mecanismos transcelulares. Desta forma, esta estratégia poderá ser mais eficaz se utilizada em combinação com outras estratégias terapêuticas que inibam ambas as vias de transporte (12).

10.2.5.2 Bloqueio do transporte transcelular

Para além da via paracelular, os péptidos derivados das gliadinas podem atravessar a membrana epitelial pela via transcelular, envolvendo a secreção de IgA. Os complexos de gliadina ligam-se ao receptor de transferrina. Assim, a inibição desta via de transporte, ainda que em estudo, é uma abordagem promissora para a terapêutica da DC (59).

10.2.6 Inibidores da TG2

Os péptidos derivados das gliadinas, após a desamidação por parte da TG2, têm uma maior afinidade para os receptores HLA-DQ2/8 presentes nas células apresentadoras de antígenos (59). Tendo em vista o papel da TG2 na patogénese da DC, a inibição desta enzima parece ser uma abordagem terapêutica promissora.

Vários estudos pré-clínicos testaram diferentes inibidores não seletivos de TG2 *in vitro*. Estes inibidores podem ser reversíveis, irreversíveis ou competitivos (12). Os inibidores irreversíveis estabelecem uma ligação covalente com a enzima e assim impedem a desamidação dos péptidos; os inibidores reversíveis são preferíveis aos anteriores por apresentarem menos efeitos adversos e incluem os moduladores aldeído da TG2, derivados de cinamoíl-triazol e o péptido modificado altamente específico, tendo como alvo principal o local ativo da TG2 (12, 59). A TG2 desempenha importantes funções na inflamação e cicatrização de lesões a nível intestinal, mas os inibidores de TG2 disponíveis não possuem especificidade tecidual, isto é, não atuam exclusivamente ao nível do epitélio intestinal. Desta forma, a segurança da terapêutica é posta em causa uma vez que as isoenzimas de TG2 são expressas de forma ubíqua e desempenham diversas funções (6).

10.2.7 Bloqueadores HLA-DQ2 e HLA-DQ8

A resposta imune adaptativa que ocorre na DC é desencadeada pela apresentação de péptidos derivados da digestão do glúten pelas células apresentadoras de antígenos às células TCD4+. Os bloqueadores HLA-DQ são usados para bloquear a ligação dos péptidos aos recetores HLA-DQ2/DQ8 presentes nas células apresentadoras de antígenos e evitar assim a ativação das células T (12, 59). Os estudos nesta área devem concentrar-se sobretudo em bloqueadores para o HLA-DQ2, uma vez que este é o haplótipo mais prevalente entre os doentes com DC.

Apesar de consistir numa abordagem promissora para a terapêutica da DC, é necessário que se tenha em conta que os bloqueadores destes haplótipos podem interferir com outras respostas dependentes de HLA-DQ2, como acontece noutros distúrbios auto-imunes (2, 59).

10.2.8 Sequestradores de glúten

Uma outra abordagem terapêutica são os ligantes poliméricos. Estes agentes sequestram as gliadinas ao nível do lúmen do intestino delgado, e, desta forma, impedem os seus efeitos nocivos (59). Uma destas moléculas é o poli-metacrilato de hidroxietilo-co-estireno sulfonato (P [HEMA-co-SS]). Esta molécula ao ligar-se ao glúten impede a sua digestão, *in vitro*, diminuindo a formação de péptidos imunotóxicos. Para além disso, estudos em modelos de ratos demonstraram que esta molécula apresenta efeitos ao nível da barreira intestinal e na ativação de células, atenuando assim a imunotoxicidade das gliadinas (12, 59). O principal inconveniente associado a esta abordagem é o facto de que o HEMA-co-SS pode ligar-se a outros nutrientes além das proteínas do glúten, podendo desta forma conduzir a défices nutricionais. Assim, esta abordagem pode ser considerada uma terapia adjuvante da DC e que compreende a destoxificação de quantidades vestigiais de glúten eventualmente ingerido por contaminação cruzada noutros alimentos (6, 59).

10.2.9 Moduladores da adesão - antagonista do receptor CCR9

Os linfócitos T de memória usam o receptor de quimiocinas CCR9 e a integrina $\alpha 4\beta 7$ para localizarem a mucosa gastrointestinal. O nível sérico de células T que expressam este receptor está aumentado nos doentes com DC, mas a nível intestinal, está reduzido (59). Desta forma, o bloqueio da localização dos linfócitos T poderá ser uma abordagem terapêutica eficaz para a DC. O CCX282-B - um antagonista do receptor CCR9 - encontra-se em estudo para terapêutica da DC e da doença inflamatória intestinal (6).

