



Diogo Emanuel Silva de Sousa

A PROBLEMÁTICA DO GLÚTEN NA DIETA HUMANA

Monografia orientada pela Professora Doutora Angelina Pena, no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

julho de 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA



Diogo Emanuel Silva de Sousa

A PROBLEMÁTICA DO GLÚTEN NA DIETA HUMANA

Monografia orientada pela Professora Doutora Angelina Pena, no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

julho de 2015

A Orientadora,

(Professora Doutora Angelina Pena)

O Aluno,

(Diogo Emanuel Silva de Sousa)

Eu, Diogo Emanuel Silva de Sousa, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2009010612, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 10 de julho de 2015

O Aluno,

(Diogo Emanuel Silva de Sousa)

AGRADECIMENTOS

Seria impossível chegar a esta etapa da minha vida Académica sem olhar para trás e demonstrar o meu apreço a quem me acompanhou e apoiou incondicionalmente, apesar das diversas alturas em que cada um fez parte do meu crescimento.

Assim, não podia deixar de agradecer encarecidamente à Professora Doutora Angelina Pena, orientadora da monografia, pela dedicação, carinho e amizade que demonstrou não só durante esta fase mas também desde as primeiras aulas lecionadas na Licenciatura em Ciências Bioanalíticas.

A toda a docência da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, gratífico pela paciência e conhecimentos transmitidos durante todo o meu percurso Académico. Graças a vós não só concretizo um sonho, como o faço com grande preparação e ciente de que aplicarei tudo o que aprendi da melhor forma possível.

Sou eternamente grato aos meus Pais e Filipe por terem sempre acreditado em mim e por demonstrarem orgulho; à Camila pela compreensão e apoio nos bons e maus momentos; a toda a minha família por todo o apoio e paciência.

Por fim, um sincero obrigado a todos os colegas e amigos que participaram no meu desenvolvimento e crescimento enquanto profissional de saúde e pessoa. Nomeadamente à Bruna e Sara por terem sido incansáveis e as melhores companheiras nesta viagem; à Phartuna, por ter sido uma verdadeira PHARMÍLIA; à Joana e ao André, pela amizade incondicional e por me terem apoiado quando “tudo parecia perdido”; à Mariana Verga, Jorge e Ricardo, pelo apoio “psicológico” nas horas de estudo.

Quero ainda deixar uma última nota de apreço ao Ti-tó, que eu admiro imenso e que foi incansável e uma pedra angular na fase final desta etapa. Muito obrigado pelo carinho que sempre tiveste!

“É preciso saber separar o trigo do joio.”

Adaptado de Mateus 13:28-30

RESUMO

A problemática do glúten na dieta humana tem sido alvo de grande preocupação devido ao crescente número de casos reportados de alterações fisiológicas provocadas pelo consumo de glúten, tais como a doença celíaca, alergia ao glúten e ataxia com neuropatia periférica relacionada com o glúten. A Doença Celíaca (DC) é uma patologia sistêmica mediada pelo sistema imunitário que é despoletado pelo consumo de glúten em indivíduos geneticamente suscetíveis. De todas as alterações é a que apresenta maior prevalência.

Quando foi inicialmente descrita, era considerada um distúrbio infantil raro, prevalente na Europa e Estados Unidos da América e o diagnóstico limitava-se à detecção de sintomas gastrointestinais e confirmação por biópsia do intestino delgado. No entanto, nos últimos 30 a 40 anos tem-se observado um aumento significativo dos casos reportados em distintas áreas geográficas.

O único tratamento cientificamente registado, até à data, consiste na exclusão de cereais contendo glúten da dieta, isto é, uma Dieta Isenta de Glúten (DIG). Apesar de ser eficaz, este tratamento pode conduzir a uma má nutrição, e à diminuição da qualidade de vida, podendo ainda ocorrer contaminação cruzada nos produtos alimentares.

Consequentemente tem-se observado um interesse crescente na fisiopatologia da Doença Celíaca, no desenvolvimento de novas terapêuticas e na necessidade de regulamentar os produtos alimentares destinados à Dieta Isenta de Glúten.

PALAVRAS CHAVE: Doença Celíaca; Dieta Isenta de Glúten; Glúten; Rotulagem

ABSTRACT

Gluten initiates a wide array of disorders that have been reported in a crescent way, such as celiac disease, wheat allergy and gluten-related ataxia and peripheral neuropathy. Celiac Disease is a systemic immune-mediated disorder triggered by the ingestion of gluten-containing grains in genetically susceptible individuals. Gluten is a protein complex found in wheat, rye and barley. From all the disorders mentioned, celiac disease is the most common.

Historically, Celiac Disease was first described as a rare disorder, most affecting individuals of European and North American origin, and usually characterized by onset during the first years of life. At that time, diagnosis consisted of the detection of typical gastro-intestinal symptoms and confirmation by the small intestinal biopsy. However there have been an increase of new cases worldwide, documented in the last 30-40 years.

The only currently available treatment for Celiac Disease is essentially made by dietary exclusion of grains containing gluten, i.e., a Free-Gluten Diet. Although a non-gluten intake is the ideal treatment, it can lead to nutritional problems, gluten contamination and an impaired quality of life.

Therefore there have been an effort in the discovery of fisiopathological mechanisms, the development of new therapy approaches and the necessity of regulate Free-Gluten Diet products.

KEYWORDS: *Celiac Disease; Free-Gluten Diet; Gluten; Labelling*

ABREVIATURAS

APC	– Associação Portuguesa de Celíacos
CMAA	– Comité de Métodos de Análise e de Amostragem
DC	– Doença Celíaca
DIG	– Dieta Isenta de Gluten
ELISA	– <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
HLA	– <i>Human Leukocyte Antigen</i> (Antigénio Leucocitário Humano)
IFN- γ	– Interferão γ
IgA	– Imunoglobulina A
IgG	– Imunoglobulina G
IL-15	– Interleucina 15
LD	– Limite de Deteção
LIE	– Linfócitos Intraepiteliais
MALDI-TOF	– <i>Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight</i>
NK	– <i>Natural Killers</i>
PCR	– <i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reação Polimerase em cadeia)
PDC	– Produtos Destinados a Celíacos
MM	– Massa Molecular
TNF- α	– <i>Tumor necrosis factor alfa</i> (Fator de Necrose Tumoral)
tTG	– <i>Tissue Transglutaminase</i> (Transglutaminase Tecidual)
WDEIA	– <i>Wheat-dependent exercise induced anaphylaxis</i>

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	4
2. O GLÚTEN: CARACTERIZAÇÃO E DOENÇAS RELACIONADAS	5
3. EPIDEMIOLOGIA	6
4. FISIOPATOLOGIA E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA DOENÇA CELÍACA	7
5. DIAGNÓSTICO DA DOENÇA CELÍACA	11
5.1. Pesquisa Serológica	11
5.2. Tipagem do Antígeno Leucocitário Humano	12
5.3. Biópsia Intestinal	12
6. TRATAMENTO	13
7. NOVAS TERAPIAS E PERSPETIVAS FUTURAS	14
8. LIMITES SEGUROS E MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO	15
9. CONCLUSÃO	18
10. DISCUSSÃO	19
BIBLIOGRAFIA	21
ANEXOS	23
Anexo I - Patogénese da Doença Celíaca	24
Anexo II - Diagnóstico diferencial utilizado pelos patologistas para identificação de doença celíaca	25
Anexo III - Géneros alimentícios que contêm ou podem conter glúten	26
Anexo IV - Procedimento analítico do método de ELISA-R5 utilizado pelo INSA	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Fatores envolvidos na patogénese da Doença Celíaca	7
Figura 2 - Classificação das alterações fisiológicas provocadas pelo glúten	8
Figura 3 - Vilosidades intestinais saudáveis (A) e epitélio com perda total das vilosidades e aberturas nas criptas (B)	9
Figura 4 - Diferenças entre os mecanismos patogénicos da SGNC e a DC	10
Figura 5 - Modelo <i>iceberg</i> da doença celíaca	19

ÍNDICE DE TABELAS E QUADROS

Tabela I - Divisão das proteínas do glúten consoante a massa molecular	5
Tabela II - Dados Epidemiológicos da Doença Celíaca	6
Tabela III - Classificação da doença celíaca	10
Tabela IV - Classificação de Marsh-Oberhuber	13
Tabela V - Métodos de Análise do glúten	17
Tabela VI - Análise de alguns géneros alimentícios	18
Quadro I - Testes serológicos de Diagnóstico de Doença Celíaca	11

I. INTRODUÇÃO

O glúten é descrito como sendo um complexo proteico encontrado em cereais, nomeadamente no trigo (ou seja, todas as espécies *Triticum*), no centeio e na cevada. Este complexo proteico pode prejudicar a saúde de pessoas predispostas geneticamente, as quais devem excluir estes cereais e seus derivados da dieta.

Existe um número crescente de alterações fisiológicas desencadeadas pelo consumo de glúten, no entanto a doença celíaca é a com maior prevalência e para a qual existe um maior número de estudos. Deste modo, é considerada como sendo o problema maior e mais grave relacionado com o glúten na dieta (Catassi *et al.*, 2013).

Os genes envolvidos pertencem à classe II do Complexo Major de Histocompatibilidade e codificam os antígenos de histocompatibilidade leucocitária (HLA) presentes em, pelo menos, 95% dos doentes. À manifestação clínica da intolerância ao glúten dá-se o nome de Doença Celíaca.

A DC é uma das intolerâncias alimentares mais comuns, afetando cerca de 1% da população mundial, na sua maioria indivíduos do sexo feminino (duas vezes mais prevalente que nos indivíduos do sexo masculino).

Sabe-se que o consumo de glúten pelos indivíduos intolerantes pode conduzir à destruição da mucosa intestinal por indução de resposta imunológica. A intolerância pode conduzir ao desenvolvimento de doenças autoimunes, por exacerbação do sistema imunitário e/ou a complicações que podem advir da fraca absorção de nutrientes, nomeadamente ferro e folato por estes serem absorvidos na porção inicial do intestino delgado que é onde ocorre a destruição epitelial.

