

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica**

**A metabolômica como ferramenta de diagnóstico e monitoramento da  
doença celíaca**

**Catharina Donda Baraúna**

Trabalho de Conclusão do Curso de  
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de  
Ciências Farmacêuticas da Universidade de  
São Paulo.

Orientador(a):  
Prof. Dr. Ernani Pinto Junior

**São Paulo**

**2019**

## AGRADECIMENTOS

Aos meus Pais pelo amor e apoio por estarem sempre ao meu lado em todas as minhas escolhas.

Ao meu namorado, que tem Doença Celíaca e é o motivo da escolha do tema, por toda força, cuidado e carinho, por participar desta etapa desde o primeiro ano.

Às minhas amigas de faculdade, por me acompanharem durante esses 6 anos de graduação, e compartilharem tantos momentos inesquecíveis.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	1
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	2
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	3
<b>RESUMO</b> .....	4
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	5
<b>2. OBJETIVO</b> .....	8
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	8
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	8
4.1 DOENÇA CELÍACA .....	8
4.1.1 Epidemiologia da Doença Celíaca .....	8
4.1.2 Classificação da Doença Celíaca .....	9
4.2 ASSOCIAÇÃO GENÉTICA DA DOENÇA CELÍACA .....	10
4.3 BIOMARCADORES DA DOENÇA CELÍACA.....	13
4.4 METABOLÔMICA .....	13
4.5 METABOLOMA DA DOENÇA CELÍACA .....	15
4.6 RELAÇÃO MICROBIOTA INTESTINAL E DOENÇA CELÍACA.....	19
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	23
<b>6. BIBLIOGRAFIA</b> .....	24

## LISTA DE ABREVIATURAS

Anti tTG	Anticorpo Antitransglutaminase Tecidual
COVs	Compostos Orgânicos Voláteis
DC	Doença Celíaca
EMA	Anticorpo Antiendomísio
IS	Indoxil Sulfato
LC-MS	Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa
m-HPPA	Ácido meta-hidroxifenil-propiónico
PAG	Fenilacetilglicina
RMN	Espectroscopia Ressonância Magnética Nuclear
tTG	Transglutaminase Tecidual

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Imagem ilustrativa de alimentos que possuem e não possuem glúten.....	5
<b>Figura 2</b> – Constituição do glúten. ....	6
<b>Figura 3</b> – Na parte esquerda, tem-se indicada as alterações morfológicas apresentadas na DC, incluindo atrofia das vilosidades, aumento de linfócitos intraepiteliais (IELs) e proliferação epitelial com cripta alongada. A direita ilustra-se um modelo de patogênese da DC. ....	11
<b>Figura 4 - A.</b> Lâmina feita a partir da biópsia do duodeno de uma paciente diagnosticada com doença celíaca na qual é demonstrado o encurtamento das vilosidades e aumento de linfócitos intraepiteliais. <b>B.</b> Lâmina feita a partir da biópsia de um duodeno normal (Ampliado 200 vezes e corado com hematoxilina-eosina). ....	12

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Metabólitos encontrados estatisticamente diferentes no Soro de pacientes celíacos não tratados, potenciais e controles não celíacos. Os + e - indicam, respectivamente, concentrações mais altas e mais baixas dos metabólitos no primeiro grupo de cada classificação, em relação ao segundo grupo..... 17
- Tabela 2** - Metabólitos encontrados estatisticamente diferentes na Urina de pacientes celíacos não tratados, potenciais e controles não celíacos. Os + e - indicam, respectivamente, concentrações mais altas e mais baixas dos metabólitos no primeiro grupo de cada classificação, em relação ao segundo grupo..... 18
- Tabela 3** - Tabela demonstrando a diferença encontrada entre os metabólitos de crianças celíacas tratadas e crianças saudáveis. .... 19
- Tabela 4** – Tabela demonstrando a diferença encontrada na composição da microbiota de crianças celíacas não tratadas e crianças saudáveis, indicando prevalência de Bacteróides e E. coli em crianças celíacas não tratadas..... 20
- Tabela 5** – Tabela demonstrando a diferença encontrada na composição da microbiota de crianças celíacas não tratadas e crianças saudáveis, indicando prevalência de Bacteróides em crianças celíacas não tratadas. .... 21
- Tabela 6** – Tabela demonstrando a diferença encontrada na composição da microbiota de crianças celíacas tratadas e crianças saudáveis, indicando prevalência de Bacteróides, Enterobactérias em crianças celíacas tratadas. As crianças saudáveis apresentam predominância de Lactobacillus e Bifidobacterium. .... 22
- Tabela 7** - Tabela demonstrando a diferença encontrada na composição da microbiota de crianças celíacas potenciais e crianças saudáveis, indicando prevalência de Firmicutes em crianças potenciais, enquanto as crianças saudáveis apresentam domínio de Bacteroidetes..... 23