10.2.10 Vacinação

Uma vez que na DC existe um comprometimento dos mecanismos que regulam a resposta imunitária, estão em curso ensaios clínicos de fase I que estudam o efeito de uma vacina peptídica como abordagem terapêutica para a DC (12). A vacina peptídica Nexvax2 corres-

ponde a uma mistura de α - e ω -gliadinas imunotóxicas e hordeínas, e apresenta bons perfis de segurança. O objetivo desta vacina é o uso da imunoterapia baseada nos péptidos por forma a alterar a resposta pró-inflamatória dos linfócitos T para uma resposta reguladora, por forma a reestabelecer a tolerância imunológica ao glúten (2, 12). No ensaio de fase I realizado, os doentes que receberam as doses de 60 μ g e 90 μ g da vacina evidenciaram sintomas gastrointestinais semelhantes aos que ocorrem com a ingestão do glúten. No entanto, após pelo menos uma dose de vacina, foram detetadas, por imunoensaio, linfócitos T específicos e uma resposta positiva, o que reflete a ativação imune intestinal semelhante ao que ocorre aquando a ingestão de glúten, apoiando, desta forma, o mecanismo de acção da Nexvax2 (6). Apesar de o referido estudo demonstrar vantagens na aplicação da vacina como potencial abordagem para a DC, estudos mais recentes não são consistentes com este resultado (64).

10.2.11 Outras estratégias

As infeções crónicas, incluindo infeções parasitárias intestinais, ajudam a regular o sistema imunológico e a prevenir doenças auto-imunes (6). Um ensaio clínico de fase II avaliou o efeito da inoculação (por via dérmica) do *Necator americanus* em doentes com DC (12). Apesar de não reduzir a gravidade dos sintomas da doença, esta inoculação mostrou um papel importante na modulação da sensibilidade ao glúten e na reatividade imunológica destes doentes. Com efeito, neste estudo duplo-cego, prospetivo e aleatório, 20 doentes com DC foram submetidos a inoculação cutânea com larvas responsáveis por ancilostomíase ou placebo nas semanas 0 e 12, sendo que na semana 20 receberam, durante 5 dias, 16g de glúten por dia. Alguns dos doentes inoculados apresentaram sintomas e verificou-se que houve uma expansão da população de Treg e uma redução nas células T que expressam IFN- γ . Assim, com base nestes estudos conclui-se que a infeção com *N. americanus* parece promover a regulação da tolerância ao glúten nestes doentes (2, 6, 12).

A seguinte figura ilustra os principais mecanismos de ação das novas abordagens terapêuticas, tendo em conta a fisiopatologia da doença.

