

Ana Sofia Medeiros Rodrigues

**A Doença Celíaca: etiopatogenia, diagnóstico, aspetos clínicos  
e tratamento**

**Universidade Fernando Pessoa – Faculdade de Ciências da Saúde**

**Porto, 2013**



Ana Sofia Medeiros Rodrigues

**A Doença Celíaca: etiopatogenia, diagnóstico, aspetos clínicos  
e tratamento**

**Universidade Fernando Pessoa – Faculdade de Ciências da Saúde**

**Porto, 2013**

Ana Sofia Medeiros Rodrigues

**A Doença Celíaca: etiopatogenia, diagnóstico, aspetos clínicos  
e tratamento**

**Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos  
para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas**

---

## Resumo

A doença celíaca, caracterizada pela atrofia das vilosidades intestinais, afeta cerca de 1% da população e manifesta-se em indivíduos geneticamente predispostos. É uma doença autoimune e o seu principal agente desencadeador é o glúten, mais propriamente a gliadina, que sofre uma digestão incompleta, originando peptídeos de gliadina. Estes sofrem uma desaminação, pela ação da enzima denominada transglutaminase tecidual, tornando-os peptídeos imunogénicos, que serão responsáveis pela ativação do sistema imunitário e, conseqüentemente, pelos danos tecidulares no epitélio intestinal.

A sua apresentação clínica pode variar desde manifestações gastrointestinais, como diarreia e distensão abdominal, até manifestações extra-intestinais, tais como anemia, baixa estatura e osteoporose. Os diversos quadros clínicos possíveis dificultam, por vezes, o seu diagnóstico.

No que diz respeito ao tratamento, o único disponível para esta patologia é o recurso a uma dieta sem glúten. No entanto, atualmente encontram-se a ser investigadas novas abordagens terapêuticas, que serão essenciais para a melhoria da qualidade de vida destes doentes. Novas variantes modificadas de trigo com proteínas menos imunogénicas, a degradação enzimática dos peptídeos de gliadina através de suplementos orais, a diminuição da absorção intestinal de glúten, os inibidores da permeabilidade intestinal e da tTG, o bloqueio dos complexos HLA que fazem o reconhecimento dos peptídeos de gliadina desaminados, a inibição da migração das células T, a modulação da inflamação, os inibidores das MMPs e a vacinação são algumas das terapias alternativas que se encontram em estudo e que serão revistas.

Com esta monografia, pretende-se rever o estado da arte, enfatizando a sua etiopatogenia, os sinais clínicos, diagnóstico e o tratamento utilizado atualmente, bem como as perspectivas futuras nesta área.

Para a realização deste projeto, procedeu-se à pesquisa de artigos relevantes, recorrendo-se, para tal, à base de dados, como PubMed, ScientDirect, b-on, entre outras.

**Palavras-chave:** doença celíaca, glúten, gliadina, transglutaminase tecidual.

## Abstract

Celiac disease, characterized by intestinal villous atrophy, affects about 1% of the population and manifests in genetically predisposed individuals. It is an autoimmune disease and its main trigger agent is gluten, gliadin more specifically, which undergoes incomplete digestion resulting in gliadin peptides. These undergo a deamination, by an enzyme, tissue transglutaminase, making immunogenic peptides, which are responsible for the activation of the immune system and, consequently, the tissue damage in the intestinal epithelium.

The clinical presentation may vary from gastrointestinal manifestations, including diarrhea and abdominal distention, to extra-intestinal manifestations to such as anemia, failure to thrive and osteoporosis. The several possible clinical evaluations make the diagnostic more difficult.

In regard to treatment, the only available for this disease is the use of a gluten-free diet. However, alternative therapeutic approaches are currently being investigated, which are essential for improving the quality of life of these patients. Variants of wheat modified with proteins less immunogenic, enzymatic degradation of gliadin peptides by oral supplements, decreased intestinal absorption of gluten, inhibitors of intestinal permeability and tTG, blocking HLA complexes which make the recognition of deamidated gliadin peptides, inhibition of T cell migration, modulation of inflammation, inhibitors of MMPs and immunization are some alternative therapies that are under study and which will be reviewed

With this monograph we intended to review the pathogenesis, clinical signs, diagnosis and treatment currently used in CD, as well as the future prospects in this area.

For this project, we proceeded to search for relevant articles, resorting to the database such as PubMed, ScienDirect, b-on, among others.

**Keywords:** celiac disease, gluten, gliadin, tissue transglutaminase.

## **Agradecimentos**

À Professora Dr<sup>a</sup>. Joana, por todo o apoio, compreensão e dedicação.

Aos meus pais, pela oportunidade e confiança que me ofereceram. Agradeço por terem estado sempre ao meu lado, nos bons e maus momentos da minha vida.

Ao meu irmão e cunhada, pelo carinho e ajuda incondicional que sempre me deram.

Ao Décio, pela paciência, ajuda, amizade, confiança, mas acima de tudo pelo amor.

Aos meus professores, que contribuíram para o enriquecimento dos meus conhecimentos.

Por último, quero agradecer a todos os meus amigos que, nos últimos meses, muito me ajudaram, numa das mais difíceis etapas da minha vida.

A todos, o meu muito obrigado!

## Índice

Índice de figuras .....	X
Índice de tabelas .....	XII
Lista de abreviaturas.....	XIII
<b>I.Introdução .....</b>	<b>1</b>
<b>II.Desenvolvimento .....</b>	<b>3</b>
<b>1.Aspectos históricos sobre a DC .....</b>	<b>3</b>
<b>2.Etiopatogenia .....</b>	<b>4</b>
2.1.Fatores Genéticos .....	5
2.2.Fatores Ambientais.....	6
2.3.Fatores Imunológicos.....	8
<b>3.Aspectos Clínicos .....</b>	<b>12</b>
3.1.Crianças .....	13
3.2.Adultos.....	15
3.3.Manifestações extra-intestinais associadas à DC .....	16
<b>4.Diagnóstico .....</b>	<b>18</b>
4.1.Serologia.....	19
4.1.1.Anti-tTG .....	19
4.1.2.Anti-EMA.....	20
4.1.3.AGA .....	20
4.2.Biopsia endoscópica.....	21
4.3.Algoritmo .....	23
4.4.Diagnóstico diferencial.....	25

<b>5.Tratamento.....</b>	<b>27</b>
5.1.Tratamento não farmacológico - DIG .....	27
5.2.Tratamentos Alternativos .....	30
5.2.1.Variantes de trigo .....	31
5.2.2.Degradação enzimática do glúten.....	32
5.2.2.1.PEP .....	33
5.2.2.2.ALV003 .....	34
5.2.2.3.STAN 1 .....	35
5.2.2.4.Modelo computacional da $\alpha$ -Gliadina Peptidase .....	36
5.2.3.Diminuição da absorção de glúten .....	36
5.2.4.Inibidores da permeabilidade intestinal.....	37
5.2.5.Inibidores da tTG.....	38
5.2.6.Bloqueio do HLA .....	40
5.2.7.Bloqueio da migração das células T.....	41
5.2.8.Modulação da inflamação .....	41
5.2.8.1.IFN- $\gamma$ .....	42
5.2.8.2.Anti-IL-15 .....	43
5.2.9.Inibidores das MMPs .....	44
5.2.10.Vacinação .....	44
<b>III. Conclusão.....</b>	<b>45</b>
<b>Bibliografia.....</b>	<b>46</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> – Epitélio intestinal. a) Esquema representativo de vilosidades e criptas intestinais; b) Micrografia do intestino delgado, com evidência das vilosidades intestinais. [ <i>in</i> : (Thompson <i>et al.</i> , 2013).] .....	4
<b>Figura 2</b> – Constituição do cromossoma 6. [ <i>in</i> : (McCarty <i>et al.</i> , 2010).] .....	6
<b>Figura 3</b> – Constituição do glúten. O glúten é composto por uma mistura de gliadina e glutenina. [Adaptado de: (Quaglia e Mateos-Nevado, 1991).].....	7
<b>Figura 4</b> – Passagem dos peptídeos de gliadina através dos recetores da transferrina. [ <i>in</i> :(Gujral <i>et al.</i> , 2012).] .....	9
<b>Figura 5</b> – Mecanismo de patogénese da DC. [ <i>in</i> :(Di Sabatino e Corazza, 2009).] .....	11
<b>Figura 6</b> – Iceberg Celíaco. ....	12
<b>Figura 7</b> – Fotografia de uma criança com DC não tratada onde é possível observar-se sinais clínicos específicos da doença, como baixa estatura e distensão abdominal. [ <i>in</i> : (Hurtado <i>et al.</i> , 2008).] .....	14
<b>Figura 8</b> – Imagens endoscópicas do epitélio intestinal. a) epitélio intestinal “normal”, com inúmeras vilosidades; b) epitélio intestinal de um DC com atrofia das vilosidades; [Adaptado de: (Lidums <i>et al.</i> , 2011).] .....	23
<b>Figura 9</b> – Algoritmo de decisão. [Adaptado de: (Bai <i>et al.</i> , 2012).].....	24
<b>Figura 10</b> – Alimentos sem glúten. a) Símbolo de “sem glúten”; b) bolachas sem glúten; c) bolachas sem glúten com o símbolo característico. É de extrema importância a	

existência da informação “sem glúten” na embalagem dos produtos, por forma a evitar possíveis enganos. .... 29

**Figura 11** – Patogénese da DC e áreas de intervenção das novas terapias em estudo. [in: (McAllister e Kagnoff, 2012).] ..... 30

**Figura 12** – Terapia com recurso a enzimas. [Adaptado de: (Rashtak e Murray, 2012).] ..... 33

**Figura 13** – Intervenção ao nível da permeabilidade intestinal. [in: (Rashtak e Murray, 2012).] ..... 38

**Figura 14** – Inibição da tTG. [Adaptado de: (Rashtak e Murray, 2012).] ..... 39

**Figura 15** – Bloqueio do HLA. [Adaptado de: (Rashtak e Murray, 2012).] ..... 40

**Figura 16** – Esquema representativo das abordagens terapêuticas a nível da inflamação. [in: (Rashtak e Murray, 2012).] ..... 42

## Índice de tabelas

<b>Tabela 1</b> – Quadro resumo das manifestações extra-intestinais. [Adaptado de: (Farrell e Kelly, 2010).].....	17
<b>Tabela 2</b> – Classificação de Marsh – Oberhuber, em que se pode denotar a presença de subcategorias, especificamente no Tipo III, quando comparada com a classificação proposta inicialmente. [Adaptado de: (Harris <i>et al.</i> , 2012).].....	22
<b>Tabela 3</b> – Algumas situações que apresentam sinais clínicos semelhantes aos da DC. [Adaptado de: (Bai <i>et al.</i> , 2012).].....	25

## Lista de abreviaturas

**AGA** – anticorpos anti-gliadina

**ALV003** – PEP + endoprotease

**AN-PEP** – Propyl-endopeptidase derivada da *Aspergillus niger*

**Anti-DGP** – anticorpos contra os péptidos de gliadina desaminados

**Anti-EMA** – anticorpos anti-endomisíó

**Anti-IFN- $\gamma$**  – anticorpos contra o IFN- $\gamma$

**Anti-IL-15** – anticorpos contra a IL-15

**Anti-tTG** – anticorpos anti-tTG

**APC** – Célula apresentadora de antigénio

**AT-1001** – Acetato de Larazotide

**CCL25** – ligante de quimiocinas 25

**CCR9** – recetor de quimiocinas 9

**DC** – Doença Celíaca

**DCs** – doentes celíacos

**DH** – Dermatite Herpetiforme

**DIG** – Dieta isenta de glúten

**ELISA** – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

**ESPGHAN** – Sociedade Europeia de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátricas

**FDA** – Food and Drug Administration

**HEMA** – metacrilato de hidroxietilo

**HIV** – Vírus da Imunodeficiência Humana

**HLA** – Antígenos de Histocompatibilidade Humana

**IELs** – linfócitos intraepiteliais

**IFN- $\gamma$**  – Interferão gama

**IgA** – Imunoglobulina A

**IgG** – Imunoglobulina G

**IL-15** – Interleucina 15

**KumaWT** – Kumamolisin-A

**MICA** – molécula não clássica de classe I

**MMPs** – metaloproteinases

**NK** – células “Natural Killer”

**PEP** – Propyl-endopeptidase

**PPM** – partes por milhão

**STAN 1** – Mistura de proteases

**TCR** – recetor da célula T

**Th1** – resposta do tipo T helper 1

**Th2** – resposta do tipo T helper 2

**TNF** – Fator de necrose tumoral

**tTG** – enzima transglutaminase tecidual

**WGO** – *World Gastroenterology Organisation*

**$\alpha$**  – alfa

**$\beta$**  – beta

**$\gamma$**  – gama

**$\omega$**  – ómega

## I. Introdução

A doença celíaca (DC), também designada de enteropatia sensível ao glúten, é uma doença autoimune, desencadeada pela ingestão de glúten em indivíduos com predisposição para tal (Sollid, 2000; Sollid, 2002). Há uma atrofia parcial ou total das vilosidades intestinais, o que irá consequentemente condicionar a normal absorção digestiva (Sollid e Thorsby, 1993).

O glúten representa uma mistura de proteínas, a gliadina (prolaminas) e a glutenina, que se encontram numa diversidade de cereais, sendo a primeira a responsável pela etiologia da doença. No trato gastrointestinal, o glúten é digerido, dando origem a aminoácidos e a proteínas, onde se insere a gliadina, que é um péptido de 33 aminoácidos. Esta exerce efeitos nefastos, uma vez que é resistente à degradação das enzimas do sistema digestivo (Shan *et al.*, 2002). Os peptídeos de gliadina, resistentes às enzimas, ao atravessarem o epitélio intestinal, sofrem uma desaminação por parte da enzima transglutaminase tecidular (tTG), e, consequentemente, ativam o sistema de resposta imunitária inata e adaptativa (Maiuri *et al.*, 2003; Di Sabatino *et al.*, 2006; Bernardo *et al.*, 2008).

São variados os quadros de apresentação clínica que se podem manifestar tanto em crianças como em adultos. A forma mais comum é a que se manifesta nos primeiros anos de vida, com quadro de diarreia crónica, défice de crescimento e distensão abdominal.

Relativamente à prevalência da doença na população, considera-se que é muito variável de país para país, existindo, porém, predomínio no sexo feminino num ratio de 3:1 (Feighery *et al.*, 1998). Em Portugal, este número ainda não se encontra muito bem definido, havendo apenas, até ao momento, um estudo realizado, o qual identifica uma prevalência de 1/134, o que poderá corresponder a cerca de 1-3% da população Portuguesa (Antunes *et al.*, 2006). Ao nível da Europa, a prevalência é de aproximadamente 1% (Mustalahti *et al.*, 2010).

Quanto à sua etiopatogenia, a DC é considerada multifatorial, resultando da interligação de fatores genéticos, ambientais e imunológicos.

O diagnóstico da DC nem sempre é fácil de ser realizado. Entre os vários testes existentes encontra-se, por exemplo, os Anticorpos Anti-endomísio (anti-EMA) e os Anti-transglutaminase tecidular (anti-tTG). Para além destes testes, e para confirmação diagnóstica, é fundamental a realização de biópsia ao intestino delgado. Segundo Marsh (1992), as lesões intestinais ocorrem de forma sequencial, definindo a existência de estádios de desenvolvimento, descritos posteriormente. Mais tarde, a classificação proposta por Marsh foi sujeita a modificações, o que resultou num aumento do número de estádios de desenvolvimento (Rostami *et al.*, 1999).