BARAÚNA, C. **A METABOLÔMICA COMO FERRAMENTA DE DIAGNÓSTICO E MONITORAMENTO DA DOENÇA CELÍACA**. 2019. 30p. Trabalho de Conclusão de Curso Farmácia-Bioquímica - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** A Doença Celíaca (DC) é uma enteropatia autoimune crônica caracterizada pelo distúrbio inflamatório do intestino delgado causado pela exposição ao glúten a partir da alimentação, em indivíduos geneticamente predispostos. Essa inflamação crônica e alteração da permeabilidade intestinal causam lesões na mucosa do intestino que só podem ser diagnosticadas por meio de biópsia intestinal (FREEMAN, 2012). A partir de estudos iniciais analisando amostras de fluidos biológicos em pacientes com DC, foram encontrados possíveis biomarcadores para o diagnóstico e monitoramento da DC. **OBJETIVO:** Este estudo de revisão bibliográfica teve como objetivo a avaliação de estudos em metabolômica que pudessem apontar possíveis diferenças metabólicas entre indivíduos celíacos e saudáveis, auxiliando o diagnóstico a partir da composição da microbiota intestinal e dos metabólitos dos fluidos biológicos, excluindo a necessidade de múltiplas biópsias intestinais. **MATERIAIS E MÉTODOS** A estratégia consiste em pesquisa pelas palavras-chave “celiac disease”, “metabolomics” e “gut microflora” na literatura e levantamento de artigos científicos que abordam o tema Aplicação da Metabolômica no Diagnóstico da Doença Celíaca nas plataformas de busca Web of Science, Scopus, PubMed, Google Scholar e citações contidas nos artigos mais relevantes. **RESULTADOS:** Os artigos encontrados mostraram que: (i) a diversidade bacteriana foi analisada a partir de biópsias intestinais de crianças e adultos celíacos e tratados em relação à pacientes controles; (ii) confirmou-se que a microbiota intestinal é de fato alterada em pacientes celíacos, tendo abundância de *Bacteroides* em relação aos pacientes controle e; (iii) que a partir da análise de fluidos (soro, urina e fezes), foi possível encontrar moléculas como acetato de etila, acetato de octila, aminoácidos de cadeia curta e glutamina, que podem então ser considerados biomarcadores da Doença Celíaca. Além disso, confirmou-se que uma dieta sem glúten com duração de dois anos ou mais não é capaz de restaurar completamente a microbiota, pois ainda se encontram valores alterados de aminoácidos livres em fezes e na urina. **CONCLUSÃO:** Os metabólitos encontrados nas publicações desse levantamento não são exclusivos para a DC. Contudo, os estudos do metaboloma da Doença Celíaca revelam alterações em biomarcadores distintos em relação a não-celíacos, e que podem ser utilizados para o diagnóstico. A aplicação da metabolômica como ferramenta de diagnóstico da doença mostra-se eficiente e apontou diversos compostos preditivos da DC a partir da análise de fluidos biológicos (como urina, fezes, soro, entre outros), oferecendo a oportunidade de identificar os biomarcadores e criar uma plataforma de dados que auxilie a classificar e monitorar o desenvolvimento da DC.

**PALAVRAS-CHAVE:** Doença Celíaca, Metabolômica, Microflora Intestinal, Diagnóstico

## 1. INTRODUÇÃO

As doenças autoimunes são desenvolvidas quando o organismo apresenta reação imunológica a antígenos próprios, essas reações ocorrem devido a falha no mecanismo de autotolerância, o qual é o responsável pela ausência de resposta a antígenos próprios. O fenômeno da perda da autotolerância e do desenvolvimento de doenças autoimunes é acarretado pela junção de genes suscetíveis, essa combinação gênica ocorre a partir do mecanismo de herança genética (ROBBINS, 2013).

A Doença Celíaca (DC) está entre as patologias classificadas como autoimunes, essa é uma enteropatia crônica caracterizada pelo distúrbio inflamatório do intestino delgado, sendo esse distúrbio desencadeado em indivíduos geneticamente predispostos quando estes são expostos ao glúten (BASCUÑ et al., 2019).

