

Diagnóstico de doença celíaca - será a biópsia sempre necessária?

COELIAC DISEASE DIAGNOSIS – IS BIOPSY ALWAYS NECESSARY?

Adriana Alexandra Martins Ferreira¹

Cândida Sofia Fernandes Cancelinha²

Guiomar Gonçalves Oliveira^{3,4}

¹Mestrado Integrado em Medicina – Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Coimbra

²Serviço de Pediatria Médica – Departamento Pediátrico, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

³Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Coimbra

⁴Centro de Investigação e Formação Clínica, Hospital Pediátrico, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Contactos:

Adriana Ferreira

E-mail: adriana.amf1@gmail.com

Índice

Resumo.....	3
Abstract	5
Introdução.....	7
Materiais e Métodos	9
Dados serológicos.....	10
Dados histológicos.....	11
Análise estatística	11
Resultados	12
Discussão.....	19
Conclusões	23
Agradecimentos.....	24
Referências bibliográficas	25

Resumo

Introdução: Apesar dos testes serológicos apresentarem elevada sensibilidade e especificidade, a biópsia do intestino delgado continua a ser considerada o critério major na confirmação de diagnóstico de doença celíaca (DC). O objetivo deste estudo foi analisar a correlação entre a elevação dos anticorpos e a presença de lesão duodenal, e o seu contributo para a decisão de dispensar o estudo histológico, tendo em conta as últimas recomendações da Sociedade Europeia de Gastrenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica (ESPGHAN).

Métodos: Foi realizada uma análise retrospectiva em crianças e adolescentes que realizaram biópsia duodenal, por positividade de, pelo menos, um dos testes serológicos, num hospital pediátrico do grupo III da Região Centro de Portugal. Período de estudo: 1 de janeiro de 2010 a 31 de dezembro de 2014. Doentes com avaliação analítica ou histológica efetuada durante período de dieta isenta de glúten, com intervalos entre essas avaliações superior a três meses ou com deficiência de IgA foram excluídos do estudo. A sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo dos marcadores serológicos foram estimados através de tabelas de tabulação cruzada utilizando fórmulas convencionais. O valor *cut-off* dos anticorpos IgA anti-gliadina (AAG) com maior sensibilidade e especificidade foi determinado utilizando uma curva ROC.

Resultados: Foram incluídas 61 crianças e adolescentes. A sensibilidade e especificidade dos AAT >200 RU/ml para lesões sugestivas de DC (Marsh \geq II), foi de 88% e 33%, respetivamente. Quarenta por cento da amostra apresentou valores de anticorpos anti-transglutaminase (AAT) >1000 RU/ml, com correspondência absoluta com lesões duodenais atróficas (Marsh \geq III), demonstrando uma especificidade e valor preditivo positivo de 100%. Os valores dos AAG IgA e IgG correlacionaram-se com a gravidade da atrofia das vilosidades. O teste duplo foi positivo em 41 crianças, destes, 39 (95%) tinham lesões histológicas Marsh III e foram considerados como tendo DC. Assim, o teste duplo apresentou um valor preditivo positivo de 95,1%.

Conclusões: Os níveis dos anticorpos AAG e AAT, correlacionam-se com a atrofia das vilosidades. Em condições selecionadas, níveis de anticorpos fortemente positivos podem ser considerados suficientes para o diagnóstico de DC em doentes de idade pediátrica. Nesta população, o algoritmo diagnóstico que permite a omissão da biópsia não apresentou valores de especificidade e valor preditivo positivo ideais.

Palavras-chave: doença celíaca; diagnóstico; serologia; especificidade; sensibilidade.

Abstract

Background: Despite serological tests present high sensibility and specificity, small bowel histology remains the major criterion in confirming coeliac disease (CD) diagnosis. The aim of this study was to analyze the correlation between high values of antibodies and the presence of duodenal damage, and its contribution for the decision to dismiss the histological study, taking into account the last guidelines of the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN).

Methods: A retrospective analytic study was performed in children and adolescents that performed small bowel biopsy, by at least one positive serological test, in a paediatric Hospital of the group III of the Central Region of Portugal. Study period: 1st January 2010 to 31st December 2014. Patients with analytical or histological assessment held during gluten free diet period, with ranges between those assessments higher than three months or with IgA deficiency were excluded from the study. Sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of the serological markers were estimated using cross-tabulation tables using conventional formulas. The cut-off value for IgA anti-gliadin antibodies (AGA) with the highest sensitivity and specificity was determined using ROC curve.

Results: Sixty one children and adolescents were included. The sensitivity and specificity of anti-tissue transglutaminase antibodies (tTGA) >200 RU/ml for CD suggestive lesions (Marsh \geq II), was 88% and 33%, respectively. Forty per cent of the sample presented tTGA values >1000 RU/ml, with absolute correspondence with small bowel atrophic lesions (Marsh \geq III), with an 100% specificity and positive predictive value. The IgA and IgG AGA values correlated with villous atrophy severity. The double test was positive in 41 children, of them, 39 (95%) had Marsh III histological lesions and were considered to have DC. Thus, the double test presented a positive predictive value of 95,1%.