Sendo uma intolerância alimentar responsável por despoletar uma resposta imune exacerbada, o único tratamento disponível prende-se com a exclusão da substância que causa toxicidade. Neste caso deve haver a exclusão da dieta de géneros alimentícios que constituem ou são produzidos com ingredientes que contenham glúten.

Apesar da preocupação crescente, por parte da indústria alimentar, em preparar géneros alimentícios especiais de modo a irem ao encontro das necessidades dos doentes celíacos é praticamente impossível evitar que haja contaminação cruzada e conseqüentemente ingestão de glúten. Posto isto, surge a necessidade de determinar o teor de glúten inócuo para os celíacos, analisar se o valor do teor indicado nas embalagens respeita o limite e se os alimentos estão rotulados corretamente de modo a evitar ambigüidades e não induzir o consumidor em risco.




2. O GLÚTEN: CARACTERIZAÇÃO E DOENÇAS RELACIONADAS

O termo glúten é utilizado para descrever a fração proteica do trigo, cevada, centeio e aveia, suas variedades cruzadas e derivados, a que algumas pessoas são intolerantes (celíacos) e que é insolúvel em água e numa solução de 0,5 M de cloreto de sódio (*Codex Alimentarius*).

O glúten foi isolado pela primeira vez a partir da farinha, em 1745, pelo italiano Jacopo Becari, numa experiência que consistia em lavar farinha de trigo com água, separando o amido do glúten. Devido às suas características físico-químicas e o baixo custo, o glúten foi rapidamente adotado pela indústria alimentar para a fortificação de farinhas de baixo teor proteico, como substituto proteico da carne e de forma a melhorar as características organolépticas de alguns alimentos (Pité, 2008). É também, largamente utilizado na indústria farmacêutica, no entanto há pouca informação sobre as formulações farmacêuticas isentas de glúten.

As proteínas que constituem o glúten podem ser agrupadas consoante a solubilidade ou massa molecular (MM). Na primeira divisão podemos encontrar as prolaminas, proteínas monoméricas ricas em prolina que são solúveis em soluções alcoólicas e as gluteínas, proteínas poliméricas insolúveis. As prolaminas variam entre espécies de cereais, por exemplo no trigo encontramos a gliadina, no centeio as secalinas e na cevada as hordeninas (Ciclitira *et al.*, 2005). Quanto à massa molecular estão divididas em elevada MM, média MM e baixa MM (Tabela I).

TABELA I | Divisão das proteínas do glúten consoante a massa molecular

Massa molecular	Características
 Elevada	Proteínas agregadas em cadeias com pontes dissulfido pertencentes ao grupo das gluteínas
 Média	Monómeros de ω -gliadina
 Baixa	Engloba grande parte das gliadinas (α , β e γ) e algumas gluteínas

Até ao momento, estudos comprovam que as sequências proteicas com maior toxicidade correspondem ao domínio N-terminal das gliadinas α e β , mais propriamente o aminoácido 33 (33-mer) da α -gliadina. Logo podemos afirmar que as proteínas de Baixa MM são, muito provavelmente, as responsáveis por desencadear a resposta inflamatória típica da DC em indivíduos geneticamente predispostos (Dickson *et al.*, 2006).

3. EPIDEMIOLOGIA

A prevalência da DC é muito variada, mas estudos epidemiológicos demonstram um aumento na taxa de incidência a nível global, afetando entre 0,6% a 1,0% da população mundial.

Até recentemente a DC era tida como sendo uma doença rara, que surgia na infância e que era autóctone dos Europeus, o que justificava o aparecimento em países de migração Europeia como os Estados Unidos da América, o Canadá e a Austrália (Catassi & Fasano, 2008). Segundo a Associação Portuguesa de Celíacos (APC), a incidência da DC em adultos é mais frequente que em crianças e 25% dos novos casos diagnosticados ocorre em indivíduos com mais de 60 anos¹.

Novos estudos epidemiológicos permitem concluir que esta doença é comum noutras partes do globo consideradas, até então, livres da DC, particularmente no Norte de África e no Médio Oriente. Atualmente sabe-se que grande parte da população destes países está subdiagnosticada, uma vez que os métodos de diagnóstico não são tão acessíveis (Fasano & Catassi, 2012).

O aumento do número de casos observado é justificado pela ocidentalização dos hábitos alimentares e das técnicas de processamento e armazenamento dos cereais. Por exemplo, a adoção da dieta mediterrânica nestes países, que levou à introdução de glúten na alimentação de indivíduos que apresentam predisposição genética para a doença e que posteriormente vão desenvolvê-la. Como a prevalência entre gémeos homocigóticos é diferente de 100% (cerca de 75%) podemos concluir que, apesar de grande importância a predisposição genética não é o único mecanismo de ativação da DC (Husby *et al.*, 2012).

Com estes dados, podemos afirmar que a predisposição genética é um fator preponderante para o desenvolvimento da DC mas o fator chave é a ingestão de glúten.

Estudos de *screening* serológico demonstram que apenas uma pequena percentagem de casos foi reconhecida clinicamente, sendo que 90% dos celíacos expressam o haplotipo HLA-DQ2, 5% expressam o HLA-DQ8 e os restantes 5% expressam ambos haplotipos. Foi possível concluir que a taxa de incidência da DC em indivíduos do sexo feminino é cerca do dobro da incidência em indivíduos do sexo masculino e foram ainda apurados os dados apresentados na Tabela II (Catassi & Fasano, 2008).

TABELA II | Dados Epidemiológicos da Doença Celíaca

Percentagens	Objeto de estudo
30%	Indivíduos celíacos são caucasianos
(10 - 15) %	Indivíduos com familiares diretos celíacos
(3 - 16) %	Indivíduos que apresentam <i>Diabetes Mellitus</i> tipo I
5%	Outras doenças autoimunes associadas (por exemplo doença de Sjögren)

¹ In, celíacos.org.pt, site oficial da Associação Portuguesa de Celíacos (APC). Acedido em julho de 2015.

A epidemiologia da doença celíaca é alegoricamente concetualizada pela imagem de um *iceberg* (que veio a dar forma à imagem da capa). O *iceberg* no seu todo corresponde ao número total de casos da DC, diagnosticados ou não, que são induzidos não só por fatores genéticos (haplotipos HLA-DQ₂⁺ e/ou - DQ₈⁺) mas também pelo consumo de cereais que contenham proteínas tóxicas (gliadinas, secalinas e hordeínas) e por autoimunidade despoletada por perda da função barreira da mucosa intestinal (Figura 1).

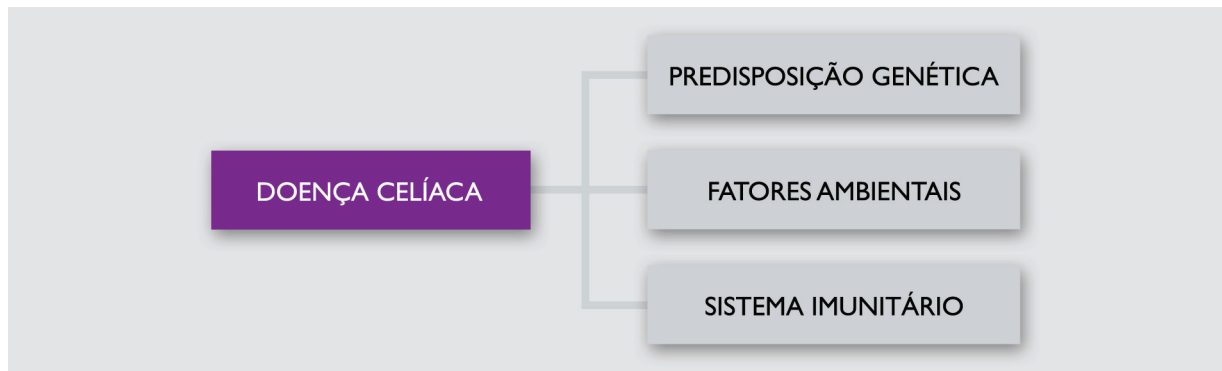


Figura 1 | Fatores envolvidos na patogénese da Doença Celíaca.

Em Portugal, foi efetuado apenas um estudo epidemiológico até ao momento. Este foi desenvolvido na região de Braga, e estima que cerca de 1% a 3% da população portuguesa seja celíaca. No entanto, existem apenas 10.000 celíacos diagnosticados, o que indica que a DC é uma doença largamente subdiagnosticada que merece ser rastreada caso a pessoa apresente sintomatologia típica (Associação Portuguesa de Celíacos).

É importante referir que a sensibilidade ao glúten não celíaca ainda não apresenta dados epidemiológicos relevantes uma vez que o seu descobrimento é relativamente recente (Catassi *et al.*, 2013).

4. FISIOPATOLOGIA E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA DOENÇA CELÍACA

A crescente quantidade de glúten na dieta, com a adoção da dieta mediterrânica a nível global, tem levado ao desenvolvimento de algumas doenças relacionadas com a ingestão destas proteínas (Sapone *et al.*, 2012). Incluídas nestas alterações fisiológicas, encontramos as autoimunes, que apesar de não comprometerem diretamente o estado de saúde afetam a qualidade de vida; as alérgicas onde há uma resposta imunológica que pode desencadear condições que ameaçam a vida do doente e as que não são autoimunes nem alérgicas, consideradas como “sensibilidade ao glúten” (Figura 2) (Czaja-Bulsa, 2014).

