



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR**

KÁTIA SOARES DE OLIVEIRA

**FREQUENCIA DE ALELOS HLA-D2, DQ7 e DQ8 EM PACIENTES COM
SINDROME DE DOWN, TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA E GRUPO
CONTROLE**

Belém-PA

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

**FREQUENCIA DE ALELOS HLA-D2, DQ7 e DQ8 EM PACIENTES COM
SÍNDROME DE DOWN, TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA E GRUPO
CONTROLE**

KÁTIA SOARES DE OLIVEIRA

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Genética e Biologia Molecular.

Área de concentração: Genética

Orientador: Prof. Dr. Rommel Mario Rodriguez Burbano.

Belém-PA
Outubro/2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O48f Oliveira, Katia Soares de.
frequencia de alelos HLA-D2, DQ7 e DQ8 em pacientes com
Síndrome de Down, Transtorno do Espectro Autista e grupo
controle / Katia Soares de Oliveira. — 2022.
59 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Rommel Mario Rodriguez Burbano
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de
Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Genética e
Biologia Molecular, Belém, 2022.

1. Doença celíaca. 2. Síndrome de Down. 3. transtorno do
Espectro Autista. 4. HLA . 5. criança. I. Título.

CDD 599.935

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, a quem devo tudo que tenho e sou.

Aos meus familiares que sempre me deram forças para concluir essa jornada.

A Profa. Dr^a Dilma Costa de Oliveira Neves pelas valiosas sugestões técnico científicas.

Ao Prof. Dr. Rommel M. Rodrigues Burbano, pela orientação, paciência e estímulo constante na realização deste trabalho.

“Até aqui nos ajudou o Senhor.”

(I Samuel 7:12)

“Que darei eu ao Senhor,
por todos os benefícios
que me tem feito?”

(Salmos 116:12)

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	10
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	10
1.2 HISTÓRICO.....	10
1.3 CONCEITO E EPIDEMIOLOGIA.....	11
1.4 FISIOPATOGENIA.....	12
1.5 APRESENTAÇÃO CLÍNICA.....	16
1.6 DIAGNÓSTICO.....	18
1.7 TRATAMENTO.....	19
1.8. DOENÇA CELÍACA E O COMPLEXO MAIOR DE HISTOCOMPATIBILIDADE	19
1.9 DOENÇA CELÍACA E SÍNDROME DE DOWN.....	24
1.10 DOENÇA CELÍACA E TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA (TEA).....	27
2.OBJETIVOS.....	34
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	35
3.1 TIPO DE PESQUISA.....	35
3.2 LOCAL E DURAÇÃO DA PESQUISA.....	35
3.3 POPULAÇÃO.....	35
3.4 AMOSTRA DO ESTUDO.....	35
3.5 COLETA DE DADOS.....	36
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
4 RESULTADOS	38
5 DISCUSSÃO.....	41
6 CONCLUSÃO.....	46
REFERENCIAS.....	47
ANEXOS.....	56
APÊNDICES.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS

APC: células apresentadoras de antígenos (APC, do inglês *antigen presenting cells*)

CD: Células dendríticas

CDC: Center for Disease Control and Prevention

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa

CONEP: Comitê Nacional de Ética em Pesquisa

DC: Doença celíaca

DSM: Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais

DNA: Ácido desoxirribonucléico

ESPGHAN: European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition

HLA: antígenos leucocitários humanos (HLA, do inglês *human leukocyte antigen*)

IgA: Imunoglobulina A

IL: Interleucina

ICB: Instituto de Ciências Biológicas

IFN: interferon

MHC: Complexo Maior de Histocompatibilidade

OMS: Organização Mundial de Saúde

PCR: Reação em cadeia de polimerase

RNA: Ácido ribonucléico

SBP: Sociedade Brasileira de Pediatria

SD: Síndrome de Down

TGT: Transglutaminase

TEA: Transtorno do Espectro Autista

UFPA: Universidade Federal do Pará

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Patogenese da doença celíaca.....	14
Figura 2- Iceberg celíaco: Formas da doença celíaca	17
Figura 3- Representação esquemática do HLA no cromossomo humano 6.....	20
Figura 4- Risco para DC associado aos genótipos HLA-DQ.....	24

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Frequência dos alelos de HLA-DQ predisponentes para doença celíaca nos três grupos estudados.....	38
TABELA 2- Frequência dos genótipos HLA -DQ2 e/ou DQ8 e outros genótipos HLA nos três grupos estudados.....	38
TABELA 3- Frequência dos genótipos de HLA-DQ predisponentes para doença celíaca nos três grupos estudados.....	39
TABELA 4- Distribuição dos genótipos HLA-DQ conforme a estratificação de risco para doença celíaca nos três grupos estudados.	40

RESUMO

Introdução: A doença celíaca (DC) é uma enteropatia imune-mediada, causada pela ingestão de glúten em pacientes geneticamente susceptíveis. A prevalência global da DC é estimada em 1 %, acomete mais pacientes do sexo feminino e tem maior prevalência na população de alto risco. Sua patogênese resulta da interação de fatores genéticos, ambientais e imunes. Virtualmente, todos os pacientes são portadores de alelos HLA-DQ2 ou DQ-8 e a presença de genótipos HLA específicos definem diferentes riscos para incidência da doença. A DC possui amplo espectro de sintomas e condições associadas, dentre elas a síndrome de Down (SD) e o transtorno do espectro autista (TEA), sendo este último, ainda alvo de estudo, uma vez que sua ligação com a DC não pode ser comprovada.

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi determinar a frequência de alelos HLA predisponentes para DC (DQ2 e DQ8) em pacientes com TEA, SD e grupo controle em Belém-PA.

Material e Método: Estudo descritivo, do tipo transversal. Foram analisadas amostras de sangue de 265 crianças e adolescentes através da técnica de PCR para pesquisa do HLA-DQ2, HLA-DQ8 e HLA-DQ7. Os pacientes foram alocados em três grupos: grupo controle (118 pacientes saudáveis), grupo de pacientes com TEA (57 pacientes) e grupo de pacientes com SD (90 pacientes).

Resultados: O alelo de risco mais encontrado foi o DQ2.2, com maior frequência no grupo de SD, seguido do grupo com TEA. O DQ7 foi mais frequente entre no grupo controle, com 51,7% de positividade. O DQ-8 foi o alelo de risco menos encontrado nos três grupos estudados. Os pacientes com TEA e SD apresentaram frequência de genótipos de risco para DC mais elevada que o grupo controle, contudo essa diferença foi significativa apenas para o grupo com SD ($p = 0,0256$). Na classificação de risco, a maioria do grupo controle (44,9%) e do grupo de SD (33,3%) foi classificada como de baixo risco para DC, enquanto no grupo de TEA (24,7%), a maioria ficou no grupo de risco moderado para a doença celíaca.

Conclusão: Não houve diferença na frequência dos alelos HLA-DQ de risco para DC entre pacientes com autismo e população geral. Os pacientes com SD apresentaram maior frequência de HLA de risco para DC do que a população geral.

Palavras-chave: doença celíaca, síndrome de Down, transtorno do espectro autista, HLA e criança.

ABSTRACT

Introduction: Celiac disease (CD) is an immune-mediated enteropathy triggered by intake of gluten in genetically susceptible individuals. The global prevalence of CD is estimated to be 1%, it affects more female patients and has a higher prevalence in the high-risk population. Its pathogenesis results from the interaction of genetic, environmental and immune factors. Virtually all patients are carriers of HLA-DQ2 or DQ-8 alleles and the presence of specific HLA genotypes define different risks for disease incidence. CD has a wide spectrum of symptoms and associated conditions, including Down Syndrome (DS) and Autism Spectrum Disorder (ASD), the latter being still the subject of study, since its connection with CD cannot be proven. **Objective:** The objective of this study was to determine the frequency of predisposing HLA alleles for CD (DQ2 and DQ8) in patients with ASD, SD and in the general population in Belém-PA. **Material and Method:** Descriptive, cross-sectional study Blood samples from 265 children and adolescents were analyzed using the PCR technique to search for HLA-DQ2, HLA-DQ8 and HLA-DQ7. Patients were allocated into three groups: control group (118 healthy patients), ASD patients group (57 patients) and DS patients group (90 patients). **Results:** The most frequent risk allele was DQ2.2, with higher prevalence in the DS group, followed by the ASD group. DQ7 was more prevalent in the control group, with 51.7% positivity. The HLA-DQ8 was the least risk allele found in the three groups studied. Patients with ASD and DS present a higher frequency of CD risk genotypes than the control group, but this difference was significant only for the DS group ($p = 0.0256$). In the risk classification, the majority of the control group (44.9%) and the DS group (33.3%) were classified as low risk for CD, while in the ASD group (24.7%), the majority was in the moderate risk group for celiac disease. **Conclusion:** There was no difference in the prevalence of CD risk HLA-DQ alleles between patients with autism and the general population. Patients with DS have a higher frequency of risk HLA for CD than the general.

Key words: celiac disease, down syndrome, autism spectrum disorders, human leucocyte antigen and children.

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A doença celíaca (DC) é uma enteropatia imune-mediada, causada pela ingestão de glúten em pacientes geneticamente susceptíveis. Diferentes fatores de risco tem sido identificados, mas virtualmente todos os pacientes tem alelos de genes codificadores para antígenos leucocitários humanos (HLA, do inglês *human leukocyte antigen*), mais especificamente portadores de alelos HLA-DQ2 ou DQ-8 (SALLESE *et al.*, 2020). Genótipos HLA específicos definem diferentes riscos para incidência de doença celíaca. A presença de genótipos HLA-DQ susceptível não prediz certamente DC, mas sua ausência tem alto valor preditivo negativo para DC (ZHU; MULDER; DIELEMAN, 2019), uma vez que eles são necessários, mas não suficientes para o desenvolvimento da doença. A frequência dos genótipos HLA de risco para DC na população geral é de aproximadamente 25-30%, entretanto, apenas 3% desses indivíduos desenvolve a doença (CAIO *et al.*, 2019).

1.2 HISTÓRICO

Descobertas arqueológicas evidenciaram que o cultivo de trigo data de aproximadamente 10 mil anos, na região do Crescente Fértil, e a partir daí, com o desenvolvimento da agricultura, a doença celíaca pode ter se desenvolvido como entidade específica (FREEMAN, 2015). A primeira descrição da doença celíaca ocorreu no século 1 depois de Cristo, por Aretaeus, um médico grego da Capadócia (BASTOS, 2016).

Entretanto, a primeira descrição clínica moderna da DC, ocorreu em 1888, pelo médico Samuel Gee, que trabalhava em um Hospital Infantil em Londres, quando observou que a doença podia acometer diversas faixas etárias e que a cura estava relacionada a dieta, porém a correlação com o glúten era desconhecida (FREEMAN, 2015).

O trabalho do Pediatra Willem-Karel Dicke, em 1940 estabeleceu um componente do trigo, que mais tarde mostrou ser o glúten, como o fator ambiental desencadeador do DC e que sua retirada da dieta levava a melhora do quadro (HARDY; TYE-DIN, 2016).

Na década de 1950, com o desenvolvimento de métodos de biópsia intestinal peroral, foi possível observar as lesões de mucosa intestinal consequentes a DC (POPP; MAKI, 2019). O primeiro biomarcador sorológico para DC surgiu na década de 60, com a descoberta do anticorpo anti-gliadina, o qual permaneceu como estratégia diagnóstica para

a doença até 1990, a partir daí outros anticorpos foram descobertos e se tornaram testes padrões para o diagnóstico da DC (SINGH *et al*, 2019).

Apesar do grande número de estudos sobre DC, ainda não dispomos de um tratamento que altere sua história natural e ainda temos várias questões sem respostas (BUITEN, 2021).

1.3 CONCEITO E EPIDEMIOLOGIA

A DC é uma enteropatia imune-mediada, desencadeada pela ingestão de glúten em pessoas geneticamente predispostos. O glúten é uma mistura proteica de prolaminas e gluteínas presentes no trigo, centeio e cevada (SALLESE *et al*, 2020). A DC é uma das mais comuns doenças autoimunes e também uma das mais frequentes doenças genéticas (PARZANESE *et al*, 2017; CAIO *et al*, 2019). Já foi considerada quase exclusivamente encontrada na Europa, no entanto, atualmente, é considerada uma doença de distribuição global, sendo encontrada na Europa, América do Norte e Sul, Ásia, Oceania e África, mas com prevalência variável nas diversas regiões do mundo, sendo incomum no Sudeste Asiático e África Sub-saariana (TARAGHIKHAH *et al*, 2020; TYE-DIN; GALIPEAU & AGARDH, 2018).

A DC tem prevalência global estimada em 1 %, acomete mais pacientes do sexo feminino e tem maior prevalência na população de alto risco. Com relação à idade, a doença possui dois picos, o primeiro ocorre nos primeiros dois anos de vida e o segundo, na segunda ou terceira década de vida, entretanto 70% dos novos casos são diagnosticados antes dos 20 anos de idade (SAHIN, 2021; SINGH *et al*, 2017; WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION GLOBAL GUIDELINES, 2016). Na Europa, temos regiões como a Bulgária com prevalência de 2.65% mas, também temos regiões com baixa prevalência como a Croácia, com 0,19% (WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION GLOBAL GUIDELINES, 2016). Em estudo de Gatti *et al* (2020), foi observado prevalência de 1,5% da doença em crianças na região de Ancona e Verona-Itália. Na região das Américas, a prevalência de DC varia de 1:67 a 1:1000 (WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION GLOBAL GUIDELINES, 2016). Estudos no Brasil, tem mostrado resultados variáveis, com prevalência de 1:119 a 1:417 na população geral (ALMEIDA *et al*, 2018).

1.4 FISIOPATOGENIA

A patogênese da DC não é bem compreendida, mas sabe-se que ocorre como resultado da interação de fatores genéticos, ambientais e imunes (PARZANESE, I et al, 2017).

Muitos genes envolvidos com a doença tem sido identificados e o papel principal recai sobre os genes do sistema HLA, mais especificamente ao HLA-DQ. Quase 95% dos pacientes apresentam uma variante do heterodímero DQ2 e os demais pacientes apresentam DQ8 (SCIURTI *et al*, 2018; SALLESE *et al*, 2020; TARAGHIKHAH *et al*, 2020). A presença do HLA predisponente é considerada uma condição necessária para o desenvolvimento da DC, porém não suficiente, uma vez que 30 a 40% da população geral apresenta os HLA de risco e no máximo 3% destes desenvolve a doença (SALLESE *et al*, 2020).

O consumo de glúten é o fator ambiental decisivo para o início da DC. O termo glúten compreende um grupo de proteínas presentes no trigo, centeio e cevada (WIESER; KOEHLER; SCHERF, 2020). É composto heterogeneamente por aproximadamente 40 proteínas altamente homologas, classificadas nas subunidades gluteninas e prolaminas. As gluteninas são ricas em cisteínas, enquanto as prolaminas são ricas em prolina e glutamina. As prolaminas se diferenciam conforme seu peso molecular e também pelo conteúdo sulfúrico (BUITEN; ELIAS, 2021). O nome da prolamina varia conforme o cereal, sendo gliadina, no trigo, secalina e hordeína, no centeio e cevada, respectivamente (WEI *et al*, 2020). A maioria dos estudos sugerem que todas essas proteínas, gliadina, secalina e hordeína são relevantes para a doença (WIESER; KOEHLER; SCHERF, 2020).

As gliadinas correspondem a maior fração proteica do trigo e podem ser classificadas em fração α , β , γ e ω -gliadina. Todas essas formas abrigam peptídeos estimuladores de células T. No entanto, os peptídeos derivados das formas alfa e gama-gliadina são os mais fortes ativadores de células T e altamente relacionadas ao desenvolvimento da DC (WEI *et al*, 2020).

Alimentos à base de trigo constituem a maior fonte de macro e micronutrientes e energia para a população mundial, especialmente em países em desenvolvimento. Diversos benefícios à saúde, tem sido demonstrado, além de seu uso em produtos não alimentares. Contudo, reações adversas imunomediadas em indivíduos predispostos, podem ocorrer, sendo a DC, a mais comum (WIESER; KOEHLER; SCHERF, 2020).

O glúten, devido sua composição específica de aminoácidos ricos em prolina e glutamina, além de alto percentual de aminoácidos hidrofóbicos, não é completamente

degradado pelas enzimas digestivas do trato gastrointestinal. Como resultado dessa digestão parcial, temos a formação de peptídeos que podem desencadear resposta inflamatória no hospedeiro (CAIO *et al*, 2019).

