

Pesquisa de marcadores sorológicos para doença celíaca nos doadores de sangue da cidade de Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Search serological markers for celiac disease in blood donors in the city of Ponta Grossa - Paraná – Brazil

BRUNA PIKULSKI DIAS¹, CELSO LUIZ BORGES², CINTIA REGINA MEZZOMO BORGES³, RAFAEL NASTAS ACRAS⁴

RESUMO

A Doença Celíaca é uma patologia autoimune, caracterizada por lesões na mucosa do intestino delgado, em indivíduos geneticamente predispostos, desencadeada pela ingestão de glúten. Além dos fatores genéticos, a presença de fatores ambientais e imunológicos contribui para o desenvolvimento da doença. Portadores desta patologia não podem realizar doação de sangue por esta ser considerada uma doença autoimune. **Objetivos:** Determinar a prevalência do anticorpo antitransglutaminase associado à doença celíaca em candidatos a doadores de sangue. **Método:** O desenho foi descritivo do tipo corte transversal, com a participação de 300 candidatos a doadores de sangue, residentes na cidade de Ponta Grossa, com idade entre 18 e 65 anos. Todos os participantes responderam a um questionário a respeito da presença de diarreia, constipação e dor abdominal nos três meses que antecederam a doação. A dosagem do anticorpo antitransglutaminase tecidual IgA foi realizada em todos os indivíduos pela metodologia ELISA, e àqueles com teste positivo foram convidados a realizar biópsia de intestino delgado por endoscopia digestiva alta. **Resultados:** Em um total de 300 candidatos a doadores de sangue foram encontrados três casos positivos, com confirmação em triplicata do teste de antitransglutaminase IgA. **Conclusão:** A pesquisa precoce de doença celíaca é uma questão de prevenção na Saúde Pública, visto que casos não diagnosticados tendem a evoluir para complicações graves, o que gerariam custos elevados e desnecessários ao sistema público e privado de saúde.

Unitermos: Doença Celíaca, Antitransglutaminase, Diagnóstico Precoce.

SUMMARY

Celiac disease is an autoimmune disease characterized by lesions on the small intestine mucosa in genetically predisposed individuals, triggered by gluten ingestion. Besides genetic factors, presence of environmental and immunological factors contribute to the development of the disease. Patients with this condition cannot donate blood, as this is considered an autoimmune disease. **Objectives:** Establish prevalence of antitransglutaminase associated with celiac disease in prospective blood donors. **Methods:** The design was cross-sectional descriptive involving 300 prospective blood donors resident in the city of Ponta Grossa, aged between 18 and 65 years. All participants answered a questionnaire about the presence of diarrhea, constipation and abdominal pain within three months previous to donation. The dosage of IgA tissue transglutaminase antibody was performed in all subjects by ELISA methodology, and those testing positive were invited to perform small intestine biopsies by endoscopy. **Results:** In a total of 300 prospective blood donors, there were three (3) positive cases with confirmation in triplicate test of transglutaminase IgA. **Conclusions:** Early celiac disease scanning is a matter of prevention in Public Health, as undiagnosed cases tend to progress to serious complications that generate high and unnecessary costs to the public and private health systems.

Keywords: Celiac Disease, Transglutaminase, Early Diagnosis.

1. Acadêmica do Curso de Farmácia da Universidade Estadual de Ponta Grossa - PR. **2.** Professor Mestre na Área de Imunologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa - PR. **3.** Professora Mestre na Área de Imunologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa - PR. **4.** Médico especialista na Área de Gastroenterologia e Endoscopia Digestiva. **Endereço para correspondência:** Bruna Pikulski Dias - Rua Luiz Gama, 13 - 2º andar - CEP 84040-250 - Ponta Grossa - Paraná/ **e-mail:** bruna_dias91@hotmail.com. **Recebido em:** 16/11/2013. **Aprovado em:** 17/02/2014.