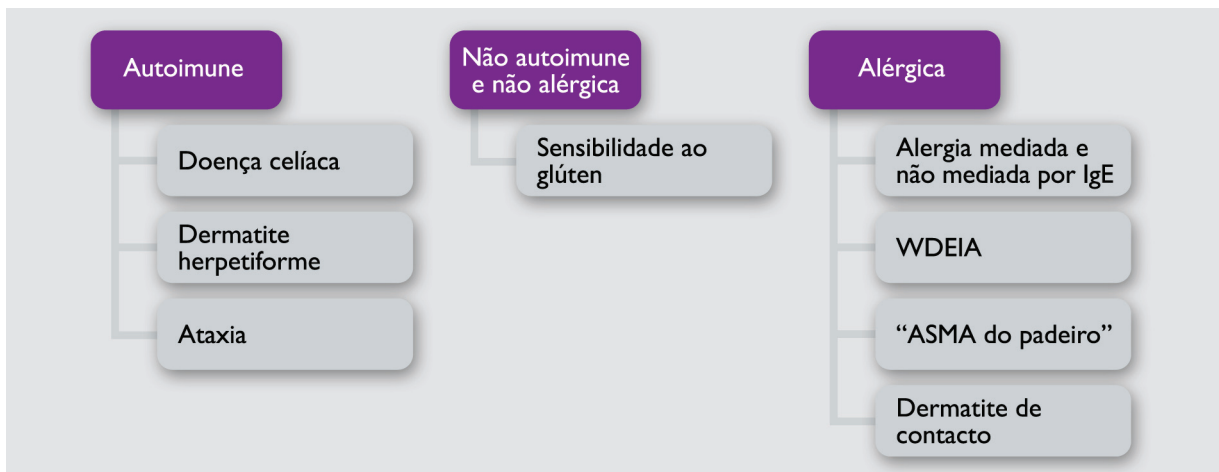


Figura 2 | Classificação das alterações fisiológicas provocadas pelo glúten.

Inicialmente a DC era considerada uma enteropatia, uma vez que os sinais e sintomas reportados eram de ordem intestinal. No entanto, com o avanço da medicina e dos métodos de diagnóstico veio-se a descobrir que, paralelamente aos sinais e sintomas intestinais, havia o aparecimento de anticorpos serológicos do tipo IgA nomeadamente a anti-transglutaminase tecidual e ainda anticorpos antiendomiais e anti gliadina.

Com esta descoberta a DC deixou de ser apenas uma enteropatia e passou a ser reconhecida como um distúrbio sistémico imuno-mediado. Wieser e Koehler descreveram a forte associação entre os alelos de classe II do Antígeno leucocitário Humano tipo DQ₂ e DQ₈ (HLA-DQ₂ e -DQ₈) do Complexo Major de Histocompatibilidade e a predisposição genética para a DC. Deste modo, torna-se crucial referir o quadro genético (Wieser & Koehler, 2008).

O mecanismo patogénico da DC tem início na ingestão do glúten, uma vez que os seus peptídeos não sofrem digestão enzimática completa e chegam ao lúmen do intestino delgado na forma de macromoléculas.

Fisiologicamente o epitélio intestinal é praticamente impermeável a macromoléculas, mas nos doentes celíacos a permeabilidade paracelular, ou seja entre as células, está alterada e a integridade das junções de oclusão (*tight junctions*) está comprometida. Este comprometimento pode ser, inicialmente, despoletado por infeções que alterem a permeabilidade intestinal, por exemplo rotavírus em indivíduos geneticamente predispostos e é depois agravado com a sobreprodução de zonulina e mediadores de inflamação (Stene *et al.*, 2006).

A alteração na permeabilidade do epitélio intestinal leva à passagem de peptídios do glúten do lúmen para a lâmina própria onde vai ser desencadeada a resposta imunológica. Esta resposta consiste na ativação de duas vias imunológicas, a do sistema imunitário adaptativo e a do sistema imunitário inato.

A resposta adaptativa, tem início com a desamidação dos peptídeos do glúten pela transglutaminase tecidual (tTG) levando à formação de epítomos com ação imuno-estimulante e que se vão ligar aos recetores HLA-DQ₂ e HLA-DQ₈ presentes em células apresentadoras de antígenos como as células dendríticas maduras, macrófagos e linfócitos B (Anexo 1).

Estas células vão ativar Linfócitos T CD_4^+ e estimular a produção citocinas Th_1 como o Fator de Necrose Tumoral α (TNF- α) e o Interferão γ (IFN- γ). Estas citocinas vão induzir a libertação e ativação de metaloproteases dos miofibroblastos que vão levar a uma remodelação da mucosa e à atrofia das microvilosidades. Para além das citocinas, os Linfócitos T CD_4^+ vão ainda conduzir à ativação das células NK levando à apoptose dos enterócitos e à ativação de Linfócitos B que migram para o plasma e vão produzir anticorpos IgA e IgG específicos para o glúten. Estes anticorpos são biomarcadores específicos mas não funcionam com precursores da DC (Wieser & Koehler, 2008).

A resposta inata é provocada por alguns peptídeos do glúten que não são reconhecidos pelo sistema imunitário adaptativo mas apresentam toxicidade. Esta toxicidade é traduzida na produção e libertação de citocinas IL-15, por ativação dos enterócitos, que vão estimular os linfócitos T intraepiteliais do intestino delgado a exprimirem recetores membranares de ligação às células epiteliais. Uma vez ligados os linfócitos T intraepiteliais vão contribuir para a destruição tecidual (Figura 3) e aumento da permeabilidade intestinal (Hüe *et al.*, 2004).

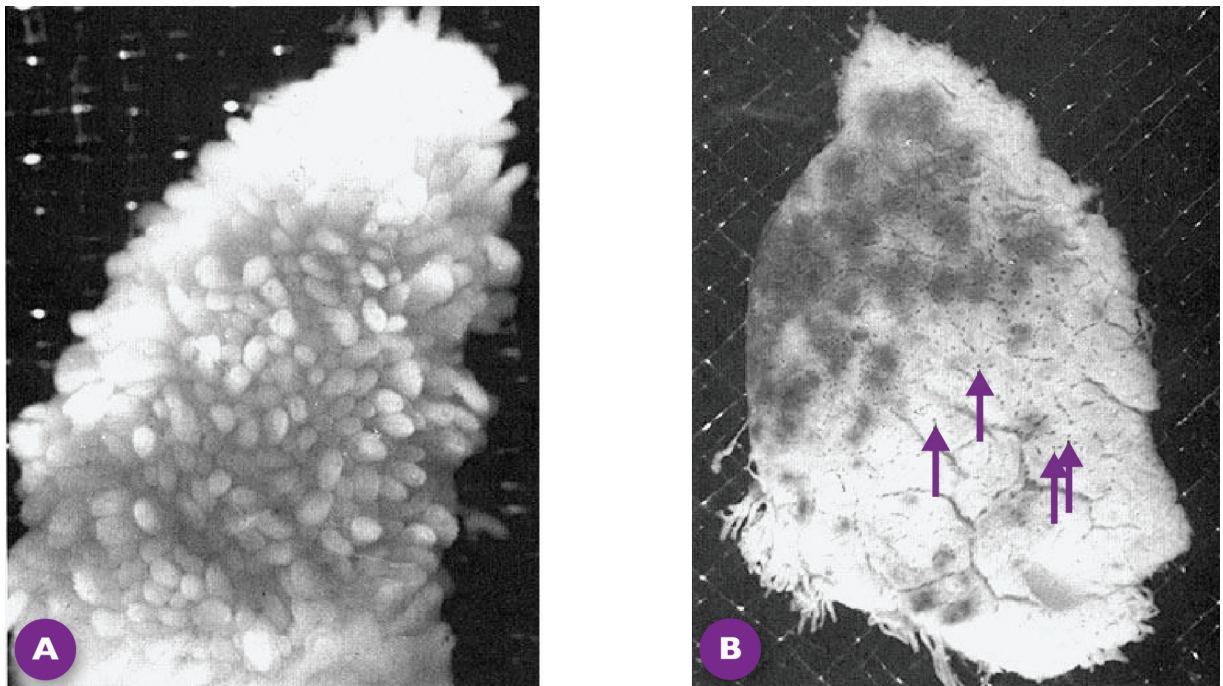


Figura 3 | Vilosidades intestinais saudáveis (A) e epitélio com perda total das vilosidades e aberturas nas criptas (B).
Fonte: adaptado de Pathology of Gastrointestinal Tract, 2nd Ed., 1998, Ed. by Ming and Goldman

A DC pode ser classificada clinicamente consoante as manifestações clínicas em típica, onde predominam sintomas gastrointestinais, ou atípica observa-se a predominância de sintomas extraintestinais, apesar destas variarem de doente para doente (Tabela III).

Muito frequentemente encontramos a DC associada a doenças autoimunes como a *Diabetes Mellitus* tipo I, hepatite autoimune, miastenia gravis, psoríase e Doença de Sjögren ou a doenças do foro genético como os síndromes de Down, Turner e Williams ou deficiência de IgA (Lionetti & Catassi, 2011). Uma das manifestações de maior relevância para o diagnóstico da DC é a dermatite herpetiforme caracterizada pelo aparecimento de erupções papulovesiculares pruriginosas (Ciclitira *et al.*, 2005).

TABELA III | Classificação da doença celíaca

Classificação	Manifestações Clínicas
DC Típica	Diarreia Crónica Distensão Abdominal Anorexia Perda de massa corporal
DC Atípica	Anemia (provocada pela má absorção de folato, ferro e vitamina B ₁₂) Osteopenia / Osteoporose Distúrbios neurológicos Dermatite Herpetiforme

O desenvolvimento dos testes serológicos permitiu reportar novos casos de doença celíaca em indivíduos considerados saudáveis até então por serem assintomáticos. Assim, foi caracterizada uma nova apresentação clínica da doença, a DC silenciosa. Como referido anteriormente, surgem agora dados relativos a alterações fisiológicas provocadas pelo consumo de glúten mas que não estão relacionadas com a doença celíaca.

Esquemáticamente estas alterações, genericamente designadas por sensibilidade ao glúten não celíaca (SGNC), podem ser distinguidas da DC como mostra a Figura 4. A grande diferença prende-se com a permeabilidade intestinal que, ao contrário do que acontece na DC, na SGNC aparece reduzida (Volta *et al.*, 2013).