A única indicação terapêutica recomendada continua a ser a adesão a uma dieta isenta de glúten (DIG). Contudo, este tipo de terapia traz algumas limitações para o quotidiano do doente. Atualmente, encontram-se em estudo novas e promissoras alternativas terapêuticas, que num futuro próximo poderão ser implementadas. Algumas destas terapêuticas são, por exemplo, o uso de variantes de trigo não imunogénicas, a terapia com uma enzima oral, a inibição da tTG, a inibição da permeabilidade intestinal, entre outras (Crespo Perez *et al.*, 2012; Sollid e Khosla, 2005).

Este trabalho monográfico tem como principal objetivo a realização de uma revisão do estado da arte acerca da DC, abordando a sua etiopatogenia, o seu diagnóstico, aspetos clínicos e os seus tratamentos, tanto os atuais como os que se encontram sob investigação e que poderão constituir no futuro uma alternativa promissora.

## II.Desenvolvimento

### 1. Aspetos históricos sobre a DC

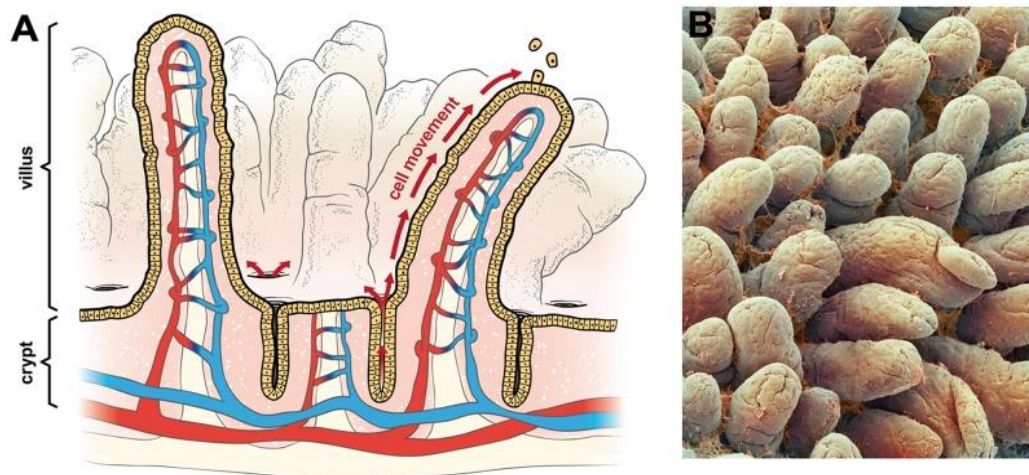
Pensa-se que a DC começou a ser relatada no decorrer do Séc. II pelo grego Aretaeus da Capadócia, que descrevia a existência de doentes que apresentavam um tipo de diarreia característico, aos quais intitulou de “Koiliakos”, significando que aquelas pessoas sofriam do intestino (Adams, 1856). Mais tarde, em 1888, o médico Londrino, Samuel Gee, publicou um estudo no qual fez referência a esta patologia, designando-a por “Afeção celíaca”. No seu estudo, Samuel Gee previa que “If the patient can be cured at all it must be by means of the diet”, ou seja, a cura só seria possível através da dieta (Gee, 1888). O conhecimento mais aprofundado desta doença ocorreu quando, no Séc. XX, durante a 2ª Guerra Mundial, a Holanda sofreu com a escassez de pão imposta pelos Alemães. Durante este período de tempo, as crianças que sofriam desta patologia melhoraram, voltando a recair após o fornecimento de cereais. Nesta altura, Willem Karel Dicke, um pediatra Holandês, estabeleceu então uma relação entre a DC e a ingestão de trigo (Dicke, 1950). Este progresso relacionou a melhoria dos doentes com o baixo conteúdo de cereais na dieta.

Van de Kamer *et al*, em 1953, demonstraram que o agente responsável pela lesão intestinal era a fração proteica do trigo, o glúten, sendo este insolúvel em água. Mais tarde, em 1954, Paulley descreveu pela primeira vez as lesões intestinais causadas pela DC (Van De Kamer *et al.*, 1953; Paulley, 1954).

## 2. Etiopatogenia

Como já referido, a DC, também conhecida como *sprue* celíaco, enteropatia sensível ao glúten ou *sprue* não tropical, é uma doença autoimune que afeta o intestino delgado.

O ser humano apresenta um intestino com um comprimento de aproximadamente 7 m, sendo revestido internamente por vilosidades, as quais aumentam a área da superfície intestinal e, conseqüentemente, favorecem a absorção (Figura 1). As vilosidades apresentam como base a lâmina própria, dentro da qual existem os vasos sanguíneos e linfáticos que recebem os produtos obtidos através do processo de digestão.



**Figura 1** – Epitélio intestinal. **a)** Esquema representativo de vilosidades e criptas intestinais; **b)** Micrografia do intestino delgado, com evidência das vilosidades intestinais. [*in:* (Thompson *et al.*, 2013).]

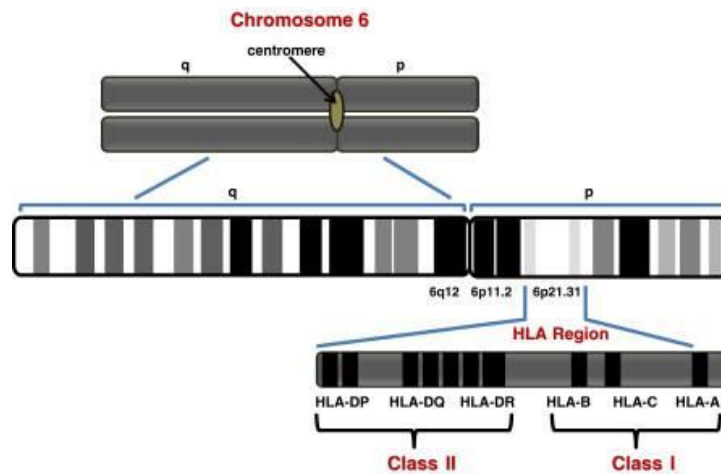
Assim, em indivíduos com predisposição para a DC, o glúten ativa mecanismos imunológicos/inflamatórios, que acabam por conduzir à atrofia das vilosidades, originando uma mucosa lesionada, com aspeto liso, diminuindo a área da superfície de absorção dos nutrientes. Por este motivo, é considerada uma patologia de carácter

imunológico, causada pela existência de um agente do meio ambiente numa pessoa com predisposição genética para tal (Farrell e Kelly, 2010).

## **2.1.Fatores Genéticos**

A DC encontra-se associada ao sistema de Antígenos de Histocompatibilidade Humana (HLA), mais especificamente ao alelo HLA-DQ2 e HLA-DQ8. Os recetores HLA são expressos nas células apresentadoras de antígenos (APC), nomeadamente, as células dendríticas, macrófagos e linfócitos B.

O *locus* do HLA encontra-se no cromossoma 6, na região 6p21.3, sendo os genes deste sistema relevantes para o aparecimento de doenças autoimunes em geral. Este complexo apresenta os genes organizados em diferentes classes, sendo relevante para este tema os genes pertencentes à classe II. Inserem-se nesta classe os produtos dos genes do grupo HLA-D, constituído pelo HLA-DP, DQ e DR (Figura 2). Estas moléculas ligam-se aos peptídeos antigénicos e apresentam-nos às células T. Ao longo dos últimos anos, realizaram-se diversos estudos que relacionaram o aparecimento da DC com alelos específicos DQ, nomeadamente HLA-DQ2 e DQ8 (Vader *et al.*, 2003; Megiorni e Pizzuti, 2012). Estes exibem uma elevada afinidade para os aminoácidos carregados negativamente que são resultantes da desaminação da gliadina pela tTG (Molberg *et al.*, 1998). Em cerca de 95% dos casos, associa-se ao alelo HLA-DQ2, estando o alelo HLA-DQ8 associado aos remanescentes 5% (Stepniak e Koning, 2006).



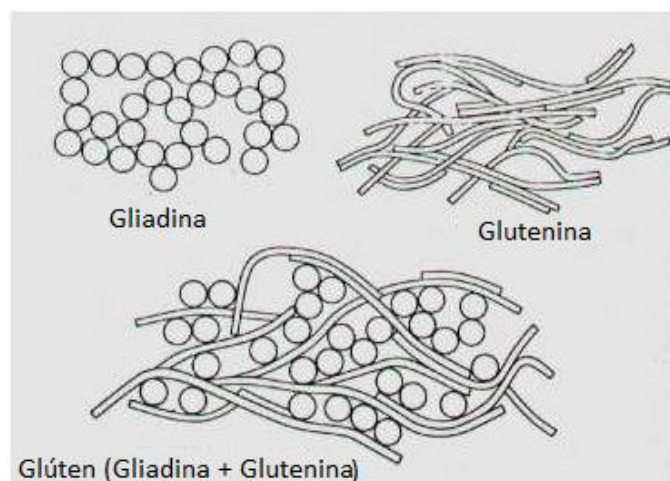
**Figura 2** – Constituição do cromossoma 6. Na região 6p21.3 do cromossoma 6 é possível verificar-se a região HLA, com diferenciação da classe I e classe II. Os alelos específicos da DC, HLA-DQ, pertencem à classe II. [in: (McCarty et al., 2010).]

A identificação destes genes é possível através da realização de um teste genético. Esta ferramenta, apesar de não apresentar um valor absoluto de diagnóstico, permite avaliar o risco relativo do aparecimento da DC, uma vez que deteta a presença dos alelos em causa. Apesar do *locus* HLA ser importante para o aparecimento da DC, a maioria dos indivíduos com o HLA-DQ2 não desenvolve a doença. Um teste positivo para a existência dos alelos indica um aumento da suscetibilidade genética do indivíduo para a DC, mas não significa necessariamente o aparecimento da doença. Um resultado negativo oferece um favorável impacto psicológico, dado que estes indivíduos apresentam baixo risco de desenvolvimento da doença (Molberg *et al.*, 1998; Megiorni e Pizzuti, 2012).

## 2.2.Fatores Ambientais

No que diz respeito aos fatores ambientais, o glúten é o principal agente etiológico. Como já foi referido, é uma proteína constituída por vários péptidos, sendo as prolaminas e a glutenina (Figura 3), encontradas numa grande variedade de cereais, como o trigo, a cevada e o centeio, os péptidos com maior impacto no desenvolvimento

da DC. No grupo das prolaminas, podemos encontrar a gliadina, no trigo, a hordeína, na cevada, a secalina, no centeio, a zeína, no milho, e a avenina, na aveia (Ciclitira *et al.*, 2005). A gliadina é o principal agente tóxico causador da doença, sendo possível separá-la em quatro frações: alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ), gama ( $\gamma$ ) e ómega ( $\omega$ ) gliadina (Ciclitira e Ellis, 1987).



**Figura 3** – Constituição do glúten. O glúten é composto por uma mistura de gliadina e glutenina. [Adaptado de: (Quaglia e Mateos-Nevado, 1991).]

Esta prolamina é extremamente rica em prolina (15%) e glutamina (35%) (Stern *et al.*, 2001). No trato gastrointestinal, há uma digestão incompleta do glúten. Este é digerido pelas enzimas proteolíticas do tubo digestivo, havendo contudo uma sequência de 33 aminoácidos resistentes à digestão. Ou seja, o glúten é resistente à proteólise por endoproteases gastrointestinais, tais como a pepsina, a tripsina, a elastase e a quimotripsina (Hausch *et al.*, 2002; Shan *et al.*, 2002; Piper *et al.*, 2004; Marti *et al.*, 2005). Assim, este processo incompleto dá origem a porções mais pequenas, os oligopeptídeos, podendo designar-se como peptídeos de gliadina (Shan *et al.*, 2002; Pedro *et al.*, 2009). Estes peptídeos, extremamente ricos em glutamina e prolina, são reconhecidos pelas células T, sendo, por isso, responsáveis pela ativação/estimulação destas células. Hoje, sabe-se que a porção responsável por esta ativação é a  $\alpha$ -gliadina (Anderson *et al.*, 2000).

A tTG apresenta elevada afinidade pelos peptídeos de gliadina. Esta enzima intracelular é encontrada em diferentes tipos de células (fibroblastos, leucócitos, células endoteliais dos vasos sanguíneos, células do músculo liso e de mucosas), incluindo as células epiteliais do intestino, podendo estar associada a componentes da matriz extracelular, como o endomísio e fibras de reticulina. É responsável pela desaminação da gliadina, convertendo os resíduos de glutamina em resíduos de ácido glutâmico. Estes peptídeos ficam mais imunogénicos após a desaminação realizada pela tTG, sendo esta considerada o antígeno dos anti-EMA (Dieterich *et al.*, 1998; Pedro *et al.*, 2009).

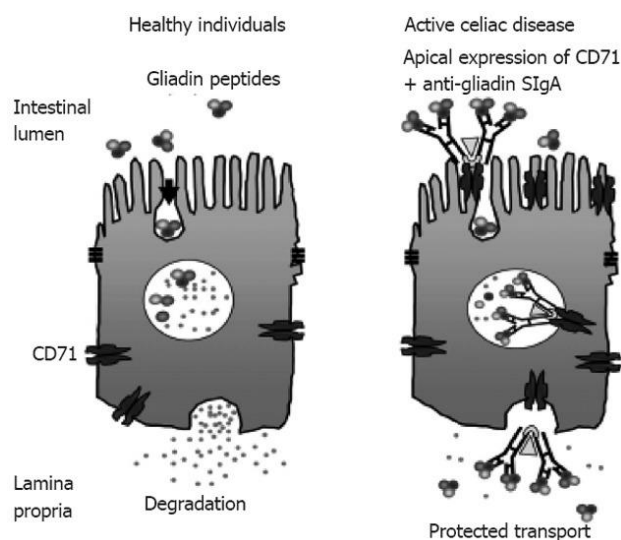
### **2.3.Fatores Imunológicos**

Na sequência do que foi acima referido, é importante então compreender os fatores imunológicos que estão na base do desenvolvimento desta patologia. Assim sendo, sabe-se que a DC é uma doença autoimune, associada a uma predisposição genética e à tTG. Esta enzima é responsável por mediar a desaminação da gliadina, dando origem a resíduos de ácido glutâmico que possuem epítomos de carga negativa que se irão ligar de forma eficiente ao alelo HLA e serão reconhecidos pelas células T. O sistema imunitário é afetado pelos peptídeos de gliadina, que são responsáveis pela estimulação quer da imunidade inata quer da adaptativa (Meresse *et al.*, 2009; Gianfrani *et al.*, 2005; Maiuri *et al.*, 2003).

O epitélio intestinal é composto por enterócitos que se encontram ligados uns aos outros através das junções intercelulares (Schulzke *et al.*, 1998). Estas junções, num indivíduo saudável, estão de tal forma intactas que providenciam a sua impermeabilidade, evitando a passagem de moléculas através deste. A passagem da gliadina pelo epitélio ainda não é totalmente conhecida, todavia existem hipóteses para explicar esta passagem. Uma delas explica que a passagem poderá ocorrer, por via paracelular, através da existência de uma proteína denominada zonulina, e outra evidencia a passagem por retrotranscitose com auxílio de um recetor membranar. A passagem da gliadina por esta última via dá-se pela formação de um complexo entre os péptidos de gliadina e os anticorpos contra os epítomos do glúten que atravessam o epitélio através

dos recetores de transferrina CD71 existentes na superfície epitelial, permitindo assim a sua chegada à lâmina própria (Figura 4) (Matysiak-Budnik *et al.*, 2008; Heyman e Menard, 2009). Apesar desta hipótese de passagem do epitélio ocorrer *in vitro*, ainda não existe provas que ocorra *in vivo* (Schuppan *et al.*, 2009).

No que diz respeito ao mecanismo de passagem por via paracelular, a gliadina interage com os recetores CXCR3 das células epiteliais das vilosidades intestinais. Esta interação propicia a produção de zonulina, uma proteína capaz de interferir nas junções intercelulares, aumentando a permeabilidade intestinal à passagem da gliadina (Gujral *et al.*, 2012; Lammers *et al.*, 2008).