Conclusions: AGA and tTGA levels, correlated with villous atrophy. In selected conditions, strongly positive antibodies levels may be sufficient to diagnose CD in paediatric patients. In this population, the diagnostic algorithm that allows biopsy omission did not present ideal values of specificity and positive predictive value.

Keywords: coeliac disease; diagnosis; serology; specificity; sensitivity.

Introdução

A doença celíaca (DC) constitui uma enteropatia imune, causada pela sensibilidade permanente ao glúten em indivíduos geneticamente predispostos.¹ Caracteriza-se por lesão do intestino delgado, com perda da sua capacidade de absorção, conduzindo a quadros de malabsorção, diarreia e má progressão ponderal, consoante o grau de atingimento e duração da doença. Contudo, o espectro clínico pode variar desde formas silenciosas, detetadas apenas por rastreio serológico, a quadros sintomáticos com manifestações intestinais ou extraintestinais.²

Atualmente, o diagnóstico é baseado na combinação de achados clínicos, positividade de biomarcadores serológicos/genéticos e demonstração histológica de lesões na mucosa duodenal.^{3,4} Embora o estudo histológico de mucosa do intestino delgado, colhida por biópsia, continue a ser considerado o critério major para o diagnóstico de DC, apresenta algumas limitações. O facto de os achados histológicos poderem ser inespecíficos de DC, das lesões terem uma distribuição irregular na mucosa e da grande variabilidade interobservador, aliados aos elevados custos e invasividade do modo de colheita, tem levado à discussão do seu papel no diagnóstico.^{5,6} Assim, e tendo em conta a elevada prevalência da DC, há uma necessidade cada vez maior de recorrer a meios de diagnóstico não invasivos.

A elevada sensibilidade e especificidade dos testes serológicos, com determinação dos autoanticorpos do tipo IgA anti-transglutaminase (AAT) e anti-endomísio (AAE) (e anti-gliadina - AAG - num grupo particular de crianças), tem levantado questões acerca da necessidade de exames adicionais em doentes sintomáticos, dispensando o exame de biópsia para estudo histológico.⁷⁻⁹ No entanto, o valor preditivo positivo destes marcadores ainda não é o pretendido, sobretudo em crianças assintomáticas, variando no entanto com o método de análise.¹⁰

Em 2012, foram atualizadas as recomendações da Sociedade Europeia de Gastrenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica (ESPGHAN) para o diagnóstico de DC.³

Neste documento, foi proposto um esquema diagnóstico que permite a omissão dos achados histológicos evitando a biópsia duodenal num grupo selecionado de crianças sintomáticas com níveis de AAT acima de 10 vezes o limite superior do normal, definido pelo fabricante do método de análise, e, simultaneamente, com resultados positivos dos AAE e dos antígenos leucocitários humanos (HLA) DQ2 e/ou DQ8.

A literatura relativa aos dados nacionais sobre a validade dos marcadores serológicos no diagnóstico de DC é escassa.^{11,12}

O objetivo deste trabalho foi analisar as características clínicas e os resultados serológicos em crianças submetidas a biópsia duodenal por suspeita de DC, num hospital pediátrico do Grupo III da Região Centro de Portugal. Além disso, os autores pretenderam correlacionar estes parâmetros com os achados histológicos e determinar valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) dos anticorpos tendo como referência a histologia sugestiva de DC e *cut-offs*, que possam contribuir para a decisão de dispensar os achados histológicos para o diagnóstico desta doença.

Materiais e métodos

Foi efetuado um estudo retrospectivo com análise de dados dos processos clínicos de crianças e adolescentes (idade <18 anos) com suspeita de DC baseada em: positividade de, pelo menos, um dos testes serológicos, submetidos a biópsia duodenal para estudo histológico entre 1 de Janeiro de 2010 e 31 de Dezembro de 2014.

Dos casos selecionados foram critérios de exclusão: a) intervalos entre a realização da avaliação serológica e histológica superior a três meses; b) avaliação analítica ou histológica efetuada durante período de dieta isenta de glúten; c) doentes com deficiência de imunoglobulina A (IgA).