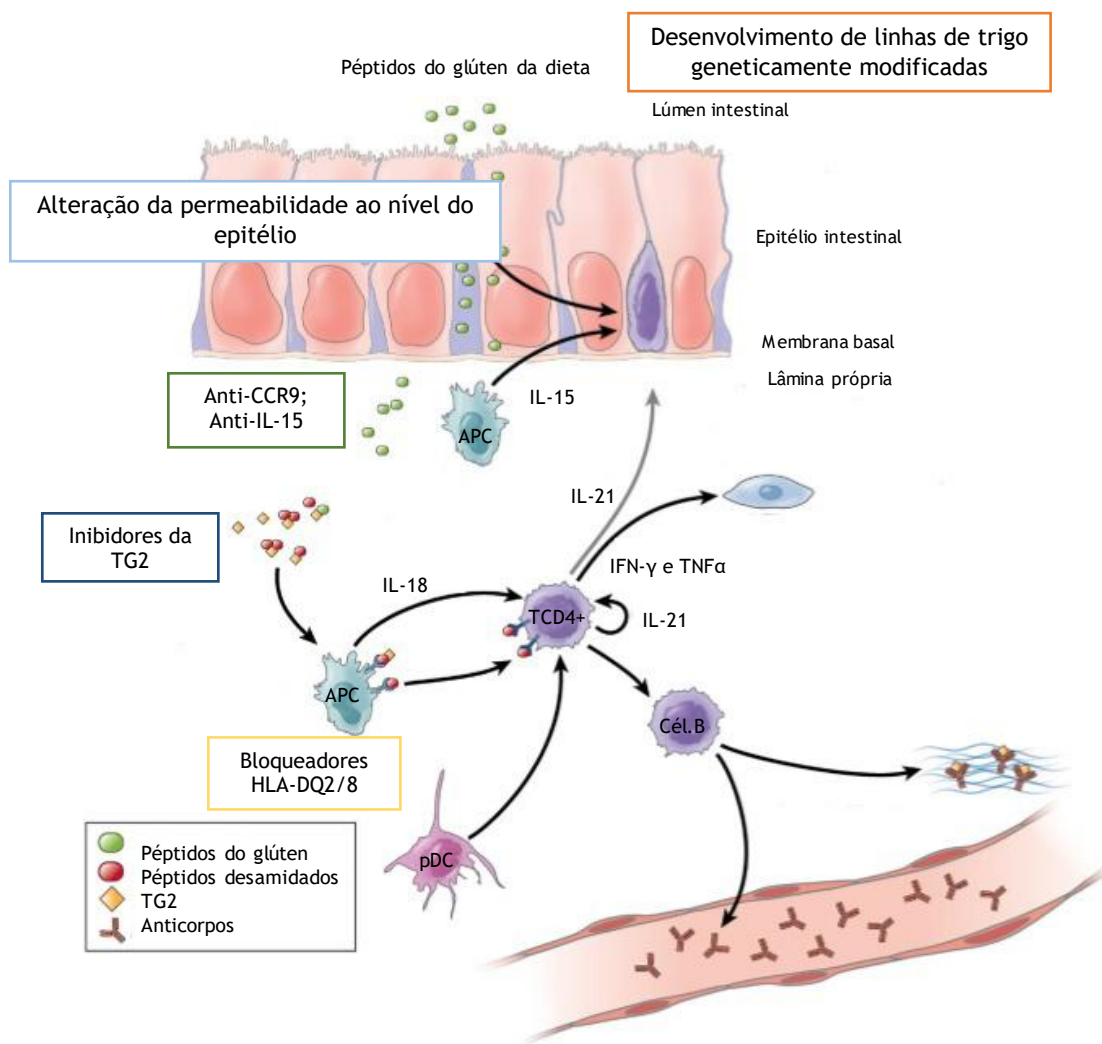


Figura 4: Mecanismos de ação das principais terapêuticas não dietéticas, com base na fisiopatologia da doença. Adaptado de (2).

12. Conclusão

O trigo é um dos alimentos mais importantes para o Homem, sendo uma fonte principal de nutrientes e fibras na dieta humana. O glúten é o componente proteico do trigo que através das suas propriedades viscoelásticas únicas permite que as farinhas deste cereal sejam transformadas numa grande variedade de produtos alimentares, como o pão, massas alimentícias, massas de pizza, biscoitos, entre outros (59). Assim, particularmente nos países ocidentais a ingestão diária de glúten é elevada - cerca de 15 a 20mg por dia (59).

Na DC, os indivíduos geneticamente suscetíveis apresentam uma reação inflamatória vigorosa aquando da ingestão de alimentos que contêm glúten. A DC é hoje uma das patologias intestinais mais comum das nossas sociedades, para a qual a única terapêutica disponível apresenta resultados sub-ótimos em alguns casos (1).

Apesar de ser uma das desordens associadas aos haplótipos HLA-DQ2 e HLA-DQ8 mais bem estudada, a DC é uma doença complexa, e, de facto, alguns aspetos da sua patogénese devem ser melhor elucidados. Com efeito, entender pormenorizadamente os mecanismos envolvidos na passagem dos péptidos do glúten através da barreira epitelial intestinal, ou aspetos relacionados com outros possíveis desencadeantes ambientais, deverá ser a base de futuras pesquisas acerca desta doença (62).

Atualmente estão em desenvolvimento vários estudos sobre possíveis abordagens não dietéticas para a DC. No entanto, ao escolher novas estratégias de tratamento, é necessário considerar os principais riscos e benefícios associados a cada abordagem (59). As novas terapêuticas incluem desde anticorpos e moduladores da resposta imunológica, que temporariamente inibem a migração ou a ativação local das células imunes, a terapêuticas enzimáticas, com endopeptidases (6). Esta parece ser uma estratégia mais razoável, principalmente no controlo da ingestão de glúten por contaminação cruzada (59, 62).