**Figura 4** – Passagem dos peptídeos de gliadina através dos recetores da transferrina. É possível averiguar a existência dos recetores de transferrina CD71 à superfície epitelial. Será a estes recetores que se liga o complexo (peptídeos de gliadina + anticorpos) e posteriormente dá-se a sua absorção. [*in:*(Gujral *et al.*, 2012).]

A submucosa intestinal dos pacientes com DC apresenta uma população de linfócitos T CD4<sup>+</sup> que reconhece estes peptídeos desaminados através dos recetores da célula T (TCR), acabando por emitir uma resposta do tipo T helper 1 (Th1) e/ou do tipo T helper 2 (Th2) com secreção de citocinas pró-inflamatórias que lesam a mucosa intestinal (Sollid, 2000; Gujral *et al.*, 2012; Schuppan, 2000; Mowat, 2003).

A resposta Th1 caracteriza-se por haver uma produção de citocinas do tipo Interferão gama (IFN- $\gamma$ ), que estimulam os fibroblastos a libertarem metaloproteinasas (MMPs), enzimas responsáveis pela degradação do colagénio, das glicoproteínas e proteoglicanos da matriz extracelular, originando a atrofia das vilosidades (Schuppan *et al.*, 2009). Para além disto, as citocinas Th1 potenciam a resposta inata do sistema imunológico, promovendo o aumento da citotoxicidade dos linfócitos intraepiteliais (IELs), bem como uma atividade citotóxica potente das células “Natural Killer” (NK), causando a apoptose (morte celular) dos enterócitos, ou seja, a destruição das vilosidades (Gujral *et al.*, 2012).

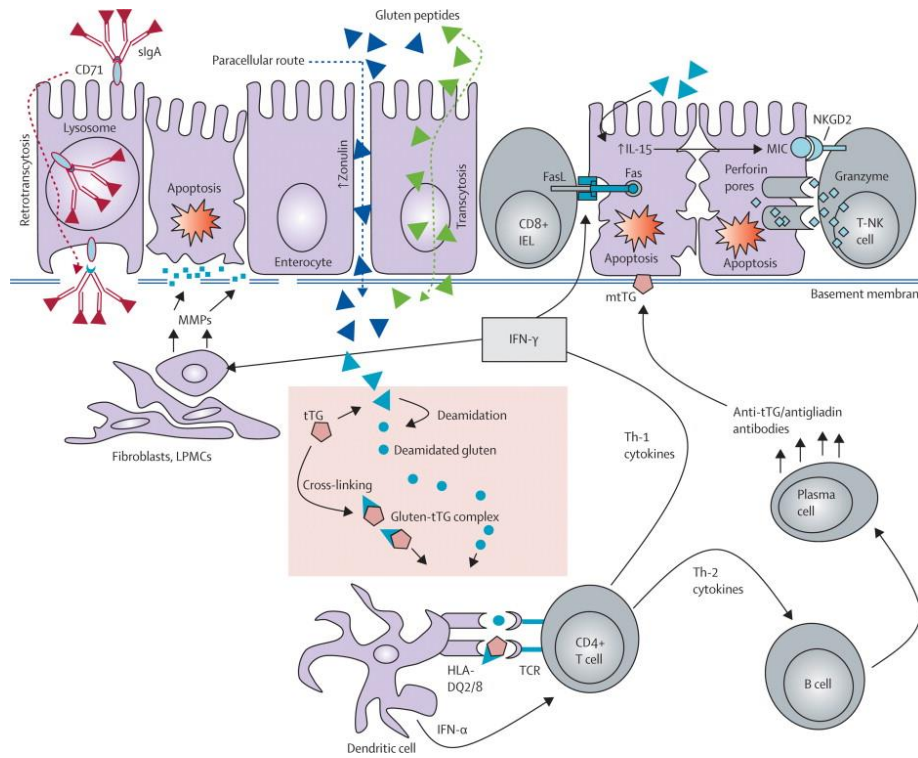
É ainda importante referir que o dano epitelial é também favorecido pela presença da Interleucina 15 (IL-15). O simples facto de o epitélio entrar em contacto com os peptídeos de gliadina leva a que haja uma ativação da resposta imune inata, com aumento da expressão da IL-15 pelos enterócitos. Esta será responsável pela ativação dos IELs e, conseqüentemente, o processo culmina com a destruição das vilosidades (Green e Cellier, 2007).

Os IELs são células T com propriedades citolíticas e imunorreguladoras. No intestino delgado, mais de 70% das IELs são células CD8<sup>+</sup>. A ativação dos IELs induzirá a expressão da molécula não clássica de classe I (MICA) presente no epitélio (enterócitos) e que serve de ligando para o recetor das células NK e de diversos linfócitos T. A resposta imunitária inata culmina então com a ativação das células NK e de determinados linfócitos T citotóxicos, proporcionando a apoptose e aumento da permeabilidade epitelial (Schuppan *et al.*, 2009; Di Sabatino e Corazza, 2009).

No que diz respeito à resposta do tipo Th2, ocorre a libertação de citocinas que estimulam as células B no sentido da produção de anticorpos contra os péptidos de gliadina. São também produzidos anticorpos contra a tTG que se encontra nas mucosas, o que irá também contribuir para a degradação das vilosidades, e outros anticorpos contra elementos constitutivos, quer do tecido conjuntivo, quer muscular, que por tal são designados anti-EMA, que atuam contra a enzima tTG. Por este motivo, a partir de

1997, considerou-se a tTG como o principal auto-antigénio da DC (Gujral *et al.*, 2012; Schuppan *et al.*, 2009; Utiyama *et al.*, 2004; Dieterich *et al.*, 1997).

A Figura 5 resume os aspetos mais relevantes da etiopatogenia da DC.

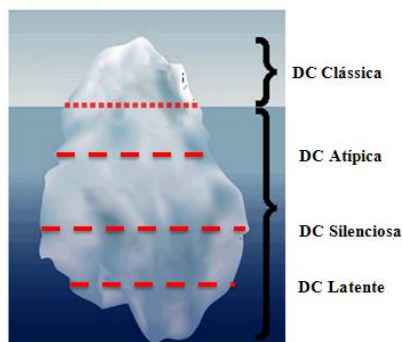


**Figura 5** – Mecanismo de patogénese da DC. Passagem da gliadina pelo epitélio através da via paracelular ou retrotranscelular. Ao transpor o epitélio, a gliadina é desaminada pela tTG, dando origem a peptídeos de gliadina desaminados. Estes peptídeos ligam-se ao HLA-DQ2/DQ8 presente nas APC. Estas serão responsáveis por apresentar os antígenos (peptídeos de gliadina) aos linfócitos T, ativando-os. No seguimento desta ativação, ocorrem dois tipos de repostas, a Th1 e a Th2. A primeira dá origem a citocinas pró-inflamatórias, IFN- $\gamma$  que irá estimular os fibroblastos a libertarem MMPs originando a apoptose. As citocinas da resposta Th1 estimulam ainda os IELs e as NK, levando à destruição celular. Paralelamente dá-se a resposta do tipo Th2, em que há estimulação dos linfócitos B, havendo produção de anti-tTG e anticorpos anti-gliadina (AGA). Ainda de referir a produção de IL-15 que favorece a destruição das vilosidades. [*in*:(Di Sabatino e Corazza, 2009).]

### 3. Aspetos Clínicos

A DC apresenta um espectro alargado de manifestações clínicas, o que dificulta o seu diagnóstico. Estas, tanto podem ocorrer a nível intestinal como extra-intestinal (Rubio-Tapia e Murray, 2010). Como mencionado anteriormente, a DC pode atingir crianças e adultos, havendo, no entanto, características que diferenciam a evolução da doença nas duas faixas etárias.

Com o decorrer do tempo, observaram-se alterações significativas nas formas de apresentação clínica da DC, dificultando o seu diagnóstico. Deste modo, foi proposto um esquema de um "iceberg celíaco" (Figura 6), que exemplifica as subcategorias clínicas da DC (Feighery, 1999). A ponta do "iceberg", ou melhor, a parte visível, diz respeito à DC na forma clássica. Por outro lado, a região oculta abrange a forma atípica, silenciosa e latente, ou seja, as formas de DC não diagnosticada. De acordo com este esquema, conclui-se, então, que apenas uma pequena parte dos doentes possui a DC clinicamente reconhecida, o que explica as inexatidões quanto aos números reais de doentes (Harris *et al.*, 2012).



**Figura 6** – Iceberg Celíaco. Neste iceberg é possível averiguar os diferentes tipos clínicos da doença, sendo possível apurar-se que apenas a DC clássica é a que se encontra à superfície da água, ou seja, a forma diagnosticada.

Na clássica, há um predomínio de sinais gastrointestinais, ocorrendo os sintomas típicos desta doença, como a diarreia crónica, o défice do crescimento e a distensão abdominal. A nível intestinal ocorre atrofia das vilosidades. Esta forma da doença aparece normalmente na infância após a introdução dos cereais na alimentação (Heredia *et al.*, 2007; Farrell e Kelly, 2010).

Já na DC atípica são os sintomas não-gastrointestinais que predominam, como a baixa estatura, a anemia, osteoporose e infertilidade. A maioria destes doentes irá apresentar serologia positiva e características típicas da DC na biopsia (atrofia das vilosidades).

No que diz respeito à silenciosa ou assintomática, esta é uma subcategoria na qual os doentes são identificados com base em testes serológicos. É caracterizada histologicamente por haver uma hiperplasia da cripta ou atrofia das vilosidades, contudo sem sintomas clínicos acompanhantes.

Por último, na base do iceberg, encontra-se a forma latente. Nesta, os pacientes não apresentam sintomas e possuem uma mucosa normal (Ciclitira *et al.*, 2005; Harris *et al.*, 2012). Contudo, os testes serológicos são positivos.

Em seguida, será apresentada uma breve abordagem da doença na criança e no adulto.

### **3.1. Crianças**

O aparecimento da DC nas crianças ocorre na fase em que há introdução do glúten na dieta, normalmente antes de a criança atingir 2 anos de idade, desenvolvendo-se de uma forma clássica. Para além dos sinais característicos da forma clássica (Figura 7), as crianças podem ainda apresentar-se apáticas, irritáveis, com perda de massa muscular, com hipotonia e padecerem de obstipação (Damen *et al.*, 1994). Numa idade mais avançada podem sofrer de deficiências nutricionais e de anemia. Cada vez mais, a manifestação da doença tende a aparecer numa idade mais avançada, por volta dos 4

anos, com predomínio de manifestações mais leves, como baixa estatura e perda de apetite (Feighery, 1999).

A ocorrência desta apresentação clássica tem vindo a diminuir, dando relevo à manifestação atípica da doença. Por exemplo, um sintoma típico da forma clássica é a existência de diarreia. O aparecimento desta manifestação nos últimos tempos tem sofrido um decréscimo de aproximadamente 50%. Para além da forma, a idade de diagnóstico é cada vez mais tardia (Roma *et al.*, 2009; Ravikumara *et al.*, 2006).



**Figura 7** – Fotografia de uma criança com DC não tratada onde é possível observar-se sinais clínicos específicos da doença, como baixa estatura e distensão abdominal. [*in.*: (Hurtado *et al.*, 2008).]

De acordo com alguns estudos realizados nos últimos anos, a idade da criança no momento da introdução do glúten na sua alimentação é de extrema importância, havendo uma relação entre a idade de introdução e a o risco de desenvolvimento da

doença (Silano *et al.*, 2010). Para além disto, o aleitamento materno parece interferir no início dos sintomas da DC. Desta forma, e em concordância com o que a Sociedade Europeia de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátricas (ESPGHAN) recomenda, a exposição ao glúten deve ser evitada, quer numa fase precoce (antes dos 4 meses), quer numa tardia (depois dos 7) e que esta introdução deve ser feita de forma gradual, em pequenas quantidades e ao mesmo tempo em que o bebé ainda está a ser amamentado (Agostoni *et al.*, 2008). Esta fase de introdução permite que haja uma regulação da resposta imunitária intestinal e uma maturação do aparelho intestinal do bebé.

### **3.2.Adultos**

Relativamente aos adultos, a DC é diagnosticada por volta dos 45 anos, e, normalmente, apresenta-se de uma forma atípica, ou seja, com predominância de sintomas não gastrointestinais. Tal facto dificulta o diagnóstico da doença nesta faixa etária, sendo, normalmente, diagnosticado 10 anos após o aparecimento dos primeiros sintomas (Rodrigo-Saez *et al.*, 2011; Bai *et al.*, 2012).

Relativamente aos sintomas gastrointestinais mais frequentes nos adultos, é possível referir-se a diarreia, a perda de peso, a flatulência e as dores abdominais. A existência de diarreia nem sempre ocorre, podendo até existir situações de obstipação (Rodrigo-Saez *et al.*, 2011; Farrell e Kelly, 2010).

Para além de sinais intestinais, é ainda possível identificar, nestes doentes, manifestações como, por exemplo, a anemia, a astenia, os distúrbios do sono, a osteoporose, entre outras (Rodrigo-Saez *et al.*, 2011).

### 3.3. Manifestações extra-intestinais associadas à DC

Para além da anemia, é possível ainda surgirem várias complicações, nomeadamente osteopenia, sintomas neurológicos, problemas de fertilidade e ginecológicos, dermatite herpetiforme (DH), entre outros (Farrell e Kelly, 2010).

Muitas vezes a DC encontra-se associada a outras doenças autoimunes, como diabetes *mellitus* tipo I, tiroidismo, hepatites e DH (Schuppan *et al.*, 2009). Esta dermatite é uma doença da pele de carácter pruriginoso e crónica que se desenvolve especialmente em pacientes portadores da DC (Karpati, 2012). Os doentes com DH podem apresentar apenas as erupções cutâneas sem qualquer sintoma a nível intestinal, mas normalmente encontram-se lesões intestinais na biopsia (Karpati, 2012; Villanacci *et al.*, 2011).

Em seguida, será apresentado um quadro resumo (Tabela 1) de algumas manifestações extra-intestinais e as suas principais causas (Farrell e Kelly, 2010).

**Tabela 1** – Quadro resumo das manifestações extra-intestinais. [Adaptado de: (Farrell e Kelly, 2010).]

<b>Manifestação</b>		<b>Causas prováveis</b>
<b>Cutâneas</b>	DH	Desconhecida
	Hiperqueratinose folicular e dermatite	Má absorção de Vitamina A e Vitaminas do complexo B
<b>Endocrinológico</b>	Amenorreia, infertilidade e impotência	Má nutrição e Disfunção hipotalâmica
	Hiperparatiroidismo secundário	Má absorção de cálcio e/ou vitamina D que causam hipocalcemia
<b>Hematológico</b>	Anemia	Redução da absorção de ferro
	Hemorragia	Redução da síntese de fatores de coagulação
<b>Hepática</b>	Parâmetros hepáticos elevados	Desconhecido
<b>Muscular</b>	Atrofia	Má nutrição devido à má absorção
	Fraqueza	Atrofia muscular generalizada e hipocalcemia
<b>Esquelético</b>	Osteopenia	Má absorção de cálcio e de vitamina D
<b>Dentes</b>	Hipoplasia do esmalte dentário	Carências nutricionais

## 4. Diagnóstico

Nos últimos anos, tem-se verificado uma melhoria significativa no diagnóstico da doença, não só pela compreensão e descoberta de uma variedade de manifestações associadas a esta patologia, mas também pelo desenvolvimento de testes mais específicos e sensíveis (Fasano e Catassi, 2001).