Foram recolhidos retrospectivamente do processo clínico (processo em papel e eletrónico – Sistema de Apoio ao Médico®) os dados demográficos que incluíram sexo e idade à data do diagnóstico. Dos registos clínicos, foi avaliada a presença de: dor e distensão abdominal, diarreia (se assim definido pelo clínico ou se registo de diminuição da consistência ou aumento da frequência das dejeções relativamente ao padrão habitual), obstipação, irritabilidade/apatia, sinais de desnutrição (pregas de desnutrição, massas musculares flácidas), má progressão ponderal/estado-ponderal, baixa estatura, anorexia, anemia, entre outros. Os fatores de risco para DC pesquisados foram: familiar de 1º grau com DC, diabetes *mellitus* tipo 1, trissomia 21 e Síndrome de Sjögren. Os valores dos AAT foram expressos sob a forma de intervalo, com valores <20, ≥20, >100, >200, >1000 e >2000 rU/ml. Os valores dos AAE foram apresentados de forma qualitativa subgrupados em negativos (titulações <1:5), positivos (titulações 1:5-1:160) e positivos fortes (titulações > 1:160). Registou-se o valor absoluto dos AAG IgA e IgG. Os achados histológicos foram registados como Marsh 0, 1 (I) e 2 (II) enquanto que Marsh ≥III (IIIa, IIIb, IIIc) foram convertidos numa escala ordinal de 3, 4 e 5 respetivamente.¹³ (Anexo 1)

Dados serológicos

A análise das amostras serológicas dos doentes foi efetuada no Laboratório de Imunologia Clínica do Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar de Coimbra.

Até ao final do ano de 2010, a determinação quantitativa dos AAT do soro foi realizada através de ensaio de quimioluminescência (CLIA) indireta utilizando o *kit* comercial LIAISON® tTG IgA. Todos os procedimentos deste ensaio foram realizados de forma completamente automatizada pelo sistema LIAISON®. O *cut-off* de positividade definido pelo fabricante foi de 20 UI/mL.

A partir de 2011, a pesquisa de AAT foi realizada através do método de ELISA (EUROIMMUN, Germany). Este teste permite a realização de um ensaio quantitativo para a determinação de auto-anticorpos da classe IgA contra a transglutaminase tecidual no soro. Segundo recomendações do fabricante, as amostras foram consideradas positivas quando a concentração do anticorpo era superior a 20 unidades relativas (RU) /mL.

A pesquisa de AAE foi realizada através de um ensaio de imunofluorescência indireta utilizando o *kit* comercial INOVA (NOVA Lite Monkey Oesophagus IKA kit/Slides, USA). As amostras de soro dos doentes foram testadas utilizando uma diluição base de 1:5.

Até 2013 a pesquisa de AAG IgA e IgG no soro foi realizada utilizando um ensaio imunoabsorvente ligado a enzima (ELISA) através do *kit* comercial QUANTA Lite™ Gliadin IgA II e IgG II.^{14,15} Conforme as recomendações do fabricante, valores acima de 25 unidades foram considerados positivos.

A partir de 2013, a pesquisa dos AAG foi realizada através de imunoensaio de quimioluminescência utilizando o *kit* comercial QUANTA-FLASH® DGP IgA e IgG.^{16,17} A reação foi considerada positiva para valores acima de 25 unidades.

Estes dois últimos métodos, embora diferentes, foram considerados pelo Laboratório de Imunologia Clínica métodos análogos, com valores e *cut-offs* equivalentes e passíveis de comparação.

Dados histológicos

As amostras de biópsia duodenal foram obtidas no serviço de Gastroenterologia Pediátrica através de endoscopia digestiva alta (EDA) e avaliadas pelo Serviço de Anatomia Patológica do Centro Hospitalar de Coimbra. As lesões histológicas foram categorizadas segundo a classificação Marsh-Oberhuber.¹³ Um grau Marsh \geq II foi considerado sugestivo da presença de DC.

Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram executadas pelo programa IBM SPSS Statistics 20®. As características clínicas e demográficas foram sumariadas com frequências e percentagens, médias e desvios-padrão. A sensibilidade, especificidade, VPP e VPN dos marcadores serológicos foram estimados através de tabelas de tabulação cruzada utilizando fórmulas convencionais. O valor *cut-off* de AAG IgA com maior sensibilidade e especificidade foi determinado utilizando uma curva ROC.

Resultados

No período de estudo e depois de aplicados os critérios de exclusão, foram incluídas 61 crianças e adolescentes, com idades entre os 11 meses e os 16 anos (mediana: 5,3 anos; AIQ:6,9 anos), com 8 crianças (13%) com idade inferior ou igual a 2 anos. A razão entre doentes do sexo feminino (n=43, 70%) e masculino (n=18,30%) foi de 2,4. A Tabela 1 descreve os sinais e sintomas de apresentação e fatores de risco para DC.

Tabela 1. Clínica de apresentação e fatores de risco

Sintomas	N=61 (%)	Fatores de risco	N=61 (%)
Abdominais	38(62)	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 1	5(8)
▪ Dor abdominal	14(23)	Familiar de 1º grau com DC	4(7)
▪ Diarreia	18(30)	Trissomia 21	3(5)
▪ Distensão	23(38)	Síndrome de Sjögren	2(3)
▪ Obstipação	8(13)		
Irritabilidade /Apatia	14(23)		
Sinais de desnutrição	11(18)		
Má progressão ponderal	8 (13)		
Anorexia	8(13)		
Anemia	8(13)		
Baixa estatura	6(10)		
Má progressão estato-ponderal	3(5)		

Legenda: DC- Doença Celíaca.