Outros fatores ambientais potencialmente associados a DC, tem sido identificados, como o uso de inibidores de bomba de prótons, a condição socioeconômica e infecções. Estudos mostram que dez ou mais infecções do trato respiratório ou gastrointestinal até os 18 meses de idade, aumentam o risco de desenvolver DC. Infecções gastrointestinais aumentam em 33% o risco de doenças autoimunes de uma maneira geral (TYE-DIN; GALIPEAU; AGARDH, 2018).

A imunidade inata tem um papel crítico para iniciar a DC, e citocinas como interleucina (IL)-15 e interferon alfa podem preparar a resposta imune inata polarizando células dendríticas e função linfocitária epitelial. A IL-15 tem múltiplas ações incluindo pró-inflamatória nas células T CD4+ e CD8+, regulação da resposta de células Th e perda da tolerância oral, além de causar lesão tecidual através da interação com promotores de citólise NKG2D (ZHU; MULDER; DIELEMAN, 2019; PARZANESE *et al*, 2019).

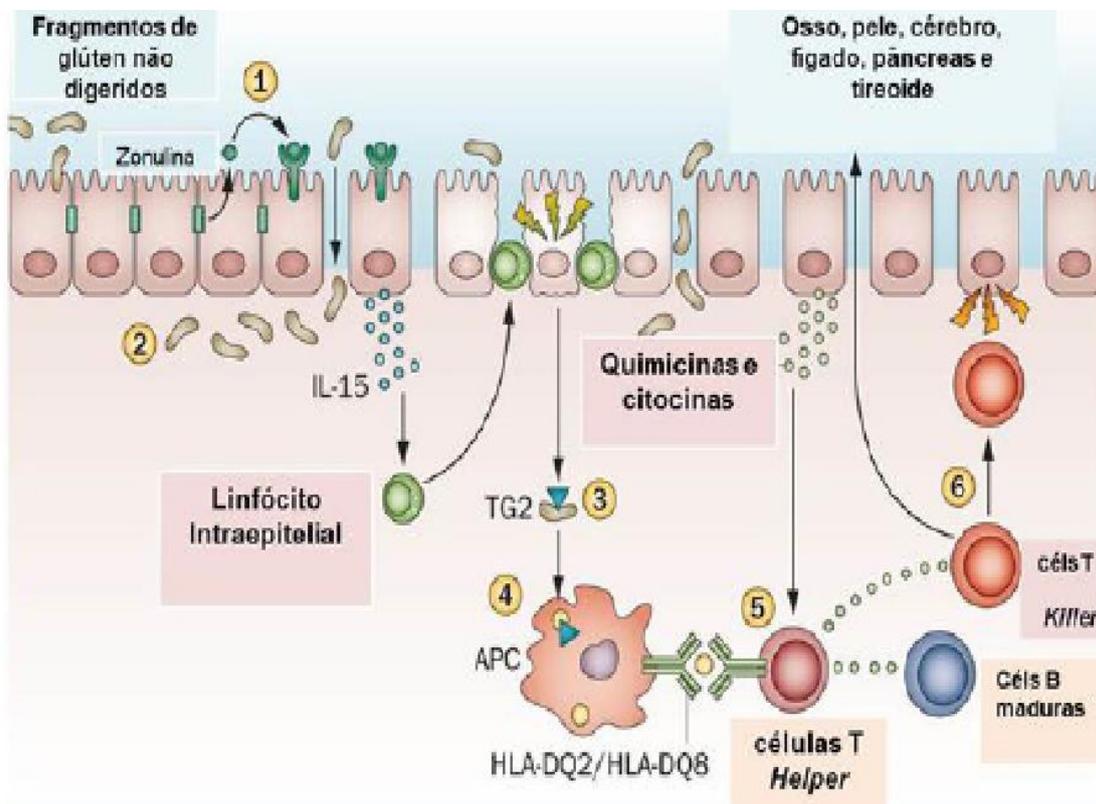
Os peptídeos não digeridos do glúten, principalmente a gliadina, aumentam a permeabilidade intestinal pela ativação de zonulinas nos enterócitos. As zonulinas modulam a permeabilidade das junções de oclusão intestinal via *up-regulation* ou *down-regulation*. Os peptídeos atravessam a borda em escova via mecanismos transcelulares e paracelulares causando estimulação de linfócitos T localizados na lamina própria (PARZANESE *et al*, 2017; ZHU; MULDER; DIELEMAN, 2019; BUITEN; ELIAS, 2021).

Ao atravessar o epitélio intestinal, a gliadina sofre deamidação pela transglutaminase tecidual. A deamidação é um evento crucial na conversão dos peptídeos de glúten pobremente imunogênicos para peptídeos altamente imunogênicos para células T CD4+, o que é feito através da conversão de resíduos de glutamina para glutamato, aumentando a afinidade dos peptídeos de gliadina aos dímeros HLA-DQ2 e DQ8 (TYE-DIN *et al*, 2018). A figura 1 demonstra os principais aspectos da fisiopatologia da DC, levando a manifestações clínicas gastrointestinais e extra intestinais (BASTOS, 2016).

O papel dos linfócitos T CD4+ na doença celíaca foi confirmado com o isolamento de células T pró-inflamatórias glúten específico do intestino de pacientes celíaco. Essas células T patogênicas têm um fenótipo Th1 caracterizado pela produção de IFN-gama e TNF-gama e quase todas são restritas ao HLA-DQ2 e ou HLA-DQ8 (TYE-DIN; GALIPEAU; AGARDH, 2018). Além de IFN-gama e TNF-alfa, as células Th1 ativadas pelos peptídeos de gliadina são responsáveis pela ativação de fibrócitos, desencadeando a

produção de metaloproteínas, bem como pela produção de altos níveis de citocinas IL-2 e IL-6, os quais promovem aumento de linfócitos intra-epiteliais (LIE) e células NK.

Figura 1-Patogenese da Doença Celíaca



1-Componente tóxico do glúten atravessando o epitélio intestinal;

2-Ativação de citocinas inflamatórias (imunidade inata)

3-Enzima Transglutaminase(TG2) promove a deamidação dos peptídeos contidos no glúten que atravessaram a lâmina própria e que serão melhor reconhecidos pelas moléculas HLA classe II.

4- As célula apresentadores de antígenos(APC) iniciam a ativação das células inflamatórias.

5- As células T *Helper* são as células efectoras da inflamação intestinal.

6- As células T *Killer* ativadas migram para o epitélio intestinal causando inflamação local e a distância, sendo responsável pelos sintomas gastrointestinais e extra-intestinais.

Fonte: Bastos, 2016.

Os LIE e as células NK, por sua vez, levam à lesão das vilosidades intestinais via apoptose e simultânea hiperplasia de criptas (SANCHEZ *et al*, 2021). A hiperplasia de criptas, acredita-se que seja consequência do desbalanço entre lesão tecidual contínua pelos

insultos autoimunes na mucosa e a inabilidade das células tronco compensar (CAIO *et al*, 2019).

Apesar das células T CD4+ terem um papel central na DC, elas não são suficientes para levar a lesão tecidual. Estudos tem mostrado importante contribuição dos LIE CD8+ nesse aspecto. O aumento na densidade de LIE é considerado o hallmark da DC (JABRI; SOLLID, 2017; PARZANESE *et al*, 2017). 75% dos LIE são células T CD8+TCR $\alpha\beta$ + (75%), 15% são células T CD8+TCR $\gamma\delta$ + e células tipo-NK, as quais sob ação da IL-15 e IL-21 expressam receptores estimuladores NKG2D e CD94/NKG2A que interagem com ligandos expressos pelos enterócitos sob situações de estresse, resultando na liberação de IFN-gama e proteínas citolíticas, responsáveis pelo dano tecidual (JABRI; SOLLID, 2021).

Simultaneamente à resposta de imunidade celular, as células Th1 também contribuem para a resposta humoral, com produção de anticorpos contra gliadina e auto-anticorpos anti- transglutaminase e anti-endomísio (WIESER; KOEHLER; SCHERF, 2020; SANCHEZ *et al*, 2021) .

Os mecanismos exatos pelos quais anticorpos são produzidos na DC não estão claros. Também não é conhecido como a escolha para produção principalmente, de imunoglobulina (Ig) A e G é feita. A passagem desses anticorpos para a circulação sanguínea é uma possível explicação para as manifestações extra digestivas da doença (BASCUÑAN *et al*, 2021). Quando a enzima transglutaminase se liga à gliadina para deamidação, forma um complexo transitório, que pode ser reconhecido como um antígeno pelas moléculas HLA-DQ2 ou DQ8 do MHC de classe II. Nesse caso, mesmo a transglutaminase sendo um produto endógeno, ela passa a ser reconhecida como um antígeno (BUITEN; ELIAS, 2021). Pela formação de auto-anticorpos, a DC pode ser considerada uma doença auto destrutiva, que é mantida pela ingesta contínua de glúten (WEI *et al*, 2020). Diferente de outras situações relacionadas a células T e ativação de células B, nesse caso, a ativação de células B não resulta em produção de células de memória. Como resultado, os anticorpos desaparecem da circulação sanguínea após aproximadamente 1 mês de dieta sem glúten (BUITEN; ELIAS, 2021).

Ainda com relação à patogênese da DC, muitos pesquisadores têm avaliado se há correlação com a microbiota intestinal e, mais especificamente, com a Disbiose. Sabe-se que a microbiota tem um papel chave no desenvolvimento da função imune e que seus componentes podem favorecer o desenvolvimento de eventos imunopatológicos (SANCHEZ *et al*, 2021). Diminuição de bactérias com capacidade anti-inflamatória e aumento de bactérias com capacidade inflamatória tem sido relatado em pacientes com

doenças inflamatórias intestinais (BASCUNAN *et al*, 2020). Conforme Sanchez *et al* (2021), o desbalanço na microbiota pode ser um fator de risco para DC, uma vez que altera a integridade da mucosa intestinal, aumentando a permeabilidade intestinal.

Evidências atuais suportam a ideia de que a disbiose está presente nos pacientes com DC. Entretanto resta saber se é causa ou consequência e se há padrões intestinais específicos de disbiose conforme cada doença (CAIO *et al*, 2019; BASCUNAN *et al*, 2020).

1.5 APRESENTAÇÃO CLÍNICA

A DC foi considerada doença de criança, entretanto atualmente, sabe-se que pode acometer adultos e idosos. Possui amplo espectro de sintomas e condições associadas, que inclui manifestações gastrointestinais e extra digestivas, além de apresentação subclínica (BROWN; SINGH, 2018; HUJOEL; REILLY; RUBIO-TAPIA, 2018). A forma de apresentação varia conforme a idade, sendo na criança com menos de três anos, as manifestações intestinais, enquanto nas crianças maiores, predominam as manifestações extra digestivas (AL-BAWARDY *et al*, 2017).

As manifestações intestinais são diarreia persistente, malabsorção, dor abdominal, perda de peso e esteatorreia. As manifestações extra intestinais incluem anemia ferropriva refratária ao tratamento, infertilidade, osteoporose, atraso puberal, baixa estatura, artropatias, alterações hepáticas, úlceras orais, dermatite herpetiforme, fadiga muscular, ataxia cerebelar, autismo, neuropatia periférica, convulsões e desordens psiquiátricas (ARAGHIKHAH *et al*, 2020; PENNISI *et al*, 2017; SAVVATEEVA *et al*, 2018).

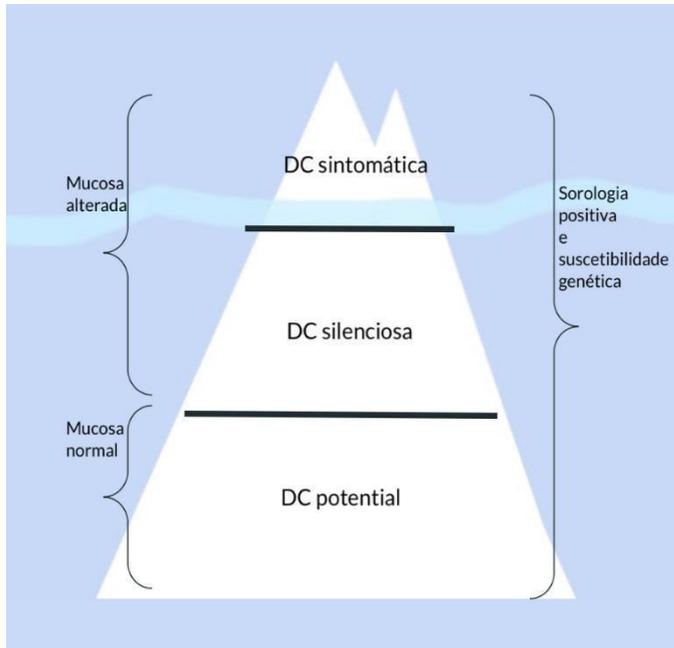
Cinco formas clínicas da DC são reconhecidas: clássica (manifestações intestinais), não clássica ou extra-intestinal, assintomática ou silenciosa, potencial e a refratária (HOUMICH & ADMOU, 2021).

Em 1960, a forma clássica da doença era a mais frequente, entretanto a partir da década de 70, houve uma mudança na forma de apresentação, com aumento das manifestações extra-intestinais, podendo estas compreender até 50% dos casos. Essa mudança na apresentação da doença resulta em diagnóstico mais tardio, entre 2 e 8 anos de idade (POPP; MAKI, 2019; BROWN; SINGH, 2018).

Estudos tem mostrado que o percentual de casos diagnosticados clinicamente, é muito menor do que as demais formas de apresentação. Para melhor explicar essa situação, usa-se o modelo do iceberg, no qual a ponta visível na superfície da água, de menor tamanho, representa os casos sintomáticos, mais facilmente diagnosticados, a parte submersa na água

estaria constituída pelas formas assintomática e potencial, menos aparentes e de mais difícil diagnóstico (Figura 2) (SCHERF *et al*, 2020; POPP; MAKI, 2019).

Figura 2-O Iceberg celíaco: Fenótipos da DC



Fonte: Adaptado de Ramakrishna et al, 2021.

A forma silenciosa constitui-se de pacientes com alterações sorológicas e histológicas da mucosa do intestino delgado compatíveis com DC, associadas a ausência de manifestação clínica. Esta forma é encontrada entre os grupos de risco, como familiares de primeiro grau de pacientes com DC, síndrome de down, síndrome de Williams, síndrome de Turner, deficiência seletiva de IgA, diabetes tipo I, tireoidite autoimune e etc (SAVVATEEVA *et al*, 2018; PARZANESE *et al*, 2017).

O termo DC potencial surgiu em 1993, por Ferguson e se caracteriza pela presença de sorologia positiva para DC e HLA compatível com DC, porém mucosa intestinal normal ou com anormalidades sutis (aumento de linfócitos intra-epiteliais). Esse grupo compreende 1/5 do total e pode ou não ter manifestações clínicas (TROVATO *et al*, 2019)

DC é tido como refratária quando há persistência dos sintomas e das alterações de mucosa, após 12 meses ou mais de tratamento adequado, tendo sido excluídas outras causas de atrofia visitaria. É mais comum a partir dos 50 anos de idade, porém pode aparecer nos primeiros anos de vida. Sua incidência varia de 0,04 a 1,5% e possui maior risco de complicação com linfoma de baixo grau (DOMSA *et al*, 2020; MALAMUT; CORDING; CERF-BENSUSSAN, 2019).

1.6 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da DC é confirmado pelas alterações histológicas da mucosa duodenal, combinado com sorologia positiva (REMES-TROCHE *et al*, 2018). A mucosa intestinal deve apresentar atrofia vilositária e hiperplasia de criptas, além de aumento de linfócitos intra-epiteliais. Esses achados são classificados conforme Marsh, sendo Marsh 3, a lesão clássica da DC, porém não é patognomônica da doença (ALEXANDER; ABDULLAH, 2017).

Entretanto, desde 2012, a European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) tem proposto uma estratégia de diagnóstico sem a necessidade de endoscopia em todos os pacientes e que foi reforçada no último Guideline (EUROPEAN SOCIETY FOR PEDIATRIC GASTROENTEROLOGY, HEPATOLOGY AND NUTRITION, 2012). Conforme sua estratégia, diante da suspeita de DC, deve-se solicitar dosagem de anticorpo anti-transglutaminase IgA e IgA sérica. Caso o anticorpo anti-transglutaminase (TGT) seja positivo 10 ou mais vezes o valor superior de normalidade, deve ser solicitado o anticorpo anti-endomísio IgA. Se este vier positivo, com a concordância da família pode-se prescindir da biópsia e iniciar dieta sem glúten. Altos níveis de anti-TGT IgA são preditores de enteropatia Marsh 2/3 e deve ser usado como critério diagnóstico de DC. Para os casos em que a sorologia foi positiva menos de 10 vezes o valor superior de normalidade, ou deficiência de IgA sérica, mantém-se a necessidade de biópsia intestinal (EUROPEAN SOCIETY FOR PEDIATRIC GASTROENTEROLOGY, HEPATOLOGY AND NUTRITION, 2020).