De uma maneira geral, o diagnóstico tem por base a realização de testes serológicos e uma eventual avaliação histológica, através de biópsia, tanto em crianças, como em adultos (Heredia *et al.*, 2007; Fasano e Catassi, 2001; Marsh, 1992; Green e Cellier, 2007). A confirmação da doença depende da biópsia intestinal e da presença concomitante de serologia positiva específica para a DC (Fasano e Catassi, 2001). A Associação Americana de Gastroenterologia refere que o rastreio da DC deve ser efetuado em indivíduos sintomáticos que apresentam risco particularmente elevado de desenvolver a patologia (Kagnoff, 2006; Rostom *et al.*, 2006). De acordo com as recentes *guidelines* da *World Gastroenterology Organisation* (WGO) a população de risco abrange, entre outros, familiares de 1º e 2º grau de doentes celíacos (DCs); indivíduos com anemia ferropénica inexplicável; indivíduos com deficiência em ácido fólico, ferro e vitamina B<sub>12</sub> inexplicável; indivíduos com osteoporose em idades precoces; diabéticos do tipo 1; pessoas com sintomatologia frequente de dores abdominais; indivíduos portadores de outras doenças autoimunes. São ainda considerados grupos de risco os pacientes com Síndrome do cólon irritable, Síndrome de Down, Síndrome de Turner ou com a presença de distúrbios reprodutivos (Kagnoff, 2006; Rostom *et al.*, 2006; Bai *et al.*, 2012).

Quando se suspeita de DC, antes de iniciar uma DIG, deve-se em primeiro lugar proceder ao diagnóstico, uma vez que a isenção de glúten pode alterar negativamente os resultados dos testes serológicos e melhorar a histologia (Rostom *et al.*, 2006).

## 4.1.Serologia

A análise de marcadores serológicos possibilita não só a deteção da doença como permite monitorizar a adesão dos doentes à DIG. Não deve, contudo, ser o único meio de deteção da doença.

Existem diversos marcadores serológicos que podem auxiliar no diagnóstico da DC, como os anti-tTG, os anti-EMA e os AGA. Contudo, os anti-EMA e os anti-tTG são os testes considerados mais sensíveis e específicos para a pesquisa da DC (Farrell e Kelly, 2010; Kagnoff, 2006; Volta e Villanacci, 2011; Farrell e Kelly, 2002; Rostom *et al.*, 2006). Os anti-tTG apresentam uma maior sensibilidade, enquanto os anti-EMA apresentam uma maior especificidade. De acordo com Volta e Villanacci (2011), os anti-tTG pertencentes à classe da Imunoglobulina A (IgA) apresentam uma sensibilidade de 97%, contra os 94% pertencentes aos anti-EMA. Quanto à especificidade, os anti-EMA possuem 100% contra os 91% que os anti-tTG detêm, facto que explica o custo mais elevado associado ao teste de pesquisa dos níveis de anti-EMA.

Antes de se proceder à análise destes marcadores serológicos é fundamental determinar os níveis séricos de IgA total, uma vez que muitos DCs apresentam níveis de IgA muito reduzidos, o que, posteriormente, na análise dos marcadores, dará origem a falsos negativos. No caso de haver uma deficiência, é possível pesquisar a presença da patologia através dos níveis de Imunoglobulina G (IgG), tanto de anti-EMA como dos anti-tTG (Cataldo *et al.*, 1998; Lewis e Scott, 2006).

### 4.1.1. Anti-tTG

Para a deteção dos níveis séricos do anticorpo contra a tTG, recorre-se ao método imuno-enzimático, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Atualmente, é avaliado como o melhor teste e o mais simples no diagnóstico da DC, substituindo

progressivamente o teste anti-EMA, devido à sua elevada sensibilidade, especificidade, facilidade de uso, e capacidade quantitativa (Kagnoff, 2006; Rostom *et al.*, 2006).

#### **4.1.2. Anti-EMA**

Relativamente aos anti-EMA, estes são auto-anticorpos contra um elemento do tecido conjuntivo que reveste a musculatura lisa, conhecido como endomísio. Atualmente, sabe-se que o alvo destes anticorpos é a tTG. A análise é efetuada por imunofluorescência indireta, habitualmente usada na deteção de auto-anticorpos, que exige a participação de um operador (Rostom *et al.*, 2006; Bai *et al.*, 2012).

#### **4.1.3. AGA**

Normalmente, num doente celíaco não tratado, os níveis de AGA encontram-se elevados, contudo este teste não apresenta uma boa sensibilidade e especificidade (Farrell e Kelly, 2002; Kelly *et al.*, 1991; Green e Cellier, 2007). Recentemente, foi desenvolvido um teste de segunda geração de AGA, que pretende determinar os níveis de anticorpos contra os péptidos de gliadina desaminados (anti-DGP) (Niveloni *et al.*, 2007; Leffler *et al.*, 2007). Os níveis séricos destes anticorpos são geralmente superiores aos dos tradicionais anticorpos de gliadina, o que evidencia o quão importante é a desaminação da gliadina no desenvolvimento da DC (Agardh, 2007). Após o glúten ser retirado da dieta diária de um doente celíaco, a concentração de anti-DGP sofre um decréscimo, assim como os anti-EMA e anti-tTG (Leffler *et al.*, 2007).

Este teste poderá ser útil em crianças com idade inferior a 2 anos e com elevada suspeita da DC, cujos testes anti-tTG e anti-EMA são negativos. Nestes casos, o exame para a deteção dos anti-DGP é aconselhado, dado a sua elevada sensibilidade em crianças pequenas (Husby *et al.*, 2012; Barbato *et al.*, 2011).

## 4.2. Biópsia endoscópica

A confirmação da existência de DC exige, para além de testes serológicos, a avaliação histológica de uma porção do intestino proximal. Assim, e de acordo com o descrito pelo algoritmo de diagnóstico, havendo serologia positiva, deve prosseguir-se para endoscopia do intestino proximal e biópsia concomitante. Os exames histológicos são ainda fundamentais nos casos em que, apesar de não haver serologia positiva, existem fortes suspeitas devido aos sintomas que o indivíduo apresenta.

Como já descrito, o epitélio intestinal normal apresenta inúmeras vilosidades que lhe confere um aspeto “em escova” (Figura 8a). Na DC ocorre atrofia das vilosidades intestinais associada a infiltração de linfócitos na mucosa, características que podem ser mais ou menos intensas. Marsh, em 1992, classificou as lesões intestinais de acordo com a respetiva severidade – Classificação de Marsh (Marsh, 1992). De acordo com este autor, e de forma resumida, as lesões eram classificadas como:

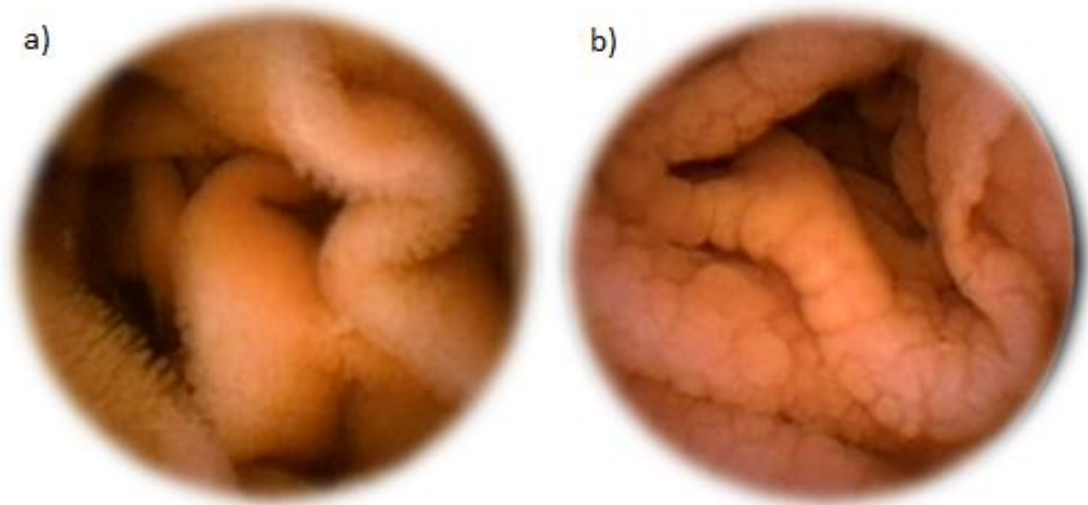
- Tipo 0 – normal
- Tipo I – infiltrativo
- Tipo II – hiperplásico
- Tipo III – destrutivo
- Tipo IV – hipoplásico

Anos mais tarde, em 1999, esta classificação sofreu uma modificação por parte de Oberhuber, passando a ser conhecida por Classificação de Marsh-Oberhuber. De acordo com esta classificação, as lesões intestinais são divididas em estádios que variam desde um estágio suave até a um estágio de maior severidade, apresentando mais subcategorias quando comparada com a anterior (Tabela 2).

**Tabela 2** – Classificação de Marsh-Oberhuber, em que se pode denotar a presença de subcategorias, especificamente no Tipo III, quando comparada com a classificação proposta inicialmente. [Adaptado de: (Harris *et al.*, 2012).]

<b>Tipo</b>	<b>Características</b>	
<b>Tipo 0</b>	Mucosa normal	
<b>Tipo I</b>	Aumento do número de IELs	
<b>Tipo II</b>	Hiperplasia das criptas e aumento no número de IELs	
<b>Tipo III</b>	Atrofia das vilosidades (Para além das características do tipo II)	III a – Parcial
		III b – Subtotal
		III c – Total
<b>Tipo IV</b>	Atrofia total das vilosidades (Ausência das restantes características)	

Endoscopicamente, um intestino saudável possui pregas ao longo de todo o percurso que conferem um relevo característico. No intestino do indivíduo com DC, as pregas desaparecem associadas a atrofia das vilosidades e, consoante o grau de atrofia, o intestino apresenta-se de uma forma mais ou menos plana (Figura 8b). É ainda característico desta doença a presença IELs na mucosa intestinal (Brown *et al.*, 2006).



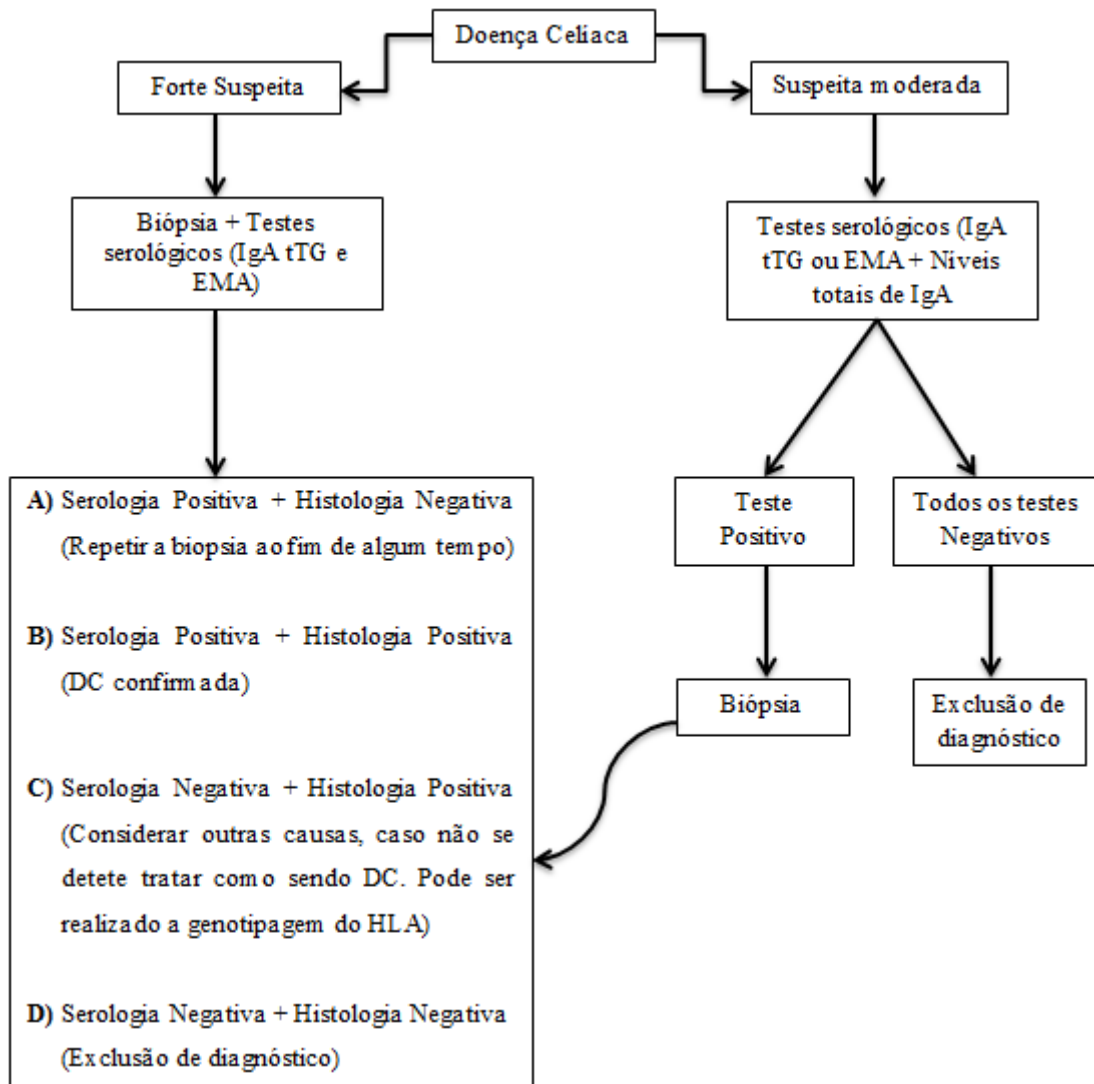
**Figura 8** – Imagens endoscópicas do epitélio intestinal. **a)** epitélio intestinal “normal”, com inúmeras vilosidades; **b)** epitélio intestinal de um DC com atrofia das vilosidades; [Adaptado de: (Lidums *et al.*, 2011).]

A endoscopia, neste caso, é uma excelente ferramenta de diagnóstico, contudo não poderá ser usada para confirmar a doença (Harris *et al.*, 2012). Por tal, e de acordo com a WGO, a biopsia, juntamente com a serologia positiva, constitui o “*gold standard*” do diagnóstico.

Caso o diagnóstico seja confirmado, deve ser instaurado o tratamento logo de imediato. Após o início do tratamento, e caso os pacientes estejam a responder de forma satisfatória, não é necessário voltar a realizar biopsia. Só é aconselhada no caso da primeira biopsia e os testes serológicos serem inconclusivos, ou no caso de sintomatologia persistente após início da DIG (Catassi e Fasano, 2010).

### 4.3. Algoritmo

De acordo com as mais recentes *guidelines*, o algoritmo apresentado em seguida (Figura 9) deve ser utilizado no diagnóstico da DC.



**Figura 9** – Algoritmo de decisão. [Adaptado de: (Bai *et al.*, 2012).]

Na prática, e considerando os custos destes testes de diagnóstico, se os valores serológicos de anti-tTG forem 10 vezes superiores ao normal, diagnostica-se a DC sem a realização da biópsia, como afirma a ESPGHAN em orientações para o diagnóstico da doença recentemente lançadas (Husby *et al.*, 2012). A confirmação desse diagnóstico é também suportada pela regressão da doença após uma alimentação sem glúten (prova terapêutica).

#### 4.4. Diagnóstico diferencial

À semelhança da DC, muitas outras patologias apresentam alterações histológicas na mucosa intestinal e outros sintomas característicos desta patologia, pelo que devem ser excluídas (Tabela 3).

**Tabela 3** – Algumas situações que apresentam sinais clínicos semelhantes aos da DC. [Adaptado de: (Bai *et al.*, 2012).]