INTRODUÇÃO

A Doença Celíaca é uma patologia autoimune caracterizada por lesões na mucosa do intestino delgado, em indivíduos geneticamente predispostos, desencadeada pela ingestão de glúten (proteína encontrada em cereais que estimula a resposta imunomediada por células T no intestino)^{1,2}. Além dos fatores genéticos, os fatores ambientais e imunológicos contribuem para o aparecimento da doença^{3,4}.

Um dos ramos da patofisiologia da doença sugere que algumas porções específicas do glúten não são totalmente digeridas pelas enzimas presentes na mucosa intestinal, conferindo toxicidade aos enterócitos e uma superexpressão de IL-15. Estas porções tóxicas são transportadas como polipeptídeos e servem de substrato para a transglutaminase, autoantígeno envolvido no processo lesional.

Após a desaminação, há a formação de neoepítomos que se ligam com as moléculas HLA-DQ2 e HLA-DQ8 presentes na lâmina própria, juntamente com células apresentadoras de antígenos. Os linfócitos CD4 reconhecem os peptídeos modificados e desencadeiam respostas Th1/Th2 mediadas por citocinas, provocando as lesões características. Nesse processo, observa-se a presença aumentada de linfócitos intraepiteliais que correspondem a uma inflamação não fisiológica avançada^{5,6,7}.

A Doença Celíaca é classificada em quatro tipos, conforme a sua apresentação: forma clássica, não clássica, assintomática e latente, que variam conforme a idade e o tipo de sintomas gastrointestinais^{8,9,10}.

Os casos de Doença Celíaca podem ser comparados a um iceberg: a porção visível seria os casos sintomáticos e diagnosticados precocemente, e a porção submersa consistiria nos casos assintomáticos e com diagnóstico tardio. Essa comparação é alarmante, em termos de saúde pública, visto que a Doença Celíaca, caso não diagnosticada precocemente, pode levar a sérias complicações, como adenocarcinoma de intestino delgado, linfoma e carcinoma de esôfago e faringe³.

O diagnóstico é baseado na tríade: anamnese, teste sorológico e biópsia intestinal. Os testes sorológicos são úteis para triagem populacional de indivíduos assintomáticos e acompanhamento do controle da evolução da doença após a introdução da dieta^{2,11}.

O anticorpo antitransglutaminase tecidual (TTG) da classe IgA tem sido amplamente utilizado para diagnóstico por ter sensibilidade e especificidade semelhantes ao antiendomísio. Sua vantagem se firma na técnica ELISA ser simplificada e possuir fácil execução, além de ser um método quantitativo e

operador-independente^{2,11,12,13}. Estudos de soroprevalência em populações doadoras de sangue foram realizados em São Paulo, Ribeirão Preto e Brasília, e demonstraram uma frequência de aparecimento de 0,5 a 1%, quase se equiparando às estatísticas dos países europeus^{14,15}.

MÉTODOS

O estudo foi descritivo do tipo transversal e a seleção da amostra populacional doadora de sangue foi realizada no mês de abril do ano de 2013, por meio de questionários aplicados contendo questões sobre a presença de diarreia, constipação e dor abdominal nos últimos três meses antes da doação, em candidatos doadores no Hemonúcleo de Ponta Grossa (pesquisa registrada no CEP 13613213.5.0000.0105).

Foram obtidas amostras de cinco mL de sangue total de cada candidato, posteriormente centrifugadas e os soros armazenados a -20°C até a realização dos testes por meio da pesquisa quantitativa do anticorpo antitransglutaminase tecidual IgA pela metodologia de ELISA em amostras de soro. Os kits de testes são provenientes da fabricante Orgentec Diagnostika com o registro no Ministério da Saúde sobre número 80213250032 e lote 540A30507.