A deficiência de IgA é responsável por resultados falsos negativos dos testes sorológicos da classe IgA. Por este motivo, indica-se a dosagem sérica simultânea do TGT da classe IgA e da IgA sérica. Caso tenha deficiência de IgA, deve ser solicitado a fração IgG do anticorpo anti-TGT (HUJOEL; REILLY; RUBIO-TAPIA, 2018).

O anticorpo anti-TGT IgA tem 95% de sensibilidade e especificidade, constitui num método seguro e eficaz para o diagnóstico e monitoramento da doença. O anticorpo anti-endomísio tem maior especificidade e testado juntamente com o anti-TGT alcançam sensibilidade e especificidade maior que 95% (DOMSA *et al*, 2020).

A ESPGHAN não recomenda a genotipagem de alelos HLA predisponentes para DC como teste diagnóstico, entretanto em alguns grupos de risco como parentes em primeiro grau de indivíduos celíacos ou pacientes com síndrome de Down, o teste é considerado de custo-benefício. Para as demais situações, há necessidade de mais estudos para decidir qual

a melhor conduta (EUROPEAN SOCIETY FOR PEDIATRIC GASTROENTEROLOGY, HEPATOLOGY AND NUTRITION, 2020).

Apesar dos testes diagnósticos, a maioria dos casos de DC permanece sem diagnóstico, o que evidencia a necessidade de ampliar o conhecimento sobre a doença entre os profissionais de saúde (BROWN; SINGH, 2018).

1.7 TRATAMENTO

Apesar do avanço no conhecimento da DC e diversos estudos buscando outras formas de tratamento, o único tratamento efetivo para a DC, atualmente, é a dieta sem glúten por toda a vida. Estabelecido, primeiramente, por William-Karel Dicke, por ocasião da segunda Guerra Mundial, esse tratamento leva a resolução dos sintomas intestinais e extra-intestinais, bem como a negatização dos anticorpos e a normalização da mucosa intestinal (CAIO *et al*, 2019; TYE-DIN; GALIPEAU; AGARDH, 2018).

O paciente com DC deve receber acompanhamento regular que assegure a continuidade do tratamento e assim evite a instalação de sérias complicações como osteoporose, aumento do risco para doenças autoimunes, infertilidade, neuropatias e câncer (HOUMICH; ADMOU, 2021).

1.8 O COMPLEXO MAIOR DE HISTOCOMPATIBILIDADE

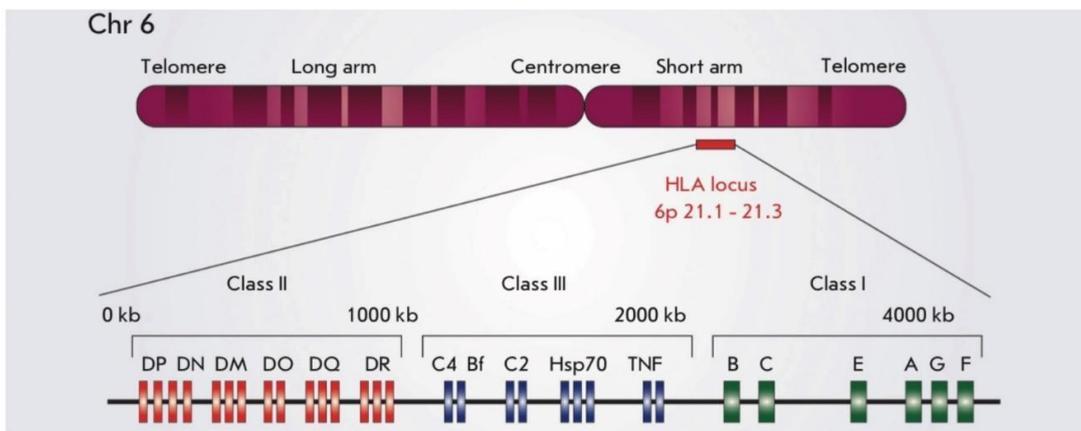
O Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC) é definido como um complexo de proteínas de superfície celular carregado com peptídeos curtos e reconhecido por receptores de células T. Em humanos, os produtos desses genes foram encontrados primeiramente em leucócitos, daí serem chamados antígenos leucocitários humanos (HLA) (KUZNETSOV *et al*, 2020). O MHC foi descoberto por Peter Gorer em estudos de transplantes de tecidos em camundongo na década de 30. Em 1958, J. Dausset descreveu pela primeira vez O MHC em humanos, quando observou que o soro de pacientes politransfundidos aglutinava com os leucócitos de outros indivíduos. Esse trabalho lhe rendeu o Premio Nobel, em 1980, compartilhado com Baruj Benacerraf e George Davis Snell (ALVAREZ *et al*, 2018; GOLDBERG; RIZZO, 2015).

Durante as décadas de 1960 e 1970, descobriu-se a importância destes genes na resposta imune frente aos antígenos estranhos. Em 1974, Zinkernagel e Doherty descobriram o fenômeno de restrição do MHC, evidenciando que os linfócitos T reconhecem porções de antígenos apenas quando ligados de forma não covalente a produtos dos genes HLA. Esses estudos foram fundamentais para um melhor entendimento

do processo pelo qual as células do sistema imune reconhece o próprio do não próprio (ALVAREZ *et al*, 2018; GOLDBERG; RIZZO, 2015).

O HLA se encontra no braço curto do cromossomo 6 (6p21) (Figura 3), ocupando um segmento de 4 milhões de pares de bases. Integra o sistema mais polimorfo e mais poligênico do organismo humano, com mais de 250 genes e pseudogenes, 30 dos quais codificam proteínas com mais de 8.794 alternativas, chamadas alelos (ALVAREZ *et al*, 2018; KULSKI; SHIINA; DIJKSTRA, 2019). O HLA é encontrado na superfície de quase todas as células nucleadas do organismo. Seus genes são herdados em blocos ou em halótipos dos pais aos filhos. Seguindo as leis Mendelianas, cada filho recebe uma combinação de genes HLA materno e paterno, assim cada célula somática possui um haplótipo materno e outro paterno, tendo esses genes expressão codominante (ALVAREZ *et al*, 2017).

Figura 3-Representação esquemática do HLA no cromossomo humano 6. O HLA é localizado no braço curto do cromossomo . A classe II (vermelho) inclui genes a cadeia alfa e beta das moléculas HLA-DR, HLA-DP e HLA-DQ



Fonte: adaptado de Zakharova et al, 2019.

As moléculas de MHC são responsáveis pela indução e regulação da resposta imune, pela apresentação de peptídeos antigênicos e pelo reconhecimento por linfócitos T CD4+ ou T CD8+ (ALVAREZ *et al*, 2018).

Diferente do reconhecimento por células B, a maior parte dos linfócitos T reconhece apenas peptídeos lineares curtos, mas não outras moléculas. Diferentes células T devem ser capazes de responder a antígenos microbianos nos diferentes compartimentos celulares, assim, os linfócitos T CD4+ atuam na circulação sanguínea, enquanto, os linfócitos T CD8+ tem ação intracelular. Essa diferença de ação entre os linfócitos T se deve ao fato de que as células apresentadoras de antígenos (APC) processam antígenos de modo diferente,

a depender de sua localização. Além disso, os receptores de antígenos de células T CD4 e CD8 são específicos para antígenos peptídicos apresentados por moléculas do MHC (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2021).

A apresentação do antígeno é uma etapa crucial na indução de respostas em células T. As primeiras APC descobertas foram os macrófagos, posteriormente soube-se que diferentes tipos de células poderiam ter essa função, sendo as células dendríticas as mais potentes APC (KOTSIAS; CEBRIAN; ALLOATI, 2019). As células dendríticas (CD) são encontradas nos órgãos linfoides, nos epitélios da pele e dos tratos gastrointestinal e respiratório, bem como no interstício da maioria dos órgãos parenquimatosos (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2021). As APC possuem um papel central na ligação entre sensibilidade inata de patógenos e processamento de antígeno para resposta imune adaptativa (KOTSIAS; CEBRIAN; ALLOATI, 2019), apresentam complexos peptídeo-MHC para reconhecimento por células T e proporcionam estímulos adicionais para a completa resposta da células T. Quando imaturas, as CD expressam receptores de membranas, os quais são usados para captura e endocitose de micro-organismos e seus antígenos e, em seguida para o processamento das proteínas ingeridas, em peptídeos capazes de se ligar a moléculas de MHC. Quando ativadas, essas células expressam elevados níveis de complexos de peptídeo-MHC, que são necessários para ativação de linfócitos T virgens (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2021).

A principal função do MHC é distinguir entre o próprio e o não próprio, assegurando resposta imune adaptativa celular específica a antígenos patogênicos. Nesse contexto, o polimorfismo tem papel fundamental. Os genes HLA são os mais polimórficos do genoma humano, estando o polimorfismo das moléculas de HLA concentrado nas regiões envolvidas com a apresentação peptídica (ALVAREZ *et al*, 2017).

As proteínas MHC são subdivididas em classe I, classe II e classe III (**Figura 3**). O MHC classe I, é classificado em HLA-A, HLA-B e HLA-C. Ocorre em quase todos os tipos celulares e apresentam antígenos próprios-via citosólica- para as células T CD8+. Normalmente, todos os indivíduos apresentam 2 alelos para cada locus HLA (PÉCORA, 2016).

O MHC classe II tem organização mais complexa, sendo dividido em sub-regiões: -DR, -DP e -DQ. Codifica moléculas expressas em superfícies de linfócitos B, macrófagos, células dendríticas e alguns tipos de linfócitos T. Seu papel é apresentar peptídeos de antígenos (vírus, bactérias, etc) capturados pelas APC aos linfócitos T CD4+ (ZAKHAROVA *et al*, 2019).

Os alelos HLA classe III codificam proteínas importantes para o sistema imune, como fator de necrose tumoral e componentes do sistema complemento, dentre outros.

A importância do HLA envolve a terapêutica através de transplantes, estudos de paternidade, estudos populacionais e sua relação com diversas doenças (ALVAREZ *et al*, 2017). Estudos de associação genômica têm identificado muitas doenças infecciosas e autoimunes mais prevalentes em pessoas que possuem determinado tipo de HLA, enquanto outros tipos de HLA são protetores para algumas doenças (D'ANTONIO *et al*, 2019).

O HLA foi identificado como um *locus* de risco para DC há mais ou menos 50 anos, sendo a associação feita com o HLA de classe II (JABRI; SOLLID, 2017; BODIS; TOTH; SCWARGTING, 2018; AIRAKSINEM *et al*, 2020).

1.8.1 HLA de Classe II

O HLA de classe II é um complexo glicoproteico presente na superfície de membranas de APC. Consiste de uma cadeia alfa e uma beta, e apresenta principalmente, derivados de peptídeos exógenos (NIEHRS; ALTFELD, 2020). Durante muitos anos, se entendeu que o HLA classe II era restrito às APC, às células tímicas e às células tumorais. Entretanto, estudos mais recentes mostraram expressão de HLA classe II em tecidos normais da pele, mama, pulmão e renal (SELIGER; KLOOR; FERRONE, 2017). Também foi observado que durante processos inflamatórios ou infecciosos, diferentes eventos de sinalização e modificações da cromatina levam à expressão de moléculas HLA classe II em outros tipos de células não imunes (KOTSIAS; CEBRIAN; ALLOATI, 2019).

A associação das moléculas de HLA classe II e o desenvolvimento de DC se deve a alta afinidade de ligação entre suas moléculas e a gliadina do glúten, resultando em uma resposta imune com formação de anticorpos específicos, além de produção de citocinas inflamatórias, fator de necrose tumoral e interferon (BASTOS, 2016).

As moléculas de HLA de classe II formam os heterodímeros funcionais HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP, HLA-DM e HLA-DO, os quais são altamente polimorfos e são responsáveis por iniciar a resposta imune celular adaptativa e humoral a patógenos específicos (MAJUNDER *et al*, 2020). Os genes HLA-DQ, DP e DR constituem o clássico HLA de classe II, com aproximadamente 1894 diferentes cadeias proteicas, enquanto os genes HLA-DO e DM constituem o HLA de classe II não clássico, com variabilidade limitada, resultando em 8 e 11 cadeias proteicas respectivamente, sendo responsáveis por funções altamente específicas na apresentação de antígenos (GOLDBERG; RIZZO, 2015; ALVARO-BENITO *et al*, 2021). Essas moléculas apresentam duas cadeias de

glicoproteínas: uma alfa e uma beta, com dois domínios extracelulares cada uma, alfa-1, alfa-2, beta-1 e beta-2. As cadeias alfa-1 e beta-1 são as mais polimórficas (ALVAREZ et al, 2018; SCIURTI et al, 2018). Isso favorece uma imensa diversidade das combinações possíveis presentes em cada indivíduo em uma dada população, o que aliado à multiplicidade de alelos, leva ao extraordinário potencial de apresentação de antígeno não apenas em um indivíduo, mas na população geral (GOLDBERG; RIZZO, 2015).

Variações alélicas no HLA classe II influenciam a apresentação de antígenos tanto de proteínas próprias quanto não próprias, com consequências para a defesa do hospedeiro, bem como para a tolerância e autoimunidade (HUNG *et al*, 2019). Polimorfismo de clássicas moléculas HLA tem sido estudado e seu papel na suscetibilidade genética contribuindo para doenças autoimunes tem sido bem estabelecido, como nos casos de artrite reumatoide, esclerose múltipla, as quais são relacionadas aos genes HLA classe II DR2 e DR4 respectivamente (ALVARO-BENITO *et al*, 2021).

Nesse contexto, os alelos HLA-DQ8 (HLA-DQA 03/HLA-DQB1 03:02), HLA DQ2.2 (DQA1 02:01/DQB1 02) e o HLA-DQ2.5 (HLA-DQA1 05/HLA-DQB1 02) são de particular interesse, sendo o HLA-DQ2.5, de maior risco para DC (Figura 4) (HUNG *et al*, 2019; JABRI; SOLLID, 2017). Na verdade, HLA-DQ2.5 homocigoto e HLA-2.5 cis/2.2 heterocigoto tem maior risco comparado ao HLA-DQ2.5 cis/não-DQ2.2 heterocigoto e HLA-DQ2.5 trans heterocigoto (SALLESE; LOPETUSO; EFTHYMAKIS; NERI, 2020).

Aproximadamente, 90 a 95% dos pacientes celíacos são HLA-DQ2.5 e metade dos remanescentes são HLA-DQ8. A frequência do DQ2 e DQ8 mostram variações entre diferentes populações, sendo 30 a 50% na população europeia (ALMEIDA *et al*, 2018). Indivíduos com predisposição genética podem desenvolver DC na infância precoce ou mais tardiamente. Entretanto, somente 3 % dos pacientes predispostos geneticamente terão DC. Isto sugere que genes não-HLA e fatores ambientais não glúten estejam envolvidos na gênese da doença (JABRI; SOLLID, 2017). Aproximadamente 35% do risco genético para desenvolver DC está associado à presença do HLA-DQ2/DQ8. Conquanto a presença do HLA de classe II não seja preditiva de DC, sua ausência exclui quase definitivamente, a doença (SALLESE; LOPETUSO; EFTHYMAKIS; NERI, 2020). Em pacientes DQ2 e DQ8 negativos, estudos têm mostrado expressiva presença do alelo DQ7, entretanto sua influência positiva no desenvolvimento da DC tem sido relatada somente na presença de DQ2.2 (TINO et al, 2015). Pacientes DQ7, assim como os pacientes DQ2 e DQ8 possuem células T CD4+ reativas ao glúten na mucosa intestinal, contudo acredita-se que tenham

diferentes requisitos de especificidades para a ligação peptídica, o que levaria a riscos distintos para a DC (BERGSENG et al, 2015).

Figura 4-Risco para DC associado aos genótipos HLA-DQ. Foi considerada a prevalência de 1% para DC para os cálculos. DQX indica “ não risco”

HLA genotype	Odds
DQ2.5/DQ2.5	1:12
DQ2.5/DQ2.2	1:12
DQ8/DQ8	1:25
DQ2.2/DQ7.5*	1:35
DQ2.5/DQX	1:42
DQ2.5/DQ7.5	1:60
DQ2.5/DQ8	1:72
DQ8/DQ7.5	1:605
DQ8/DQ2.2	1:681
DQ2.2/DQX	1:929
DQ8/DQX	1:1135
DQ7.5/DQX	1:3857

Fonte: Adaptado de Martinez-Ojinaga *et al*, 2018.