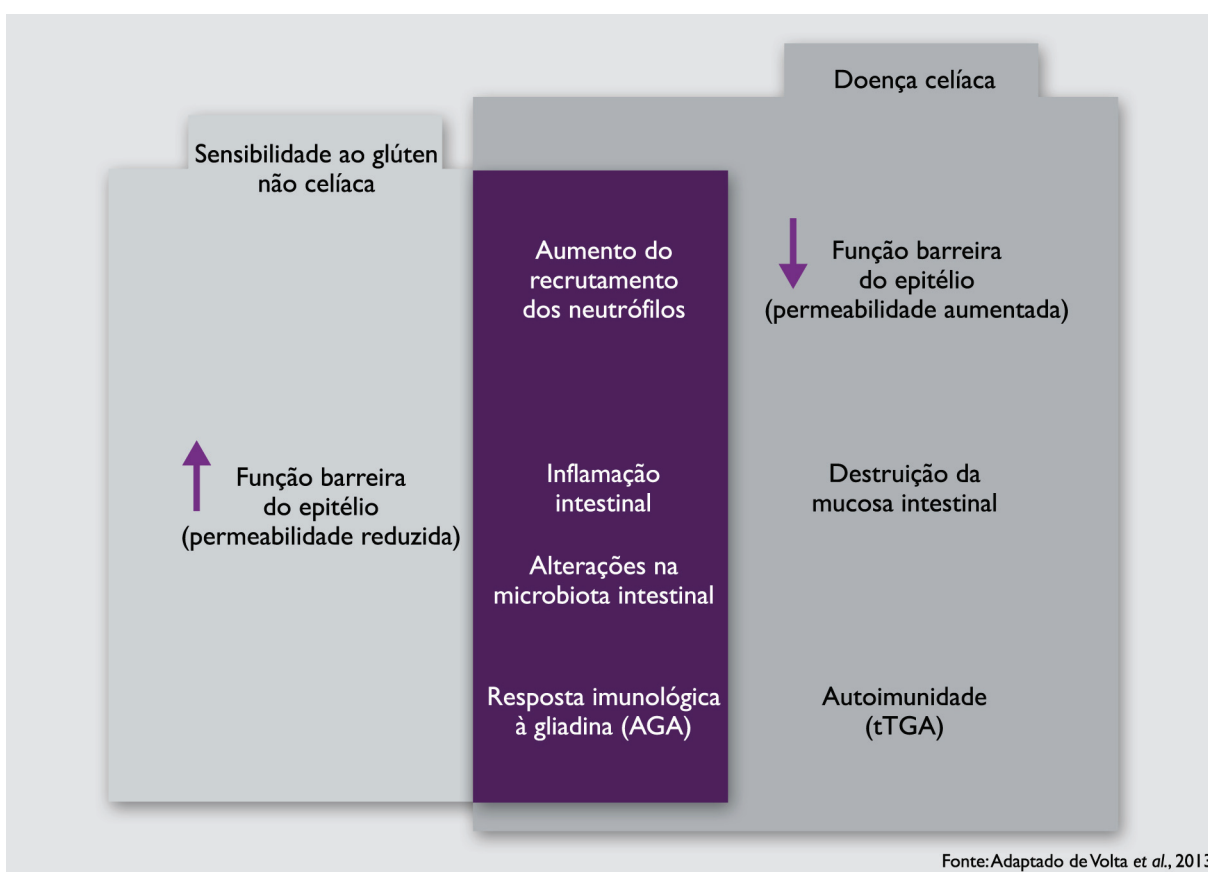


Figura 4 | Diferenças entre os mecanismos patogénicos da SGNC e a DC.

5. DIAGNÓSTICO DA DOENÇA CELÍACA

O diagnóstico da DC é essencial para determinar doentes com sintomatologia gastrointestinal evidente, mas deve ser feito o rastreio em indivíduos com quadros clínicos menos claros e os que estão inseridos em grupos de risco (i.e., indivíduos com familiares diretos celíacos, com predisposição genética, com outra doença autoimune ou que residam em zonas onde o glúten faz parte da dieta base) de modo a iniciarem o tratamento evitando complicações clínicas futuras.

5.1. Pesquisa Serológica

Uma vez que a DC vai ativar a resposta imunológica adaptativa, vai haver a sobreprodução de imunoglobulinas que vão ser utilizadas como Biomarcadores no diagnóstico da doença.

A serotipagem deve ser a primeira abordagem do processo de diagnóstico visto ser uma técnica pouco invasiva e que permite eliminar a hipótese de outra enteropatia. No entanto a sensibilidade e especificidade de cada teste é variada (Quadro I).

QUADRO I | Testes serológicos de Diagnóstico de Doença Celíaca

Ensaio	Sensibilidade (média em %)	Especificidade (média em %)	Comentários
Anticorpos IgA anti-tTG	>95	>95	Recomendado como ensaio de <i>screening</i> teste de 1.ª linha
Anticorpos IgG anti-tTG	12,6 a 99,3	86,3 a 100	Utilizado em casos de deficiência de IgA
Anticorpos IgA Antiendomiais	>90	98,2	Utilizado em doentes com diagnóstico incerto
Anticorpos IgG anti-DGP	>90	>90	Utilizado em casos de deficiência de IgA e crianças

Notas: DGP - *Deamidated Gliadin Peptides* (Peptídeos de gliadina desaminados).
tTG - *Tissue Transglutaminase* (transglutaminase tecidual).

Fonte: Adaptado de Fasano & Catassi, 2012.

No caso de técnicas de pesquisa de IgA, aquando da interpretação dos resultados, deve-se ter em conta o valor serológico total de IgA, a idade, o consumo de glúten e se o doente está sob medicação imunossupressora.

a) IgA anti-transglutaminase tecidual

A pesquisa deste biomarcador deve ser feita numa fase inicial do diagnóstico pela elevada sensibilidade (94%) e especificidade (97%), evitando a utilização de outras técnicas (Zintzaras & Germenis, 2006).

b) IgA endomisiais

As imunoglobulinas do tipo A endomisiais são consideradas como sendo o biomarcador mais específico (cerca de 100%) para a doença celíaca ativa. No entanto, esta é uma técnica cara e que exige a presença de um operador, devendo ser utilizada apenas para confirmação de falsos positivos.

c) IgG

No caso de doentes que sofram de deficiência de anticorpos IgA pode ser feita a pesquisa de IgG anti-transglutaminase tecidular e IgG endomisiais. Com a ressalva de que no caso do primeiro grupo de imunoglobulinas existe uma grande variabilidade na sensibilidade e especificidade.

Como alternativa, pode ser feita a pesquisa de IgG Anti-peptídeos da Gliadina Desaminados por ser um ensaio com maior sensibilidade que os anteriores (Villalta *et al.*, 2010).

5.2. Tipagem do Antígeno Leucocitário Humano

A tipagem do HLA serve de marcador genético permitindo a identificação da doença em indivíduos de grupos de risco. Como o haplotipo HLA-DQ₂ (DQAI*0501/DQBI*0201) é expresso em 90% dos doentes celíacos, o HLA-DQ₈ (DQAI*0301/DQBA*0302) é expresso em 5% e os restantes 5% expressam pelo menos um dos dois genes que codificam o DQ₂ (DQAI*0501 ou o DQBI*0201) é extremamente improvável um indivíduo negativo para um dos haplotipo desenvolver DC.

5.3. Biópsia Intestinal

A biópsia intestinal é considerada como sendo o “elemento de ouro” na determinação da doença celíaca, uma vez que a presença de anticorpos circundantes apoia o diagnóstico mas não é essencial sendo necessária a confirmação histológica. Em contrapartida, um diagnóstico baseado apenas na histopatologia pode levar a conclusões erróneas.

Marsh (1990), veio propor um sistema de classificação das lesões na DC que veio a ser revisto por Oberhuber de modo a facilitar a aplicação do diagnóstico (Oberhuber, 2000). Desta revisão surgiu o sistema de classificação de Marsh-Oberhuber que categoriza quatro tipos de lesão intestinal (Tabela IV). Esta classificação é utilizada atualmente pelos patologistas aquando da análise histológica para o diagnóstico da DC.

A Sociedade Europeia de Gastroenterologia e Hepatologia Pediátrica emitiu *guidelines* que sugerem que a biópsia ao intestino delgado pode não ser exigida no caso de crianças com sintomatologia típica e com o valor de anticorpos anti-transglutaminase intestinal dez vezes superior ao limite natural acoplado à confirmação de predisposição genética.

TABELA IV | Classificação de Marsh-Oberhuber

Nível de lesão	Contagem de LIE ⁽¹⁾	Hiperplasia das criptas	Atrofia das microvilosidades	Conclusões
Tipo 0*	< 30/100	–	–	Identificação serológica (DC silenciosa)
Tipo 1*	> 30/100	–	–	Fase infiltrativa (não específica da DC)
Tipo 2*	> 30/100	+	–	Fase infiltrativa - hiperplástica
Tipo 3 (a)	> 30/100	+	Ligeira	As lesões de tipo 3 foram subcategorizadas de modo a distinguir a gravidade da destruição
Tipo 3 (b)	> 30/100	+	Moderada	
Tipo 3 (c)	> 30/100	+	Total	
Tipo 4**	< 30/100	–	Total	Não há recuperação mesmo iniciada a DIG

* Não permitem concluir que é DC apenas pela biópsia, necessitando de confirmação. No entanto são sugestivas.

** Com a subcategorização das lesões de tipo 3, a classe 4 caiu em desuso.

(1) LIE - Linfócitos intraepiteliais, contagem de 30 LIE por cada 100 células epiteliais.

A título exemplificativo apresenta-se o caso de um indivíduo do sexo feminino, com 22 anos, que apresenta fratura no pulso feita durante um jogo de voleibol. Após radiografia observou-se osteopenia e os testes hematológicos apresentam um hematócrito de 32% e baixos níveis de ferritina e vitamina D. Reporta ainda fadiga, alguns sintomas gastrointestinais e ulcerações intermitentes na cavidade oral sem outros sintomas aparentes. Após aplicação do algoritmo para o diagnóstico diferencial de desordens relacionadas com o glúten (Anexo 2) concluiu-se que a doente padecia de doença celíaca (Fasano & Catassi, 2012).

Outra abordagem ao diagnóstico que pode ser feita é o desafio do glúten, neste os doentes celíacos são sujeitos a uma dieta contendo glúten e são monitorizados de modo a avaliar a sensibilidade ao glúten e perscrutar o aparecimento de sintomas. No entanto esta técnica tem caído em desuso por exigir uma monitorização constante e por desencadear sintomas que podem comprometer a saúde dos doentes.