No entanto, as novas abordagens não permitem, ainda, que grandes quantidades de glúten sejam consumidas, mas fornecem alguma proteção para a ingestão de glúten por contaminação cruzada dos alimentos. Para além disso, todas estas terapias não dietéticas apresentam efeitos promissores no alívio sintomático da doença, mas não apresentam resultados eficazes na correção da resposta imunitária exacerbada destes doentes (62). As novas abordagens terapêuticas dificilmente substituirão uma DIG. De facto, com exceção das terapias imunomoduladoras que podem permitir a realização de uma dieta sem restrições, estas terapêuticas têm como principal objetivo a complementação da DIG (6, 12).

Assim, parece que a DIG mantém ainda o seu terreno, continuando a ser a única abordagem terapêutica eficaz na DC. No entanto, as morbilidades psicossociais associadas a esta terapêutica convencional, os défices nutritivos que pode implicar, e o descontentamento por parte de alguns doentes, enfatiza a necessidade de investigações futuras, quer acerca da patogénese da doença, quer acerca de abordagens terapêuticas eficazes para a mesma.

Referências

1. Di Sabatino A, Corazza GR. Coeliac disease. *Lancet*. 2009;373(9673):1480-93.
2. Schuppan D, Junker Y, Barisani D. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology*. 2009;137(6):1912-33.
3. Lebowl B, Ludvigsson JF, Green PH. Celiac disease and non-celiac gluten sensitivity. *BMJ*. 2015;351:h4347.
4. Rubio-Tapia A, Ludvigsson JF, Brantner TL, Murray JA, Everhart JE. The prevalence of celiac disease in the United States. *Am J Gastroenterol*. 2012;107(10):1538-44; quiz 7, 45.
5. Antunes H, Abreu I, Nogueiras A, Sa C, Goncalves C, Cleto P, et al. [First determination of the prevalence of celiac disease in a Portuguese population]. *Acta Med Port*. 2006;19(2):115-20.
6. Veeraraghavan G, Leffler DA, Kaswala DH, Mukherjee R. Celiac disease 2015 update: new therapies. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015;9(7):913-27.
7. Ludvigsson JF, Montgomery SM, Ekbom A, Brandt L, Granath F. Small-intestinal histopathology and mortality risk in celiac disease. *JAMA*. 2009;302(11):1171-8.
8. Green PH, Cellier C. Celiac disease. *N Engl J Med*. 2007;357(17):1731-43.
9. Silvester JA, Weiten D, Graff LA, Walker JR, Duerksen DR. Living gluten-free: adherence, knowledge, lifestyle adaptations and feelings towards a gluten-free diet. *J Hum Nutr Diet*. 2016;29(3):374-82.
10. Zingone F, Swift GL, Card TR, Sanders DS, Ludvigsson JF, Bai JC. Psychological morbidity of celiac disease: A review of the literature. *United European Gastroenterol J*. 2015;3(2):136-45.
11. Accomando S, Cataldo F. The global village of celiac disease. *Dig Liver Dis*. 2004;36(7):492-8.
12. Gujral N, Freeman HJ, Thomson AB. Celiac disease: prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. *World J Gastroenterol*. 2012;18(42):6036-59.
13. Lebowl B, Cao Y, Zong G, Hu FB, Green PHR, Neugut AI, et al. Long term gluten consumption in adults without celiac disease and risk of coronary heart disease: prospective cohort study. *BMJ*. 2017;357:j1892.
14. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH, et al. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut*. 2013;62(1):43-52.
15. Kelly CP, Bai JC, Liu E, Leffler DA. Advances in diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology*. 2015;148(6):1175-86.
16. Green PH. The many faces of celiac disease: clinical presentation of celiac disease in the adult population. *Gastroenterology*. 2005;128(4 Suppl 1):S74-8.
17. Caputo I, Barone MV, Martucciello S, Lepretti M, Esposito C. Tissue transglutaminase in celiac disease: role of autoantibodies. *Amino Acids*. 2009;36(4):693-9.