Patologias
<i>Sprue</i> tropical; Enteropatia ao Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV); Danos provocados por Radiação; Quimioterapia; Isquemia crónica; Giardíase; Doença de Crohn; Síndrome de Zollinger-Ellison; Enteropatia autoimune;

Relativamente ao *Sprue* tropical, esta é uma doença em que as anormalidades do intestino delgado causam diarreia e má absorção intestinal. O desenvolvimento desta patologia ocorre após viagens por regiões tropicais, com por exemplo, Caraíbas, sul da Índia e sudoeste da Ásia. Ao nível histológico surge uma atrofia progressiva das vilosidades intestinais, semelhante ao que ocorre na DC. A etiologia não é conhecida, suspeitando-se de infeções bacterianas, virais ou parasitárias (Westergaard, 2004; Shah *et al.*, 2000).

O HIV de uma forma geral é um vírus que ataca o sistema imunológico. Nos pacientes infetados por este vírus, é possível verificar-se a ocorrência de diarreia crónica, uma vez

que o próprio HIV causa alterações na mucosa intestinal, proporcionando atrofia das vilosidades. Esta afeção é designada por enteropatia pelo HIV e dada a semelhança com a DC e não só, deve ser realizado um diagnóstico com a sua exclusão (Teixeira *et al.*, 1996).

A isquemia intestinal ocorre quando há diminuição do fluxo sanguíneo, tornando-se insuficiente e acabando por afetar a viabilidade da mucosa. Em situações de maior gravidade, pode acabar por haver comprometimento da espessura da parede (isquemia transmural).

A Giardíase é uma infeção que ocorre ao nível do intestino provocada pelo protozoário *Giardia lamblia*. A contaminação pode ocorrer com a ingestão de água e alimentos contaminados por fezes, contendo o protozoário, e também através do contato direto entre as pessoas. Os principais sintomas desta infeção residem no aparecimento de diarreia e cólicas abdominais.

A doença de Crohn é uma doença inflamatória intestinal que origina dor abdominal, diarreia e perda de peso, o que pode muitas vezes ser confundida clinicamente com a DC.

No que diz respeito ao síndrome de Zollinger-Ellison é uma patologia caracterizada por haver um aumento da hormona gastrina e, conseqüentemente, uma produção excessiva de ácido clorídrico pelo estômago. De uma forma geral, a diarreia, dor abdominal e perda de peso, são os principais sintomas desta doença (Roy *et al.*, 2000).

A enteropatia autoimune é uma doença rara em que o sistema imunológico ataca determinadas células do intestino. É caracterizada por um quadro clínico de diarreia e alterações histológicas intestinais (Gentile *et al.*, 2012).

## 5. Tratamento

Infelizmente, o único tratamento da DC é a DIG. Contudo, o desígnio da ciência é a evolução. Assim têm vindo a ser analisadas e investigadas novas abordagens terapêuticas a implementar futuramente, evitando, desta forma, a privação alimentar a que estes doentes estão sujeitos, que nem sempre é fácil de manter, especialmente após a adolescência e sobretudo em ocasiões sociais.

### 5.1. Tratamento não farmacológico - DIG

Há cerca de 60 anos atrás, foi estabelecida uma relação entre o desenvolvimento da DC e o consumo de glúten. Deste então, e até aos dias de hoje, o único tratamento para os DCs é a adesão, de forma permanente, a uma DIG. Esta deve ser equilibrada, garantindo todos os elementos essenciais para o organismo (Haines *et al.*, 2008). É a única terapêutica que permite a normalização e recuperação da estrutura da mucosa intestinal, havendo recidiva no caso da reintrodução de glúten. É então considerada como uma “dieta para a vida”, a qual apresenta uma elevada carga emocional, e é, sem dúvida, um desafio para os doentes.

A DIG é uma dieta na qual há omissão do trigo, centeio e cevada, principais fontes de prolaminas. A ingestão de aveia é um assunto que gera alguma controvérsia. Existem autores, como Farrell e Kelly (2002), que referem que a aveia possui muitos elementos do trigo. Outros afirmam que a ingestão de aveia é segura. De acordo com diversos estudos, a aveia não apresenta toxicidade em cerca de 95% dos DCs. O mesmo já não acontece para os restantes 5% (Pulido *et al.*, 2009; Collin, 2005; Hoffenberg, 2005; Sugai *et al.*, 2010; Akobeng e Thomas, 2008). Por conseguinte, existe alguma renitência, em diversos países, no aconselhamento de aveia a DCs.

Os principais objetivos/resultados desta dieta é a diminuição dos sintomas gastrointestinais e dos valores dos testes serológicos, bem como a melhoria da mucosa intestinal e do estado nutricional do doente (Marsh, 1992; Kurppa *et al.*, 2011). Cerca

de 70% dos DCs descrevem melhorias significativas nos sintomas, após 2 semanas do início da DIG, com diminuição dos valores serológicos dos anticorpos específicos. Porém, a nível histológico, a resolução não é tão instantânea e é mais demorada (Sugai *et al.*, 2010).

Assim sendo, após ocorrer o diagnóstico da DC, os doentes devem ser encaminhados para um profissional de saúde competente (gastroenterologista ou pediatra), de forma a usufruir de acompanhamento adequado nesta nova etapa da sua vida. Este profissional será responsável pelo regime alimentar a adotar e por uma ação pedagógica junto do paciente, realçando, particularmente, as distintas fontes de glúten e os possíveis alimentos que podem sofrer de contaminações cruzadas. Deve ainda enfatizar a presença de produtos sem glúten que existem no mercado e toda a informação que diz respeito aos mesmos. É ainda fundamental que o profissional de saúde avalie o estado nutricional do doente, de forma a garantir a correta suplementação, no intuito de se evitarem défices nutricionais, frequentemente existentes para o ferro, as fibras, os folatos, o cálcio, magnésio, zinco e vitaminas (vitaminas D e do complexo B) (Fric *et al.*, 2011).

Em seguida, estão listados alguns alimentos que naturalmente não apresentam glúten, pelo que podem ser ingeridos sem problema pelos DCs:

- Fruta
- Verduras
- Legumes
- Carnes (Vaca, peixe, aves, suínos, etc)
- Ovos
- Laticínios

No que diz respeito aos alimentos proibidos, são todos aqueles que, na sua constituição, apresentam glúten, como, por exemplo, os produtos produzidos com cereais (trigo,

cevada, centeio e aveia). São também desaconselhados cerveja, molhos industrializados, entre outros.

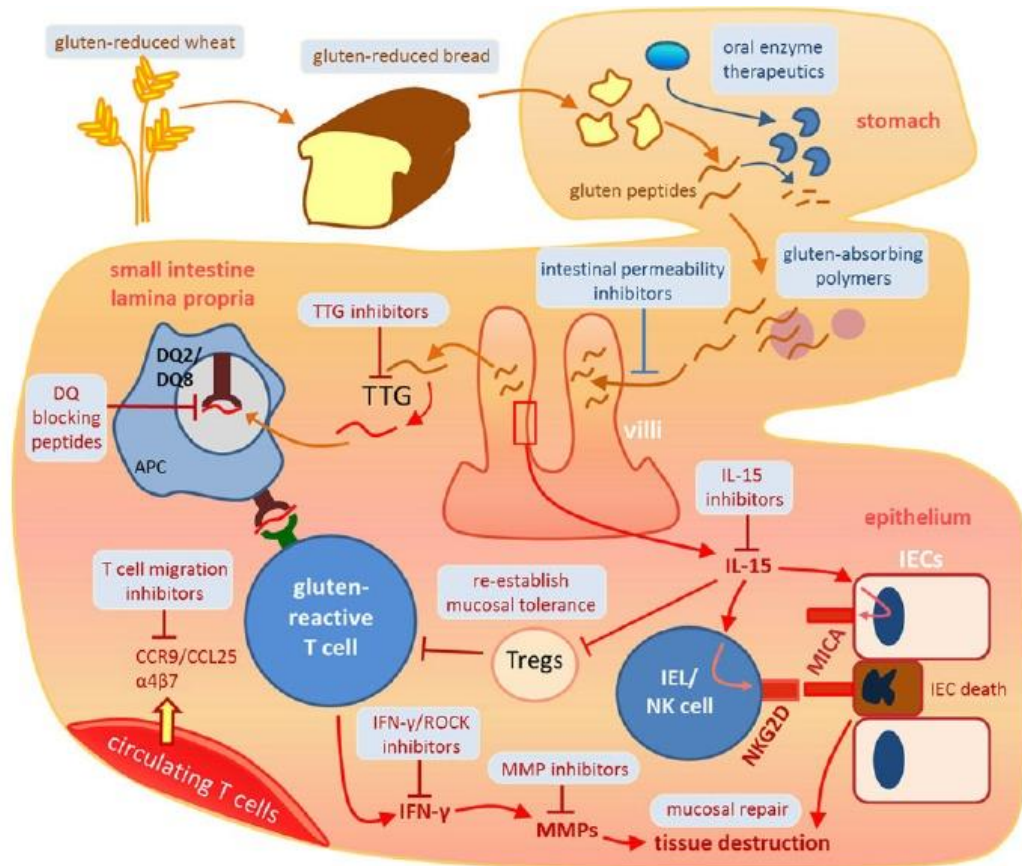
Nos últimos anos, o mercado alimentar sofreu uma importante evolução no sentido de fabricar alimentos apropriados para os DCs. Começou a aparecer uma vasta variedade de produtos intitulados “Gluten Free”, ou em português “Sem Glúten” (Figura 10). A Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos e a União Europeia permitem a rotulagem destes produtos “sem glúten” apenas em produtos alimentares que contenham menos de 20 partes por milhão (PPM) de glúten. Apesar da quantidade tolerada de glúten ser diferente de pessoa para pessoa, é geralmente aceite que um consumo de glúten inferior a 10 mg por dia é considerado seguro para os pacientes com DC (Jabri *et al.*, 2005). Esta alimentação “sem glúten” constituiu, sem dúvida, um grande passo na melhoria de qualidade de vida dos DCs, mas é mais cara e nem sempre disponível em diferentes países/regiões (Dicke, 1951; Lerner, 2010; Sollid e Khosla, 2005).



**Figura 10** – Alimentos sem glúten. **a)** Símbolo de “sem glúten”; **b)** bolachas sem glúten; **c)** bolachas sem glúten com o símbolo característico. É de extrema importância a existência da informação “sem glúten” na embalagem dos produtos, por forma a evitar possíveis enganosa.

## 5.2. Tratamentos Alternativos

É extremamente importante que uma nova geração terapêutica seja desenvolvida com o intuito de colmatar as falhas e limitações que uma DIG acarreta. Ofereceriam, certamente, aos doentes uma nova qualidade de vida, sem restrições alimentares ou pelo menos com menos restrições. Desta feita, tem-se vindo a intensificar a pesquisa de novas abordagens terapêuticas. Neste capítulo, serão expostas algumas destas abordagens, algumas das quais podem ser observadas na Figura 11.



**Figura 11** – Patogénese da DC e áreas de intervenção das novas terapias em estudo. Esta imagem descreve de forma geral as diferentes etapas do mecanismo patogénico e as diversas alternativas terapêuticas que atuam em diferentes passos deste mecanismo. [in: (McAllister e Kagnoff, 2012).]

### 5.2.1. Variantes de trigo

O trigo, o principal agente causador da doença, encontra-se presente numa variedade de alimentos, o que condiciona a alimentação de um doente celíaco. Assim, uma interessante abordagem para ultrapassar esta privação seria a produção de trigo modificado, ou seja, isentos das porções de glúten imunogénicos, mantendo no entanto, as qualidades nutritivas necessárias (Rashtak e Murray, 2012). São várias as estratégias, como a manipulação genética e a produção seletiva, que tentam diminuir ou eliminar os níveis de proteínas ativadoras da doença nos cereais, dando origem a espécies pobres ou isentas de glúten imunogénico (McAllister e Kagnoff, 2012; Rashtak e Murray, 2012). Contudo, esta abordagem apresenta aspetos negativos que a tornam menos atraente relativamente ao que seria previsto, como, por exemplo, (1) uma alteração nas características necessárias para o seu processamento (exemplo: cozimento); (2) uma eventual rejeição pública às culturas geneticamente modificadas; (3) a possível contaminação de culturas geneticamente modificadas com culturas contendo glúten; entre outros (Donnelly *et al.*, 2011).

Mais recentemente, foi proposto a utilização de *Psyllium*, que contém um substituto do glúten, podendo ser preparado pão a partir da sua massa. Este estudo pretendeu avaliar o efeito do *Psyllium* como substituto do glúten, comparando determinados aspetos, como as características sensoriais, químicas, nutritivas e tecnológicas da massa de pão. O *Psyllium*, pertencente à família Plantaginaceae, é uma planta que apresenta na sua constituição sementes muito ricas em fibras. Os alimentos produzidos com esta fibra revelaram ser idênticos em sabor, textura e elasticidade quando comparados aos produtos com glúten, apresentando uma percentagem de aceitação de mais de 93% em todas as propriedades analisadas. Desta forma, o estudo conclui haver uma forte aceitabilidade destes produtos pelos DCs e não só (Zandonadi *et al.*, 2009).

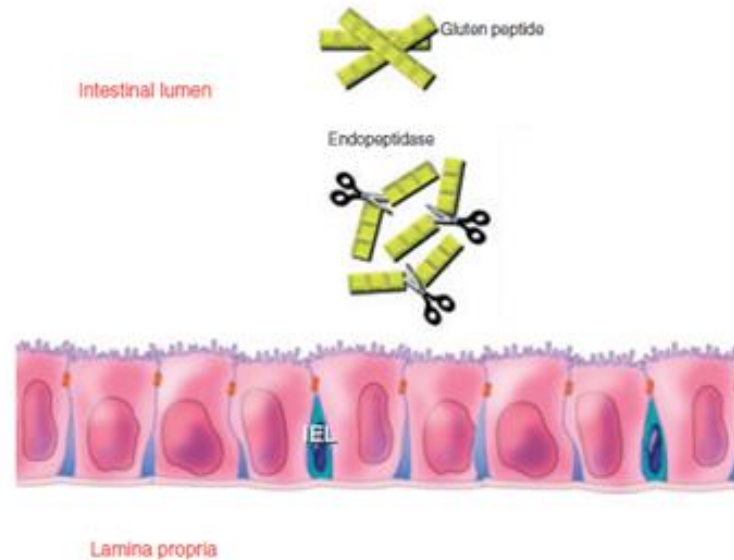
### 5.2.2. Degradação enzimática do glúten

A patogênese da DC deve-se à presença de peptídeos de gliadina não degradados que exibem elevada imunotoxicidade. A degradação destes peptídeos de gliadina impediria o desenvolvimento da DC pois o agente imunotóxico deixaria de existir (Shan *et al.*, 2002; Lerner, 2010; Crespo Perez *et al.*, 2012). Desta forma, é ponderada a hipótese de se utilizar um suplemento oral com enzimas, as quais promoverão a hidrólise completa do glúten e assim evitar a sua atividade nefasta ao nível do intestino (Figura 12). São várias as enzimas analisadas para este fim, como:

- ✓ Propyl-endopeptidase (PEP)
- ✓ (PEP + endoprotease) (ALV003)
- ✓ Mistura de proteases (STAN 1)
- ✓ Modelo computacional da  $\alpha$ -Gliadina Peptidase

De acordo com Gordon *et al.*, (2012), para que uma terapêutica enzimática oral seja considerada ideal para a DC deve apresentar as seguintes características:

- ✓ Resistência ao pH gástrico;
- ✓ Resistência às proteases digestivas;
- ✓ Especificidade para os peptídeos de gliadina;



**Figura 12** – Terapia com recurso a enzimas. A degradação incompleta do glúten conduz ao aparecimento de péptidos imunogénicos. O suplemento de enzimas pode ser uma potencial alternativa terapêutica para a desintoxicação dos péptidos da gliadina. [Adaptado de: (Rashtak e Murray, 2012).]