O glúten é um complexo protéico que pode ser encontrado em grãos como trigo, centeio e cevada (Figura 1), durante processos alimentícios esse complexo entra em contato com a água e forma uma rede que permite o aprisionamento de gases dentro dos alimentos. A característica de viscoelasticidade do glúten é primordial na formação de uma massa com estrutura coesa, isso evita que ocorra a desintegração do alimento durante o cozimento (ZANNINI et al., 2012; (DANGI; CHAUDHARY; KHATKAR, 2019).

**Figura 1** - Imagem ilustrativa de alimentos que possuem e não possuem glúten.



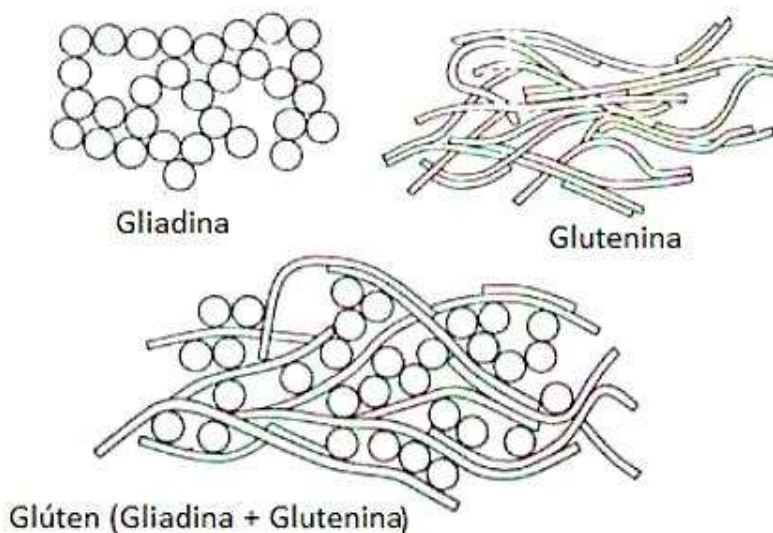
Fonte: Educacional (2016).

Para que as massas sem glúten tenham consistência parecidas com as que o possuem, é necessário a incorporação de substâncias que sejam capazes de mimetizar

a função do glúten de reter gases durante o cozimento da massa e garantir sua estabilidade. Assim, são raramente utilizados em substituição ao glúten os Hidrocolóides, pois são os únicos que conferem viscosidade necessária para reter os gases da fermentação e permitir a liberação de água necessária para a gelatinização do amido durante o cozimento, de modo a conferir estrutura semelhante ao glúten (ANTON; ARTFIELD, 2008).

As proteínas presentes de forma mais abundante no glúten são a gliadina e a glutenina (Figura 2), essas possuem em grande quantidade os resíduos de aminoácidos glutamina e prolina, o que dificulta a digestão completa das mesmas por enzimas do sistema digestório humano (GUTIÉRREZ et al., 2017). O acúmulo da gliadina e da glutenina no intestino pode acarretar na perda de funcionalidade da barreira intestinal, isso propicia o desenvolvimento de um quadro de inflamação crônica que consequentemente altera a permeabilidade intestinal e leva ao surgimento de lesões na mucosa do intestino (diagnosticadas somente por meio de biópsia intestinal) (FREEMAN, 2012).

**Figura 2** – Constituição do glúten.



Fonte: Adaptado de Castro, Barros e Medina (2013)

As manifestações da doença celíaca variam conforme faixa etária, bebês e crianças pequenas por exemplo, apresentam desde sintomas gastrointestinais, como

vômito, diarreia e distensão abdominal até sintomas extra-intestinais como irritabilidade e anorexia. Já em em adolescentes, normalmente a doença apresenta manifestações relacionadas a baixa estatura, anemia e sintomas neurológicos. Nos adultos, os sintomas ocasionados pela a doença são desde diarreia acompanhada de dor e desconforto abdominal até deficiência de ferro, anemia e osteoporose (GREEN; CELLIER, 2007).

Atualmente o único tratamento disponível para a DC é um método paliativo, o qual consiste na adoção de uma dieta livre de glúten. Esse método leva a restauração parcial da mucosa gastrointestinal e resulta no desaparecimento dos sinais sorológicos da doença, no entanto se ocorrer a reintrodução do glúten na rotina alimentar a doença volta a ser desencadeada (PARNEZE et al., 2017).

Além do tratamento citado anteriormente, são utilizadas algumas estratégias complementares, que visam interferir na ativação de células CD4-T reativas ao glúten. Essas estratégias incluem a inibição da atividade intestinal da transglutaminase tecidual (TG2) para evitar a desaminação seletiva de peptídeos imunogênicos do glúten e o bloqueio da ligação de epítomos do glúten aos antígenos de histocompatibilidade HLA-DQ2 e HLA-DQ8. Também existem outros tratamentos complementares, esses incluem terapia com citocinas, inibidores seletivos da molécula de adesão e degradação de peptídeos por prolil endopeptidases de origem microbiana (DE RE et al., 2010).