18. Leeds JS, Hopper AD, Hadjivassiliou M, Tesfaye S, Sanders DS. High prevalence of microvascular complications in adults with type 1 diabetes and newly diagnosed celiac disease. *Diabetes Care*. 2011;34(10):2158-63.
19. Dhalwani NN, West J, Sultan AA, Ban L, Tata LJ. Women with celiac disease present with fertility problems no more often than women in the general population. *Gastroenterology*. 2014;147(6):1267-74 e1; quiz e13-4.
20. Wierdsma NJ, van Bokhorst-de van der Schueren MA, Berkenpas M, Mulder CJ, van Bodegraven AA. Vitamin and mineral deficiencies are highly prevalent in newly diagnosed celiac disease patients. *Nutrients*. 2013;5(10):3975-92.
21. Harper JW, Holleran SF, Ramakrishnan R, Bhagat G, Green PH. Anemia in celiac disease is multifactorial in etiology. *Am J Hematol*. 2007;82(11):996-1000.
22. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54(1):136-60.
23. Pelkowski TD, Viera AJ. Celiac disease: diagnosis and management. *Am Fam Physician*. 2014;89(2):99-105.
24. Meyer D, Stavropolous S, Diamond B, Shane E, Green PH. Osteoporosis in a north american adult population with celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2001;96(1):112-9.
25. Freeman HJ. Neurological disorders in adult celiac disease. *Can J Gastroenterol*. 2008;22(11):909-11.
26. Hadjivassiliou M, Sanders DS, Grunewald RA, Woodroffe N, Boscolo S, Aeschlimann D. Gluten sensitivity: from gut to brain. *Lancet Neurol*. 2010;9(3):318-30.
27. Shen TC, Lebowitz B, Verma H, Kumta N, Tennyson C, Lewis S, et al. Peripheral neuropathic symptoms in celiac disease and inflammatory bowel disease. *J Clin Neuromuscul Dis*. 2012;13(3):137-45.
28. Zelnik N, Pacht A, Obeid R, Lerner A. Range of neurologic disorders in patients with celiac disease. *Pediatrics*. 2004;113(6):1672-6.
29. Kieslich M, Errazuriz G, Posselt HG, Moeller-Hartmann W, Zanella F, Boehles H. Brain white-matter lesions in celiac disease: a prospective study of 75 diet-treated patients. *Pediatrics*. 2001;108(2):E21.
30. Ludvigsson JF, Ludvigsson J, Ekblom A, Montgomery SM. Celiac disease and risk of subsequent type 1 diabetes: a general population cohort study of children and adolescents. *Diabetes Care*. 2006;29(11):2483-8.
31. Rubio-Tapia A, Murray JA. The liver in celiac disease. *Hepatology*. 2007;46(5):1650-8.
32. Casella G, Antonelli E, Di Bella C, Villanacci V, Fanini L, Baldini V, et al. Prevalence and causes of abnormal liver function in patients with coeliac disease. *Liver Int*. 2013;33(7):1128-31.
33. Tye-Din JA, Stewart JA, Dromey JA, Beissbarth T, van Heel DA, Tatham A, et al. Comprehensive, quantitative mapping of T cell epitopes in gluten in celiac disease. *Sci Transl Med*. 2010;2(41):41ra51.