A avaliação dos achados histológicos da biópsia duodenal, obtida por EDA, encontra-se sumariada na Tabela 2. Nenhum doente incluído no estudo apresentou uma classificação Marsh=II.

Tabela 2. Classificação histológica dos doentes em estudo

Histologia	n=61 (%)
Marsh 0	1* (2)
Marsh I	2** (3)
Marsh III	58 (95)
IIIa	19 (31)
IIIb	29 (48)
IIIc	10 (16)

*Suspeita de DC por história de má progressão ponderal e elevação de AAG (IgG)

**1 doente com suspeita de DC por história de diarreia crónica, dor abdominal, anemia; 1 doente com baixa estatura, diarreia crónica e dor abdominal. Ambos com elevação dos AAT, AAE e AAG (IgA)

No ano de 2010, os valores de AAT dos 15 doentes estudados foram analisados por CLIA, e os valores dos restantes 46 doentes foram analisados pelo método de ELISA. Deste modo, a análise estatística que se sucede é referente ao último grupo.

A relação entre os valores de AAT (IgA) e os achados histológicos encontra-se representada na Tabela 3.

Tabela 3. Relação entre os valores AAT e achados histológicos

AAT (IgA) (RU/mL)	Marsh 0	Marsh I	Marsh III	Total
	n=1 (%)	n=2 (%)	n=43 (%)	n=46(%)
<20	1(100)	0(0)	0 (0)	1(2)
>20	0(0)	2(100)	43(100)	45(98)
>100	0(0)	2(100)	41(100)	43(94)
>200	0(0)	2(100)	38(92)	40(87)
>1000	0(0)	0(0)	18(50)	18(39)
>2000	0(0)	0(0)	15(42)	15(33)

Legenda: AAT- anticorpos anti-tranglutaminase.

Os valores dos AAT variaram entre 3 até >2000 RU/ml. Registaram-se 2 casos com níveis AAT >200 RU/ml e alterações histológicas mínimas (Marsh=I). Ambos responderam à dieta sem glúten e obtiveram diagnóstico final de DC.

A sensibilidade, especificidade, VPP e VPN dos valores de AAT, segundo o *cut-off* de positividade determinado para este ensaio (AAT >20 RU/ml), e para *cut-off* sucessivamente mais elevados, relativos a lesões histológicas sugestivas de DC (Marsh \geq II) encontram-se descritas na Tabela 4. Apesar de não ter sido possível determinar um valor *cut-off*, para valores de AAT acima de 200 RU/ml, 95% dos doentes demonstraram atrofia das vilosidades intestinais (Marsh \geq III), o que é muito sugestivo de DC. Esta percentagem aumenta para 100% quando foram considerados valores de AAT superiores a 1000 RU/ml, demonstrando correspondência absoluta com lesões atróficas, o que corresponde a cerca de 40 % dos doentes. No entanto, para este ponto de corte a sensibilidade e VPN decrescem para 42% e 11%, respetivamente.

Tabela 4. Sensibilidade, Especificidade, VPP e VPN de AAT para histologia sugestiva de DC (Marsh \geq II)

AAT(IgA) (RU/ml)	Total n=45(%)	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
>20	45(100)	100 %	33%	96%	100%
>100	43(96)	95%	33%	95%	33%
>200	40(89)	88%	33%	95%	17%
>1000	18(40)	42%	100%	100%	11%
>2000	15(33)	35%	100%	100%	10%

Legenda: AAT- anticorpos anti-tran glutaminase; DC- Doença Celíaca; VPP- valor preditivo positivo; VPN- valor preditivo negativo.

Três doentes não apresentaram informações acerca dos valores de AAE. Os 58 doentes restantes apresentaram valores de AAE que variaram entre negativos, positivos e positivos fortes. Quarenta e três das 45 crianças e adolescentes (96%) com valores fortemente positivos de AAE apresentaram lesões histológicas Marsh \geq IIIa (Tabela 5).

Tabela 5. Relação entre AAE e histologia

AAE (IgA)	Marsh 0 n=1(%)	Marsh I n=2(%)	Marsh III n=55(%)	Total n=58(%)
Negativo	1(100)	0(0)	2(4)	3(5)
Positivo	0(0)	0(0)	10(18)	10(17)
Positivo forte	0(0)	2(100)	43(78)	45(78)

Legenda: AAE- anticorpos anti-endomísio.