Tomando por base esse conhecimento, a tipagem do HLA, embora disponível em alguns centros médicos, não é suficiente para o diagnóstico de DC, dada a sensibilidade (HLA-DQ2, 70-99,8%; HLA-DQ8, 1,6-38%) e especificidade (HLA-DQ2, 69-77%; HLA-DQ8, 77-85%) (BROWN; SING, 2019). Entretanto, seu uso tem sido considerado para excluir o diagnóstico, bem como triagem inicial de grupos de risco para DC (BROWN; SING, 2019).

1.9 DOENÇA CELÍACA E SÍNDROME DE DOWN

A Síndrome de Down (SD) é a anomalia cromossômica mais frequente na população em geral. Afeta 1 a cada 800 recém-nascidos em todo o mundo e é o principal fator genético no desenvolvimento de deficiência cognitiva moderada (SZAFLARSKA-POPTAWSKA *et al*, 2016). Foi descrita pela primeira vez em 1866 pelo médico John Langdown, porém sua associação com o cromossomo 21 foi feita quase 100 anos depois pelo dr. Jerome Lejeune. A maioria dos pacientes com SD apresenta uma cópia extra do cromossomo 21 (AKHTAR, 2020). O cromossomo 21 é o menor dos cromossomos autossômicos e representa 1 a 1,5% do genoma humano. A expressão excessiva de proteínas devido a

triplicação cromossômica, produz uma variedade de distúrbios envolvendo o Sistema Nervoso Central, o coração e o trato digestivo (RONDAL, 2020).

A SD aparece de várias formas, sendo a mais comum, a trissomia do 21, que ocorre em 95% dos casos e se deve a uma não disjunção cromossômica, geralmente, na meiose I no gameta materno. Outros 3 a 4% dos pacientes apresentarão trissomia por translocações Robertsonianas, as quais podem envolver outros cromossomos como o 14, 22 e o próprio 21. Em 1 a 2% dos casos, a trissomia pode ser em forma de mosaicismo, nesse caso, o erro ocorre após a fertilização, havendo células com cromossomos normais e células com a alteração. Por fim, em menos de 1%, observa-se trissomia parcial, (RASKIN *et al*, 2020; AKHTAR, 2020).

A SD é uma doença multigênica e estudos apontam para a existência de diversas regiões críticas com super expressão e desregulação dos genes envolvidos, os quais são responsáveis pelos diferentes fenótipos. Três conhecidas regiões críticas responsáveis por alguns fenótipos, incluindo anomalias craniofaciais e das mãos, cardiopatias congênitas e deficiência cognitiva, são a 21q22.1, 21q22.2 e a 21q22.3. Nesta última, está localizado o gene AIRE, gene regulador de autoimunidade, cuja expressão em pacientes com SD, encontra-se diminuída (BABURAMANI *et al.*, 2019; RONDAL, 2020).

Pacientes com SD sofrem de distúrbios imunológicos, são mais susceptíveis a infecções e tem maior risco de neoplasias e doenças autoimunes, principalmente tireoidite autoimune e doença celíaca (SZAFLARSKA-POPLAWSKA *et al.*, 2016).

O mecanismo exato dos distúrbios imunológicos ainda não é conhecido, acredita-se que seja consequência de um envelhecimento precoce ou de um processo intrínseco do sistema imunológico. Análise genética e molecular mostrou que vários genes envolvidos na regulação do sistema imune são codificados no cromossomo 21 e bem representados na SD, devido a triplicação do cromossomo (FERRARI; STAGI, 2021).

A SD afeta tanto a imunidade inata, quanto adquirida. As alterações vão desde o aumento de células natural killer (NK), alterações em monócitos e neutrófilos à diminuição de linfócitos Treg, diminuição da função de linfócitos Th, diminuição de linfócitos T CD4+ e CD8+ e maior resistência a supressão do Treg, associado a alta taxa de apoptose de células B, diminuição de células B de memória, aumento de imunoglobulinas G e diminuição de IgM e IgE (HUGGARD; DOHERTY; MOLLOY, 2020; FERRARI; STAGI, 2020).

Pacientes com SD tem aumento de citocinas pró-inflamatórias interleucina (IL)-1, IL-2, IL-6 e TNF e também aumento de citocinas anti-inflamatórias como IL-10, IFN-gama (FERRARI; STAGI, 2021). Estudos mostraram que as células T de pessoas com SD

mostram elevada expressão de interferon (IFN). O papel do IFN no desenvolvimento de autoimunidade é bem documentado, com estudos de associação genômica evidenciando forte associação genética entre polimorfismos em componentes da via IFN e desordens autoimunes (ARAYA *et al*, 2019).

Doenças autoimunes, tem sido associadas a SD por vários pesquisadores, sendo essa associação pela presença de HLA específicos (SGARB *et al*, 2018).

Associação entre SD e DC foi primeiramente descrita em 1975, por Bentley *et al*. Desde então, muitos artigos foram publicados na Europa, relatando a prevalência de DC em pacientes com SD ser de 0 a 18,6% (PAVLOVIC; BERENJY; BUKUROV, 2017). A DC é uma das doenças imunes mais comuns em pacientes com SD (ALRUWAILY *et al*, 2017; ABDULRAZZAQ *et al*, 2018).

O mecanismo da associação entre SD e DC não é conhecido. A DC é associada com o HLA-DQ2 e HLA-DQ8, contudo a distribuição dos genótipos HLA em pacientes com SD é similar à população geral (DU *et al*, 2018). Em virtude disso, loci não HLA relacionado a imunidade tem sido pesquisado, sendo candidatos, os genes receptor 1 de interferon e o receptor 2 de interferon, os quais codificam receptores para citocinas pró-inflamatórias IFN-alfa, que possuem importante papel na resposta imune intestinal na DC (LUDVIGSSON *et al*, 2017).

Comparado à população geral, a forma sintomática de DC é mais frequente em crianças com SD do que a forma assintomática, contudo aproximadamente um terço dos pacientes com SD e DC não tem sintomas gastrointestinal. Em crianças com SD e forma sintomática de DC, déficit de crescimento, anemia, diarreia intermitente, vômitos e constipação são as manifestações mais comuns (PAVLOVIC; BERENJY; BUKUROV, 2017). Embora, esses sintomas sejam comuns, eles não são específicos para a DC. Até o momento, não se tem estudos mostrando o valor preditivo dos sintomas de DC em pacientes com SD, o que pode contribuir para o atraso do diagnóstico (SHARR *et al*, 2016).

Apesar do conhecimento da maior prevalência de DC em crianças com SD, essa triagem, ainda, não é feita de rotina em diversos Países, incluindo o Brasil. Em 2012, a ESPGHAN orientou a triagem desses pacientes começando com a pesquisa do HLA-DQ2 e DQ8 e a partir daí, se fosse positivo, sorologia para DC deveria ser solicitado. Entretanto, no último guidelines, a ESPGHAN (2020), orientou que a triagem dos pacientes grupos de risco deve ser feita da mesma forma que nos pacientes sintomáticos, ou seja, através da dosagem do anticorpo anti-transglutaminase IgA.

O Colégio Americano de Gastroenterologia no Guidelines de 2013 orienta que a dosagem do HLA pode ser usada na triagem de pacientes com SD, com o intuito de afastar risco genético para a doença. Pacientes que são HLA-DQ2 e HLA-DQ8 negativo, não necessitam de futuros testes sorológicos (RUBIO-TAPIA, 2013). Os pacientes com DQ8 e/ou DQ2 positivo, devem ter dosagem de IgA total e anticorpo anti-transglutaminase IgA. Se o anticorpo for negativo, o teste deve ser repetido a cada 3 a 5 anos (TAYLOR *et al*, 2021). Embora, o HLA seja dispendioso e nem sempre factível, pode haver custo-benefício para os pacientes com SD, bem como para os parentes de primeiro grau de pacientes com DC, uma vez que uma significativa proporção de pacientes pode ser excluídas com sua tipagem (EUROPEAN SOCIETY FOR PEDIATRIC GASTROENTEROLOGY, HEPATOLOGY AND NUTRITION, 2020).

1.10 DOENÇA CELÍACA E TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA (TEA)

De acordo com a quinta versão do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-V), o TEA é um transtorno do desenvolvimento neurológico, caracterizado por déficits e dificuldades na comunicação, linguagem e interação social, movimentos corpóreos repetidos e déficit intelectual, associados a interesses e atividades restritas e circunscritas (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). O TEA tem início nos primeiros anos de vida e suas características clínicas são muito variáveis, abrangendo indivíduos com diversos graus de comprometimento (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2019).

Nos últimos anos, observamos um aumento drástico nas prevalências do autismo, talvez pela mudança nos critérios diagnósticos ou por maior conscientização sobre o tema, diferentes metodologias dos estudos ou verdadeiro aumento na frequência do quadro (DSM-V, 2013). Segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos, a prevalência atual do TEA nos EUA é de 1:44 casos (CENTRO DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇAS, 2022). A prevalência do autismo no mundo, atualmente, é de 1 a 2% (YOON *et al*, 2020), com ocorrência em diversas etnias e em todos os grupos socioeconômicos, sendo quatro vezes mais frequente no sexo masculino (SBP, 2019).

Além dos mencionados sintomas centrais, os pacientes com TEA mostram, frequentemente, uma variedade de manifestações clínicas associadas, incluindo outras psiquiátricas e comorbidades médicas (CALDERONI *et al*, 2016). Como a parte submersa de um iceberg, a complexidade biológica subjacente às anormalidades comportamentais é responsável por um distúrbio sistêmico, envolvendo vários órgãos e sistemas, em

particular, o sistema imunológico e o gastrointestinal (PANISI *et al*, 2021). As disfunções gastrointestinais são relatadas por pais de crianças com TEA numa taxa de 20 a 85% (CALDERONI *et al*, 2016). Segundo Ristori *et al*. (2019), pacientes com TEA, geralmente, tem sintomas gastrointestinais, com prevalência variando de 23 a 70%, embora essa ligação entre autismo e anormalidades gastrointestinais não esteja esclarecida. Entre os sintomas gastrointestinais encontrados nos diversos estudos, estão a diarreia, constipação, distensão abdominal, doença do refluxo gastroesofágico e seletividade alimentar (RISTORI *et al*, 2019).

Muitas teorias sobre a etiologia e patogênese do TEA têm sido propostas, incluindo interação de fatores genéticos, epigenéticos, ambientais e pré-natal. No entanto, apesar disso, sua causa exata, ainda é desconhecida (YOON *et al*, 2020).

Há evidências de que a arquitetura genética do TEA envolve centenas ou milhares de genes, cujas variantes, herdadas ou de novo, compreendem múltiplos modelos de herança (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). Alta hereditariedade tem sido relatada, com 50 a 90% de concordância em gêmeos monozigóticos. A taxa de recorrência varia de 25 a 30% se uma segunda criança é também diagnosticada com TEA na família, indicando a potencial importância da genética (GRIESI-OLIVEIRA; SERTIÉ, 2017; GENOVESES; BUTLER, 2020).

Estudos têm demonstrado um grande conjunto de polimorfismos conferindo vários níveis de riscos, além de maior concordância em gêmeos monozigóticos. Entretanto, embora muitas associações gene-doença tenham sido sugeridas, a investigação molecular não identificou nenhuma consistente com um marcador biológico para o TEA (PANISI *et al*, 2021).

Aproximadamente 10 a 20% das crianças com autismo, tem algum distúrbio genético ou cromossômico, sendo a síndrome do X frágil, a síndrome de Rett, esclerose tuberosa, síndrome de Down, exemplos de condições relacionadas ao TEA (GENOVESES ; BUTLER, 2020). Diversos estudos, pós-morte, de genoma revelaram alterações de metilação do desoxirribonucléico (DNA) em cérebros de indivíduos com autismo. Recentemente, 15 genes modificados epigeneticamente e relacionados ao TEA foram identificados (SABIT *et al*, 2021).

Em conjunto, os dados genéticos sugerem, a necessidade de um modelo genético linear, sendo proposto, o modelo epigenético. A metilação do DNA, modificação das histonas e dos micro-ácido ribonucléico (RNA) são os fatores epigenéticos mais estudados,

os quais influenciam padrões de transcrição de genes por fatores regulatórios (PANISI *et al.*, 2021).

A modificação das histonas é um dos mecanismos proposto estar envolvido na patogênese do TEA, sendo identificados inúmeros genes relacionados ao TEA e envolvidos na regulação epigenética e codificação de proteínas modificadoras de histonas (SABIT *et al.*, 2021).

Os miRNA estão envolvidos em quase todos os processos biológicos e são importantes reguladores do desenvolvimento do cérebro e função neural, além de estarem associados a uma variedade de doenças do sistema nervoso. Estudos tem mostrado a existência de diversos miRNA com funções características no TEA, sendo o miRNA-146a o mais comumente desregulado no cérebro em desenvolvimento de pacientes com distúrbios, incluindo o autismo, e um candidato a biomarcador de diagnóstico e potencial alvo terapêutico do TEA (WU; ZHENG, 2020).

Os marcadores epigenéticos exibem alto nível de plasticidade durante os períodos de diferenciação celular, incluindo o neurodesenvolvimento. O período embriológico até o fim dos dois primeiros anos de vida representa a janela temporal de máxima neuroplasticidade, sendo assim, a exposição ambiental ocorrida na gravidez pode levar a modificações de longo prazo nos padrões epigenéticos e ter grande impacto no neurodesenvolvimento (PANISI *et al.*, 2021).

Não obstante, a variedade clínica e fenotípica observada no TEA fortemente, sugere que em pacientes geneticamente susceptíveis, fatores ambientais também combinam-se ou sinergizam para determinar uma disfunção (YOON *et al.*, 2020). Exposição precoce a fatores como bactérias, vírus, medicações, agentes químicos ou físicos podem afetar o desenvolvimento neurobiológico causando dentre outras, alterações encontradas no autismo (GIALLORET *et al.*, 2020).

Dado ao fato de que pacientes com autismo geralmente apresentam diversas doenças gastrointestinais, como alergias alimentares, doença celíaca e outras má-absorção, uma teoria para a patogênese do TEA, postula a contribuição do eixo cérebro-trato gastrointestinal (ABDEL-MAKSOUUD *et al.*, 2020). A ligação entre estado psicológico e TGI é reconhecida há séculos, porém sua aplicação a distúrbios do neurodesenvolvimento como o autismo, só ocorreu mais recentemente, no início dos anos 2000 (JAMES *et al.*, 2021).

Nos últimos anos, tem havido grande interesse em explorar o papel dos metabólitos da microbiota intestinal, particularmente, os ácidos graxos de cadeia curta na patogênese do autismo. Dentre esses ácidos, temos o ácido butírico, que possui efeito protetor impedindo modificação de histonas, suprimindo função intestinal pró-inflamatória e regulando a barreira hematoencefálica. Por outro lado, tem-se o ácido propiônico que pode causar mudanças epigenéticas, metabólicas, neuro-inflamatórias, e comportamentais relacionadas ao TEA (SABIT *et al*, 2021).

Uma proporção de peptídeos biologicamente ativos pode atravessar a barreira hematoencefálica e interferir no eixo cérebro-trato gastrointestinal. Recentemente, proteínas do glúten têm sido implicadas como principais agentes nesse processo (ABDEL-MAKSOUND *et al*, 2020). Numerosos estudos evidenciando anormalidades na conexão entre sistema nervoso central e TGI, tem mostrado diminuição da atividade parassimpática e aumento da resposta endócrina ao estresse. Também tem sido visto que alterações na microbiota, por insultos ambientais podendo levar a disbiose, favorece bactérias produtoras de neurotoxinas, as quais afetam a função cerebral e comportamental das crianças com TEA (LEFTER *et. al*, 2020). Conforme Alessandria *et al* (2019), a disbiose e o aumento da permeabilidade da mucosa gastrointestinal, têm sido associadas à produção de toxinas que interagem com sinapses neuronais, bem como à absorção de grandes proteínas como glúten, gliadina e caseína, podendo levar a inflamação com efeitos sistêmicos, incluindo no sistema nervoso central. Alguns estudos relatam que inflamação intestinal e aumento da permeabilidade intestinal são mais comuns em crianças com autismo, enquanto outros estudos não conseguiram encontrar diferenças na permeabilidade intestinal entre crianças autistas e crianças não autistas (KUSHAK *et al*, 2016).

Sabit *et al* (2021), afirmam que o TEA parece resultar da interação entre metabólitos da microbiota intestinal e fatores genéticos. A composição da microbiota intestinal sofre influências do estilo de vida e do ambiente no qual vive o indivíduo. Exposição intraútero a certos fatores ambientais aumenta a chance de TEA na prole, embora o mecanismo molecular ainda não tenha sido identificado.

Evidências sugerem, também, um papel de disfunção imune na patogênese do TEA, sustentada por estudos mostrando alterações da imunidade inata e adquirida em alguns pacientes com autismo, com maior ocorrência de doenças alérgicas e autoimunes, além do aumento das taxas de transtornos autoimunes na famílias desses indivíduos (CALDERONI *et al*, 2016; TYE *et al*, 2019).