Visto a gravidade da doença celíaca e a falta de métodos pouco invasivos para de diagnosticá-la, é de extrema importância identificar e investigar novos métodos alternativos de diagnóstico para DC. Dessa forma, através dessa revisão bibliográfica espera-se demonstrar a capacidade dos estudos em metabolômica apontarem possíveis diferenças metabólicas entre indivíduos celíacos e saudáveis, auxiliando assim no diagnóstico da doença celíaca a partir da composição da microbiota intestinal e dos metabólitos dos fluidos biológicos, excluindo a necessidade de múltiplas biópsias intestinais.

## **2. OBJETIVO**

O presente trabalho tem como objetivo apresentar a metabolômica como ferramenta de diagnóstico e monitoramento não invasivo para doença celíaca (DC), uma vez que essa doença pode ser diagnosticada através de métodos invasivos como a endoscopia digestiva e realização de múltiplas biópsias duodenais (bulbo e porções distais) seguida de exame histopatológico das amostras.

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

A estratégia consiste em pesquisa pelas palavras-chave “celiac disease”, “metabolomics” e “gut microflora” na literatura e levantamento de artigos científicos que abordam o tema Aplicação da Metabolômica no Diagnóstico da Doença Celíaca nas plataformas de busca Web of Science, Scopus, PubMed, Google Scholar e citações contidas nos artigos mais relevantes.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 DOENÇA CELÍACA**

A DC foi descoberta no ano de 1888 por Samuel Gee, um pediatra do Reino Unido, entretanto o glúten só foi reconhecido como agente causador do transtorno durante o ano de 1940. Ao decorrer da Segunda Guerra Mundial, o médico holandês Willem Karel Dicke fez uma associação entre a diminuição dos casos de doença celíaca com a falta de pães e outros produtos que continha trigo devido à escassez de alimentos (SDEPANIAN; MORAIS; FAGUNDES-NETO, 1999).

#### **4.1.1 Epidemiologia da Doença Celíaca**

A DC é uma das mais importantes patologias gastrointestinais, é estimado que essa afeta até 1% da população mundial em geral (REWERS, 2005). Segundo estudos

de prevalência realizado pela Associação Portuguesa de Celíacos, essa doença acomete pessoas de todas as faixas etárias, destacando crianças, mulheres (duas mulheres para cada homem) e predominantemente em indivíduos de raça negra (faiodérmicos) (Ministério da Saúde, 2015).

Um estudo conduzido através meta-análises por Singh e colaboradores (2018) indicou que a maior prevalência da doença celíaca se encontra na América do Sul (4%), seguido da Europa e da Oceania com 0,8 %, da Ásia com 0,6 % e da África e da América do Norte com 0,5 %. No Brasil, ainda não há um número oficial sobre a prevalência da DC, no entanto, uma pesquisa realizada pela Universidade Federal de São Paulo a partir de amostras de sangue de doadores residentes da capital Paulista, determinou a prevalência dos marcadores genéticos da DC. O resultado obtido demonstrou que a cada 214 indivíduos do grupo amostral analisado 1 possuía marcadores para doença celíaca, indicando assim que a doença não deve ser rara na população, mas sim subdiagnosticada (MUNIZ; SDEPANIAN; NETO, 2016).

#### 4.1.2 Classificação da Doença Celíaca

Segundo dados presentes na literatura é possível classificar a DC em até 6 divisões de acordo com as características fenotípicas apresentadas pelos os indivíduos portadores da doença. Essas divisões são conhecidas como: forma clássica, não-clássica (atípica), assintomática (silenciosa), latente, refratária e pacientes potenciais (SANTOS et al., 2014; LIU et al., 2014).

A forma Clássica é caracterizada pela manifestação de sintomas digestivos em conjunto com à má-absorção de nutrientes, e histologia característica com atrofia das vilosidades intestinais e infiltração de células do sistema imunológico, devido à presença do glúten. O diagnóstico dos pacientes que possuem essa forma de DC é motivado pelas manifestações gastrintestinais. Já na forma não-clássica (atípica), o paciente não tem sintomas gastrointestinais, como diarreia, dor abdominal e constipação, mas apresenta sintomas extraintestinais causados pela má-absorção de nutrientes, como anemia, osteoporose e dermatite herpetiforme. Ao contrário da forma clássica, o diagnóstico desses pacientes é motivado pelas manifestações extraintestinais (PEREIRA; SILVA; ERRANTE, 2017).

