

## FREQUÊNCIA DO HLA-DQ8 E SINTOMAS ASSOCIADOS À DOENÇA CELÍACA EM PACIENTES COM DOENÇAS AUTOIMUNES DA TIREÓIDE

CLÉDIA SILVEIRA FLORES DA SILVA<sup>1</sup>; RAÍSSA ZANATTA<sup>2</sup>; NATÁLIA RODRIGUES CARDOZO<sup>3</sup>; CARLOS CASTILHO BARROS<sup>4</sup>; FABIANA TORMA BOTELHO<sup>5</sup>

<sup>1</sup>[UFPel-clediajag@gmail.com](mailto:UFPel-clediajag@gmail.com); <sup>2</sup>[UFPel-raissa\\_zanatta@hotmail.com](mailto:UFPel-raissa_zanatta@hotmail.com); <sup>3</sup>[UFPel-natalia.rodrigues.card@gmail.com](mailto:UFPel-natalia.rodrigues.card@gmail.com); <sup>4</sup>[UFPel-barroscapel@gmail.com](mailto:UFPel-barroscapel@gmail.com); <sup>5</sup>[UFPel-fabibotelho@hotmail.com](mailto:fabibotelho@hotmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

A doença celíaca (DC) é caracterizada por uma enteropatia autoimune desencadeada por ingestão de glúten em indivíduos geneticamente predispostos portadores de haplótipos HLA (*Human leukocyte antigen*) (FREIRE et al., 2019), a qual desencadeia uma série de sintomas gastrointestinais, como má absorção de nutrientes, constipação crônica e dor abdominal além de linfomas intestinais de células T (RUBIO-TAPIA et al., 2013). A etiologia da DC é composta por fatores ambientais e genéticos, sendo que o HLA confere 40% da variância genética. Grande parte dos pacientes carregam heterodímeros DQ2 (90%) codificados pelos alelos DQA1\*05/DQB1\*02 e uma minoria (5%) carrega DQ8 codificado por alelos DQA1\*03/DQB1\*0302/DRB1\*04 e (5%) pelo menos um dos dois alelos DQ2 (geralmente o DQB1\*0201) (SELLESKI et al., 2015). A tipagem de HLA tem sido usada como uma ferramenta de rastreamento para população de alto risco, como portadores de diabetes *mellitus* tipo 1, síndrome de Down, síndrome de Turner e doenças autoimunes da tireoide (DAT). A incidência de DC em pacientes com DAT pode chegar até dez vezes mais comparado com a população em geral (ALMEIDA et al., 2016). Acredita-se que essas populações com desordens autoimunes possuam esse risco maior para o desenvolvimento da doença devido à tipagem compartilhada de HLA (GUJRAL et al., 2012). Portanto, a investigação da presença dos fatores de risco genético para DC pode auxiliar os portadores de DAT em um possível diagnóstico de DC e, conseqüentemente, após adesão ao tratamento com dieta sem glúten, poderá reduzir a dosagem da medicação utilizada para tratar a DAT e melhorar sua qualidade de vida (ELFSTROM et al., 2008).

Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo determinar a frequência do HLA-DQ8 (DRB1\*04) e verificar a presença de sintomas gastrointestinais relacionados à DC em portadores de doenças autoimunes da tireoide.

### 2. METODOLOGIA

Trata-se de um estudo transversal analítico, que foi realizado nos Ambulatórios de Nutrição e de Endocrinologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Os participantes foram selecionados de forma não aleatória, por critério de conveniência. Foi realizado o cálculo da amostra, com nível de confiança de 95% através do programa estatístico G\*Power, sendo obtida uma amostra de 110 indivíduos. Os critérios de inclusão foram: ser paciente dos ambulatórios da UFPel, possuir qualquer idade e ser portador de alguma DAT com diagnóstico médico e/ou uso de medicamentos para o tratamento das DAT descritos no prontuário ambulatorial. O critério de exclusão era ser portador de DC. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética nº 02227718300005316. Foram realizadas as coletas das células da mucosa bucal em todos os indivíduos que aceitaram participar do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Foi aplicado um questionário adaptado do questionário de CASSOL et al. (2007) composto por questões sociodemográficas e sintomas gastrointestinais relacionados com a DC aos participantes do estudo. Para as análises dos alelos, foi utilizado o método de extração de DNA genômico adaptado do método descrito por MILLER et al. (1988). O alelo amplificado neste estudo foi DRB1\*04 (HLA-DQ8), utilizando o método de amplificação de DNA baseado no método descrito por CAMBIEN et al. (1992). Para reação do alelo (DRB1\*04), considerou-se um único produto de 217 bp. A análise estatística foi realizada com o teste de Qui-quadrado, seguido do teste exato de Fisher, considerando o nível de significância  $p < 0.05$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Participaram deste estudo 110 pacientes com média de idade de  $46 \pm 22,30$  anos, a maioria entre 41 e 65 anos (42,73%). Houve predominância do gênero feminino (75,4%), etnia caucasiana (84,6%) e hipotireoidismo (95,4%). Os sintomas gastrointestinais relacionados à DC mais prevalentes foram: distensão abdominal (40%), dor abdominal (15,5%) e diarreia (9,1%).