34. Camarca A, Anderson RP, Mamone G, Fierro O, Facchiano A, Costantini S, et al. Intestinal T cell responses to gluten peptides are largely heterogeneous: implications for a peptide-based therapy in celiac disease. *J Immunol.* 2009;182(7):4158-66.
35. Sollid LM. Molecular basis of celiac disease. *Annu Rev Immunol.* 2000;18:53-81.
36. Kupper C. Dietary guidelines and implementation for celiac disease. *Gastroenterology.* 2005;128(4 Suppl 1):S121-7.
37. Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, et al. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science.* 2002;297(5590):2275-9.
38. Kagnoff MF. Overview and pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology.* 2005;128(4 Suppl 1):S10-8.
39. Heyman M, Menard S. Pathways of gliadin transport in celiac disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1165:274-8.
40. Lammers KM, Lu R, Brownley J, Lu B, Gerard C, Thomas K, et al. Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3. *Gastroenterology.* 2008;135(1):194-204 e3.
41. Sollid LM, Lie BA. Celiac disease genetics: current concepts and practical applications. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2005;3(9):843-51.
42. Dubois PC, Trynka G, Franke L, Hunt KA, Romanos J, Curtotti A, et al. Multiple common variants for celiac disease influencing immune gene expression. *Nat Genet.* 2010;42(4):295-302.
43. Di Sabatino A, Ciccocioppo R, Cupelli F, Cinque B, Millimaggi D, Clarkson MM, et al. Epithelium derived interleukin 15 regulates intraepithelial lymphocyte Th1 cytokine production, cytotoxicity, and survival in coeliac disease. *Gut.* 2006;55(4):469-77.
44. Arentz-Hansen H, Korner R, Molberg O, Quarsten H, Vader W, Kooy YM, et al. The intestinal T cell response to alpha-gliadin in adult celiac disease is focused on a single deamidated glutamine targeted by tissue transglutaminase. *J Exp Med.* 2000;191(4):603-12.
45. Mohamed BM, Feighery C, Kelly J, Coates C, O'Shea U, Barnes L, et al. Increased protein expression of matrix metalloproteinases -1, -3, and -9 and TIMP-1 in patients with gluten-sensitive enteropathy. *Dig Dis Sci.* 2006;51(10):1862-8.
46. Ludvigsson JF, Green PH. The missing environmental factor in celiac disease. *N Engl J Med.* 2014;371(14):1341-3.
47. Ivarsson A, Hernell O, Stenlund H, Persson LA. Breast-feeding protects against celiac disease. *Am J Clin Nutr.* 2002;75(5):914-21.
48. Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology.* 2001;120(3):636-51.
49. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch Dis Child.* 1990;65(8):909-11.
50. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA, American College of G. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am J Gastroenterol.* 2013;108(5):656-76; quiz 77.

51. Bragde H, Jansson U, Fredrikson M, Grodzinsky E, Soderman J. Potential blood-based markers of celiac disease. *BMC Gastroenterol.* 2014;14:176.
52. Bai JC, Ciacci C. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: Celiac Disease February 2017. *J Clin Gastroenterol.* 2017;51(9):755-68.
53. Rampertab SD, Forde KA, Green PH. Small bowel neoplasia in coeliac disease. *Gut.* 2003;52(8):1211-4.
54. Kochhar GS, Singh T, Gill A, Kirby DF. Celiac disease: Managing a multisystem disorder. *Cleve Clin J Med.* 2016;83(3):217-27.
55. Oza SS, Akbari M, Kelly CP, Hansen J, Theethira T, Tariq S, et al. Socioeconomic Risk Factors for Celiac Disease Burden and Symptoms. *J Clin Gastroenterol.* 2016;50(4):307-12.
56. Mogul D, Nakamura Y, Seo J, Blauvelt B, Bridges JF. The unknown burden and cost of celiac disease in the U.S. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.* 2017;17(2):181-8.
57. Ciacci C, Zingone F. The Perceived Social Burden in Celiac Disease. *Diseases.* 2015;3(2):102-10.
58. Roy A, Minaya M, Monegro M, Fleming J, Wong RK, Lewis S, et al. Partner Burden: A Common Entity in Celiac Disease. *Dig Dis Sci.* 2016;61(12):3451-9.
59. Kaukinen K, Lindfors K, Maki M. Advances in the treatment of coeliac disease: an immunopathogenic perspective. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;11(1):36-44.
60. Rubio-Tapia A, Kelly DG, Lahr BD, Dogan A, Wu TT, Murray JA. Clinical staging and survival in refractory celiac disease: a single center experience. *Gastroenterology.* 2009;136(1):99-107; quiz 352-3.
61. Miranda J, Lasa A, Bustamante MA, Churruca I, Simon E. Nutritional differences between a gluten-free diet and a diet containing equivalent products with gluten. *Plant Foods Hum Nutr.* 2014;69(2):182-7.
62. Ribeiro M, Nunes F, Rodriguez-Quijano M, Carrillo J, Branlard G, Igrejas G. Next-generation therapies for celiac disease: The gluten-targeted approaches. Elsevier. February 2018;Trends in Food Science & Technology.
63. de Sousa Moraes LF, Grzeskowiak LM, de Sales Teixeira TF, Gouveia Peluzio Mdo C. Intestinal microbiota and probiotics in celiac disease. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(3):482-9.
64. Goel Gea. A Single Intradermal Injection of Nexvax2, a Peptide Composition With Dominant Epitopes for Gluten-Reactive CD4+ T Cells and Triggers Acute Gastrointestinal Symptoms in People With Celiac Disease. *Gastroenterology.* 2016;150.