A coexistência de infecções, inflamação e autoimunidade indica que o principal candidato de suscetibilidade genética deve estar associado ao HLA. Estudos tem indicado que o HLA-classe II DRB1*11-DQB1*07 está associado ao risco de autismo, diminuição de CD4+ virgens e aumento de células T CD4 + de memória, bem como a história familiar de doenças autoimunes (BENNANI *et al*, 2018). Esse alelo *07, é também associado a DC, o que sugere que pessoas com esse alelo apresentem risco para ambas as doenças (CROALL; HOGGARD; HADJIVASSILIOU, 2021).

A ligação entre DC e a expressão das moléculas HLA-DQ2 e DQ8 do MHC classe II é bem estabelecida (ALESSANDRIA *et al*, 2019). Em estudo de Lau *et al* (2013), foi encontrado no grupo de crianças com autismo, 18/37 (48,6%) positivas para HLA-DQ2 e/ou DQ8, sendo 6 crianças DQ2 e 12, DQ8. Em nosso conhecimento, no Brasil, há escassos estudos sobre o HLA nesse grupo de pacientes, evidenciando a necessidade de pesquisas.

De acordo com Ludvigsson *et al* (2013), a primeira grande série de casos com indivíduos autistas passando por investigação para DC foi relatada em 1973. Nesse estudo, 18 crianças com TEA foram examinadas, dos quais 7 tinham história de sintomas gastrointestinais. Três crianças foram submetidas à biópsia intestinal, mas nenhuma delas teve atrofia vilositária.

Apesar disso, existem estudos que indicam que é possível uma maior coincidência de doença celíaca e transtornos autistas. Tais conclusões foram desenhadas por Barcia *et al*. que mostraram que em um grupo de crianças com TEA, a doença celíaca era mais de 3 vezes mais frequente do que na população geral (1: 106 vs 1:30 p = 0,014). Com base em um questionário, Valicenti-McDermott *et al*. observou que em um grupo de 100 crianças com TEA, os pacientes com regressão de fala mais frequentemente tiveram história familiar positiva de doença celíaca e doenças inflamatórias não específicas do intestino do que crianças sem regressão de fala (24% vs 0%; p = 0,001) (SZAFLARSKA-POPLAWSKA, 2015). Essa associação, tem sido relatada por vários autores, como parte de manifestações neuropsiquiátricas da DC (COBURN; PUPPA; BLANCHARD, 2019; NARDECCHIA *et al*, 2019; PENNISI *et al*, 2017), contudo não é uma unanimidade, alguns estudos tem mostrado ausência de correlação entre essas duas condições (JUNEJA *et al*, 2018).

Szaflarska-Popławska (2015), em artigo de revisão, concluiu que crianças com transtornos autistas sofrem de várias anormalidades gastroenterológicas mais frequentes que a população geral. A coincidência de transtornos autistas e doença celíaca é

provavelmente uma simultaneidade de duas doenças comuns. A dieta sem glúten não deve ser aplicada em todos os pacientes com distúrbios autistas, mas provavelmente há um grupo de pacientes com o fenótipo de autismo relacionado à dieta, que podem se beneficiar da terapia dietética. Em estudo de Alessandria *et al* (2019), os pais relataram melhora global do quadro clínico nas crianças com dieta sem glúten e caseína, incluindo redução dos problemas comportamentais e aumento da atenção, entretanto, nenhum teste psiquiátrico validado foi realizado nas crianças.

Por outro lado, distúrbios psiquiátricos têm sido frequentemente relatados em pacientes com DC. Estudos nos últimos anos, têm indicado, mesmo que com limitações, que a DC pode estar associada a vários quadros psiquiátricos, entre eles, o autismo (SLIM; RICO-VILLADEMOROS; CALANDRE, 2018).

A patogênese das manifestações extra intestinal da DC não é clara, mas há dois principais mecanismos, provavelmente, envolvidos: o primeiro relaciona-se a lesão da mucosa e gravidade da atrofia vilositária, culminando com má absorção. O segundo é consequência do distúrbio autoimune, com produção de autoanticorpos, os quais podem agir em diversos locais do corpo, como fígado, músculo, tireoide, ossos e cérebro (NARDECCHIA *et al*, 2019). No caso das manifestações neurológicas e psiquiátricas, acredita-se que os autoanticorpos podem causar disruptura na barreira hematoencefálica e expor o sistema nervoso central a outros autoanticorpos e potenciais toxinas (LAURIKKA *et al*, 2018; YU *et al.*, 2018). De acordo com Pennisi *et al* (2017), o sistema nervoso pode ser um dos locais eletivos de patogênese mediada pelo glúten, incluindo anticorpos de reação cruzada, deposição imune-complexa, neurotoxicidade direta, outros fatores imunomediados e deficiência de vitaminas e outros nutrientes secundários a má absorção crônica.

No momento, não obstante o considerável número de estudos sobre autismo e doença celíaca, ainda não está claro até que ponto os subgrupos do autismo são afetados, se o autismo é um fator de risco para doença gastrointestinal, ou se existe base gastrointestinal para o desenvolvimento do autismo, por meio da interação cérebro e TGI (RISTORI *et al*, 2019; KRIGSMAN, A.; WALKER, 2021). Porém, é fato que as crianças com distúrbios do espectro autista, como todas as crianças, podem ter indicações para avaliação por gastroenterologistas pediátricos, os quais são responsáveis por usar toda a perspicácia clínica, habilidades e recursos adequados para diagnosticar com precisão doenças gastrointestinais nesta população particularmente vulnerável (LIGHTDALE, 2016).

O primeiro estudo de prevalência dos genes HLA predisponentes para a doença na população geral, em nosso País, foi realizado no Distrito Federal (ALMEIDA, 2014), no qual a prevalência encontrada dos dois heterodímeros, HLA-DQ2 e/ou DQ8 foi de 33,4%. Em pesquisa em bancos de dados oficiais, não foi encontrado nenhum estudo referente à população de Belém-PA, daí a importância desse estudo, principalmente considerando a presença marcante dos indígenas na região, além de outras etnias.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Determinar a frequência de alelos HLA predisponentes para DC (DQ2, DQ7 e DQ8) em pacientes com transtorno do espectro autista (TEA), pacientes com Síndrome de Down (SD) e pacientes saudáveis (grupo controle) em Belém -PA.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar demograficamente a amostra estudada;
- Descrever a frequência de DQ2.2 e DQ2.5 nos três grupos em estudo;
- Descrever a frequência do HLA-DQ7 nos três grupos em estudo;
- Descrever a frequência dos genótipos de risco nos três grupos estudados;
- Classificar os genótipos encontrados conforme uma estratificação de risco.

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 TIPO DE PESQUISA

Estudo descritivo, do tipo transversal e de prevalência comparativa.

3.2 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO

A pesquisa foi realizada no Ambulatório de Gastroenterologia Pediátrica da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará (FSCMPA) e Laboratório de Biologia Molecular (LBM) do Hospital Ophyr Loyola (HOL) em Belém-Pará, no período de setembro de 2017 a junho de 2022.

3.3 POPULAÇÃO

A população foi composta pelos pacientes atendidos no Ambulatório de Gastroenterologia Pediátrica da FSCMPA.

3.4 AMOSTRA

A amostra foi por conveniência, composta de 266 pacientes com idade entre um e 14 anos, sendo 119 pacientes saudáveis (grupo controle), 57 pacientes com TEA e 90 pacientes com SD.

3.4.1 Critérios de inclusão

- Pacientes com idade entre um e 14 anos;
- Pacientes com diagnóstico de Síndrome de Down;
- Pacientes com diagnóstico de TEA;
- Pacientes não celíacos e sem qualquer uma das patologias de risco para DC, atendidos no Ambulatório de Gastroenterologia Pediátrica para compor o grupo de indivíduos saudáveis;
- Aceite dos pais em participar do estudo mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e esclarecido (TCLE-Apêndice A) e assinatura do Termo de assentimento (Apêndice B) para crianças com 7 anos ou mais de idade.

3.4.2 Critérios de exclusão

- Pacientes com suspeita/investigação de DC;
- Pacientes com paralisia cerebral;

- Pacientes portadores de doenças autoimunes, síndromes genéticas ou grupos de risco para DC, exceto a SD.

3.5 COLETA DE DADOS

A coleta de dados aconteceu após os pais/responsáveis serem informados sobre o estudo e concordarem em participar do mesmo, mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e Termo de Assentimento, quando foi o caso.

Antes da coleta de sangue, foi preenchida uma ficha com os seguintes dados: idade, sexo, dieta com glúten e diagnóstico de TEA, SD ou paciente saudável. Em seguida, foi realizada a coleta de sangue dos pacientes para a realização dos testes genéticos. A amostra consistia em 2,5 ml de sangue, em um tubo com EDTA, acondicionada em caixa de isopor e transportada para o LBM do HOL em Belém-Pará, onde foi armazenada em freezer a -80 graus centígrados, para posterior análise.

Os testes genéticos para pesquisa do HLA-DQ2, HLA-DQ8 e DQ7 foram realizados a partir da extração de DNA. Para a extração de DNA, usou-se um Kit da Promega conforme as recomendações do fabricante. As amostras de DNA extraídas foram utilizadas para amplificação dos alelos DQ2.2, DQ2.5, DQ8 e DQ7 e DQX, este último considerado alelo não de risco para DC. A genotipagem desses alelos foi realizada pelo método de PCR em tempo real (*real time PCR*), utilizando o aparelho *QuantStudio 7 (Applied BioSystems – Life Technologies™, Carlsbad, USA)*.

Foram consideradas 15 categorias de genótipos conforme as combinações dos alelos de risco: DQ2.2, DQ2.5, DQ7 e DQ8, além do DQX.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram armazenados e organizados em planilhas do Microsoft Excel® 2010. A análise estatística, visando a confirmação ou rejeição da hipótese de nulidade, foi efetuada mediante o uso do teste Qui-quadrado (χ^2) de independência e exato de Fischer, com auxílio do programa *Bioestat* versão 5.3. Foi considerado significativo o *p* valor <0,05.

Por se tratar de amostra por conveniência foi realizada a análise de resíduos, uma vez que esta complementa com mais especificidade a probabilidade de contribuição de cada uma das caselas analisadas, pois dessa forma é possível comparar os resultados de cada

valor obtido com a probabilidade padronizada da curva normal, uma vez que o denominador da equação final dos resíduos é comparável ao erro padrão, para tanto utiliza como nível de decisão $\alpha=0,05$.

3.7 ASPECTOS ÉTICOS

A pesquisa seguiu os preceitos da Declaração de Helsinque e do Código de Nuremberg, respeitando as normas de pesquisa envolvendo seres humanos (Res. CNS 466/12) do Conselho Nacional de Saúde. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FSCMPA (Anexo A), conforme o CAAE: 69613517.1.00005171.

4 RESULTADOS

Foram incluídos no estudo, 266 pacientes, sendo 57 pacientes com Transtorno do espectro autista, 90 portadores de Síndrome de Down e 119 pacientes como grupo controle. A idade dos pacientes variou de 1 a 14 anos, 58% eram do sexo masculino e todos os participantes estavam em dieta com glúten.

Tabela 1-Frequencia dos alelos de HLA-DQ predisponentes para doença celíaca nos três grupos estudados.

Alelos	Grupo controle n:119 (%)	Autismo n= 90 (%)	p valor	SD n=90 (%)	p valor
DQ2.2	29 (24,5)	20 (35)	0,1920	38 (42,2)	0,4907
DQ2.5	25 (21,2)	18 (31,6)	0,1803	24 (26,7)	0,4288
DQ8	17 (14,4)	10 (17,5)	0,7355	18 (20,0)	0,3636
DQ7	61 (51,7)	14 (24,5)	0,0014	24 (26,7)	0,0006
DQX	80 (66,9)	29 (50,8)	0,0543	51 (56,7)	0,1560

*O total ultrapassa 100% pois há concomitância de alelos.

O alelo de risco para DC mais frequente foi o HLA-DQ2.2, com maior prevalência no grupo com SD, seguido do grupo com TEA (TABELA 1). Nos três grupos estudados, a prevalência dos alelos de risco em ordem decrescente foi HLA-DQ2.2, seguido de HLA-DQ2.5 e HLA-DQ8. O HLA-DQ7 foi mais frequente no grupo controle. Conforme a análise de resíduo o DQ7 tem relação com o grupo controle e com SD (TABELA 1).

Tabela 2- Frequência dos genótipos DQ em homozigose ou heterozigose nos três grupos estudados.

Genótipo	Grupo controle: n (%)	Autismo n(%)	p valor	SD n(%)	p valor
¹ DQ2.5/2.5 ou DQ 2.2/2.5	8 (6,7)	8 (14)	0,1940	10 (11,1)	0,3839
² DQ2 e/ou DQ8	10 (8,4)	13 (22,8)	0,0158	18 (20,0)	0,0256
³ DQ2 ou DQ8 e/ou DQ7	15 (36,4)	04 (7,0)	0,3908	8 (8,8)	0,5308
⁴ DQ2 ou DQ8 e DQX	28 (23,5)	10 (17,5)	0,4793	27 (30,0)	0,3717
⁵ DQX ou DQ7	*58 (48,4)	22 (38,6)	0,2701	27 (30,0)	0,0096
TOTAL	119 (100)	57 (100)		90 (100)	

1.DQ2 em dose dupla

2.DQ2.2/DQ2.2, DQ2.2/DQ8, DQ2.5/DQ8 e DQ8/8 (DQ em homo ou heterozigose)

3.DQ2.2/DQ7, DQ2.5/DQ7 e DQ8/DQ7

4.DQ2.2/X, DQ2.5/X, DQ8/X

5.DQX/X, DQX/7 e DQ7/7

O HLA- DQ2 em dose dupla, foi mais elevada nos pacientes com TEA e com SD do que no grupo controle, porém sem significado estatístico (TABELA 2). O HLA-DQ2 e/ou DQ8, em homozigose ou heterozigose, foi mais prevalente no grupo de TEA e de SD, com valor de $p < 0,05$. Na análise de resíduos, confirmou-se a significância do valor de p para Síndrome de Down, porém não para o grupo de TEA.

O DQ7 e o DQX em homozigose ou heterozigose foram os genótipos mais prevalentes, sendo mais encontrados no grupo controle e menos encontrados no grupo de SD, com significância estatística confirmada pela análise de resíduo (TABELA 2).

Tabela 3- Frequência dos genótipos de HLA-DQ predisponentes para doença celíaca nos três grupos estudados.

Genótipo	Grupo controle: n (%)	Autismo n(%)	p valor *	SD n(%)	p valor *
DQ2.2/DQ2.2	5 (4,2)	7 (12,2)	0,0949	8 (8,8)	0,2713
DQ2.2/DQ2.5	8 (6,7)	7 (12,2)	0,3435	8 (8,8)	0,7486
DQ2.2/DQ8	1 (0,84)	3 (5,2)	0,1929	6 (6,6)	0,0536
DQ2.2/DQ7	8 (6,7)	0	0,1039	2 (2,2)	0,2751
DQ2.5/DQ2.5	0 (0)	1 (1,7)	0,7058	2 (2,2)	0,3594
DQ2.5/DQ8	1 (0,84)	3 (5,2)	0,1929	3 (3,3)	0,4279
DQ2.5/DQ7	5 (4,2)	2 (3,5)	0,8477	3 (3,3)	0,9680
DQ8/DQ8	3 (2,5)	0	0,5573	1 (1,1)	0,8205
DQ8/DQ7	2 (1,6)	2 (3,5)	0,8250	3 (3,3)	0,7512
DQ7/DQ7	6 (5,0)	3 (5,2)	0,7617	3 (3,3)	0,7960
DQX/DQX	12 (9,3)	12 (21)	0,0802	11 (12,2)	0,7903
DQ2.2/DQX	7 (5,9)	3 (5,2)	0,8557	14 (15,5)	0,0384
DQ2.5/DQX	11 (9,3)	5 (8,7)	0,8028	8 (8,8)	0,8771
DQ8/DQX	10 (8,4)	2 (3,5)	0,3756	5 (5,5)	0,6036
DQ7/DQX	*40 (33,8)	7 (12,2)	0,0049	13 (14,4)	0,0028
TOTAL	119 (100)	57 (100)		90 (100)	266

*Teste exato de Fischer

Conforme a Tabela 3, os genótipos mais frequentes no grupo controle foram DQ7/X (33,8%), DQ2.5/X (9,3%) e DQX/X (9,3%), enquanto no grupo do TEA, foram o DQX/X (21%), DQ2.2/2.2, DQ2.2/2.5 e DQ7/X, todos estes com 12,2% de prevalência e no grupo de SD, foram o DQ2.2/X (15,5%), DQ7/X (14,4%) e DQX/X(12,2%). A análise de resíduo mostrou que os genes DQ7/DQX tem relação com o grupo controle e com o grupo SD.