Com relação à presença do HLA-DQ8 (DRB1\*04), 21,82% da população estudada eram positivos para esse alelo. Aproximadamente 5% dos pacientes celíacos são positivos para HLA-DQ8, enquanto os demais são positivos para HLA-DQ2 (SELLESKI et al., 2015). Embora essa parcela de HLA-DQ8 seja menor, alguns estudos mostraram valores maiores de HLA-DQ8 em populações de celíacos, principalmente na América Latina (MOTTA et al., 2014; KOTZE et al., 2014; CASTRO-ANTUNES et al., 2011). No Chile, 22% dos celíacos e 82% dos seus parentes de 1º grau tinham HLA-DQ8 e a doença autoimune mais relatada foi a tireoidite de Hashimoto (ARAYA et al., 2015). Essas diferenças de perfil genético em relação à Europa (5-10% dos celíacos) provavelmente se devem à miscigenação de raças que ocorre principalmente no Brasil.

Além disso, no estudo realizado por SPADACCINO et al. (2008), em que foram avaliados 276 italianos com DAT, verificaram que 0,7% eram positivos para HLA-DQ8, valor bem menor ao encontrado no presente estudo. Já em outro estudo que tinha como objetivo identificar a DC em holandeses com tireoidite de Hashimoto foi observado que 22,2% dos 104 pacientes eram positivos para o HLA-DQ8, valor semelhante ao presente estudo (HADITHI et al., 2008). Importante salientar que em pesquisa para determinar a prevalência de DC em pacientes com DAT foi encontrado 1,2% de DC diagnosticada, sendo todas do gênero feminino e com tireoidite de Hashimoto (TEIXEIRA et al., 2014).

Ao relacionar a presença do HLA-DQ8 (DRB1\*04) com os sintomas gastrointestinais em conjunto (distensão abdominal, dor abdominal e diarreia), observou-se uma associação significativa ( $p=0,02$ ), mostrando que em torno de 25% das pessoas que possuíam esse alelo, tinham pelo menos um ou mais dos sintomas gastrointestinais que foram relatados, enquanto que 52% das pessoas que não tinham o alelo também relataram tais sintomas. Ao analisar cada sintoma individualmente com a presença ou não do alelo DRB1\*04, houve associação significativa da presença do alelo DRB1\*04 com distensão abdominal ( $p < 0,01$ ), mostrando que 17% dos indivíduos que possuíam esse alelo apresentavam com maior frequência o sintoma de distensão abdominal, enquanto que 46% dos indivíduos sem o alelo também apresentavam o mesmo sintoma (Tabela 1).

Neste estudo, os sintomas gastrointestinais mais citados foram distensão abdominal, dor abdominal e diarreia, que fazem parte da forma típica da DC. Assim como no estudo de CASSOL et al. (2007), pesquisa realizada com indivíduos celíacos onde os principais sintomas gastrointestinais foram: distensão

abdominal (71,8%), dor abdominal (71%) e diarreia (65,5%). Entretanto, como a população deste estudo eram portadores de DAT sendo a maior parte da amostra portadora de hipotireoidismo, os sintomas relatados também podem ser causados pelo tratamento com levotiroxina (T4), que quando associada a uma dosagem excessiva, pode ter alguns efeitos colaterais semelhantes aos sintomas da DC, como perda de peso, diarreia e lesões de pele (BRENTA et al., 2013).

Ademais, em torno de 95% dos celíacos são positivos para HLA-DQ2 (SELLESKI et al., 2015), além de outros alelos HLA (DQ7, DQ5, DQ6 e DQ9) e não-HLA (CTLA-4 - antígeno 4 associado aos linfócitos T citotóxicos e PTPN-22 - proteína tirosina fosfatase-22) também estarem envolvidos no fator genético de desenvolvimento de DC (TINTO et al., 2015; ELFSTROM et al., 2008). Portanto, mais estudos são necessários para identificar o perfil genético dos grupos de risco para DC e rastrear possíveis diagnósticos, sendo que o teste HLA-DQ tem relevância clínica devido ao alto valor preditivo negativo em grupos com risco de DC como portadores de DAT (ALMEIDA et al., 2016).

**Tabela 1.** Relação do HLA-DQ8 (DRB1\*04) com a presença de sintomas gastrointestinais associados à Doença celíaca, em portadores de doenças autoimunes da tireoide.