6. TRATAMENTO

Uma vez que há destruição da mucosa intestinal, os doentes celíacos podem vir a sofrer deficiências nutricionais pela diminuição da absorção. Assim, quando é estabelecido o diagnóstico de DC torna-se imperativo iniciar a exclusão do glúten da dieta, uma vez que este é o elemento chave para o desenvolvimento da doença celíaca em indivíduos com predisposição genética.

Surge assim a definição de Dieta Isenta de Glúten (DIG), na qual os doentes devem excluir alimentos e medicamentos que contenham glúten (Saturni, Ferretti, & Bacchetti, 2010).

Quando aconselhada, a DIG deve ser seguida de forma imediata e rigorosa pelos celíacos, uma vez que alivia a sintomatologia e nalguns casos reverte o processo de destruição da mucosa.

No entanto, a DIG tem algumas limitações a nível nutricional e a adesão total é difícil visto exigir um número elevado de restrições, algumas das quais afetam a qualidade de vida dos doentes. Neste sentido têm sido realizados estudos estatísticos para determinar o impacto da doença e da DIG na qualidade de vida dos indivíduos celíacos (Lee & Newman, 2003).

No Canadá em 2006 (Zarkadas *et al.*, 2006), foi realizado um inquérito que concluiu que as dificuldades em seguir uma DIG prendem-se não só com problemas nutricionais mas também com fatores sociais. Foi concluído que a DIG limita a vida social e familiar dos doentes uma vez que encontram dificuldade em saber quais os alimentos isentos de glúten (85%) e onde os encontrar (83%), evitam viajar (38%) e fazer refeições fora de casa (79%).

Após iniciada a DIG, os doentes devem ser informados dos produtos isentos de glúten disponíveis e devem adaptar a dieta de maneira a compensar a falta de nutrientes como as vitaminas do complexo B e o ferro fornecidas pelos cereais proibidos nesta dieta.

É papel do farmacêutico dar a conhecer aos doentes, quais os alimentos e medicamentos que pode ou não consumir (Anexo 3). Deve ainda aconselhar suplementos alimentares que contenham os nutrientes em falta e encaminhar os doentes a médicos e nutricionistas para estes fazerem um plano nutricional. Nos planos nutricionais especiais para os doentes celíacos devem estar incluídos alimentos como vegetais, comida animal (peixe, aves e carnes vermelhas), frutos, arroz, milho, batata e cereais isentos de glúten.

Para além dos alimentos que contêm glúten, deve haver também a sensibilização dos celíacos para a existência de alguns aditivos alimentares que são derivados de cereais que contêm glúten, como é o caso dos amidos modificados (E-14XX) (Pité, 2008).

Há que salientar que os farmacêuticos e outros profissionais de saúde devem estar cientes da existência de alimentos que poderão, ou não, ser prejudiciais, como é o caso da aveia.

Apesar da aveia ser referida como um dos cereais que apresenta efeitos tóxicos, devem ser feitos estudos mais aprofundados sobre o seu papel no desencadeamento da DC. A problemática da aveia fazer, ou não, parte dos cereais tóxicos surge por esta desencadear reações imunológicas adversas a alguns indivíduos apesar de estar analogamente mais afastada das espécies do trigo e da cevada (Green & Jabri, 2006). Assim sendo, a aveia pode fazer parte da DIG, até porque pode ser benéfica a nível nutricional e organolético, mas deve haver uma monitorização para avaliar o aparecimento de sintomatologia típica da DC.

Podemos assim concluir que apesar da DIG ser segura e eficaz não é a terapia ideal por questões que se prendem com o custo e a disponibilidade dos alimentos. Posto isto, tem havido um esforço contínuo para o desenvolvimento de novas terapêuticas.

7. NOVAS TERAPIAS E PERSPETIVAS FUTURAS

A evolução das ciências biomédicas levou ao melhor conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos da DC e à identificação de potenciais alvos terapêuticos.

Assim, algumas das propostas apresentadas são a criação de espécies geneticamente modificadas de trigo que são desprovidas dos peptídeos tóxicos; a administração oral de endopeptidases bacterianas que vão digerir o 33-mer tóxico da gliadina; alteração na permeabilidade da mucosa utilizando antagonistas da zonulina; inibição enzimática da tTG, impedindo a desamidação dos peptídeos; modulação da inflamação, por inibição das citocinas e imunomodulação por vacinação.

8. LIMITES SEGUROS E MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO

Em 2007, Catassi *et al.* demonstraram, num ensaio clínico double-blind controlado com placebo, que o limite seguro, em casos de exposição prolongada a quantidades residuais de glúten (i.e., contaminações com glúten), é de 50 mg/dia, sendo que os 20 mg/kg indicados pela legislação para alimentos isentos de glúten permitem uma margem segura (Catassi *et al.*, 2007).

Como descrito anteriormente, o único tratamento aceite na doença celíaca é a exclusão de alimentos contendo glúten da dieta. Assim a indústria alimentar desenvolveu uma gama de produtos destinados a uma alimentação especial, apresentados como sendo “isentos de glúten” ou com “teor muito baixo de glúten”.

No entanto e apesar do esforço por parte dos doentes celíacos na aquisição deste tipo de alimentos, manter uma dieta completamente isenta de glúten é difícil uma vez que pode haver contaminação cruzada ou podem surgir dificuldades em determinar se um alimento é, de facto, isento de glúten (EFSA Journal, 2014).

Como referido anteriormente, surge a necessidade de definir as menções “isentos de glúten” e “teor muito baixo de glúten”, de rotular de forma clara e correta e de avaliar o teor em glúten destes alimentos, garantindo que os consumidores não sejam induzidos em erro ou confundidos por informações de carácter divergente sobre a ausência ou a presença reduzida de glúten nos géneros alimentícios (RE 828/2014, de 30 de julho de 2014).

O *Codex Alimentarius* define, os géneros alimentícios isentos de glúten como sendo os que consistem ou são produzidos com ingredientes que não contenham trigo, centeio, cevada, aveia e suas variedades cruzadas, ou que foram especificamente processados de modo a remover o glúten, e que os níveis de glúten não excedam 20 mg/kg no total. São géneros alimentícios com teor muito baixo de glúten os que consistindo em um ou mais ingredientes provenientes dos cereais supracitados, foram especificamente processados para reduzir o teor em glúten para níveis entre os 20 mg/kg e 100 mg/kg no total (*Codex Alimentarius*).

No que toca à rotulagem e publicidade, as menções “teor muito baixo de glúten” e “isento de glúten” devem figurar próximo da denominação de venda do alimento. Sendo que no caso de alimentos “isentos de glúten” a menção só pode ser ostentada se o teor não exceder os 20 mg/kg e se o género alimentício for destinado especificamente a pessoas com intolerância ao glúten (Regulamento n.º 41/2009, de 20 de Janeiro de 2009).

É ainda obrigatória a inclusão, na lista dos ingredientes, de qualquer ingrediente que seja utilizado na produção de um género alimentício e que se mantenha no produto acabado, mesmo sob a forma alterada (Regulamento 1169/2011 de 25 de outubro de 2011).

Sabe-se que a sensibilidade do glúten varia de indivíduo para indivíduo. Em 2008, Akobeng e Thomas fizeram uma análise a vários estudos realizados e concluíram que alguns indivíduos toleram o teor de glúten estipulado pelo *Codex Alimentarius* mas outros desenvolvem sintomatologia com valores inferiores (Akobeng & Thomas, 2008).

Apesar de um alimento não conter glúten ou ser produzido com ingredientes que não contenham glúten, pode haver contaminação cruzada que, a longo prazo, é traduzida em complicações e sintomas em indivíduos sensíveis. Esta contaminação é principalmente causada pela presença de glúten do trigo, centeio e cevada que surge durante a colheita, o transporte, o armazenamento e a transformação de outros cereais. Torna-se assim imperativo quantificar o glúten presente nos géneros alimentícios destinados a pessoas com intolerância ao glúten, de modo a proteger os consumidores com DC da exposição ao glúten (Fiedler et al., 2014).

Uma vez estabelecido o limite de segurança do teor de glúten nos alimentos, com base na evidência científica, é necessário validar os métodos analíticos de determinação quantitativa do glúten em géneros alimentícios e ingredientes.

Por forma a realizar a sua validação, o Comité de Métodos de Análise e de Amostragem (CMAA), do *Codex Alimentarius*, exige que a determinação quantitativa do glúten seja baseada num método imunológico ou outro que providencie igual sensibilidade e especificidade e que o limite de deteção seja menor que 10 mg/kg.

O método de primeira linha para determinação de glúten, reconhecido pelo *Codex Alimentarius* é o ensaio imunoenzimático ELISA – R5, de E. Mendez. Este é um método rápido, de simples implementação, com elevada especificidade e sensibilidade baseado no princípio imunológico de reconhecimento e união de anticorpos às moléculas de antigénio – prolaminas. A validação e calibração do método é feita utilizando a gliadina por ser a fração do glúten responsável pela toxicidade. No entanto a gliadina não é o único alvo dos anticorpos, por isso utilizar apenas o ensaio imunoenzimático pode ser insuficiente (Diaz-Amigo & Popping, 2013).

Consoante o analito vai também variar o tipo de ELISA aplicado. Assim, utilizamos o método ELISA – R5 “sandwich” para a pesquisa e quantificação de prolaminas, nomeadamente a ω -gliadina (por ser a mais termoestável) e o método ELISA – R5 “competitivo” para a deteção de prolaminas da aveia e hidrolisadas em produtos hidrolisados, por exemplo a cerveja.

Como os ensaios imunoenzimáticos apresentam algumas limitações, como por exemplo a sensibilidade para reconhecer frações mais pequenas de proteínas que são degradadas pelo processamento dos alimentos alterando, assim, a composição do glúten, tem havido estudos para desenvolver novas metodologias analíticas para a deteção do glúten, nomeadamente Western blot/SDS-PAGE, PCR (Polimerase Chain Reaction) e espectrometria de massa (MALDI-TOF).