O dois doentes com AAE IgA negativos e atrofia das vilosidades subtotal e total, apresentaram valores discordantes de AAT de >2000 e 96 RU/ml, respetivamente. No primeiro caso, que apresentava clínica sugestiva de DC, verificou-se resposta à dieta isenta de glúten e obteve diagnóstico final de DC. O segundo caso era portador de trissomia 21, e por isso com risco acrescido de DC. Embora assintomático, apresentou uma classificação histológica de Marsh IIIc, obtendo diagnóstico final de DC.

Relativamente aos AAG, 1 doente não possuía informações acerca dos valores de AAG IgA e 5 não apresentavam informações acerca dos valores de AAG IgG. A mediana dos valores de AAG IgA foi de 138,2U (4,9-1644U), e dos valores de AAG IgG foi de 112,6U (7-1855U). Como entre os doentes em estudo, apenas 3 apresentaram Marsh ≤II, não foi possível realizar análise inferencial, mas apenas comparar entre os doentes com estadios histológicos Marsh IIIa, IIIb e IIIc. Os níveis dos anticorpos AAG IgA e IgG correlacionaram-se com a gravidade da atrofia das vilosidades. (Tabela 6)

Tabela 6. AAG IgA e IgG pelos grupos Marsh

	AAG IgA (U)			AAG IgG (U)		
	Marsh	Marsh	Marsh	Marsh	Marsh	Marsh
	IIIa	IIIb	IIIc	IIIa	IIIb	IIIc
Mediana	95,1	143,4	160,0	103,9	132,1	150,0
AIQ	198,2	119,5	118,9	133,5	77,9	465,9

Legenda: AAG- anticorpos anti-gliadina; AIQ- amplitude inter-quartil.

Foi usada uma curva ROC para analisar a sensibilidade e especificidade do AAG IgA e para determinar o valor do *cut-off* ótimo de seropositividade. A área abaixo da curva foi de 0,798 (Intervalo de confiança a 95 %: [0.57, 1.00]). De acordo com a curva ROC, o valor do *cut-off*

ótimo de positividade foi de 36,25 unidades, com uma sensibilidade de 86 % e especificidade de 67%. Para o AAG IgA, verificou-se que valores acima de 138,2 U apresentaram uma especificidade de 100%, embora a sensibilidade passasse a ser de 54%.

Não foi possível realizar o mesmo estudo para o AAG IgG, uma vez que, nos dados recolhidos não existia nenhum doente com AAG IgG negativo (<25U) com Marsh <III. Pelo mesmo motivo não foi possível determinar os valores de especificidade e valor preditivo negativo dos AAG IgG. Os restantes valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo dos AAG IgA e IgG, de acordo com os *cut-offs* determinados para estes ensaios, para lesões sugestivas de DC (Marsh≥II) encontram-se sumariados na Tabela 7.

Apenas uma criança com positividade para AAG IgG (40,3 unidades) não obteve diagnóstico final de DC, uma vez que, os restantes anticorpos e histologia duodenal se revelaram negativos. Todas as crianças com positividade para AAG IgA apresentaram diagnóstico final de DC.

Tabela 7. Sensibilidade, especificidade, VPP e VPN dos AAG IgA e IgG para histologia sugestiva de DC (Marsh≥II)

	Total	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
	n= 61(%)				
AAG IgA > 25 (U)	51(83,6)	86,0%	33,3%	96,1%	11,1%
AAG IgG > 25 (U)	52(85,2)	92,7%	---	96,2%	---

Legenda: DC- Doença celíaca; VPP- valor preditivo positivo; VPN- valor preditivo negativo.

Por último, avaliou-se a aplicação do novo algoritmo diagnóstico proposto pela ESPGHAN, que permite dispensar o estudo histológico. Este algoritmo sugere que o diagnóstico de DC pode ser realizado em crianças e adolescentes com sinais e sintomas

sugestivos de DC, AAT >10 vezes o limite superior do normal, confirmado pela positividade do AAE e estudo genético de histocompatibilidade leucocitária positivo.

Uma vez que não foi possível conhecer o resultado do estudo genético da maioria das crianças e adolescentes, a combinação de AAT 10 vezes acima do limite superior do normal (>200 RU/ml) e AAE positivo foi considerada como teste duplo positivo. O diagnóstico final de DC foi considerado com base nos critérios da ESPGHAN 1990.¹⁸ Dados sobre níveis de AAT e AAE estiveram disponíveis em 58 casos, destes, 48 eram sintomáticos e, assim, elegíveis para esta avaliação. Um total de 41 (85%) crianças apresentaram teste duplo positivo. Destes, 39 (95%) apresentavam lesões histológicas Marsh III e diagnóstico definitivo de DC, sendo considerados verdadeiros positivos do teste duplo. As restantes 2 crianças (5%) apresentaram lesões Marsh I no estudo histológico do tecido biopsado. Em ambos verificou-se resposta favorável à dieta isenta de glúten.

A especificidade, sensibilidade, VPP e VPN do teste duplo de acordo com os critérios de diagnóstico da ESPGHAN 1990 encontra-se representada na Tabela 8.