Tabela 4-Distribuição dos genótipos HLA-DQ conforme a classificação de risco para doença celíaca nos três grupos estudados.

Classificação	Grupo controle n (%)	Autismo n(%)	p valor	SD n(%)	p valor
Muito alto risco					
DQ2.5/DQ2.5	0	1 (1,5)		2 (2,2)	
DQ2.2/DQ2.5	8 (6,8)	7 (12,3)		8 (8,8)	
TOTAL	8 (6,8)	8 (14,0)	0,1940	10 (11,1)	0,3839
Alto risco					
DQ2.5/DQ8	1 (0,84)	3 (5,2)		3 (3,3)	
DQ2.2/DQ7	8 (6,8)	0		2 (2,2)	
DQ2.5/X	11 (9,2)	5 (8,7)		8 (8,8)	
DQ2.5/DQ7	5 (4,2)	2 (3,5)		3 (3,3)	
DQ8/DQ8	3 (2,5)	0		1 (1,1)	
TOTAL	28 (23,7)	10 (17,5)	0,4793	17 (18,8)	0,5233
Moderado risco					
DQ2.2/DQ2.2	5 (4,2)	7 (12,3)		8 (8,8)	
DQ2.2/DQ8	1 (0,84)	3 (5,2)		6 (6,6)	
DQ8/X	10 (8,4)	2 (3,5)		5 (5,5)	
DQ8/DQ7	2 (1,6)	2 (3,5)		3 (3,3)	
TOTAL	18 (15,3)	14 (24,7)	0,1902	22 (24,4)	0,1290
Baixo risco					
DQ2.2/X	7 (5,8)	3 (5,2)		14 (15,5)	
DQ7/DQ7	6 (5,0)	3 (5,2)		3 (3,3)	
DQ7/X	40 (33,6)	7 (12,3)		13 (14,4)	
TOTAL	53 (44,9)	13 (22,8)	0,0088	30 (33,3)	0,1345
Muito baixo risco					
DQX/X	12(9,3)	12 (21,0)	0,0802	11 (12,2)	0,7903
TOTAL	119 (100)	57 (100)		90 (100)	266

Na tabela 4, observa-se a distribuição dos grupos conforme a estratificação de risco. No grupo controle houve predomínio dos genótipos de baixo risco (44,9%), seguido dos genótipos de alto risco (23,7%). No grupo com TEA, predominou o grupo de moderado risco (24,7%) seguido pelo baixo risco (22,8%) e nos portadores de SD, a maioria (33,3%) apresentou baixo risco, seguido de moderado risco (24,2%). Observou-se maior frequência dos genótipos de muito alto e moderado risco nos pacientes com TEA e SD, porém, sem significância estatística.

5 DISCUSSÃO

O HLA-DQ2.2 foi o alelo de risco mais frequente e o DQ8, o menos frequente (TABELA 1), diferente dos resultados encontrados em outras regiões brasileiras e também no exterior. Almeida *et al* (2018), em Brasília, observou leve predomínio do alelo DQ2.5 sobre o DQ2.2. no grupo controle. Na Espanha, em estudo de Martinez-Ojinaga *et al* (2018), o alelo DQ2.5 foi o mais encontrado, sendo o alelo DQ2.2 o segundo mais frequente. Na Dinamarca, em estudo com indivíduos saudáveis, um total de 47,7% de pessoas foram positivas para DQ2 e/ou DQ8, sendo o DQ2.5 mais prevalente (KARHUS *et al*, 2018).

A ligação do HLA com DC foi descrita pela primeira vez em 1970, desde então alelos específicos dessa associação, bem como suas funções tem sido caracterizados. A DC ocorre quase exclusivamente em pessoas que expressam o HLA-DQ2.2, DQ2.5 ou DQ8 (NAPER; SOLHEIUM, 2016). O HLA-DQ2.5 é o alelo mais encontrado nos pacientes celíacos, sendo codificado em aproximadamente 90% dos pacientes afetados. Em segundo lugar, com maior frequência, temos o HLA-DQ8, seguido do HLA-DQ2.2 (J.A. TYE-DIN, 2015). Os poucos pacientes celíacos negativos para DQ2 e DQ8, são quase todos DQ7 positivos, o que confere baixo risco para DC (BERGSENG *et al*, 2015). Apesar do envolvimento desses alelos com a DC, eles também são encontrados em parte da população geral, sem contudo resultar em doença (SALLESE *et al*, 2020).

A maior prevalência de alelos de risco para DC no grupo de TEA, em nosso estudo, faz pensar que haja uma relação entre essas duas doenças, entretanto, tais achados não tiveram significância estatística. Bavykina *et al* (2020), na Rússia, encontrou 41,9% de predisposição para DC em pacientes com TEA. Em estudo de ALESSANDRIA *et al* (2019), na Itália, 48% dos pacientes com autismo tiveram positividade para os alelos predisponentes para DC, sendo estes valores superiores aos encontrados na população geral daquele País. Apesar destes estudos, a relação entre autismo e DC carece de comprovação, pois os resultados tem sido controversos (DOMSA *et al*, 2020; DURAZZO *et al*, 2022; PROSPERI *et al*, 2021). A doença celíaca é uma doença resultante da interação entre diversos fatores e talvez a chave para a melhor compreensão da correlação com o autismo esteja em outros fatores.

A maior ocorrência da doença celíaca em indivíduos com Síndrome de Down, tem sido comprovada em vários estudos (ALRUWAILY *et al*, 2017; ABDULRAZZAQ *et al*,

2018). Segundo DU *et al* (2018), a distribuição dos alelos de HLA predisponentes para DC em pacientes com SD é semelhante à encontrada na população geral, porém contrariando essa afirmação, um estudo de Bavykina *et al* (2020), na Rússia, mostrou presença de DQ2 nos 8 pacientes participantes. No atual estudo, a maior prevalência de alelos de risco no grupo de SD não teve significância estatística. Acredita-se que a maior prevalência de DC nos pacientes com SD se deve a ação de genes não -HLA, embora essa interação não seja por todo compreendida (DU *et al*, 2017).

Pouco se tem publicado, até o momento, sobre o HLA-DQ7, porém é conhecido que sua presença se associa a muito baixo risco para doença celíaca (TYE-DIN,2015). Em nosso estudo, ele foi encontrado em 51,7 % do grupo controle, valor bem superior ao encontrado em outros estudos e com significância estatística ($p < 0,05$) confirmada pela análise de resíduo. Na Itália, em estudo descritivo, em indivíduos sem DC, 31% eram positivos para esse alelo (TINTO *et al*, 2015). Na Síria, um estudo mostrou apenas 3,4% de positividade de DQ7 no grupo controle (MURAD *et al*, 2018). Conforme Tye-Din (2015), o risco para doença celíaca em indivíduos DQ7 é de 1:1184. A frequência de DC no Brasil é baixa, o que pode explicar nossa menor prevalência de DQ2.5, que é o principal alelo de risco genético para a DC e maior prevalência de DQ7, que confere muito baixo risco. Em estudo na Itália (TINTO *et al*, 2015), em pacientes celíacos, cujo teste para DQ2 e DQ8 foram negativos (4,2%), o HLA-DQ7 foi o alelo mais frequente. As diferentes especificidades para a ligação peptídica das moléculas DQ2 e DQ7 podem ser as responsáveis pelos diversos graus de risco para a DC e conseqüentemente pelas diferentes frequências nos pacientes (BERGSENG *et al*, 2015).

Existe um forte efeito de dose-gene no HLA-DQ2.5, com isso um indivíduo que é homozigoto formará apenas dímeros DQ2.5 na superfície das células apresentadoras de antígenos (APC), enquanto um indivíduo heterozigoto poderá apresentar apenas 25% do total de dímeros formados. O resultado disso é que no indivíduo homozigoto, o glúten apresentado às APC pode induzir uma resposta quatro vezes maior em comparação ao indivíduo heterozigoto (MARTINEZ-OJINAGA *et al*, 2018; TYE-DIN *et al*, 2015). Tanto nos EUA, quanto na Europa, esse efeito de dose-gene tem sido observado em estudos prévios. Na Itália, uma coorte de crianças com história familiar de DC, o risco de positividade para a doença foi mais alto naquelas que eram homozigotas para DQ2.5. (TYE-DIN *et al*, 2015).

Neste estudo, a frequência do genótipo DQ2 em dose dupla, grupo 1, foi mais elevada nos pacientes com TEA e com SD do que na população geral, porém sem significado estatístico (TABELA 2). O HLA-DQ2 e/ou DQ8, grupo 2 (TABELA 2), em homozigose ou heterozigose foi mais prevalente no grupo de TEA e de SD, com valor de $p < 0,05$. Todavia na análise de resíduos, com relação ao grupo com SD, a análise de resíduo comprovou a significância do valor de p para Síndrome de Down, discordando de estudos anteriores (DU *et al*, 2018). Ao avaliar o grupo controle versus TEA, a análise de resíduo mostrou significância para o grupo controle, o que infere não haver influência maior dos genes HLA-DQ2 e DQ8 nos pacientes com autismo do que na população geral. Croall *et al* (2021), em revisão de literatura, encontrou divergências entre os resultados dos estudos, com alguns relatando maior prevalência de genes HLA de risco para DC em pacientes com TEA e outros não. Como estabelecido pela literatura, o gene HLA não é fator suficiente para o desencadeamento da DC, assim, caso haja associação entre estas doenças, a mesma pode ser por ação de outros fatores ou outros genes que não o HLA (SHARMA *et al*, 2016). Em duas recentes revisões sistemáticas, a conclusão dos autores foi de não haver maior frequência de DC em pacientes com autismo. Eles sugerem as diferenças de metodologias e também a ocorrência de erro sistemático induzindo a tal associação (ZAMBRANO *et al*, 2022; QUAN *et al*, 2021).

O DQ7 e o DQX foram os genótipos mais frequentes, sendo mais encontrados no grupo controle (TABELA 2). O papel do DQ7 na DC, conquanto ainda incerto, tem sido colocado, por alguns autores, como de baixo ou muito risco, quando em homozigose, para a ocorrência da doença (MARTÍNEZ-OJINAGA, 2018; FERNANDEZ-FERNANDEZ *et al*, 2019). Assim, é interessante ressaltar a menor presença deste genótipo bem como do genótipo não de risco para DC nos grupos de TEA e de SD, o que pode favorecer o risco de desenvolver a doença. Em pesquisa nos bancos de dados, nenhum estudo sobre alelos de risco predisponentes para DC na região norte do Brasil foi encontrado. Em estudo realizado no Distrito Federal, 25,3% do grupo controle foi negativo para os alelos de risco (ALMEIDA *et al*, 2016). Em estudo mais recente em Brasília, 56,3% do grupo controle foi negativo para alelos de risco (ALMEIDA *et al*, 2018). Em estudo no Paraná, em 2015, 46,% do grupo controle era negativo para os alelos de risco. Estudo de Martinez-Ojinaga *et al* (2018), encontrou na Espanha 59,5% do grupo controle negativo para HLA-DQ de risco para DC. Tinto *et al* (2015), na Itália, em estudo com 4.869 participantes sem doença

celíaca, 33% eram negativos para o HLA-DQ2 e/ou DQ8. MURAD *et al* (2018), na Síria, encontrou frequência de 66,4% do grupo controle negativo para o HLA de risco para DC.

Como mencionado anteriormente, os indivíduos que apresentam alelos de risco em homozigose, apresentam maior chance para DC em relação aos que apresentam alelos em heterozigose (FERNANDEZ-FERNANDEZ *et al*, 2019). Na apresentação em heterozigose, as possíveis combinações modificam o risco de desenvolver DC (BASTOS, 2016). O alelo DQ7 confere muito baixo risco para DC, porém em associação com DQ2.2 constitui alto risco para a doença (FERNANDEZ-FERNANDEZ *et al*, 2019). Em estudo nos EUA, a correlação entre positividade para anticorpo anti-transglutaminase IgA e o tipo de genótipo mostrou que o genótipo DQ2.5/DQ8 apresentou risco elevado e similar ao genótipo DQ2.5 em cópia única. O HLA-DQ2.2 em duas cópias obteve maior risco, enquanto em cópia única, o menor risco (CHOUNG *et al*, 2020). Estudos para confirmar a significância do DQ2.2 em heterozigose são necessários (CHOUNG *et al*, 2020). Em estudo na Síria, os genótipos mais frequentes no grupo controle foram DX/X (60,3%), DQ2.2/DQ2.5 (10,3%), DQ2.5/X (6,9%) e DQ2.2/X (6,9%) (MURAD *et al*, 2018). Na Espanha, Martinez-Ojinaga *et al* (2018) encontrou maior frequência dos genótipos DQX/X (32,95%), DQ7.5/X (23,18%), DQ2.5 cis (20,4%) e DQ2.2/X (19,55%). Analisando essas frequências genotípicas (TABELA 3), percebemos que o percentual dos alelos de baixo ou muito baixo risco foram semelhantes, tendo no nosso grupo controle 53,4% referentes aos genótipos DQ7/X e DQX/X; na Síria, 60,3% de DQX/X; na Espanha 56,13% referentes a DQX/X e DQ7/X.

Até o momento, não existe unanimidade quanto a estratificação de risco para os alelos predisponentes para DC, entretanto, classificar o paciente como risco simplesmente por ser positivo ou negativo para um determinado alelo é insuficiente, dado o fato de que alguns alelos, bem como suas possíveis combinações podem elevar ou diminuir a chance de desenvolvimento da DC (TYE-DIN *et al*, 2015). Bajor *et al* (2018), na Hungria, estratificou os genótipos em alto risco, risco intermediário e baixo risco. Silvestri *et al* (2018) na Itália apresentou um gradiente de risco, indo dos genótipos DQ2/DQ2 (alto risco) a DQ2/ β 2, DQ8/ β 2, DQ2/DQ8 ou DQ2/X, DQ8/DQX e DQ α 5/X (baixo risco). Martinez-Ojinaga *et al* (2018), considerando a prevalência de DC de 1:100, calculou o risco baseado nas combinações dos genótipos, tendo maiores riscos com os genótipos DQ2.5/DQ2.5 e DQ2.5/DQ2.2, ambos 1:12; seguido de DQ8/DQ8 (1:25), DQ2/DQ7.5 (1:35), DQ2.5/DQX (1:42), DQ2.5/DQ7.5 (1:60) e o menor risco com o genótipo DQ7.5/DQX (1:3857). Nenhum paciente apresentava DQX/X. A partir daí, ele estratificou

em muito alto, alto, moderado e baixo risco. Gudeta *et al* (2020), na Etiópia, usou uma classificação semelhante, colocando o DQX/X como muito baixo risco.

No presente estudo, não foi possível calcular o risco de desenvolver DC, porém com base em estratificações de estudos prévios (GUDETA *et al*, 2020; Martinez-Ojinaga *et al*, 2018), classificamos os genótipos encontrados nos participantes (TABELA 4). Em estudos prévios no Brasil, não foram encontrados resultados com estratificação de risco. Na Arábia Saudita, AL-Hussaini *et al* (2019), obteve no grupo controle, maior frequência dos genótipos de alto risco, seguido dos genótipos de muito baixo risco. A DC na Arábia Saudita tem prevalência de 1.5%, mais elevada que a presumida no Brasil (AL-Hussaini *et al.*, 2019; ALMEIDA *et al*, 2018). Gudeta *et al* (2020), na Etiópia, onde a DC ainda é pouco conhecida, estudando crianças não celíacas, obteve maior frequência de genótipos de muito baixo risco, seguido dos genótipos de moderado e muito alto risco. As discrepâncias entre esses resultados possivelmente se devem à falta de uma estratificação de risco padronizada, associada às diferenças metodológicas empregadas nos estudos, o que dificulta uma comparação.

É conhecido que sintomas gastrointestinais podem acometer entre 9 e 91% dos pacientes com TEA, diminuindo sua qualidade de vida. Mudanças comportamentais são mais prevalentes em pacientes com dor abdominal, diarreia e constipação (Leader *et al*, 2022). Com a finalidade de melhorar as alterações comportamentais, dieta sem glúten tem sido indicada para alguns desses pacientes nos últimos anos, considerando a possibilidade de correlação desta com DC (CROALL; HOGGARD; HADJIVASSILIOU, 2021). Contudo, sua eficácia é contestada e é importante ressaltar que seu elevado custo, associado a uma falsa crença de que alimentos sem glúten são mais saudáveis e ao risco de deficiência nutricional de macro e micronutrientes não justifica seu uso indiscriminado (DIEZ-SAMPEDRO *et al*, 2019).