É importante ressaltar que a principal preocupação, em todas as terapias experimentais, é determinar *in vivo* a dose de glúten que é realmente desintoxicada por uma determinada quantidade de enzima (Sollid e Khosla, 2011).

#### 5.2.2.1. PEP

As PEP, também conhecidas por prolil-oligopeptidases, são enzimas que pertencem à família das proteases, capazes de hidrolisar ligações peptídicas no lado carboxilo dos resíduos de prolina em oligopéptidos de glúten, parcialmente hidrolisados (Szeltner e Polgar, 2008; Gass e Khosla, 2007). Apresentam uma tríada catalítica constituída pelos aminoácidos serina, aspartato e a histidina (Fulop *et al.*, 1998).

Esta enzima, com um pH ótimo de atuação próximo do neutro, é especialmente atraente no tratamento da DC, uma vez que é eficaz na desintoxicação do glúten no intestino delgado, local onde ocorre a digestão e absorção. Contudo, para poder ser administrada *per os* esta enzima deve ser revestida, por forma a ficar protegida do pH ácido gástrico (Gass e Khosla, 2007).

Derivada da *Aspergillus niger*, e por isso designada por AN-PEP, é uma enzima que se encontra a ser desenvolvida por uma empresa alimentar. É favorável quando comparada com outras, como por exemplo a derivada da *Flavobacterium meningosepticum*, uma vez que é estável a pH 2 e é resistente à pepsina humana (Tack *et al.*, 2010). O ensaio clínico, controlado com placebo, foi realizado por forma a degradar 8g de glúten ingeridos por 14 pacientes durante 2 semanas. Os resultados foram comunicados de uma forma abstrata. Assim, e apesar de não ter sido demonstrado um efeito significativo desta enzima, denotou-se uma possível diminuição de anti-tTG nos depósitos intestinais (Crespo Perez *et al.*, 2012). No entanto, e de acordo com Donnelly *et al.*, levanta-se a questão de que a quantidade de glúten utilizada no ensaio pode não ter sido a adequada (Donnelly *et al.*, 2011). Atualmente, novos ensaios clínicos encontram-se a ser realizados para comprovar o futuro uso desta enzima na terapêutica da DC.

Assim, tem sido proposto que a administração oral de uma dose ajustada de PEP, adequadamente formulada, poderá contrariar os efeitos devastadores provocados pela ingestão de quantidades moderadas de glúten (Hausch *et al.*, 2002).

#### **5.2.2.2. ALV003**

É também proposta a utilização de uma terapia de combinação de duas proteases diferentes do glúten (glutenases) com substratos complementares: uma cisteína-endoprotease (derivada de sementes de cevada) e uma PEP (derivada do *Sphingomonas capsulatum*). Esta formulação, desenvolvida pelos laboratórios *Alvine Pharmaceuticals*, é conhecida por ALV003 (Pyle *et al.*, 2005).

Têm sido realizados inúmeros ensaios com o intuito de comprovar a eficácia deste tratamento e, de forma geral, é possível dizer-se que estes estudos têm demonstrado segurança promissora, boa tolerância, ausência de efeitos adversos graves ou reações alérgicas e alguma eficácia (Fasano, 2012).

De acordo com Pyle *et al.*, (2005), num ensaio de fase 1, a *Alvine Pharmaceuticals* recorreu a 20 pacientes, divididos em 2 grupos. Ambos os grupos realizaram uma dieta com glúten. A diferença reside no facto de, num dos grupos, ter sido realizado um pré-tratamento com ALV003 e, no outro, ter sido administrado placebo. Os resultados dos ensaios foram satisfatórios, tendo sido demonstrado um decréscimo dos marcadores imunológicos (Pyle *et al.*, 2005). Recentemente foi realizado um estudo de fase II, com administração diária da ALV003 a pacientes portadores da doença e de placebo ao restante grupo, durante um período de 6 semanas. De acordo com a *Alvine Pharmaceuticals*, este estudo demonstrou que ALV003 pode atenuar uma pequena lesão da mucosa intestinal induzida pelo glúten em pacientes com DC, sendo mais uma prova da eficácia clínica deste tratamento. Aquando do anúncio destes resultados, a *Alvine Pharmaceuticals* encontrava-se a trabalhar num novo estudo de fase II b.

### **5.2.2.3. STAN 1**

Mais recentemente, uma nova mistura de proteases, denominadas por STAN 1, encontra-se a ser testada, com a realização de um estudo de fase I + II. O objetivo deste estudo será testar um cocktail enzimático, composto por 2 enzimas, na diminuição de marcadores serológicos em pacientes com DC. As enzimas em questão não são ainda de conhecimento público, sendo utilizado pelos autores do estudo a denominação de STAN 1 para as identificar. Contudo, os resultados deste estudo ainda não são de conhecimento público (Crespo Perez *et al.*, 2012).

#### 5.2.2.4. Modelo computacional da $\alpha$ -Gliadina Peptidase

Para além do que foi até agora relatado, merece ainda ser mencionado um estudo que, muito recentemente, foi tornado público. Este aborda a utilização de ferramentas computacionais para conceber uma nova enzima direcionada para o tratamento da DC.

O estudo concebido por Gordon *et al.*, (2012) mostra que encontraram uma enzima natural que apresenta propriedades ideais. Com recurso à tecnologia computacional estes investigadores modificaram esta enzima para que cumprisse todas as características desejadas numa terapia enzimática oral para a DC.

Assim sendo, a endopeptidase Kumamolisin-A (KumaWT), obtida a partir da bactéria *Alicyclobacillus sendaiensis*, foi modificada no intuito de conceber a enzima computacional KumaMax. Esta demonstrou, experimentalmente, apresentar resistência à proteólise e uma elevada capacidade para degradar mais de 95% dos peptídeos de glúten que intervém nesta patologia. Apesar de ainda ser um estudo inicial, os autores concluíram que esta nova enzima é uma candidata promissora à terapêutica oral da DC (Gordon *et al.*, 2012).

#### 5.2.3. Diminuição da absorção de glúten

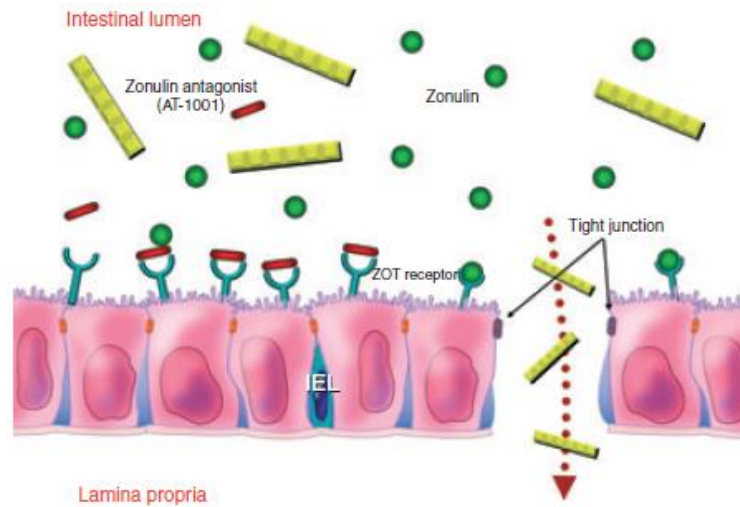
Uma outra proposta para o tratamento da DC é a diminuição da absorção do glúten, ou seja, evitar a interação dos péptidos de gliadina com a mucosa intestinal. Para que tal possa ocorrer, foi proposta a utilização de polímeros com um elevado peso molecular, que terão a capacidade de se ligarem seletivamente à gliadina, evitando a sua absorção e consequente danificação do epitélio (McAllister e Kagnoff, 2012). O estireno sulfonato polimerizado com metacrilato de hidroxietilo (HEMA) dá origem a um polímero HEMA-co-SS (Pinier *et al.*, 2009). Recentemente foi avaliada a capacidade do polímero diminuir a digestão de glúten, evitar a resposta imunológica e os danos intestinais. Os ensaios realizados com ratos demonstraram a redução da digestão de glúten, das lesões na mucosa e da produção de citocinas pró-inflamatórias após administração do

polímero por via oral. Neste estudo foram ainda avaliados os efeitos da formação do complexo na libertação de citocinas *ex vivo*, utilizando amostras de biopsias intestinais de DCs. A incubação destas amostras com o polímero demonstrou uma redução da secreção do Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ). Estes estudos não indicaram qualquer reação adversa (Pinier *et al.*, 2012). É fundamental que continue a haver a realização de estudos acerca desta terapia, possibilitando no futuro a sua investigação em ensaios clínicos.

#### **5.2.4. Inibidores da permeabilidade intestinal**

Um dos principais problemas associado a esta doença é o aumento da permeabilidade intestinal. Uma possível causa para a abertura das junções intercelulares é a existência de zonulina, cuja frequência é reforçada pela presença de gliadina (Di Sabatino e Corazza, 2009; Lerner, 2010). Assim, pensou-se que ao utilizar-se um inibidor desta proteína reduzir-se-ia a permeabilidade, evitando a passagem dos péptidos de glúten para a lâmina própria, ou seja, o inibidor iria impedir a abertura das junções (Gujral *et al.*, 2012).

Um potencial inibidor é o Acetato de Larazotide (AT-1001), uma proteína secretada pelo *Vibrio cholerae*, desenvolvido pela *Alba Therapeutics* (Paterson *et al.*, 2007; Fasano *et al.*, 1997; Marinaro *et al.*, 2003; Lerner, 2010). Este inibidor (Figura 13) demonstra ser eficaz no impedimento da abertura das junções, diminuindo assim o transporte paracelular do glúten para a lâmina própria (Crespo Perez *et al.*, 2012).



**Figura 13** – Intervenção ao nível da permeabilidade intestinal. Os peptídeos de gliadina atravessam a barreira epitelial devido a um aumento da permeabilidade epitelial, que poderia ser reduzida com a utilização inibidores como o AT-1001. [*in*: (Rashtak e Murray, 2012).]

São vários os ensaios clínicos realizados para testar a eficácia desta terapia. De uma forma geral, os resultados obtidos demonstraram que o AT-1001 é bem tolerado pelos doentes, diminui a permeabilidade intestinal, a produção de citocinas inflamatórias e os sintomas gastrointestinais (Paterson *et al.*, 2007).

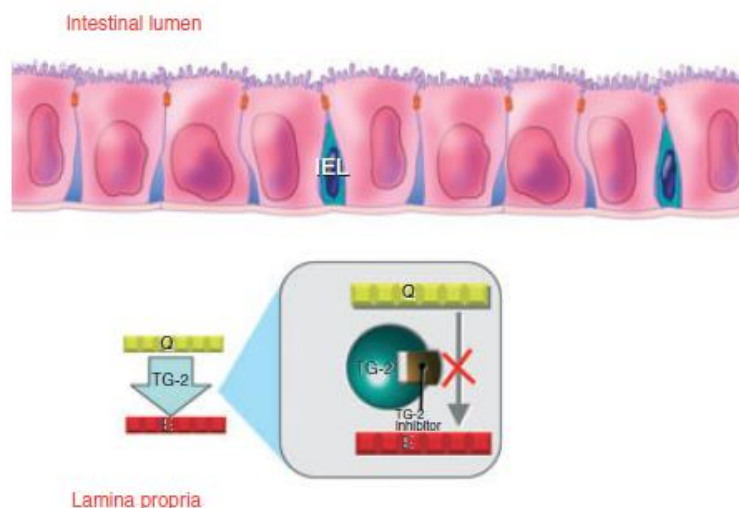
São ainda descritas alterações nos níveis de anticorpos, contribuindo para a evidência de que esta proteína poderá ser promissora no tratamento da DC (Kelly *et al.*, 2009).

### 5.2.5. Inibidores da tTG

Como abordado anteriormente, a tTG é relevante para o desenvolvimento da DC, sendo responsável pela toxicidade dos peptídeos de gliadina. Assim, intervir na atividade da tTG é uma estratégia promissora para a terapia da DC, uma vez que o bloqueio da sua ação, por um lado, diminui a desaminação do glúten e, conseqüentemente, reduz a resposta imunológica, controlando a atividade pró-inflamatória desta enzima (Lerner, 2010).

Neste seguimento, tem sido proposto que a inibição da tTG (Figura 14) com um inibidor específico poderá ser uma importante abordagem na resolução da DC. Existe uma diversidade de inibidores, quer reversíveis quer irreversíveis (Siegel e Khosla, 2007; Sollid e Khosla, 2011). No entanto, um dos principais entraves a esta terapia deve-se ao facto da tTG participar em inúmeras e importantes vias biológicas, como a apoptose, a adesão celular, a formação do colagénio e no mecanismo de reparação de feridas. Assim, a sua inibição sistémica poderá implicar efeitos adversos nocivos, sendo, por isso, essencial que o inibidor “ideal” apresente uma atividade limitada ao intestino, seja seguro e eficaz (Lerner, 2010; Sollid e Khosla, 2005).

Um dos inibidores analisados foi o L-682777, um inibidor suicida. Todavia não demonstrou ser um inibidor “ideal” uma vez que também altera a atividade do fator X da cascata de coagulação o que não é desejável (Lerner, 2010). Por outro lado, foi demonstrado que o KCC009, administrado por via oral, inibe a atividade da tTG ao nível intestinal, apresenta um tempo de semi-vida curto e é bem tolerado pelos ratos (Choi *et al.*, 2005).

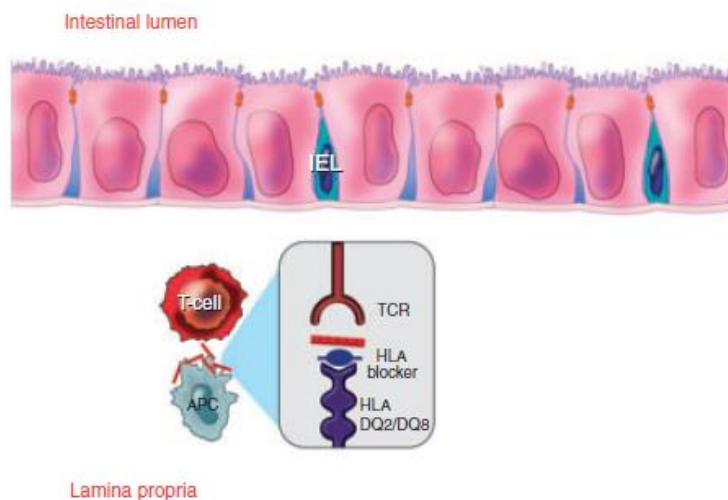


**Figura 14** – Inibição da tTG. Com a passagem dos peptídeos de gliadina pelo epitélio intestinal, eles sofrem uma desaminação pela tTG. A inibição desta enzima poderia assim impedir a desaminação dos peptídeos e, conseqüentemente, reduzir a resposta imunológica. [Adaptado de: (Rashtak e Murray, 2012).]

### 5.2.6. Bloqueio do HLA

Uma outra terapêutica interessante seria impedir a interação entre os péptidos e as APC, interferindo com a ativação das células T. Para este fim, pondera-se como alternativa terapêutica o bloqueio da ligação dos péptidos ao HLA (Rashtak e Murray, 2012; McAllister e Kagnoff, 2012).

É importante que a substância inibidora apresente elevada afinidade para o sistema HLA (Sykulev *et al.*, 1996; Rashtak e Murray, 2012). Nos últimos tempos, têm sido criados e analisados péptidos análogos aos de gliadina, com modificações químicas adicionais que aumentam a sua afinidade ao HLA. Deste modo, estas moléculas impedem a ligação dos péptidos de gliadina ao HLA por inibição competitiva (Figura 15) (Xia *et al.*, 2007; Xia *et al.*, 2006). Estudos posteriores desenvolveram péptidos bloqueadores com recurso a uma biblioteca de nona-peptídeos, que no final revelaram possuir uma afinidade ao HLA de 50 vezes mais, quando comparada com a ligação normal da gliadina ao HLA (Juse *et al.*, 2010).