Foi, ainda, desenvolvida uma outra metodologia analítica de identificação e quantificação das proteínas do glúten nos géneros alimentícios, por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de

massa em tandem (LC/MS/MS), que possui uma sensibilidade cerca de cem vezes superior à do método de ELISA-R5². Atualmente estes métodos são utilizados na confirmação dos resultados do ELISA (Tabela V).

TABELA V | Métodos de Análise do glúten

Ensaio	Vantagens	Desvantagens
Western blot / SDS-PAGE	<ul style="list-style-type: none"> – Detecção de proteínas insolúveis – LD* de 10 mg/kg 	<ul style="list-style-type: none"> – Demorado e requer formação /especialização
PCR	<ul style="list-style-type: none"> – Sensibilidade muito elevada – Permite identificar o cereal 	<ul style="list-style-type: none"> – Não deteta proteínas e requer formação/especialização
MALDI-TOF	<ul style="list-style-type: none"> – Rápido e reprodutível – Ideal para a tipificação proteica 	<ul style="list-style-type: none"> – Instrumentação complexa e cara e não quantitativa
LC / MS / MS	<ul style="list-style-type: none"> – LQ** de 10 pg/kg (100x superior ao ELISA) – Deteta glúten mesmo após processamento/cozinhado 	<ul style="list-style-type: none"> – Preço elevado – Exige proteína sintética padronizada

* LD – Limite de Detecção.

** LQ – Limite de Quantificação.

É importante salientar que foi redigido um novo Regulamento de Execução da União Europeia (UE) relativo aos requisitos de prestação de informações aos consumidores sobre a ausência ou presença reduzida de glúten nos géneros alimentícios (RE n.º 828/2014, de 30 de Julho de 2014) que reitera a proibição das menções “isento de glúten” ou “teor muito baixo de glúten” nas fórmulas para lactentes e de transição. Esta alteração foi efetuada devido à imaturidade do trato gastrointestinal dos lactentes, uma vez que não pode ser encontrado qualquer vestígio de glúten nestes géneros alimentícios. Este Regulamento é aplicável a partir de 20 de Julho de 2016, data até à qual as indústrias alimentares e farmacêuticas que produzem este tipo de género alimentício devem retirar as menções.

O Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA), no âmbito da segurança alimentar desenvolveu um estudo de monitorização com o objetivo de avaliar o teor de glúten em 250 alimentos que suscitam dúvidas quanto à presença de glúten. Utilizou-se o método analítico ELISA-R5 conforme estabelecido pelo *Codex Alimentarius* (Anexo 3).

Deste estudo concluiu-se que muitos dos alimentos, nomeadamente farinhas de arroz e milho naturalmente sem glúten, permitidos pela APC parecem estar frequentemente contaminados (Tabela VI) (Pité, 2008).

² In, EFSA Journal 12(11):3894 - 2014, “Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes” – Acedido a julho de 2015.

TABELA VI | Análise de alguns géneros alimentícios

Género alimentício	Número amostras	Relação (contaminados:total)	Valor máximo obtido	N.º alimentos >20 ppm
PDC* (formas infantis)	28	0:28	< LD**	0
Cereais	47	15:47	5000 mg/kg	13
Refeições pré-preparadas	12	1:12	≥ 20 mg/kg	1
Molhos, especiarias e caldos	16	0:16	–	–
Charcutaria	26	1:26	7 mg/kg	0
Confeitaria, sobremesas e gelatina	21	1:21 (gelatina)	11 mg/kg	1
Produtos à base de chocolate	27	2:27	6 mg/kg	0
Gelados	30	2:30	> 20 mg/kg e < 100 mg/kg	2
Outros	43	0:43	< LD	0

* PDC – Produtos Destinados a Celíacos.

** LD – Limite de Detecção.

9. CONCLUSÃO

A problemática do glúten na dieta humana tem sido uma temática de interesse crescente no universo das intolerâncias alimentares.

Apesar da vasta utilização do glúten pelas indústrias alimentares e farmacêuticas, o seu consumo por indivíduos com predisposição genética provoca a doença celíaca. A prevalência desta doença demonstrou ser muito superior à inicialmente estimada, afetando cerca de 1% da população mundial, sendo o surgimento crescente do número de casos justificado pela globalização da dieta mediterrânica.

A DC é geralmente alegorizada pela imagem de um *iceberg* (Figura 5) do qual a parte visível corresponde à DC típica, diagnosticada pelos sinais e sintomas sugestivos e a parte submersa é uma alusão à DC latente, em que há predisposição genética apesar da integridade da mucosa intestinal, e à DC silenciosa que é caracterizada pela ausência de sinais e sintomas sugestivos, apesar das alterações do epitélio intestinal. Esta última condição é a principal causa dos inúmeros casos subdiagnosticados estimando-se que por cada caso diagnosticado existem cinco por diagnosticar.

Uma vez que os indivíduos que não foram diagnosticados mantêm uma dieta normal, a quantidade de glúten presente nos alimentos que é ingerida vai provocar complicações de saúde graves a longo prazo, por exemplo infertilidade, osteoporose ou cancro. Posto isto é impreterível que indivíduos que façam parte de grupos de risco sejam alvo de diagnóstico de modo a melhorarem a qualidade de vida, evitar complicações futuras e consequente minimização dos custos terapêuticos.

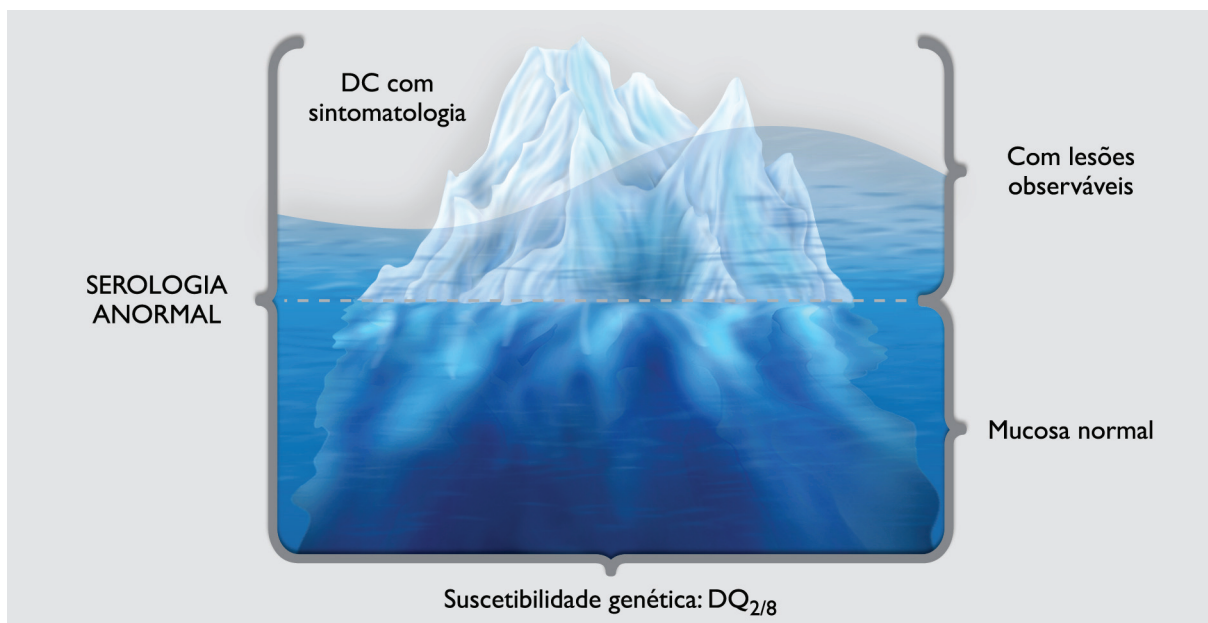


Figura 5 | Modelo *iceberg* da doença celíaca.

Para além do diagnóstico precoce, a saúde e qualidade de vida dos celíacos pode ser melhorada por maior disponibilidade, variedade e qualidade dos géneros alimentícios isentos de glúten que se encontram à venda no mercado, em restaurantes e disponibilizados em instituições públicas como cantinas e hospitais.

O aumento do número de casos reportado levou ao estudo de terapêuticas alternativas, no entanto, até ao momento, a DIG é a única reconhecida como tal, apesar de todas as limitações nutricionais e sociais que apresenta.

Pelo efeito nefasto do glúten na dieta dos doentes celíacos a regulação em torno desta problemática tem sido mais rigorosa, havendo cada vez mais estudos analíticos para avaliar o teor de glúten em géneros alimentícios rotulados como sendo “isentos de glúten” e com “teor muito baixo de glúten”. A rotulagem também tem sido alvo de preocupação de modo a não ser dúbia nem confusa, para não induzir o consumidor em erro.

A 20 de Julho de 2016, entra em vigor nova legislação que proíbe qualquer menção à ausência ou presença de glúten em formas para lactentes e de transição, uma vez que não é permitido estas conterem qualquer vestígio de alergénios.

10. DISCUSSÃO

Fruto do desenvolvimento das ciências biomédicas, os aspetos fundamentais da doença celíaca são já bastante conhecidos. Com o estabelecimento do teor seguro de glúten que os indivíduos com sensibilidade ao glúten podem ingerir foram elaborados Regulamentos que estipulam

o teor máximo de glúten que pode ser encontrado em géneros alimentícios especiais para os doentes celíacos. No entanto e apesar do esforço por parte dos celíacos em manter uma Dieta Isenta de Glúten, podem ser contaminados pelo consumo de medicamentos que utilizem glúten como excipiente ou na sua preparação. Assim, é imperativo haver um maior controlo por parte da indústria farmacêutica de modo a evitar complicações de saúde para estes doentes.

Posto isto, à luz do que foi feito pela *Canadian Celiac Association*, com os alimentos, a indústria farmacêutica deveria disponibilizar uma lista dos medicamentos isentos de glúten.