Em 2020, a ESPGHAN publicou o guideline mais recente sobre DC e nele não consta orientação de triagem sorológica para DC em pacientes assintomáticos, com autismo diferente dos portadores de SD. Quanto ao uso dos testes genéticos, o guideline manteve a orientação de indicá-lo em situações de dúvida diagnóstica, porém como critério para excluir a doença (EUROPEAN SOCIETY FOR PEDIATRIC GASTROENTEROLOGY, HEPATOLOGY AND NUTRITION, 2020).

6 CONCLUSÃO

O alelo de risco mais encontrado nos três grupos foi o DQ2.2, diferente da maioria dos estudos prévios.

O DQ7 foi mais comum no grupo controle, com 51,7% de positividade, valor maior que o encontrado em estudos de outros Países.

Os pacientes com TEA e SD apresentaram frequência de genótipos de risco para DC mais elevada que o grupo controle, contudo essa diferença foi significativa apenas para o grupo com SD ($p= 0,0256$).

Na estratificação de risco, a maioria do grupo controle (44,9%) e do grupo de SD (33,3%) foi classificada como de baixo risco para DC, enquanto no grupo de TEA (24,7%), a maioria ficou no grupo de risco moderado para a doença celíaca.

Com base neste estudo, não há diferença na frequência dos alelos HLA-DQ de risco para DC nos pacientes com autismo e na população geral, diferente dos indivíduos com SD, os quais apresentaram maior frequência de HLA de risco para DC do que a população geral.

REFERENCIAS

1. ABDEL-MAKSOUUD, M. *et al.* Measures of gluten-related reactivity in children with autism spectrum disorders in the absence of overt gastrointestinal symptoms: a pilot study from the United Arab Emirates. **Journal of International Medical Research**, 48 (9), 1-10, 2020.
2. ABDULRAZZAQ, Y. *et al.* Occurrence of hypothyroidism, diabetes mellitus, and celiac disease in Emirati children with Down's Syndrome. **Oman Medical Journal**, vol. 33, Nº 5: 387-392, 2018.
3. AIRAKSINEN, L. *et al.* Influence of HLA-DQ2.5 Dose on clinical Picture of unrelated celiac disease patients. **Nutrients**, 12, 3775, 2020.
4. ALLESANDRIA, C. *et al.*, HLA-DQ genotyping, duodenal histology, and response to exclusion dieta in autistic children with gastrointestinal symptoms. **JPGN**, Volume 69, Number 1, july, 2019.
5. ALEXANDER, R.; ABDULLAH, M. Celiac Disease. **The Indonesian Journal of Gastroenterology, Hepatology and Digestive Endoscopy**. Volume 18, number 3, December, 2017.
6. AL-BAWARD, B. *et al.* Celiac disease: a clinical review. **Abdom Radiol (NY)**. 42 (2): 351-360, 2017.
7. ALMEIDA, F.C *et al.* **Prevalencia dos genes HLA-DQ2 e DQ8 predisponentes para doença celíaca, em recém-nascidos do Distrito Federal**. Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre, 2014.
8. ALMEIDA, L M *et al.* **Presence of DQ2.2 associated with DQ2.5 increases the risk for celiac disease. Autoimmune Diseases. volume**, 2016.
9. ALMEIDA, F.C *et al.* Frequency of HLA-DQ, susceptibility genotypes for celiac disease, in Brazilian newborns. **Mol Genet Genomic Med**. 6: 779-784, 2018.
10. ALRUWAILY, F. *et al.* Prevalence of celiac disease in Saudi children with Down Syndrome: A retrospective study. **International Journal of Pediatric and Adolescent Medicine**. 4, 51-53, 2017.
11. AL-HUSSAINI, A *et al.* HLA-DQ genotypes relative risks for celiac disease in Arabs: a case control study. **J Dig Dis**. 1-7, 2019.
12. ALVAREZ, Y.T. *et al.* El complejo mayor de histocompatibilidad. Organización genética, estructura, localización y función. **Panorama. Cuba y Salud**; 13 (1): 53-57, 2018.
13. ÁLVARO-BENITO, M. *et al.* HLA-DMA Polymorphisms differentially affect MHA class II peptide Loading. **J Immunol**, 194:803-816, 2015.

14. ARAYA, P. *et al.* Trisomy 21 dysregulates T cell lineages toward an autoimmunity-prone state associated with interferon hyperactivity. **PNAS**, vol.116, nº 48, 24231-24241, november 26, 2019.
15. BABURAMANI, A.A. *et al.* New approaches to studying early brain development in down syndrome. **Development Medicine & Child Neurology**, 61:867-879,2019.
16. BAJOR, J *et al.* HLA-DQ2 homozygosity increases tTGA levels at diagnosis but does not influence the clinical phenotype of coeliac disease: a multicentre study. *Int J Immunogenet.* 46:74-81, 2019.
17. BASCUNAN, K.A. *et al.* Dietary Gluten as a Conditioning Factor of the Gut Microbiota in Celiac Disease. **Adv Nutr**, 11: 160-174, 2020.
18. BASTOS, M.D. **Pesquisa de polimorfismo HLA e não HLA em pessoas com diabetes mellitus tipo 1 e com doença celíaca.** Tese para obtenção do título de Doutor. Porto Alegre, Brasil, 2016.
19. BAVYKINA, I A *et al.* Markers of gluten intolerance in children with autism spectrum disorders and Down's syndrome. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 118 (5 Vyp.2):64-68. Russian, 2018.
20. BENNANI, M. *et al.* HLA-class II haplotypes and autism spectrum disorders. **Scientific Reports**, 8: 7639, 2018.
21. BERGSENG, E. *et al.* Different binding motifs of the celiac disease-associated HLA molecules DQ2.5, DQ2.2 and DQ7.5 revealed by relative quantitative proteomics of endogenous peptide repertoires. **Immunogenetics**, 67: 73-84, 2015.
22. BODIS, G.; TOTH, V.; SCHWARTING, A. Role of human leukocytes antigens (HLA) in autoimmune diseases. **Rheumatol Ther**, 5:5-20, 2018.
23. BROWN JR, G.; SINGH, P. Coeliac disease. *Paediatr Int Child Health.* 39 (1):23-31, 2018.
24. BUITEN, C.B.V.; ELIAS, R.J. Gliadin Sequestration as a Novel Therapy for Celiac Disease: A prospective Application for Polyphenols. **Int. j. Mol. Sci.** 22,595, 2021.
25. CAIO, G. *et al.* Celiac disease: a comprehensive current review. **BMC Medicine**, 17:142, 2019.
26. CALDERONI, S. *et al.* Serological screening for Celiac Disease in 382 pre-schoolers with Autism Spectrum Disorder. **Italian Journal of Pediatrics** 42:98, 2016.

27. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), **Autism Spectrum Disorder**-<https://www.cdc.gov/ncbddd/autism/data.html> em 02/11/2022.
28. CHOUNG, R S et al. Celiac disease risk stratification based on HLA-DQ heterodimer (HLA-DQA1 ~ DQB1) typing in a large cohort of adults with suspected celiac disease. *Human Immunology*, <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2020.01.006>
29. CICCOCIOPPO, R *et al.* The Spectrum of Differences between Childhood and Adulthood Celiac Disease. **Nutrients**, 7, 8733–8751 2015.
30. COBURN, S.S., PUPPA E. L.; BLANCHARD, S. Psychological comorbidities in childhood celiac disease: a systematic review. **JPGN**, volume 69, Number 2, 2019
31. CROALL, I.D., HOGGARD, N.; HADJIVASSILIOU, M. Gluten and Autism Disorder. **Nutrients**, 13, 572, 2021.
32. D' ANTONIO, M. *et al.* Systematic genetic analysis of the MHC region reveals mechanistic underpinnings of HLA type associations with disease. **eLife**, 8,1-27, 2019.
33. Departamento Científico de Pediatría do Desenvolvimento e Comportamento-Sociedade Brasileira de Pediatría (2017) **Triagem precoce para Autismo/ Transtorno do Espectro Autista** N° 1.
34. DÍAZ-REDONDO, A. *et al.* The potential usefulness of human leukocyte antigen typing for celiac disease screening: A systematic review and meta-analysis. **Rev Esp Enferm Dig** Vol. 107, N.º 7, pp. 423-429, 2015.
35. DIEZ-SAMPEDRO, A et al. A gluten-free diet, not na apropiat choice without a medical diagnosis. *Journal of Nutrition and Metabolism*.2019. <https://doi.org/10.155/2019/2438934>.
36. DOMSA, E.M. *et al.* Celiac disease: a multi-faceted medical condition. **Journal of Physiology and Pharmacology**, 71, 1, 3-14, 2020.
37. DU, Y. *et al.* Prevalence of celiac disease in pacientes with down syndrome: a meta-analysis. *Oncotarget*, vol. 9, N° 4, 4387-5396, 2018.
38. DURAZZO, M. *et al.* Extra-intestinal manifestaitons of c eliac disease: What souldwe know in 2022? **J. Clin. Med.** 11,258, 2022.
39. FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, S et al. Prevalence of celiac disease in a long-term study of Spanish at-genetic-risk cohort from the general population. *JPGN*. Volume 68, number 3, 2019.
40. FERRARI, M.; STAGI, S. Autoimmunity and genetic syndromes: a focus on down syndrome. **Genes**, 12,268, 2021.

41. FREEMAN, H.J. Celiac Disease: A Disorder Emerging from Antiquity, Its Evolving Classification and Risk, and Potential New Treatment Paradigms. **Gut and Liver**, Vol. 9, No. 1, pp. 28-37, January, 2015.
42. GATTI, S. *et al.* Increased Prevalence of Celiac Disease in School-age Children in Italy. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 18 (3): 596-603, 2020.
43. GENOVESE, A.; BUTLER, M. Clinical assessment, genetics, and treatment approaches in autismo spectrum disorder (ASD). **Int. J. Mol. Sci.** 21, 4726, 2020.
44. GIALLORETI, L. E. *et al.* Risk and protective environmental factors associated with autismo spectrum disorder: evidence-based principles and recommendations. **J. Clin. Med**, 8, 217, 2019.
45. GOLDBERG, A.C.; RIZZO, L.V. Estruturado MHC e função-apresentação de antígenos. Parte 1. **Einstein**; 13 (1), 2015.
46. GONÇALVES, KS *et al.* Doença Celíaca. **Rev. Conexão Eletrônica** – Três Lagoas, MS - Volume 14 – Número 1 – Ano 2017.
47. GOODMAN, R. P.; CHUNG, D. C. Clinical Genetic Testing in Gastroenterology. *Clinical and Translational*. **Gastroenterology** 7, e167, 2016.
48. GRIESI-OLIVEIRA, K.; SERTIÉ, A.L. Transtornos do espectro autista; um guia atualizado para aconselhamento genético. **Einstein**, 15 (2); 233-8, 2017.
49. GUDETA, A N *et al.* Distribution of HLA-DQ risk genotypes for celiac disease in Ethiopian children. *HLA*. 96:681-687; 2020.
50. GUENAT, D. *et al.* DNA damage response defect in Williams-Beuren syndrome. **International journal of molecular medicine** 39: 622-628, 2016.
51. HARDY, M. Y.; Tye-Din, J.A. Coeliac disease: a unique model for investigating broken tolerance in autoimmunity. **Clinical & Translational Immunology**, 5, e112;2016.
52. HOUMICH, T.B. & ADMOU, B. Celiac disease: Understandings in diagnostic, nutritional, and medicinal aspects. **International Journal of Immunology & Pharmacology**, volume 35:1-22, 2021.
53. HUGGARD, D.; DOHERTY, D.G.; MOLLOY, E.J. Immune dysregulation in children with down syndrome. **Frontiers in pediatrics**, volume 8, article 73, 2020.
54. HUJOEL, I.A., REILLY, N.R.; RUBIO-TAPIA, A. Clinical Features and Diagnosis. **Gastroenterol Clin N Am**. 2018.
55. HUNG, S. *et al.* Epitope selection for HLA-DQ2 presentation: Implications for celiac disease and viral defense. **J.Immunol**, 202:2558-2569, 2019.

56. JABRI, B.; SOLLID, L.M. T Cells in Celiac Disease. **J.Immunol**, 198:3005-3014, 2017.
57. JAMES, D.M. *et al.* The GUT-Brain-Microbiome Axis and its link to autism: emerging insights and the potential of zebrafish models. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, volume 9, article 662916, 2021.
58. JUNEJA, M. *et al.* Autism Spectrum Disorders and Celiac Disease: Is there an Association? **Indian Pediatric**, volume 55-october 15, 2018.
59. KARHUS, L L *et al.* The distribution of HLA DQ2 and DQ8 haplotypes and their association with health indicators in a general Danish population. **United European Gastroenterology Journal**, vol. 6 (6), 868-878, 2018.
60. KOCHHAR, *et al.* Celiac disease: Managing a multisystem disorder. **Cleveland Clinic Journal of Medicine** volume 83 • number 3 march 2016.
61. KOTSIAS, F.; CELEBRIAN, I.; ALLOATTI, A. Antigen processing and presentation. **International Review of cell and Molecular Biology**. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2019.07.005>
62. KUSHAK, R.I. *et al.* Evaluation of Intestinal Function in Children With Autism and Gastrointestinal Symptoms **JPGN** 2016;62: 687–691, 2016.
63. KULSKI, J.K.; SHIINA, T.; DIJKSTRA, M. Genomic Diversity of the Major Histocompatibility complex in Health and Disease. **Cells**, 8, 1270, 2019.
64. KUZNETSOV, A. *et al.* Critical Review of Existing MHC I Immunopeptidome Isolation Methods. **Molecules**, 25, 5409, 2020.
65. LAURIKKA, P. *et al.* Extraintestinal Manifestations of celiac disease: early detection for better long-term outcomes. **Nutrients**, 10,1015, 2018.
66. LEFTER, R. *et al.* A descriptive review on the prevalence of gastrointestinal disturbances and their multiple associations in autism spectrum disorder. **Medicina**, 56, 11, 2020.
67. LEADER, G *et al.* Gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorder: a systematic review. **Nutrients**, 14,1471, 2022.
68. LIGHTDALE, J. R. The Gut Speaks: Reframing the Role of Pediatric Gastroenterologists Caring for Children With Autism and Gastrointestinal Symptoms. **JPGN** Volume 63, Number 3, 2016.
69. LUDVIGSSON, J. F. *et al.* Celiac disease and down syndrome mortality: a Nationwide cohort study. **BMC Pediatrics** 17: 41, 2017.

70. LUDVIGSSON, J. F. *et al.* A Nationwide Study of the Association Between Celiac Disease and the Risk of Autistic Spectrum Disorders. **JAMA Psychiatry**. Volume 70, Number 11, 2013.
71. MAJUMDER, J.P. *et al.* A super enhancer controls expression. And chromatin architecture within the MHC class II locus. **J. Exp. Med.** Vol. 2017, nº 2, 2020.
72. MALAMUT, G.; CORDING, S.; CERF-BENSUSSAN, N. Recent advances in celiac disease and refractory celiac disease. **F1000Research**, 8:969, jun, 2019.
73. MARTINEZ-OJINAGA, E *et al.* HLA-DQ distribution and risk assessment of celiac disease in a Spanish center. **Ver Esp Enferm Dig**, 110 (7): 421-426, 2018.
74. MAZUREK, D.; WYKA, J.. Down syndrome genetic and nutritional aspects of accompanying disorders. **Rocz Panstw Zakl Hig.** 66(3):189-194, 2015.
75. MIHÇI, E. *et al.* Celiac disease in patients with Williams-Beuren syndrome. **The Turkish Journal of Pediatrics** 57:599-604, 2016.
76. MURAD, H. *et al.* HLA-QD2 and -DQ8 genotype frequency in Syrian celiac disease children: HLA-DQ relative risk evaluation. **BMC Gastroenterology**, 18:70, 2018.
77. NARDECCHIA, S. *et al.* Extraintestinal manifestations of coeliac disease in children: clinical features and mechanisms. **Frontiers in Pediatrics**, volume 7, article 56, 2019.
78. NAPER, C; SOLHEIM, B G. HLA antigens and alleles. *In*: SIMON, L et al. **Rossi's Principles of Transfusion Medicine**, fifth edition, editora John Wiley & Sons, Ltd. 2016. p. 456-463.
79. NIEHRS, A.; ALTFELD, M. Regulation of NK-Cell function by HLA Class II. **Frontiers in cellular and infection Microbiology**, volume 10, 55,2020.
80. PANISI, C. *et al.* Autism Spectrum Disorder from the womb to adulthood: suggestions for a paradigma shift. **J. Pers. Med.** 11,70, 2021.
81. PARZANESE, I. et al., Celiac disease: From pathophysiology to treatment. **World J Gastrointest Pathophysiol.**, May 15; 8(2): 27-38, 2017.
82. PAVLOVIC, M.; BERENJY, K.; BUKUROV, M. Screening of celiac disease in Down syndrome - Old and new dilemas. **World J Clin Cases.**5(7): 264-269, 2017.
83. PÉCORA, R.A.A. **Associações dos anticorpos anti-HLA pré-formados e da compatibilidade HLA à rejeição celular aguda precoce no transplante hepático.** Tese de doutorado. São Paulo, 2016.
84. PENNISI, M. *et al.* Neurophysiology of the “Celiac Brain”: Disentangling Gut-Brain Connections. **Frontiers in Neuroscience**, vol 11, artigo 498, 2017.