**Figura 15** – Bloqueio do HLA. A ligação dos péptidos de gliadina ao sistema HLA na APC poderá ser impedida através da utilização de substâncias bloqueadoras do HLA. [Adaptado de: (Rashtak e Murray, 2012).]

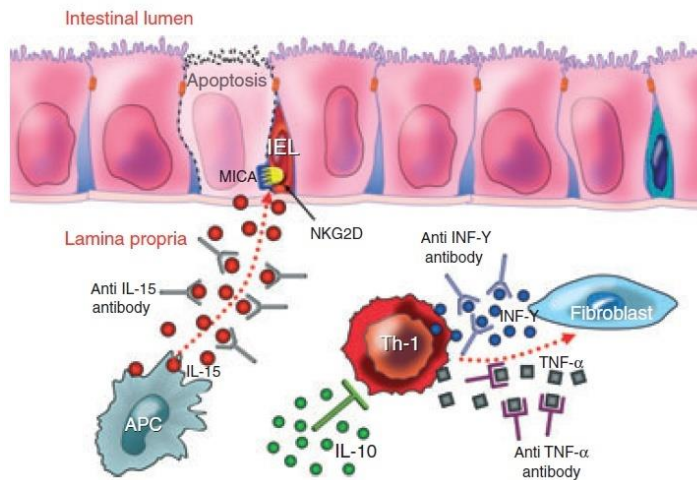
### 5.2.7. Bloqueio da migração das células T

É já conhecido o importante papel das células T no desenrolar da DC. Assim, uma possível estratégia será impedir ou limitar a migração destas células, interferindo com a sua atividade e, conseqüentemente, diminuindo os danos na mucosa intestinal.

As células T apresentam recetores superficiais, como o recetor de quimiocinas 9 (CCR9), que se ligam ao ligante de quimiocinas 25 (CCL25), ligação que é importante para que ocorra o recrutamento de linfócitos T. Bloquear a interação CCR9-CCL25 aparenta ser uma boa alternativa, recorrendo-se para a tal a bloqueadores, como antagonistas CCR9 e CCL25. Atualmente, já existem estudos que comprovam alguma eficácia destes antagonistas na doença de Crohn. Contudo, existem algumas reservas relativamente à segurança destes antagonistas, dado que a sua ação não é específica, pelo que poderá reduzir a capacidade de resposta imunológica em termos globais, tornando o indivíduo mais suscetível a infeções. Relativamente à DC, a eficácia encontra-se em investigação num ensaio clínico de fase II (McAllister e Kagnoff, 2012; Rashtak e Murray, 2012; Lindfors *et al.*, 2012; Sollid e Khosla, 2011).

### 5.2.8. Modulação da inflamação

A resposta imune associada à DC caracteriza-se pela libertação de diversas citocinas, que têm sido consideradas como promissores alvos terapêuticos (Figura 16), nomeadamente o IFN- $\gamma$  e a IL-15.



**Figura 16** – Esquema representativo das abordagens terapêuticas a nível da inflamação. No decorrer da ativação das células T ocorre a produção de diferentes citocinas, que irão interferir nos danos do epitélio intestinal. A utilização de tratamentos que inibam estas citocinas parece ser uma importante alternativa no tratamento da DC. [in: (Rashtak e Murray, 2012).]

### 5.2.8.1. IFN- $\gamma$

O IFN- $\gamma$  é uma citocina produzida por células T ativadas após o contacto com o antígeno gliadina. Este IFN- $\gamma$  é responsável por uma resposta pró-inflamatória, incluindo a ativação das MMPs, que provoca a lesão intestinal característica desta doença (Schuppan *et al.*, 2009). Deste modo, utilizaram-se anticorpos contra o IFN- $\gamma$  (anti-IFN- $\gamma$ ) que bloqueiam esta citocina, impedindo a ativação das MMPs e evitando a alteração estrutural do epitélio intestinal (Przemioslo *et al.*, 1995). Julga-se, também, que o IFN- $\gamma$  favoreça a passagem de gliadina pela barreira intestinal que, por sua vez, potencia e induz a produção de IFN- $\gamma$ , gerando, desta forma, um ciclo que se autopropaga. Os anti-IFN- $\gamma$  seriam importantes para quebrar este ciclo (Bethune *et al.*, 2009; Beaufort *et al.*, 2009).

Até ao momento, não existem estudos que demonstrem a eficácia desta terapia na DC. Contudo, a utilização deste tipo de anticorpos já foi analisada para a doença de Crohn, através de um ensaio de fase II. Neste estudo, os investigadores utilizaram um anticorpo monoclonal, o fontolizumab, que atua ao nível do IFN- $\gamma$ . Os principais objetivos deste estudo incidiram na avaliação da segurança e da eficácia deste anticorpo no tratamento da doença de Crohn. Os resultados obtidos demonstraram uma boa tolerância ao fontolizumab e um ligeiro decréscimo dos níveis de proteína C reativa. No entanto, não se observou uma forte resposta clínica (Rashtak e Murray, 2012; Reinisch *et al.*, 2010).

Apesar do elevado interesse nos anticorpos monoclonais, a sua administração, de uma forma geral, apresenta alguns riscos, como a possibilidade de provocar reações imunológicas, como anafilaxia aguda e a doença do soro (reação de hipersensibilidade do sistema imunitário) (Hansel *et al.*, 2010). Para além disso, deve ser referido que este tipo de terapia normalmente é muito cara.

Aguardam-se novos desenvolvimentos no que toca à resposta clínica dos DCs com este anticorpo.

#### **5.2.8.2. Anti-IL-15**

Como foi descrito anteriormente, a IL-15 induz secreção de MICA epitelial que interage com os recetores das células NK. Esta interação origina a estimulação e proliferação dos linfócitos T citotóxicos e das células NK, provocando a destruição dos enterócitos, ou seja, a apoptose das células epiteliais (Hue *et al.*, 2004; Maiuri *et al.*, 2000; Meresse *et al.*, 2004; Di Sabatino *et al.*, 2006; Mention *et al.*, 2003).

Um estudo realizado recentemente em ratos demonstrou que a utilização de anticorpos contra a IL-15 (anti-IL-15) apresentava alguma ação no dano epitelial, induzindo a apoptose dos IELs e reduzindo o número destas células que se acumulam no epitélio intestinal dos ratinhos (Yokoyama *et al.*, 2009; Malamut *et al.*, 2010).

São necessários mais estudos para determinar o efeito destes anticorpos em DCs e os seus efeitos adversos (Rashtak e Murray, 2012).

### **5.2.9. Inibidores das MMPs**

As MMPs são enzimas capazes de destruir os tecidos e têm sido apontadas como agentes fundamentais na patogênese da DC (Pender *et al.*, 1997). O recurso a inibidores das MMP é hoje considerado uma possível abordagem terapêutica para a DC, contudo o seu sucesso não foi ainda estabelecido (Gege *et al.*, 2012; McAllister e Kagnoff, 2012).

### **5.2.10. Vacinação**

O desenvolvimento de estratégias de imunização, utilizando peptídeos antigénicos que induzam a tolerância, é desejável para diversas patologias, inclusive para a DC. Esta será, sem dúvida, uma das maiores apostas dos investigadores, uma vez que é a opção preferida de muitos doentes com DC, em alternativa à DIG (Aziz *et al.*, 2011).

Nos últimos tempos, têm vindo a ser investigadas vacinas peptídicas que contêm uma mistura de substâncias imunotóxicas, a  $\alpha$ -gliadina, a  $\omega$ -gliadina e a  $\beta$ -hordeína. Este estudo tem sido realizado pela Empresa de Biotecnologia Nexpept Pty e o produto em questão apresenta o nome de NexVax 2. Esta vacina, NexVax2, usa então 3 peptídeos de glúten, cujo principal objetivo é originar uma resposta de tolerância em indivíduos celíacos. Numa análise de fase I, foi demonstrado alguma eficácia, apesar de alguns efeitos secundários inerentes à sua administração, como dores de cabeça e distúrbios gastrointestinais (Gujral *et al.*, 2012; Crespo Perez *et al.*, 2012; Brown *et al.*, 2011). São necessários novos desenvolvimentos para concluir sobre o sucesso desta terapêutica.

### III. Conclusão

A DC continua a ser um tema que levanta inúmeras preocupações na comunidade científica. Dadas as suas características clínicas, é uma doença que nem sempre é diagnosticada, contribuindo para a falta de dados epidemiológicos reais e impossibilitando, desta forma, o devido tratamento e acompanhamento de muitos doentes.

A apresentação clínica da doença é diversa, sendo cada vez menos usual a forma clássica da doença.

O seu diagnóstico deve ser feito com base numa análise complementar de testes serológicos e biopsia intestinal, não podendo ser esquecido que os sinais clínicos da doença são imprescindíveis para o diagnóstico definitivo.

Até aos dias de hoje, a DIG é o único tratamento estabelecido em DCs, o qual apresenta evidências científicas na remissão da doença. Efetivamente, a exclusão do glúten contribui para que haja melhoras significativas, todavia, a privação alimentar colabora para perdas na qualidade de vida do indivíduo.

Felizmente, durante os últimos anos, têm sido feitos esforços no sentido de procurar uma solução alternativa para o tratamento da doença. Apesar de, até ao momento, não haver um tratamento alternativo efetivo, as hipóteses, ensaios e investigações realizadas são sem dúvida um importante passo nesse sentido, proporcionando aos doentes a sensação de que não estão “esquecidos”.

## Bibliografia

*Alvine Pharmaceuticals* [Em linha]. Disponível em: <http://www.alvinepharma.com/press-oct1111/>. [Consultado em: 20/08/2013].

Adams, F. 1856. *The extant works of Aretaeus of Cappodocian*, Londres, Sydenham Society.

Agardh, D. 2007. Antibodies against synthetic deamidated gliadin peptides and tissue transglutaminase for the identification of childhood celiac disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 5, pp. 1276-1281.

Agostoni, C., *et al.* 2008. Complementary feeding: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 46, pp. 99-110.

Akobeng, A. K. e Thomas, A. G. 2008. Systematic review: tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 27, pp. 1044-1052.

Anderson, R. P., *et al.* 2000. In vivo antigen challenge in celiac disease identifies a single transglutaminase-modified peptide as the dominant A-gliadin T-cell epitope. *Nature Medicine*, 6, pp. 337-342.

Antunes, H., *et al.* 2006. [First determination of the prevalence of celiac disease in a Portuguese population]. *Acta Médica Portuguesa*, 19, pp. 115-120.

Aziz, I., *et al.* 2011. Are patients with coeliac disease seeking alternative therapies to a gluten-free diet? *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*, 20, pp. 27-31.

Bai, J. C., *et al.* 2012. World gastroenterology organisation global guidelines on celiac disease. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 47, pp. 121-126.

Barbato, M., *et al.* 2011. The anti-deamidated gliadin peptide antibodies unmask celiac disease in small children with chronic diarrhoea. *Digestive and Liver Disease*, 43, pp. 465-469.

Beaurepaire, C., *et al.* 2009. Interferon-gamma regulation of intestinal epithelial permeability. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 29, pp. 133-144.

Bernardo, D., *et al.* 2008. Higher constitutive IL15R alpha expression and lower IL-15 response threshold in coeliac disease patients. *Clinical & Experimental Immunology*, 154, pp. 64-73.

Bethune, M. T., *et al.* 2009. Interferon-gamma released by gluten-stimulated celiac disease-specific intestinal T cells enhances the transepithelial flux of gluten peptides. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 329, pp. 657-668.

Brown, G. J., *et al.* 2011. A Phase I Study to Determine Safety, Tolerability and Bioactivity of Nexvax2® in HLA DQ2+ Volunteers With Celiac Disease Following a Long-Term, Strict Gluten-Free Diet. *Gastroenterology*, 140, pp. S-437-S-438.

Brown, I., *et al.* 2006. Intraepithelial lymphocytosis in architecturally preserved proximal small intestinal mucosa: an increasing diagnostic problem with a wide differential diagnosis. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 130, pp. 1020-1025.

Cataldo, F., *et al.* 1998. Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in coeliac disease: an Italian multicentre study. Italian Society of Paediatric Gastroenterology and Hepatology (SIGEP) and "Club del Tenue" Working Groups on Coeliac Disease. *Gut*, 42, pp. 362-365.

Catassi, C. e Fasano, A. 2010. Celiac disease diagnosis: simple rules are better than complicated algorithms. *American Journal of Medicine*, 123, pp. 691-693.

Choi, K., *et al.* 2005. Chemistry and biology of dihydroisoxazole derivatives: selective inhibitors of human transglutaminase 2. *Chemistry & Biology*, 12, pp. 469-475.

Ciclitira, P. J. e Ellis, H. J. 1987. Investigation of cereal toxicity in coeliac disease. *Postgraduate Medical Journal*, 63, pp. 767-775.

Ciclitira, P. J., *et al.* 2005. The pathogenesis of coeliac disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 26, pp. 421-458.

Collin, P. 2005. Should adults be screened for celiac disease? What are the benefits and harms of screening? *Gastroenterology*, 128, pp. S104-108.

Crespo Perez, L., *et al.* 2012. Non-dietary therapeutic clinical trials in coeliac disease. *European Journal of Internal Medicine*, 23, pp. 9-14.

Damen, G. M., *et al.* 1994. Catch-up growth in 60 children with celiac disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 19, pp. 394-400.

Di Sabatino, A., *et al.* 2006. Epithelium derived interleukin 15 regulates intraepithelial lymphocyte Th1 cytokine production, cytotoxicity, and survival in coeliac disease. *Gut*, 55, pp. 469-477.

Di Sabatino, A. e Corazza, G. R. 2009. Coeliac disease. *Lancet*, 373, pp. 1480-1493.

Dicke, W. 1950. *Coeliac disease: Investigation of harmful effects of certain types of cereal on patients with coeliac disease*. University of Utrecht.

Dicke, W. K. 1951. Treatment of celiac disease. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*, 95, pp. 124-130.

Dieterich, W., *et al.* 1997. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nature Medicine*, 3, pp. 797-801.

Dieterich, W., *et al.* 1998. Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease. *Gastroenterology*, 115, pp. 1317-1321.

Donnelly, S. C., *et al.* 2011. Pharmacotherapy and management strategies for coeliac disease. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 12, pp. 1731-1744.

Farrell, R. e Kelly, C. 2010. Celiac Disease and Refractory Celiac Disease. In: MARK FELDMAN, L. S. F. E. L. J. B. (ed.) *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology, Diagnosis, Management*. Philadelphia: Elsevier.

Farrell, R. J. e Kelly, C. P. 2002. Celiac sprue. *The New England Journal of Medicine*, 346, pp. 180-188.

Fasano, A. 2012. Novel therapeutic/integrative approaches for celiac disease and dermatitis herpetiformis. *Clinical and Developmental Immunology*, 2012, pp. 959061.

Fasano, A. e Catassi, C. 2001. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology*, 120, pp. 636-651.

Fasano, A., *et al.* 1997. The enterotoxic effect of zonula occludens toxin on rabbit small intestine involves the paracellular pathway. *Gastroenterology*, 112, pp. 839-846.

Feighery, C. 1999. Fortnightly review: coeliac disease. *BMJ*, 319, pp. 236-239.

Feighery, C., *et al.* 1998. Diagnosis of gluten-sensitive enteropathy: is exclusive reliance on histology appropriate? *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 10, pp. 919-925.

Fric, P., *et al.* 2011. Celiac disease, gluten-free diet, and oats. *Nutrition Reviews*, 69, pp. 107-115.