Os ensaios procedem com a incubação das amostras diluídas nos poços revestidos com antígeno antitransglutaminase tecidual humano. A determinação é baseada numa reação imunoenzimática indireta associada à enzima com as seguintes fases: os supostos anticorpos presentes nas amostras reagem com os antígenos que revestem a superfície do poço, formando um complexo antígeno-anticorpo.

Após a lavagem, adiciona-se o conjugado (um anticorpo anti-IgA humana conjugado com peroxidase), ligando-se ao anticorpo da amostra para a formação de um complexo antígeno-anticorpo-conjugado.

Após a segunda lavagem, adiciona-se uma solução de substrato da enzima, que promove o desenvolvimento de uma coloração azul. A adição de um ácido para a reação e a intensidade da coloração amarela é proporcional à concentração do complexo antígeno-anticorpo, sendo medida fotometricamente a 450 nm.

RESULTADOS

Em um total de 300 candidatos a doadores de sangue, foram encontrados três casos positivos, com confirmação em triplicata do teste de antitransglutaminase IgA, considerando como positivo o valor superior a 10 U/mL (conforme recomendado

pelo fabricante) - figura 1. Destes três casos, dois pertencem ao sexo masculino e um ao sexo feminino, todos com idade acima de 30 anos e sem o relato de sintomas clássicos associados à Doença Celíaca. Em relação à raça, um é pertencente à negra e os outros à branca.

Figura 1: Concordância sorológica nos casos positivos.



DISCUSSÃO

O rastreamento populacional realizado neste estudo confirma a teoria já descrita que compara a Doença Celíaca com um “iceberg”, revelando que os pacientes detectados como positivos pertencem à base deste “iceberg” por não terem relatado no questionário proposto a presença de sintomas (constipação, diarreia e dor abdominal) que pudessem indicar a possível presença da Doença Celíaca.

Essa ausência de sintomas sugere que a doença pode estar cada vez mais silenciosa e susceptível aos gatilhos para o seu início, como a queda abrupta do sistema imune ou alguma alteração ambiental, combinados a fatores genéticos predisponentes.

Ocorre uma notória inversão na predominância de casos relacionados ao sexo que são registrados na literatura, sendo conhecidos normalmente na proporção 2:1 (mulheres: homens). Este fato traz à luz a possibilidade de novas proporções de surgimento da doença, independentemente de sexo e raça, que era abrangente em caucasianos e, devido à miscigenação, passa a ser detectada em outras raças.

A legislação de banco de sangue vigente preconiza a sorologia para pesquisa de anticorpos para sífilis, Doença de Chagas, Hepatites B e C, HIV e HTLV I/II.¹⁷ Segundo estudos realizados, a proporção de soropositividade para casos de HTLV I/II é de 0,4 a 1%, variando em relação à região do país, com predomínio de altas taxas na região Nordeste.¹⁸ Em relação aos casos de Doença de Chagas que, em seu auge na década de 60, apresentava casos de 4%, agora possuem predomínio de 0,2% em doadores de sangue¹⁹.

Estudos anteriormente executados em relação à pesquisa do anticorpo antitransglutaminase IgA em banco de sangue relacionam a presença de 0,5 a 1% de casos positivos. Ressalta-se que pacientes com deficiência de imunoglobulina A podem apresentar um resultado falso-negativo, o que leva a considerar a realização concomitante dos dois testes para uma aproximação real de resultados^{2,20}.

Com isso, seria de notória importância que as autoridades competentes reavaliassem as sorologias realizadas e pudessem acrescentar esta e, ao mesmo tempo, este estudo mostrou a proporção de 1% de celíacos candidatos a doadores de sangue. Este quadro acende a questão da relevância da pesquisa subdiagnóstica e a adoção de medidas preventivas para a detecção da doença.

Conclui-se que a pesquisa precoce de Doença Celíaca é uma questão de prevenção na Saúde Pública, visto que casos não diagnosticados tendem a evoluir para complicações graves, o que gerariam custos elevados e desnecessários ao sistema público e privado de saúde.