Tabela 8. Sensibilidade, especificidade, VPP e VPN do duplo teste

	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
Crítérios ESPGHAN 1990	86,7 %	33,3%	95,1%	14,3%

Legenda: VPP- valor preditivo positivo; VPN- valor preditivo negativo.

Discussão

Atualmente, a DC é considerada a intolerância alimentar mais frequente a nível mundial. No entanto, a sua deteção precoce baseada na semiologia é difícil e, senão for tratada, pode implicar aumento significativo da mortalidade e morbidade, desde osteopenia e comprometimento do sistema nervoso até risco aumentado de linfoma gastrointestinal de células T.¹⁹ Assim, torna-se pertinente avaliar, para esta população, o valor diagnóstico dos anticorpos específicos da doença e a adequação das novas estratégias diagnósticas.

Neste estudo verificou-se um predomínio de DC no sexo feminino, embora noutras séries tenham sido descritas frequências idênticas entre os dois géneros em idades mais jovens.^{19,20} A idade mediana da população de estudo foi de 5,3 anos (0,9-16), comparável com as medianas de idades de outros estudos realizados em populações pediátricas.²¹

A apresentação clínica da DC em crianças é variada.²⁰ Neste estudo demonstrou-se maior prevalência de sintomas abdominais, com dor, diarreia e distensão abdominal. Verificou-se, também, uma frequência elevada de sintomas de irritabilidade e apatia, superior ao que é relatado na literatura. Por outro lado, a frequência do atraso no crescimento foi menor do que o que está relatado.³

Vários estudos já analisaram a relação entre os valores dos anticorpos associados à DC e a extensão das lesões mucosas, com o objetivo de limitar a necessidade de recorrer à biópsia duodenal para o diagnóstico de DC.^{9,22} No entanto, poucos definiram claramente um *cut-off* específico, para um determinado teste laboratorial, com essa intenção.

Uma revisão sistemática e meta-análise, que serviu de base à formulação das novas recomendações da ESPGHAN, avaliou a validade dos testes serológicos no diagnóstico de DC em crianças, tendo como referência os achados histológicos, com intenção de detetar situações onde a biópsia pudesse ser dispensada.²¹ Os AAE apresentaram menor sensibilidade quando comparados com os AAT, por outro lado, a especificidade dos AAE foi mais elevada. No

presente estudo, foram obtidos resultados semelhantes com os AAT a mostrar maior sensibilidade no diagnóstico de DC que os AAE. No entanto, as mesmas conclusões sobre a especificidade não se verificaram, com ambos anticorpos a mostrarem a mesma especificidade no diagnóstico de DC, e substancialmente inferiores a este e outros estudos.^{8,21,22}

Barker et al²³, demonstrou que, aumentando o limiar dos AAT para 5 vezes o limite superior do normal, 48 dos 49 (98%) doentes pediátricos apresentavam lesões histológicas \geq Marsh II, sugerindo que apenas devem ser submetidos a biópsia se não responderem favoravelmente à dieta isenta de glúten. As mesmas conclusões foram obtidas por outro estudo retrospectivo, ao revelar que 124 dos 128 (96,6%) crianças e adolescentes com AAT >100 U/ml (10 vezes o limite superior) apresentavam lesões histológicas grau Marsh III.⁸

No nosso estudo, 95 % das crianças e adolescentes com AAT>200 RU/ml (10 vezes o limite superior do normal) revelaram lesões atróficas da mucosa duodenal (Marsh III). Os dois doentes restantes revelaram lesões histológicas Marsh I, compatíveis com DC em estadio inicial. Estes resultados têm sido corroborados pela demonstração da relação entre a elevação dos anticorpos, nomeadamente AAT e AAE, e a gravidade das lesões histológicas. Donaldson et al demonstraram que valores elevados de AAT e AAE se correlacionaram com maior probabilidade de atrofia das vilosidades.²² Os mesmos resultados parecem ter sido reproduzidos no nosso estudo.

Baseada nestes princípios e na elevada especificidade e VPP apresentadas pelos AAT e AAE, a ESPGHAN propôs um novo algoritmo que, em casos selecionados, permite diagnosticar DC sem a realização de biópsia duodenal para estudo histológico.³ Klapp et al avaliaram a aplicabilidade deste algoritmo e concluíram que cerca das 77% da sua população de estudo apresentou triplo teste positivo (AAT > 10 vezes limite superior do normal, AAE e HLA DQ2/DQ8 positivos) e foi corretamente diagnosticada com DC, pelo que poderia ter evitado a realização de biópsia duodenal.⁷ No presente estudo, foi realizada uma avaliação

semelhante e verificou-se que dos 48 doentes sintomáticos, 39 (81,3%) poderiam ter sido corretamente diagnosticados através do teste duplo, evitando a realização de biópsia duodenal.