85. POPP, A. *et al.* Diagnosing Celiac Disease: Towards Wide-Scale Screening and Serology-Based Criteria? **Gastroenterology Research and Practice**. 2019.
86. PROSPERI, M *et al.* Prevalence and clinical features of Celiac Disease in a cohort of Italian children with Autismo Spectrum Disorders. **Nutrients**, 13, 3046, 2021.
87. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença Celíaca-CONITEC. PORTARIA Nº 1149, DE 11 DE NOVEMBRO DE 2015-MS.
88. QUAN, J. *et al.* Association between celiac disease and autismo spectrum disorder:a systematic review. *J Pediatric Gastroenterol Nutr.* 1; 72 (5):704-711. 2021.
89. RAMAJRISHNA, B. S *et al.* Human Leukocyte Antigen DQ (HLA-DQ) genotypes and haplotypes and their association with phenotype in patients with celiac disease in India. **Journal of Gastroenterology and hepatology**. 5, 1190-1196, 2021.
90. REMES-TROCHE, J.M. *et al.* Guia clinica para diagnostico y tratamiento de la enfermedad celíaca en Mexico. **Revista de Gastroenterologia de Mexico**; 83 (4): 434-450, 2018.
91. RISTORI, M.V. *et al.* Autism, Gastrointestinal Symptoms and Modulation of Gut Microbiota by Nutritional Interventions. **Nutrients**, 11, 2812, 2019.
92. RONDAL, J.A. Down síndrome: a curative prospect? **AIMS Neuroscience**, volume 7 (2):168-193, 2020.
93. RUBIO-TAPIA, A. *et al.* American College of Gastroenterology Clinical Guideline: Diagnosis and management of celiac disease. **Am J Gastroenterol**. 108 (5): 656-677. 2013.
94. SABIT, H. *et al.* Gut microbiota metabolites in autistic children: na epigenetic perspective. **Heliyon**, 7, e06105, 2021.
95. SALLESE, M. *et al.* Beyhond the HLA Genes in Gluten-Related Disorders. **Frontiers in Nutrition**. Volume 7, November, 2020.
96. SAVVATEEVA, L. V. *et al.* Current Paediatric Coeliac Disease Screening Strategies and Relevance of Questionnaire Survey. **Int Arch Allergy Immunol**, 177:370-380, 2018.
97. SANCHEZ, D. *et al.*, Contribution of infectious Agents to the Development of Celiac Disease. **Microorganisms**, 9, 547, 2021.
98. SCIURTI, M. *et al.* Genetic susceptibility and celiac disease: what role do HLA haplotypes play? **Acta Biomed**, vol.89. 9: 17-21, 2018.
99. SCHERF, K. A. *et al.* Recent Progress and Recommendations on Celiac Disease From the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity. **Frontiers in Nutrition**. Volume 7, article 9, march, 2020.

- 100.SELIGER, B.; KLOOR, M.; FERRONE, S. HLA class II antigen-processing pathway in tumor: molecular defects and clinical relevance. **Oncoimmunology**, vol. 6, Nº 2, 2017.
- 101.SELLESKI, N. et al. Prevalence of celiac disease predisposing genotypes, including HLA-DQ2.2 variante, in Brazilian children. *Arq Gastroenterol.* V.55 nº1 jan/mar, 2018.
102. SGARB, F. *et al.* Alta concomitância de doenças autoimunes em um paciente com síndrome de down. **Arq Asma Alerg Imunol**, vol 2, Nº 1, 2018.
- 103.SHARR, C. *et al.* Detecting Celiac Disease in Patients with Down Syndrome. **Amerian Journal of Medical genetics**. DOI 10.1002/ajmg.a.37879. 2016.
- 104.SHARMA, A et al. Identification of non-HLA genes associated with celiac disease and country-specific differences in a large, international pediatric cohort. *PLOS ONE* 11(3):e0152476.
- 105.SINGH, P. *et al.* Global Prevalence of Celiac Disease: Systematic Review and Meta-analysis. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, vol. ,2017. 1.
- 106.SINGH, A. *et al.* Non-invasive Biomarkers for Celiac Disease. **J. Clin. Med.** vol.8, 885; 2019.
- 107.SILVESTRI, A D et al. HLA-DQ genetics in children with celiac disease: a meta-analysis suggesting a two-step genetic screening procedure starting with HLA-DQ β chains. *Pediatric RESEARCH* volume 83, number 3, 2018.
- 108.SLIM, M.; RICO-VILLADEMOROS, F.; CALANDRE, E.P. Psychiatric comorbidity in children and adults with gluten-related disorders: a narrative review. **Nutrients**, 10, 875, 2018.
- 109.SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. Diretrizes de atenção à saúde de pessoas com síndrome de down. Março, 2020.
- 110.SZAFLARSKA-POPŁAWSKA, A.*et al.* Assesment of coeliac disease prevalence in pacientes with down syndrome in Poland-a multi-centre study. *Przegląd International Journal of Celiac Disease*, vol.3. No.4,132-135, 2015.
- 111.SZAFLARSKA-POPŁAWSKA, A. The Relationship of Autismo Spectrum Disorders and Celiac Disease and Gluten-free Diet. ,11 (1), 2016.
- 112.TAYLOR, A. K. *et al.* Celiac disease. 2008 jul 3 (Updated 2019 jan 31). In: Adam M.P. et al., editors. *GeneReviews* (Internet).<https://www.ncbi.nih.gov/books/>
- 113.TARAGHIKHAH, N. *et al.*, An updated overview of spectrum of gluten-related disorders: clinical and diagnostic aspects. **BMC Gastroenterology**, 20:258, 2020.

114. TINTO, N. *et al.* High frequency of haplotype HLA-DQ7 in celiac disease patients from South Italy: retrospective evaluation of 5,535 subjects at risk of celiac disease. **PLOS ONE** 10 (9): e0138324, 2015.
115. TROVATO, C.M. *et al.* The Challenge of Treatment in Potential Celiac Disease. **Gastroenterology Research and Practice**. august, 2019.
116. TYE-DIN, J.A. *et al.* Appropriate clinical use of human leukocyte antigen typing for coeliac disease. *Internal Medicine Journal*. 45, 2015.
117. TYE, C. *et al.* Characterizing the interplay between autism spectrum disorder and comorbid medical conditions: and integrative review. **Frontiers in Psychiatry**, volume 9, article 751, 2019.
118. TYE-DIN, J.A., GALIPEAU, H.J., AGARDH, D. Celiac Disease: A Review of Current Concepts in Pathogenesis, Prevention, and Novel Therapies. **Frontiers in Pediatrics**, Volume 6, November, 2018.
119. VAN BERGE-HENEGOUWEN, M. Pioneer in the gluten free diet: Wille-Karel Dicke 1905-1962, over 50 years of gluten free diet. **Gut**, 34:1473, 1993.
120. YU, X.B. *et al.* Autoantibodies in the extraintestinal manifestations of celiac disease. **Nutrients**, 10, 1123, 2018.
121. WIESER, H.; KOEHLER, P.; SCHERF, K.A. The two faces of wheat. **Frontiers in Nutrition**, volume 7, october, 2020.
122. World Gastroenterology Organisation- Celiac Disease (Long version). July, 2016
123. WEI, G. *et al.* Gluten Degrading Enzymes for Treatment of Celiac Disease. **Nutrients**, 12, 2095, 2020.
124. WU, X.; LI, W.; ZHENG, YUN. Recent progress on relevant microRNAs in autism spectrum disorders. **Int. J. Mol. Sci.** 21, 5904, 2021.
125. YOON, S.H. *et al.* Genetic and Epigenetic Etiology Underlying Autism Spectrum Disorder. **J. Clin. Med.**, 9, 966, 2020.
126. ZAKHAROVA, M. Y. *et al.* The Contribution of major Histocompatibility complex class II Genes to an association with autoimmune diseases. **Acta Naturae**, vol 11, n° 4(43), 2019.
127. ZAMBRANO, S *et al.* Celiac disease in autism spectrum disorder: data from an Italian child cohort. *Research Square*. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1151916/v1>. 2022.
128. ZHU, J., MULDER, C.J.J, DIELEMAN, L.A. Celiac Disease: Against the Grain in Gastroenterology. **Journal of the Canadian Association of Gastroenterology**, 2(4), 161-169, 2019.

ANEXO A- APROVAÇÃO PELO CEP

Publico Pesquisador Alterar Meus Dados Kátia S

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PREVALÊNCIA DOS GENES HLA-DQ2 E DQ8, PREDISPOANTES PARA DOENÇA CELÍACA, EM PACIENTES CELÍACOS E NÃO CELÍACOS, EM BELÉM-PA
Pesquisador Responsável: Kátia Soares de Oliveira
Área Temática: Genética Humana
(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.)

Versão: 1
CAAE: 69613517.1.0000.5171
Submetido em: 10/06/2017
Instituição Proponente: Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: Ministério da Saúde
Financiamento Próprio

Comprovante de Receção: PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_925464

DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA

Tipo de Documento	Situação	Arquivo	Postagem	Ações
Versão em Tramitação (E1) - Versão 2				
Pendência Documental (E1) - Versão 2				
Documentos do Projeto				

APENDICE A-TCLE

FUNDAÇÃO SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DO PARÁ

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Baseado na Resolução Nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde)

Prezado(a) Senhor(a),

O(A) Senhor(a) foi convidado a participar da pesquisa intitulada **“PREVALÊNCIA DOS GENES HLA-DQ2 E DQ8 EM PACIENTES COM SINDROME DE DOWN, PACIENTES COM TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA E POPULAÇÃO GERAL”**, que está sendo realizada pela médica Kátia Soares de Oliveira, aluna da Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal do Pará, sob orientação do Dr. Rommel Mario Rodriguez Burbano, professor da referida Pós-Graduação.

Esclarecimento da pesquisa

O(A) Senhor(a), que é o responsável ou cuidador da criança que trouxe à consulta médica neste hospital, pode contribuir de maneira voluntária e não remunerada com esta investigação acerca dos aspectos genéticos da Doença Celíaca.

A doença celíaca é uma intolerância permanente ao glúten, proteína encontrada no trigo, centeio, cevada, malte e aveia. A doença celíaca ocorre em pessoas com tendência genética à doença, depende dos genes (genótipo) de cada paciente. Vários estudos no mundo tem sido feitos para se conhecer qual o percentual de pessoas na população geral tem tendência genética a doença celíaca. Nesse estudo, pesquisaremos a tendência genética de pessoas sem doença celíaca e de pessoas com doença celíaca em Belém-PA.

A sua participação se dará através de respostas a algumas perguntas dispostas em um pequeno questionário a ser apresentado por este pesquisador, e pela doação de amostra de sangue- 2,5ml do seu(a) filho(a), o qual após coletado será encaminhado ao Laboratório de Biologia Molecular do Hospital Ophyr Loyola em Belém-Pará para análise do HLA-DQ2 e HLA-DQ8, objetivando pesquisar a característica genética em relação a predisposição a doença celíaca.

Destacamos que a realização desta pesquisa incorre em risco mínimo. Quanto a coleta de sangue, o paciente poderá ter hematoma ou infecção local, caso isso ocorra, o paciente será atendido no Ambulatório de Gastroenterologia Pediátrica (Doença celíaca), da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará, pela referida aluna da Pós-Graduação. Além disso, o paciente tem o risco de haver revelação de sua identidade, para evitar isso, não haverá identificação dos pacientes nos questionários, apenas um número. Os pesquisadores se comprometem a manter total sigilo dos dados. Os resultados do estudo serão publicados o meio acadêmico e científico, em conjunto, sem que haja identificação de qualquer um dos envolvidos na pesquisa. Os benefícios deste estudo são proporcionar aos pacientes a identificação dos genótipos relacionados a doença celíaca, sem qualquer custo ao mesmo, favorecer o conhecimento da prevalência dos genótipos relacionados a

Doença celíaca, em Belém, além do aprofundamento dos conhecimentos acerca do referido tema. Esses conhecimentos, provavelmente, contribuirão para o diagnóstico da doença celíaca.

Ressaltamos que em qualquer momento do estudo, o(a) Senhor(a) poderá obter esclarecimentos sobre os procedimentos utilizados neste e na forma de divulgação com que procederemos, bem como solicitar a retirada de sua participação da pesquisa sempre que lhe aprouver e sem nenhum prejuízo a sua pessoa. Caso sinta necessidade de obter esclarecimentos sobre o presente estudo, o Senhor(a) poderá entrar em contato com a pesquisadora, bem como com o Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará (CEP – FSCMPA). A pesquisadora responsável pela pesquisa é a médica Kátia Soares de Oliveira, cujo endereço é Rua Oliveira Belo, 395, Belém-PA. Telefone: 4009-2271 e e-mail: gastroped2004@gmail.com

Este termo foi elaborado em duas vias, sendo que uma ficará com o(a) Senhor(a) e a outra será arquivada pelos pesquisadores responsáveis. Caso não tenham ficado dúvidas e se o(a) Senhor(a) estiver de acordo com este documento, pedimos que assine o Consentimento Livre e Esclarecido no local indicado logo abaixo.

Consentimento Livre e Esclarecido(pós-informado)

Declaro que li as informações acima e que me sinto perfeitamente esclarecido acerca do conteúdo desta pesquisa, de seus propósitos, de suas garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Declaro ainda que, por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa cooperando com todas as informações necessárias, podendo retirar meu consentimento a qualquer momento sem precisar justificar o motivo de minha desistência e sem sofrer penalidades de natureza alguma.

Declaro que obtive de forma apropriada, voluntária e não remunerada o corrente Consentimento Livre e Esclarecido para fins estritamente acadêmicos e científicos.

Belém, _____ de _____ de _____

Assinatura do entrevistado

Pesquisadora Kátia Soares de Oliveira

Pesquisadora Responsável

Médica Gastroenterologista Pediátrica, CRM-PA 7069

FSCMPA-Rua Oliveira Belo, 395- Belém-PA. Tel: 4009-2271

E-mail: gastroped2004@gmail.com

Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará (CEP – FSCMPA)

Rua Oliveira Belo, n.395 – Belém – Pará. Tel: 4009-2264. E-mail: cep@santacasa.pa.gov.br

APENDICE B-TERMO DE ASSENTIMENTO

FUNDAÇÃO SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DO PARÁ

**TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E
ESCLARECIDO**

Você está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada: **“PREVALÊNCIA DOS GENES HLA-DQ2 E DQ8, PREDISPOSTOS PARA DOENÇA CELÍACA, EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS, EM BELÉM-PA.**

”Seus pais permitiram que você participe. Queremos saber se as as pessoas saudáveis tem genes da doença celíaca, em Belém – PA. Os pacientes que irão participar dessa pesquisa têm de um até quatorze anos de idade. Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu, também não terá nenhum problema se desistir. A pesquisa será feita no Ambulatório de gastroenterologia pediátrica da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará. Para participar da pesquisa, seus pais responderão a algumas perguntas e voce precisará realizar um exame de sangue, o que lhe causará leve dor. Voce estará com seus pais ou responsáveis durante todo o tempo da coleta do exame. Ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa serão publicados, mas sem identificar o seu nome. Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar. Eu escrevi os telefones na parte de cima desse texto.

Eu, ___ aceito participar da pesquisa **“PREVALÊNCIA DOS GENES HLA-DQ2 E DQ8, PREDISPOSTOS PARA DOENÇA CELÍACA, EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS EM BELÉM-PA”**, que tem o objetivo de identificar os genes para doença celíaca em pessoas saudáveis em Belém – PA. Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir que ninguém vai ficar furioso. A pesquisadora tirou minhas dúvidas e conversou com os meus responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa.

Belém, de ___ de ___.

Assinatura do menor

Assinatura da pesquisadora

Declaro que assisti a pesquisadora ler o termo de assentimento para a criança, a mesma entendeu o que lhe foi dito e aceitou participar da pesquisa **“a PREVALÊNCIA DOS GENES HLA-DQ2 E DQ8, PREDISPOSTOS PARA DOENÇA CELÍACA, EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS EM BELÉM-PA.”**

Assinatura da testemunha