Fulop, V., *et al.* 1998. Prolyl oligopeptidase: an unusual beta-propeller domain regulates proteolysis. *Cell*, 94, pp. 161-170.

Gass, J. e Khosla, C. 2007. Prolyl endopeptidases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64, pp. 345-355.

Gee, S. 1888. On the celiac affection. *St Barth Hosp Rep*, 24, pp. 17-20.

Gege, C., *et al.* 2012. Discovery and evaluation of a non-Zn chelating, selective matrix metalloproteinase 13 (MMP-13) inhibitor for potential intra-articular treatment of osteoarthritis. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55, pp. 709-716.

Gentile, N. M., *et al.* 2012. Autoimmune enteropathy: a review and update of clinical management. *Current Gastroenterology Reports*, 14, pp. 380-385.

Gianfrani, C., *et al.* 2005. Adaptive and innate immune responses in celiac disease. *Immunology Letters*, 99, pp. 141-145.

Gordon, S. R., *et al.* 2012. Computational design of an alpha-gliadin peptidase. *Journal of the American Chemical Society*, 134, pp. 20513-20520.

Green, P. H. e Cellier, C. 2007. Celiac disease. *The New England Journal of Medicine*, 357, pp. 1731-1743.

Gujral, N., *et al.* 2012. Celiac disease: prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. *World Journal of Gastroenterology*, 18, pp. 6036-6059.

Haines, M. L., *et al.* 2008. Systematic review: The evidence base for long-term management of coeliac disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 28, pp. 1042-1066.

Hansel, T. T., *et al.* 2010. The safety and side effects of monoclonal antibodies. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9, pp. 325-338.

Harris, L. A., *et al.* 2012. Celiac disease: clinical, endoscopic, and histopathologic review. *Gastrointestinal Endoscopy*, 76, pp. 625-640.

Hausch, F., *et al.* 2002. Intestinal digestive resistance of immunodominant gliadin peptides. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 283, pp. G996-G1003.

Heredia, P. C., *et al.* 2007. [Adult celiac disease]. *Revista médica de Chile*, 135, pp. 1186-1194.

Heyman, M. e Menard, S. 2009. Pathways of gliadin transport in celiac disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1165, pp. 274-278.

Hoffenberg, E. J. 2005. Should all children be screened for celiac disease? *Gastroenterology*, 128, pp. S98-103.

Hue, S., *et al.* 2004. A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease. *Immunity*, 21, pp. 367-377.

Hurtado, J. G., *et al.* 2008. Tetany caused by chronic diarrhea in a child with celiac disease: A case report. *Cases Journal*, 1, pp. 176.

Husby, S., *et al.* 2012. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 54, pp. 136-160.

Jabri, B., *et al.* 2005. Innate and adaptive immunity: the yin and yang of celiac disease. *Immunological Reviews*, 206, pp. 219-231.

Juse, U., *et al.* 2010. Design of new high-affinity peptide ligands for human leukocyte antigen-DQ2 using a positional scanning peptide library. *Human Immunology*, 71, pp. 475-481.

Kagnoff, M. F. 2006. AGA Institute Medical Position Statement on the Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Gastroenterology*, 131, pp. 1977-1980.

Karpati, S. 2012. Dermatitis herpetiformis. *Clinics in Dermatology*, 30, pp. 56-59.

Kelly, C., *et al.* 2009. Intestinal Permeability of Larazotide Acetate in Celiac Disease: Results of a Phase IIB 6-Week Gluten-Challenge Clinical Trial. *Gastroenterology*, 136, pp. 474.

Kelly, C. P., *et al.* 1991. Mucosal and systemic IgA anti-gliadin antibody in celiac disease. Contrasting patterns of response in serum, saliva, and intestinal secretions. *Digestive Diseases and Sciences*, 36, pp. 743-751.

Kurppa, K., *et al.* 2011. Celiac disease and health-related quality of life. *Expert Review of Gastroenterology and Hepatology*, 5, pp. 83-90.

Lammers, K. M., *et al.* 2008. Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3. *Gastroenterology*, 135, pp. 194-204 e193.

Leffler, D. A., *et al.* 2007. A prospective comparative study of five measures of gluten-free diet adherence in adults with coeliac disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 26, pp. 1227-1235.

Lerner, A. 2010. New therapeutic strategies for celiac disease. *Autoimmunity Reviews*, 9, pp. 144-147.

Lewis, N. R. e Scott, B. B. 2006. Systematic review: the use of serology to exclude or diagnose coeliac disease (a comparison of the endomysial and tissue transglutaminase antibody tests). *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 24, pp. 47-54.

Lidums, I., *et al.* 2011. Capsule endoscopy: a valuable tool in the follow-up of people with celiac disease on a gluten-free diet. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 2, pp. e4.

Lindfors, K., *et al.* 2012. Future treatment strategies for celiac disease. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 16, pp. 665-675.

Maiuri, L., *et al.* 2000. Interleukin 15 mediates epithelial changes in celiac disease. *Gastroenterology*, 119, pp. 996-1006.

Maiuri, L., *et al.* 2003. Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease. *Lancet*, 362, pp. 30-37.

Malamut, G., *et al.* 2010. IL-15 triggers an antiapoptotic pathway in human intraepithelial lymphocytes that is a potential new target in celiac disease-associated

inflammation and lymphomagenesis. *Journal of Clinical Investigation*, 120, pp. 2131-2143.

Marinaro, M., *et al.* 2003. Zonula occludens toxin acts as an adjuvant through different mucosal routes and induces protective immune responses. *Infection and Immunity*, 71, pp. 1897-1902.

Marsh, M. N. 1992. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology*, 102, pp. 330-354.

Marti, T., *et al.* 2005. Prolyl endopeptidase-mediated destruction of T cell epitopes in whole gluten: chemical and immunological characterization. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 312, pp. 19-26.

Matysiak-Budnik, T., *et al.* 2008. Secretory IgA mediates retrotranscytosis of intact gliadin peptides via the transferrin receptor in celiac disease. *The Journal of Experimental Medicine*, 205, pp. 143-154.

McAllister, C. S. e Kagnoff, M. F. 2012. The immunopathogenesis of celiac disease reveals possible therapies beyond the gluten-free diet. *Seminars in Immunopathology*, 34, pp. 581-600.

McCarty, S., *et al.* 2010. Role of the HLA System in the Pathogenesis of Dupuytren's Disease. *Hand (N Y)*, 5, pp. 241-250.

Megiorni, F. e Pizzuti, A. 2012. HLA-DQA1 and HLA-DQB1 in Celiac disease predisposition: practical implications of the HLA molecular typing. *Journal of Biomedical Science*, 19, pp. 88.

Mention, J. J., *et al.* 2003. Interleukin 15: a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in celiac disease. *Gastroenterology*, 125, pp. 730-745.

Meresse, B., *et al.* 2004. Coordinated induction by IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in celiac disease. *Immunity*, 21, pp. 357-366.

Meresse, B., *et al.* 2009. Celiac disease: from oral tolerance to intestinal inflammation, autoimmunity and lymphomagenesis. *Mucosal Immunology*, 2, pp. 8-23.

Molberg, O., *et al.* 1998. Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *Nature Medicine*, 4, pp. 713-717.

Mowat, A. M. 2003. Coeliac disease--a meeting point for genetics, immunology, and protein chemistry. *Lancet*, 361, pp. 1290-1292.

Mustalahti, K., *et al.* 2010. The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Annals of Internal Medicine*, 42, pp. 587-595.

Niveloni, S., *et al.* 2007. Antibodies against synthetic deamidated gliadin peptides as predictors of celiac disease: prospective assessment in an adult population with a high pretest probability of disease. *Clinical Chemistry*, 53, pp. 2186-2192.

Paterson, B. M., *et al.* 2007. The safety, tolerance, pharmacokinetic and pharmacodynamic effects of single doses of AT-1001 in coeliac disease subjects: a proof of concept study. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 26, pp. 757-766.

Paulley, J. W. 1954. Observation on the aetiology of idiopathic steatorrhoea; jejunal and lymph-node biopsies. *British Medical Journal*, 2, pp. 1318-1321.

Pedro, N., *et al.* 2009. Doença Celíaca – revisão de conceitos e novos desenvolvimentos. *Revista Da Sociedade Portuguesa De Medicina Interna*, 16, pp. 62-68.

Pender, S. L., *et al.* 1997. A major role for matrix metalloproteinases in T cell injury in the gut. *Journal of Immunology*, 158, pp. 1582-1590.

Pinier, M., *et al.* 2012. The copolymer P(HEMA-co-SS) binds gluten and reduces immune response in gluten-sensitized mice and human tissues. *Gastroenterology*, 142, pp. 316-325 e311-312.

Pinier, M., *et al.* 2009. Polymeric binders suppress gliadin-induced toxicity in the intestinal epithelium. *Gastroenterology*, 136, pp. 288-298.

Piper, J. L., *et al.* 2004. Effect of prolyl endopeptidase on digestive-resistant gliadin peptides in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 311, pp. 213-219.

Przemioslo, R. T., *et al.* 1995. Histological changes in small bowel mucosa induced by gliadin sensitive T lymphocytes can be blocked by anti-interferon gamma antibody. *Gut*, 36, pp. 874-879.

Pulido, O. M., *et al.* 2009. Introduction of oats in the diet of individuals with celiac disease: a systematic review. *Advances in Food & Nutrition Research*, 57, pp. 235-285.

Pyle, G. G., *et al.* 2005. Effect of pretreatment of food gluten with prolyl endopeptidase on gluten-induced malabsorption in celiac sprue. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 3, pp. 687-694.

Quaglia, G. e Mateos-Nevado, B. 1991. *Ciencia y Tecnología de la Panificación*, Acribia.

Rashtak, S. e Murray, J. A. 2012. Review article: coeliac disease, new approaches to therapy. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 35, pp. 768-781.

Ravikumara, M., *et al.* 2006. The changing clinical presentation of coeliac disease. *Archives of Disease in Childhood*, 91, pp. 969-971.

Reinisch, W., *et al.* 2010. Fontolizumab in moderate to severe Crohn's disease: a phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-dose study. *Inflammatory Bowel Diseases*, 16, pp. 233-242.

Rodrigo-Saez, L., *et al.* 2011. Differences between pediatric and adult celiac disease. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 103, pp. 238-244.

Roma, E., *et al.* 2009. Changing pattern in the clinical presentation of pediatric celiac disease: a 30-year study. *Digestion*, 80, pp. 185-191.

Rostami, K., *et al.* 1999. High prevalence of celiac disease in apparently healthy blood donors suggests a high prevalence of undiagnosed celiac disease in the Dutch population. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 34, pp. 276-279.

Rostom, A., *et al.* 2006. American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology*, 131, pp. 1981-2002.

Roy, P. K., *et al.* 2000. Zollinger-Ellison syndrome. Clinical presentation in 261 patients. *Medicine (Baltimore)*, 79, pp. 379-411.

Rubio-Tapia, A. e Murray, J. A. 2010. Celiac disease. *Current Opinion in Gastroenterology*, 26, pp. 116-122.

Schulzke, J. D., *et al.* 1998. Epithelial tight junction structure in the jejunum of children with acute and treated celiac sprue. *Pediatric Research*, 43, pp. 435-441.

Schuppan, D. 2000. Current concepts of celiac disease pathogenesis. *Gastroenterology*, 119, pp. 234-242.

Schuppan, D., *et al.* 2009. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology*, 137, pp. 1912-1933.

Shah, V. H., *et al.* 2000. All that scallops is not celiac disease. *Gastrointestinal Endoscopy*, 51, pp. 717-720.

Shan, L., *et al.* 2002. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science*, 297, pp. 2275-2279.

Siegel, M. e Khosla, C. 2007. Transglutaminase 2 inhibitors and their therapeutic role in disease states. *Pharmacology & Therapeutics*, 115, pp. 232-245.

Silano, M., *et al.* 2010. Effect of the timing of gluten introduction on the development of celiac disease. *World Journal of Gastroenterology*, 16, pp. 1939-1942.

Sollid, L. M. 2000. Molecular basis of celiac disease. *Annual Review of Immunology*, 18, pp. 53-81.

Sollid, L. M. 2002. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nature Reviews Immunology*, 2, pp. 647-655.

Sollid, L. M. e Khosla, C. 2005. Future therapeutic options for celiac disease. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology*, 2, pp. 140-147.

Sollid, L. M. e Khosla, C. 2011. Novel therapies for coeliac disease. *Journal of Internal Medicine*, 269, pp. 604-613.

Sollid, L. M. e Thorsby, E. 1993. HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. *Gastroenterology*, 105, pp. 910-922.

Stepniak, D. e Koning, F. 2006. Celiac disease--sandwiched between innate and adaptive immunity. *Human Immunology*, 67, pp. 460-468.

Stern, M., *et al.* 2001. Analysis and clinical effects of gluten in coeliac disease. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 13, pp. 741-747.

Sugai, E., *et al.* 2010. Dynamics of celiac disease-specific serology after initiation of a gluten-free diet and use in the assessment of compliance with treatment. *Digestive and Liver Disease*, 42, pp. 352-358.

Sykulev, Y., *et al.* 1996. Evidence that a single peptide-MHC complex on a target cell can elicit a cytolytic T cell response. *Immunity*, 4, pp. 565-571.

Szeltner, Z. e Polgar, L. 2008. Structure, function and biological relevance of prolyl oligopeptidase. *Current Protein & Peptide Science*, 9, pp. 96-107.

Tack, G. J., *et al.* 2010. Can Prolyl Endoprotease Enzyme Treatment Mitigate the Toxic Effect of Gluten in Coeliac Patients? *Gastroenterology*, 138, pp. 54.

Teixeira, P., *et al.* 1996. Enteropatia pelo HIV. *Jornal brasileiro de medicina*, 70, pp. 59-64.

Thompson, C. M., *et al.* 2013. Assessment of the mode of action underlying development of rodent small intestinal tumors following oral exposure to hexavalent chromium and relevance to humans. *Critical Reviews in Toxicology*, 43, pp. 244-274.

Utiyama, S. R., *et al.* 2004. [Genetics and immunopathogenics aspects of the celiac disease: a recent vision]. *Arquivos de Gastroenterologia*, 41, pp. 121-128.

Vader, W., *et al.* 2003. The HLA-DQ2 gene dose effect in celiac disease is directly related to the magnitude and breadth of gluten-specific T cell responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, pp. 12390-12395.

Van De Kamer, J. H., *et al.* 1953. Coeliac disease. IV. An investigation into the injurious constituents of wheat in connection with their action on patients with coeliac disease. *Acta Paediatrica*, 42, pp. 223-231.

Villanacci, V., *et al.* 2011. Coeliac disease: the histology report. *Digestive and Liver Disease*, 43 Suppl 4, pp. S385-395.

Volta, U. e Villanacci, V. 2011. Celiac disease: diagnostic criteria in progress. *Cellular & Molecular Immunology*, 8, pp. 96-102.

Westergaard, H. 2004. Tropical Sprue. *Current Treatment Options in Gastroenterology*, 7, pp. 7-11.

Xia, J., *et al.* 2007. Cyclic and dimeric gluten peptide analogues inhibiting DQ2-mediated antigen presentation in celiac disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15, pp. 6565-6573.

Xia, J., *et al.* 2006. Inhibition of HLA-DQ2-mediated antigen presentation by analogues of a high affinity 33-residue peptide from alpha2-gliadin. *Journal of the American Chemical Society*, 128, pp. 1859-1867.

Yokoyama, S., *et al.* 2009. Antibody-mediated blockade of IL-15 reverses the autoimmune intestinal damage in transgenic mice that overexpress IL-15 in enterocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, pp. 15849-15854.

Zandonadi, R. P., *et al.* 2009. Psyllium as a substitute for gluten in bread. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 109, pp. 1781-1784.