BIBLIOGRAFIA

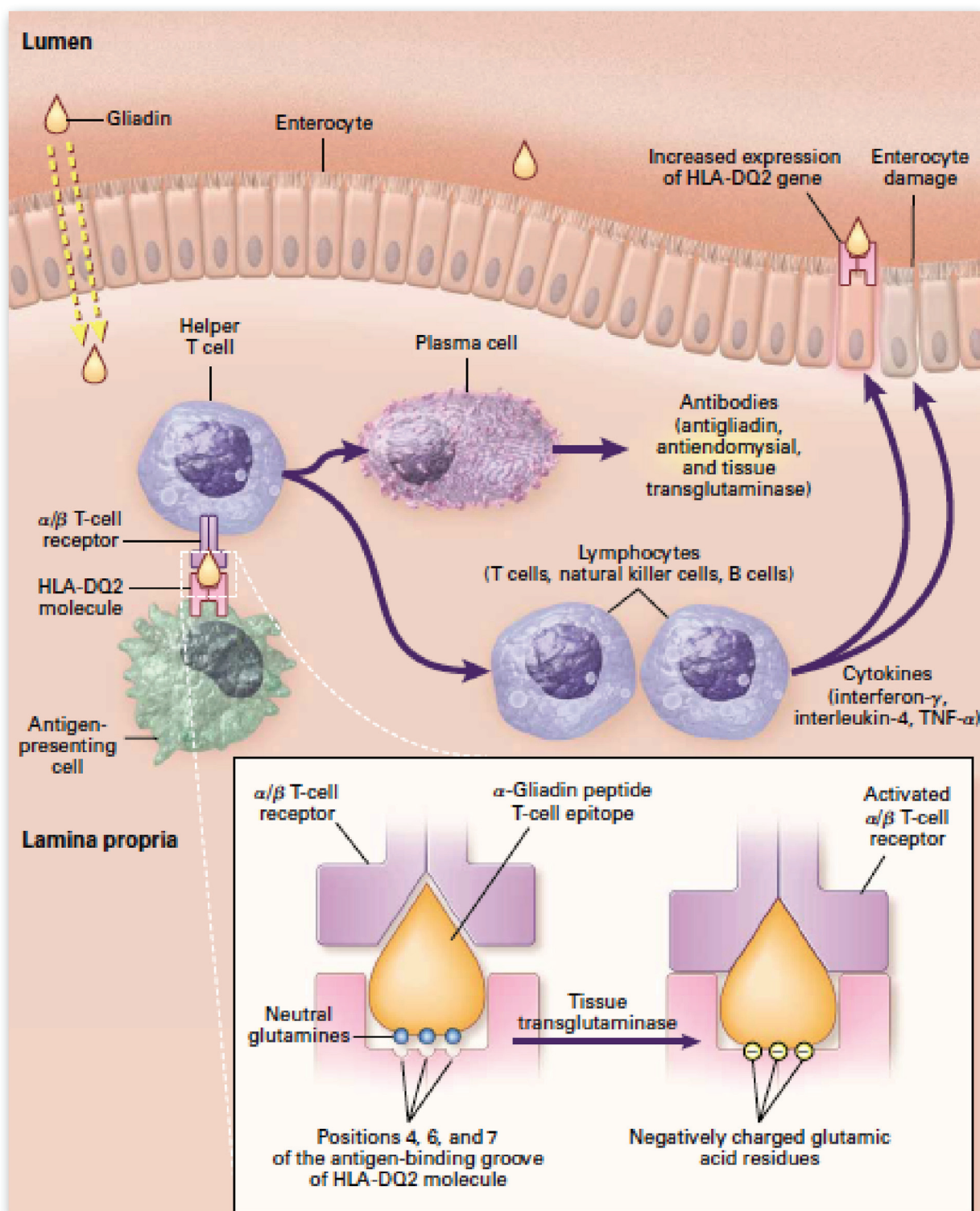
- Akobeng, a. K., & Thomas, a. G. (2008). Systematic review: Tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 27(11), 1044-1052. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2008.03669.x>
- APC – Associação Portuguesa de Celiacos. Acedido em julho de 2015.
- Capili, B., Chang, M., Anastasi, J. K. (2014). Nonceliac Gluten Sensitivity – Is it Really the Gluten? *Journal for Nurse Practitioners*. 10(9):666-673
- Catassi, C., Fabiani, E., Iacono, G., Agate, C. D., Francavilla, R., Biagi, F., Gesuita, R. (2007). A prospective, double-blind, placebo-controlled trial to establish a safe gluten threshold for patients with celiac disease 1 – 3, 160-166. <http://doi.org/85/1/160> [pii]
- Catassi, C., & Fasano, A. (2008). Celiac disease. *Current Opinion in Gastroenterology*, 24(6), 687-691. <http://doi.org/10.1097/MOG.0b013e32830edc1e>
- Catassi, C., Bai, J. C., Bonaz, B., Bouma, G., Calabrò, A., Carroccio, A., Fasano, A. (2013). Non-celiac gluten sensitivity: The new frontier of gluten related disorders. *Nutrients*, 5(10), 3839-3853. <http://doi.org/10.3390/nu5103839>
- Ciclitira, P. J., Ellis, H. J., & Lundin, K. E. a. (2005). Gluten-free diet - What is toxic? *Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology*, 19(3 SPEC. ISS.), 359-371. <http://doi.org/10.1016/j.bpg.2005.01.003>
- Czaja-Bulsa, G. (2014). Non coeliac gluten sensitivity - A new disease with gluten intolerance. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 34(2), 189-194. <http://doi.org/10.1016/j.clnu.2014.08.012>
- Diaz-Amigo, C., & Popping, B. (2013). Accuracy of ELISA detection methods for gluten and reference materials: A realistic assessment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(24), 5681-5688. <http://doi.org/10.1021/jf3046736>
- Dickson, B. C., Streutker, C. J., & Chetty, R. (2006). Coeliac disease: an update for pathologists. *Journal of Clinical Pathology*, 59(10), 1008-1016. <http://doi.org/10.1136/jcp.2005.035345>
- EFSA Journal, 2014, 12(11):3894 -Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes, 12(xx), 1-277. <http://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.NNNN>
- Farrell, Richard J. & Kelly, C. P. (2002). 011702 Celiac Sprue. *English Journal*, 346(3), 180-188
- Fasano, A., & Catassi, C. (2012). Clinical practice. Celiac disease. *The New England Journal of Medicine*, 367(25), 2419-26. <http://doi.org/10.1056/NEJMcp1113994>
- Fiedler, K. L., McGrath, S. C., Callahan, J. H., & Ross, M. M. (2014). Characterization of grain-specific peptide markers for the detection of gluten by mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(25), 5835-5844. <http://doi.org/10.1021/jf500997j>
- Green, P. H. R., & Jabri, B. (2006). Celiac disease. *Annual Review of Medicine*, 57, 207-221. <http://doi.org/10.1146/annurev.med.57.051804.122404>
- Hüe, S., Mention, J. J., Monteiro, R. C., Zhang, S., Cellier, C., Schmitz, J., Caillat-Zucman, S. (2004). A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease. *Immunity*, 21(3), 367-377. <http://doi.org/10.1016/j.immuni.2004.06.018>

- Husby, S., Koletzko, S., Korponay-Szabó, I. R., Mearin, M. L., Phillips, a., Shamir, R., Zimmer, K. P. (2012). European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 54(1), 136-160. <http://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31821a23d0>
- Lee, A., & Newman, J. M. (2003). Celiac diet: Its impact on quality of life. *Journal of the American Dietetic Association*, 103(11), 1533-1535. <http://doi.org/10.1016/j.jada.2003.08.027>
- Lionetti, E., & Catassi, C. (2011). New clues in celiac disease epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, and treatment. *International Reviews of Immunology*, 30(4), 219-231. <http://doi.org/10.3109/08830185.2011.602443>
- Marsh, M. N. (1990). antigen challenge, (i), 111-114.
- Oberhuber, G. (2000). Histopathology of celiac disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomédecine & Pharmacothérapie*, 54(7), 368-72. [http://doi.org/10.1016/S0753-3322\(01\)80003-2](http://doi.org/10.1016/S0753-3322(01)80003-2)
- Pité, M. R. (2008). Glúten: dos conceitos ao trabalho do INSA.
- Sapone, A., Bai, J. C., Ciacci, C., Dolinsek, J., Green, P. H., Hadjivassiliou, M., Fasano, A. (2012). Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC Medicine*, 10(1), 13. <http://doi.org/10.1186/1741-7015-10-13>
- Saturni, L., Ferretti, G., & Bacchetti, T. (2010). The gluten-free diet: Safety and nutritional quality. *Nutrients*, 2(1), 16-34. <http://doi.org/10.3390/nu2010016>
- Stene, L. C., Honeyman, M. C., Hoffenberg, E. J., Haas, J. E., Sokol, R. J., Emery, L., Rewers, M. (2006). Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study. *The American Journal of Gastroenterology*, 101(10), 2333-40. <http://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2006.00741.x>
- Villalta, D., Tonutti, E., Prause, C., Koletzko, S., Uhlig, H. H., Vermeersch, P., Richter, T. (2010). RESULTS: IgG Antibodies against Deamidated Disease in Patients with IgA Deficiency, 468, 464-468.
- Volta, U., Caio, G., Tovoli, F., & De Giorgio, R. (2013). Non-celiac gluten sensitivity: questions still to be answered despite increasing awareness. *Cellular & Molecular Immunology*, 10(5), 383-92. <http://doi.org/10.1038/cmi.2013.28>
- Wieser, H., & Koehler, P. (2008). The Biochemical Basis of Celiac Disease. *Cereal Chemistry Journal*, 85(1), 1-13. <http://doi.org/10.1094/CCHEM-85-1-0001>
- Zarkadas, M., Cranney, a, Case, S., Molloy, M., Switzer, C., Graham, I. D., Burrows, V. (2006). The impact of a gluten-free diet on adults with coeliac disease: results of a national survey. *Journal of Human Nutrition and Dietetics: The Official Journal of the British Dietetic Association*, 19(1), 41-49. <http://doi.org/10.1111/j.1365-277X.2006.00659.x>
- Zintzaras, E., & Gemenis, A. E. (2006). Performance of Antibodies against Tissue Transglutaminase for the Diagnosis of Celiac Disease: Meta-Analysis Performance of Antibodies against Tissue Transglutaminase for the Diagnosis of Celiac Disease: Meta-Analysis, 13(2), 187-192. <http://doi.org/10.1128/CVI.13.2.187>