Inicialmente, o triplo teste usado por Klapp et al, apresentou 3 falsos positivos e um VPP de 97,4%. No entanto, o *follow-up* alargado e a realização de prova de provocação com a ingestão de glúten, permitiram reclassificar estes casos com diagnóstico definitivo de DC, e aumentar o VPP e especificidade do triplo teste para 100%. Neste estudo, o teste duplo, apresentou dois falsos positivos e um VPP de 95,1%. Apesar de, estes dois casos apresentarem classificação histológica Marsh I, anticorpos positivos, e resposta à terapêutica, sugerindo DC em estadio inicial, a metodologia deste estudo, não permitiu reclassificá-los com diagnóstico definitivo de DC.

Mais recentemente, um extenso estudo multicêntrico, para uma população heterogênea, avaliou a eficácia do novo algoritmo diagnóstico da ESPGHAN, e verificaram que a sua aplicação estrita poderia evitar a realização de biópsia numa grande proporção da população (52%), sem riscos de sobrediagnóstico.²⁴ Neste estudo, a sensibilidade e especificidade do triplo teste foi de 50% e 100%, respetivamente. No entanto, à semelhança de Klapp et al, também este trabalho incluiu um *follow-up* alargado.

O baixo VPN dos testes triplos e duplo foi transversal a todos os estudos. Este facto, reforça as recomendações da ESPGHAN em realizar biópsia duodenal para confirmar o diagnóstico em todas as crianças com diferentes combinações de dados serológicos e genéticos que não preencham todos os critérios do algoritmo.

Nos últimos anos, os AAG demonstraram maior eficácia diagnóstica que os anticorpos anti-gliadina convencionais, embora esta, ainda seja considerada inferior à dos AAT e AAE.²¹ Por outro lado, trabalhos revelaram que doseamentos combinados de AAT e AAG têm a melhor especificidade no rastreio de DC tanto em crianças como em adultos.^{25,26} Para a população em estudo, demonstrou-se que níveis mais elevados de AAG correlacionaram-se com maior

gravidade de atrofia vilositária, à semelhança do descrito na literatura.²⁷ Ainda em consonância com este e outros estudos prévios, demonstrou-se aqui que a sensibilidade dos AAG IgG na detecção de lesões sugestivas de DC (Marsh \geq II) é superior à calculada para os AAG IgA.^{27,28} No seu conjunto estes dados têm demonstrado que, também, a especificidade destes anticorpos é superior ao dos AAG IgA.²⁶⁻²⁸ AAG IgA têm vindo a mostrar utilidade na monitorização da adesão e resposta à terapêutica.²¹ Contudo, os AAG continuam a ter um papel diagnóstico mal definido na população em geral e sem deficiência de IgA, e estudos complementares serão necessários.

Possíveis limitações do nosso trabalho podem dever-se ao facto de se tratar de um estudo retrospectivo, implicando a exclusão de algumas crianças por dados incompletos e dados serológicos colhidos em tempos diferentes da biópsia, com uma amostra final de reduzidas dimensões. O facto de existirem diversos métodos de detecção de AAT inviabilizou a sua comparação estrita. O estudo genético HLA DQ2/DQ8 foi desconhecido na maior parte das crianças e adolescentes estudados, inviabilizando a aplicação completa do algoritmo da ESPGHAN. Os valores de especificidade das serologias revelaram-se pouco consistentes dada a pequena proporção de doentes com lesões Marsh \leq II.

Conclusões

No nosso estudo, todos os doentes com AAT >1000 RU/ml apresentaram lesões histológicas compatíveis com DC. Assim, nesta população e em doentes selecionados, a partir deste limiar a decisão de dispensar o estudo histológico poderia ser considerada, sem riscos de sobrediagnósticos e com diminuição substancial do número de biópsias necessárias.

Embora, a aplicação do novo algoritmo da ESPGHAN pareça adequada a esta população, o seu VPP não foi o ideal e o seu uso na prática clínica neste grupo hospitalar não pode ser apoiada com elevada segurança.

Mais estudos, preferencialmente prospetivos e de grande escala, são necessários para replicar estes resultados.

Agradecimentos

À Mestre Cândida Cancelinha pela sua disponibilidade, orientação e inestimável contributo na elaboração deste trabalho.

À Professora Doutora Guiomar Oliveira pela orientação deste trabalho.

Ao Dr. Miguel Patrício pela colaboração no tratamento estatístico dos dados apresentados neste trabalho.

À Dr.^a Rosário Cunha e à Dr.^a Lurdes Correia pela disponibilização da informação relativa à metodologia utilizada nos dados serológicos.

Aos meus pais, irmão, Luís e às minhas amigas pelo apoio prestado durante a realização deste trabalho.