Perfil genético	Frequência total n (%)	Sintomas gastrointestinais n (%)	Distensão abdominal n (%)	Dor abdominal n (%)	Diarreia n (%)
<b>DQ8+</b>	24 (21,8)	06 (5,5)	04 (3,6)	03 (2,7)	01 (0,9)
<b>DQ8-</b>	86 (78,2)	45 (40,9)	40 (36,4)	14 (12,7)	09 (8,2)
<b>valor p</b>		<b>0,02</b>	<b>&lt;0,01</b>	0,65	0,34

#### 4. CONCLUSÕES

Neste estudo, foi encontrada a prevalência de 21,8% de HLA-DQ8 e a presença de sintomas gastrointestinais relacionados à DC em portadores de DAT. A frequência encontrada de DQ8 foi maior do que a relatada na literatura e em populações da Europa para pacientes com DC, mas semelhante à frequência encontrada em celíacos e seus parentes na América Latina em outros estudos. O HLA-DQ8, apesar de menor frequência do que o HLA-DQ2, não deve ter menor importância e, associado aos sintomas e doenças relacionados à DC, deve ocorrer o rastreamento da DC para um possível diagnóstico. Diante disso, torna-se necessário o rastreamento de DC em pacientes com DAT, visto que são uma população de risco para DC e que o diagnóstico precoce é importante para evitar morbidades e contribuir para melhoria na qualidade de vida dessas pessoas.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FREIRE, R.; et al. Human gut derived-organoids provide model to study gluten response and effects of microbiota derived molecules in celiac disease. **Nature**, Scientific Reports, v.9, n.1, p.01-15, 2019.
- RUBIO-TAPIA, A.; et al. ACG Clinical Guidelines: Diagnosis and Management of Celiac Disease. **The American of Gastroenterology**, v.108, n.5, p.656-676, 2013.
- SELLESKI, N.; et al. Simplifying celiac disease predisposing HLA-DQ alleles determination by the real time PCR method. **Arquivos de Gastroenterologia**, v.52, n.2, p.143-146, 2015.
- ALMEIDA, L.M.; et al. Presence of DQ2.2 Associated with DQ2.5 Increases the Risk for Celiac Disease. **Autoimmune Diseases**, p.01-06, 2016.
- GUJRAL, N.; FREEMAN, H.J.; THOMSON, A.B.R. Celiac disease: Prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. **World Journal of Gastroenterology**, v.18, n. 42, p.6036-6059, 2012.
- ELFSTROM, P.; et al. Risk of thyroid disease in individuals with celiac disease. **J Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.93, n.10, p.3915–3921, 2008.
- CASSOL, C.A.; et al. Perfil clínico dos membros da associação dos celíacos do Brasil – regional de Santa Catarina (ACELBRA-SC). **Arquivos de Gastroenterologia**, v.44, n.3, p. 257-265, 2007.
- MILLER, S.A.; DYKES, D.D.; POLESKY. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**, v.16, n.3, 1988.
- CAMBIEN, F.; et al. Deletion polymorphism in the gene of angiotensin converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. **Nature**, v.359, p. 641-644, 1992.
- MOTTA, P.M.; et al. Alta frecuencia de DQ8 en la población celíaca de la provincia del Chaco, Argentina. **Acta Gastroenterológica Latinoamericana**, v.44, n.1, p.16–21, 2014.
- KOTZE, L.M.S.; NISHIHARA, R.; UTIYAMA, S.R.R.; KOTZE, L.R. Absence of HLA-DQ2 and HLA-DQ8 does not exclude celiac disease in Brazilian patients. **Revista Espanola de Enfermedades Digestivas**, v. 106, n. 8, p. 561–562, 2014.
- CASTRO-ANTUNES, M.M.; et al. Frequency distribution of HLA DQ2 and DQ8 in celiac patients and first-degree relatives in Recife, northeastern Brazil. **Clinics**, v.66, n.2, p. 227–231, 2011.
- ARAYA, M.; et al. DQ2, DQ7 and DQ8 Distribution and Clinical Manifestations in Celiac Cases and Their First-Degree Relatives. **Nutrients**, v.7, n.6, p.4955-4965, 2015.
- SPADACCINO, AC.; et al. Celiac disease in North Italian patients with autoimmune thyroid diseases. **Autoimmunity**, v.41, p116 -121, 2008.
- HADITHI, M.; et al. Coeliac disease in Dutch patients with Hashimoto's thyroiditis and vice versa. **World Journal of Gastroenterology**, v.13, n.11, p.1715-1722, 2008.
- TEIXEIRA, L.; et al. Screening of celiac disease in patients with autoimmune thyroid disease from Southern Brazil. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabolismo**, v.58, n.6, p.625-629, 2014.
- BRENTA, G.; et al. Diretrizes Clínicas práticas para o manejo do hipotireoidismo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabolismo**, v.57, n.4, p.265-299, 2013.
- 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**, v.10, n.9, 2015.