ANEXOS

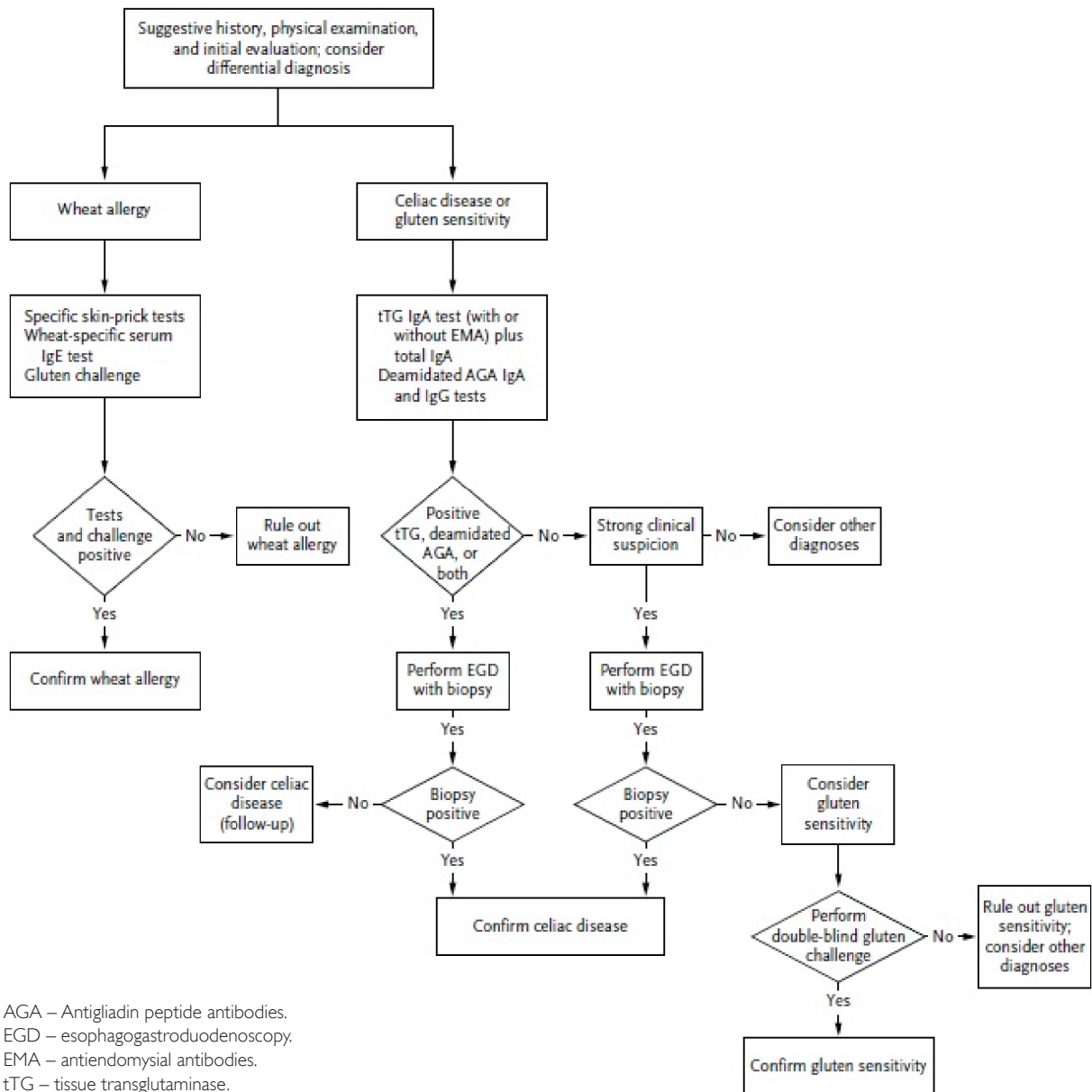


ANEXO I – Patogénese da Doença Celíaca



Adaptado de Farrel & Kelly, 2002.

ANEXO II – Diagnóstico diferencial utilizado pelos patologistas para identificação de doença celíaca



Adaptado de Sapone *et al.*, 2012.

ANEXO III – Géneros alimentícios que contêm ou podem conter glúten

Cereais e derivados

- Trigo (*Durum, Espelta, Kamut, Bulgur*)
- Amido de trigo (?)
- Farinha integral (?)
- Gérmen de trigo
- Seitan - glúten de trigo
- Aveia (?)
- Centeio
- Cevada
- Cuscus
- Farelo
- Massas / Pasta / Lasanha
- Semolina
- Triguilho
- Triticale
- Cereais pequeno almoço(?)
- Pizza comercial
- Malte
- Extrato de Malte
- Amido vegetal (?)
- Extrato proteico vegetal (?)
- Proteína vegetal hidrolisada (?)
- Proteína vegetal texturizada (?)

Batatas ou outros amidos

- Batatas congeladas com farinha de trigo associada
- Batatas fritas de pacote (?)
- Puré de batata (?)

Leite e derivados

- Leites achocolatados (?)
- Leites aromatizados (?)
- Queijos (?)
- Iogurtes (?)

Doces / Sobremesas / Pastelaria

- Compotas (?)
- Puré de castanhas (?)
- Bombons (?)
- Chocolates (?)
- Caramelos (?)
- Pudins (?)
- Gelados (?)
- Bolos
- Biscoitos
- Bolachas
- Tartes
- Gelatinas

Molhos / Óleos / Condimentos

- Maionese
- Ketchup
- Mostarda
- Temperos industrializados
- Molho de soja

Produtos Cárneos

- Conservas / congelados
- Fiambre / presunto / chouriço (?)
- Farinheira / alheira
- Croquetes e rissóis (?)
- Panados
- Charcutaria (?)
- Hamburger tofu (?)
- Patés (?)

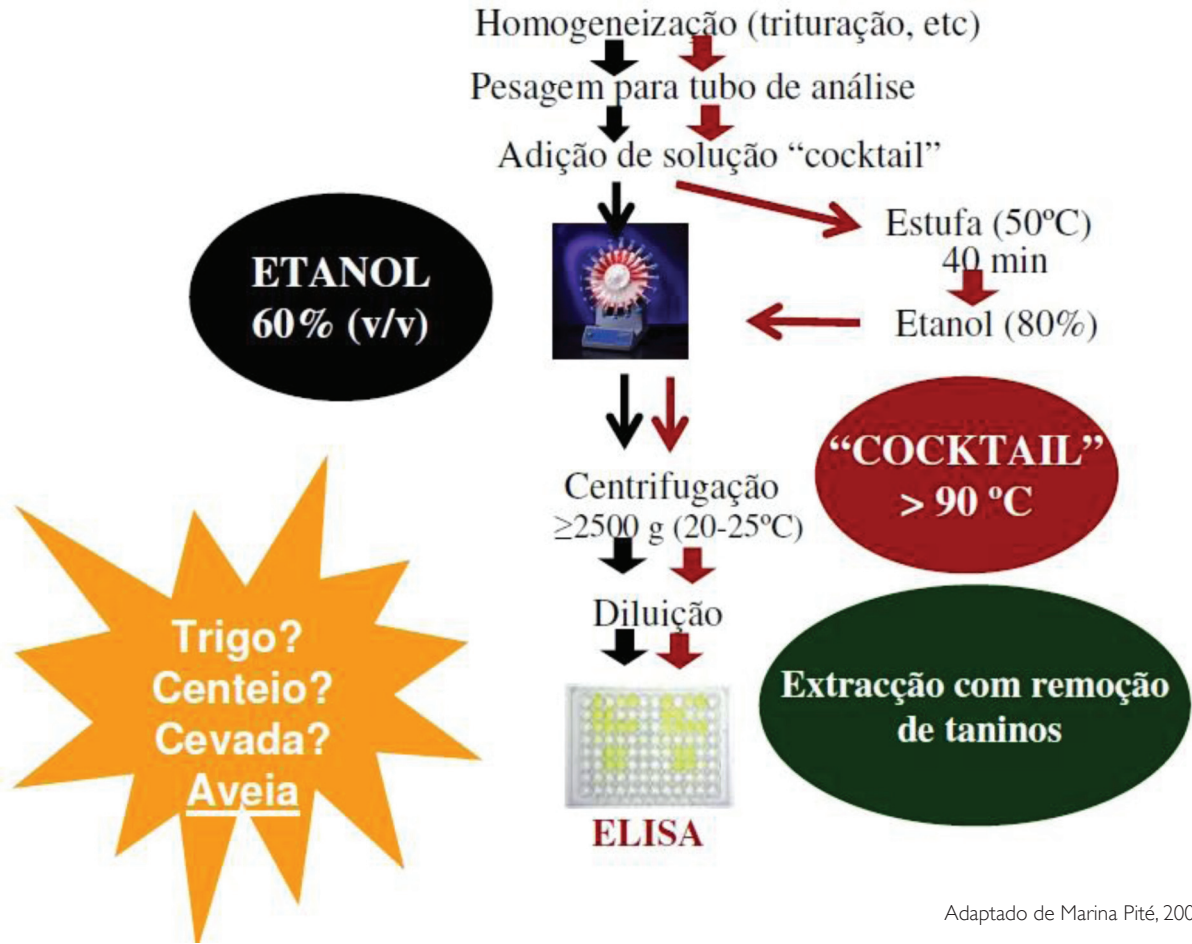
Bebidas

- Cerveja
- Bebidas contendo malte
- Café c/ cevada
- Chás de ervas c/malte / cevada
- Leite aromatizado (?)
- Leite maltado

(?) - produtos que podem conter glúten

Adaptado de Capili et al., 2015.

ANEXO IV – Procedimento analítico do método de ELISA-R5 utilizado pelo INSA



Adaptado de Marina Pité, 2008.