REFERÊNCIAS

1. Troncone R, Bhatnagar S, Butzner D, Cameron D, Hill I, Hoffenberg E, Maki M, Mendez V, *et al*. Celiac disease and other immunologically mediated disorders of gastrointestinal tract: working group report of the second world congress of pediatric gastroenterology, hepatology and nutrition. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2004;39(Suppl. 2):S601-10.
2. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 307, de 17 de setembro de 2009. (Republicada em 26.05.10). Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Doença Celíaca. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. 2009 set. 17; Seção 1. p. 79-81.
3. Sdepanian VL, Morais MB, Fagundes-Neto U. Doença celíaca: a evolução dos conhecimentos desde sua centenária descrição original até os dias atuais. *Arq Gastroenterol*. 1999; 36(4):244-57.
4. Campos JVM, Kotze LMS. Doença celíaca (espru celíaco, enteropatia glúten-sensível). *Arq Gastroenterol* 1980; 17: 176-80.
5. Meresse B, Chen Z, Ciszewski C, *et al*. Coordinated induction by IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in celiac disease. *Immunity*. 2004;21:357-366.
6. Dieterich W, Esslinger B, Schuppan D. Pathomechanisms in celiac disease. *Int Arch Allergy Immunol*. 2003;132(2):98-108.
7. Molberg O, Uhlen AK, Jensen T, Flaete NS, Fleckenstein B, Arentz-Hansen H, *et al*. Mapping of gluten T-cell epitopes in the bread

- wheat ancestors: implications for celiac disease. *Gastroenterology*. 2005;128:393-401.
8. Polanco I. Enfermedad celíaca. *Pediatría Integral*, 1(2):124, 1995.
 9. Kotze LMS. Doença celíaca, Coeliac disease. *J Bras Gastroenterol*. 2006; 6,(1): 23-4.
 10. Polanco I. Enfermedad celiaca. In: Argüelles F & Polanco I. *Manual de Gastroenterología Pediátrica*. Granada: Copartgraf; 1996. p.261-8.
 11. Brasnki D, Tronccone R. Celiac disease: a reappraisal. *J Pediatr*. 1998, 133:181-7.
 12. Dieterich W, Laag E, Schopper H. Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease. *Gastroenterology* 1998;115:1317-21
 13. Bonamico M, Nenna R, Luparia RP, Perricone C, Montuori M, Lucantoni F, *et al*. Radioimmunological detection of anti-transglutaminase autoantibodies in human saliva: a useful test to monitor celiac disease follow-up. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;28(3):364-70.
 14. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, *et al*. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med*. 1997;3:797-801.
 15. Gandolfi L, Pratesi R, Cordoba JCM, Tauil PC, Gasparin M, Catassi C. Prevalence of celiac disease among blood donors in Brazil. *Am J Gastroenterol*. 2000; 95: 689-92
 16. Neri E, Not T, Horvath K, Kryszak D, Drago S, Di Pierro MR, *et al*. Human tissue transglutaminase ELISA and an old study: a revision of the blood donor screening study for coeliac disease in the USA. *Scand J Gastroenterol*. 2004; 39 (2): 195-7.
 17. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 1353 de 13 de junho de 2011. Regulamento Técnico de Procedimentos Hemoterápicos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. 2011 jun. 14; Seção 1, p. 79.
 18. Soares BC, Proietti ABC, Proietti FA. Heterogeneous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-I/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil. *Cad Saúde Pública*, 2005; 21: 926-931.
 19. Schmunis GA. *Trypanosoma cruzi*. The etiologic agent of Chagas' disease: status in the blood supply in the endemic and non endemic countries. *Transfusion* 1991; 31:547-557.
 20. Cataldo F, Marino V, Ventura A, Bottaro G, Corazza GR. Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in coeliac disease: an Italian multicentre study. *Gut*. 1998;42(3):362-65