Referências bibliográficas

1. David Branski and Riccardo Troncone. Gluten-sensitive Enteropathy (Celiac Disease). Em: Kliegman, R and Nelson, W E. Nelson textbook of pediatrics. Philadelphia: Saunders; 19^a ed. 2011; 1308-1311.
2. Dewar DH and Ciclitira PJ. Clinical Features and diagnosis of celiac disease. *Gastroenterology* 2005;128:S19–24.
3. Husby S, Koletzko S, Korponay-Sazbo I, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54:136-160.
4. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, et al. ACG Clinical Guidelines: Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Am J Gastroenterol* 2013; 108:656–676.
5. Bonamico M, Thanasi E, Mariani P, et al. Patchy villous atrophy of the duodenum in childhood celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38:204-207.
6. Corazza GR, Villanacci V, Zambelli C, et al. Coeliac disease some considerations on the histological diagnosis. *J Clin Pathol* 2005; 58:573-4.
7. Klapp G, Masip E, Bolonio M, et al. Celiac Disease: The new Proposed ESPGHAN Diagnostic Criteria Do Work Well in a Selected Population. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 56:251-256.
8. Mubarak A, Wolters VM, Gerritsen SAM, et al. A Biopsy Is Not Always Necessary to Diagnose Celiac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 52:554-557.
9. Alessio MG, Tonutti E, Brusca I, et al. Correlation Between IgA Tissue Transglutaminase Antibody Ratio and Histological Finding in Celiac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;55:44-49.
10. Rostom A, Dubé C, Cranney A, et al. The diagnostic accuracy of serological tests for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterology* 2005; 128:S38-46.

11. Cardoso, J, Alexandre, J, Nabais, MJ, et al. Doença celíaca do adulto: uma casuística de 12 anos. *Rev Soc Port Med Interna*. 2000; 7 (1):8-12.
12. Antunes, H, Abreu, I, Nogueira, A, et al. Primeira determinação de prevalência de doença celíaca numa população portuguesa. *Acta Med Port*. 2006;19(2):115-20.
13. Oberhuber G, Granditsch G and Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for standardized report scheme for pathologists. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 1999, 11:1185-1194.
14. http://www.inovadx.com/PDF/di/704525_PT.pdf
15. http://inovadx.com/PDF/di/704520_PT.pdf
16. http://www.inovadx.com/PDF/di/701165_PT.pdf
17. http://www.inovadx.com/PDF/di/701170_PT.pdf
18. Walker-Smith JA, Guadalin S, Schmitz J, et al. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. *Arch Dis Child* 1990; 65:909-11.
19. Rito Nobre S, Silva T, Pina Cabral JE. Doença Celíaca revisitada. *J Port Gastrenterol* 2007; 14: 184-193.
20. Reilly NR and Green PHR. Epidemiology and clinical presentations of celiac disease. *Semin Immunopathol*. 2012; 34:473–478.
21. Giersiepen K, Lelgemann M, Stuhldreher N, et al. Accuracy of diagnostic antibody tests for Coeliac Disease in children: Summary of an evidence report. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012; 54: 229-241.
22. Donaldson M, Firth SD, Wimpee H, et al. Correlation of duodenal histology With Tissue Transglutaminase and Endomysial Antibody Levels in Pediatric Celiac Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2007;5:567-573.

23. Barker CC, Milton C, Jevon G, et al. Can tissue transglutaminase antibody titers replace small-bowel biopsy to diagnose celiac disease in select pediatric populations? *Pediatrics* 2005;115:1341-6.
24. Donat E, Ramos JM, Sánchez-Valverde F, et al. ESPGHAN 2012 Guidelines for Coeliac Disease Diagnosis: validation through a retrospective Spanish multicentric study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2016;62:284-291.
25. Liu E, Li M, Emery L, et al. Natural history of antibodies to deamidated gliadin peptides and transglutaminase in early childhood celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007;45:293-300.
26. Volta U, Granito A, Parisi C, et al. Deamidated gliadin peptide antibodies as a routine test for celiac disease: a prospective analysis. *J Clin Gastroenterol* 2010;44:186-90
27. Lamni A, Arikoski P, Simell S, et al. Antibodies to deamidated Gliadin Peptide in Diagnosis of Celiac Disease in Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015;60: 626-631.
28. Basso D, Guariso G, Fogar P. Antibodies against synthetic deamidated gliadin peptides for celiac disease diagnosis and follow-up in children. *Clinical Chemistry* 2009;55:150–157.

Anexos

Anexo 1

Classificação Marsh modificada (adaptado de Oberhuber et al¹³)			
	Linfócitos Intraepiteliais*	Criptas intestinais	Vilosidades intestinais
Tipo 0	<40	Normal	Normal
Tipo I	>40	Normal	Normal
TipoII	>40	Hipertróficas	Normal
Tipo IIIa	>40	Hipertróficas	Atrofia ligeira
TipoIIIb	>40	Hipertróficas	Atrofia marcada
TipoIIIc	>40	Hipertróficas	Ausentes

*Nº de linfócitos intraepiteliais por 100 células epiteliais