Na forma assintomática (silenciosa) os pacientes não possuem sintomatologia, esses apesar de não apresentarem manifestações gastrintestinais e extraintestinais, possuem sorologia positiva e mudanças nas vilosidades intestinais ocasionadas pela ação do glúten. São classificados dentro da forma latente, os pacientes com diagnóstico prévio de doença celíaca que foram submetidos a uma dieta livre de glúten, que apresentam HLA compatível, mas quando expostos novamente a uma dieta com glúten continuam apresentando uma histologia normal (TONUTTI; BIZZARO, 2014).

São encaixados na forma da DC refratária os indivíduos que a princípio respondem bem à uma dieta livre de glúten, mas que mesmo com a ausência do mesmo não voltam a ter a mucosa intestinal restaurada e volta a apresentar os sintomas após certo período. Normalmente essa forma se encontra associada a outras doenças (CUNHA; CARNEIRO; AMIL, 2013). Os pacientes potenciais são todos indivíduos que possuem parentesco de primeiro grau com pacientes celíacos e que mesmo não apresentando alterações na mucosa gastrintestinal possuem sorologia positiva (WALKER et al., 2012).

#### 4.2 ASSOCIAÇÃO GENÉTICA DA DOENÇA CELÍACA

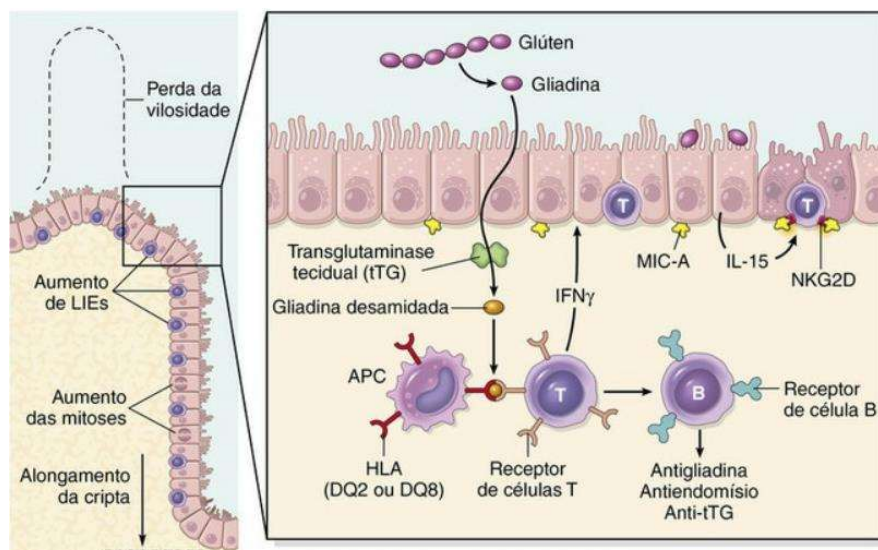
O desenvolvimento da doença celíaca e os mecanismos envolvidos no surgimento da mesma ainda não estão completamente elucidados, no entanto sabe-se que respostas do sistema imunológico são extremamente importantes durante o processo. A suscetibilidade genética à DC está associada à alelos do MHC classe II, localizados no cromossomo 6p21, mais especificamente o alelo HLA-DQ2 (DQA1 \* 05 e DQB1 \* 02) (SALAZAR; GARCÍA-CÁRDENAS; PAZ-Y-MIÑO, 2017).

A função primária das moléculas de DQ é apresentar antígenos peptídicos exógenos a células T auxiliares. Os polimorfismos genéticos encontrados no HLA-DQ2 alteram principalmente aminoácidos no sulco de ligação do peptídeo e afetam o repertório de apresentação do peptídeo. O alelo HLA-DQ2 está presente em mais de 90% dos pacientes celíacos, enquanto nos demais pacientes o alelo mais comum é o HLA-DQ8 (DQA1 \* 03 / DQB1 \* 0302). (HEEL, 2005). Para o desenvolvimento da doença os pacientes devem apresentar um dos dois genes, mas a DC só é de fato desencadeada quando o indivíduo sofre a exposição ao glúten (VELDINK et al., 2010).

O intestino delgado é responsável pela digestão e absorção dos nutrientes, na mucosa intestinal existem projeções chamadas vilosidades que são as grandes responsáveis por realizar essa absorção. Os enterócitos são um tipo celular presentes no tecido que constitui o intestino delgado, essas células possuem uma região denominada como borda em escova na qual ocorre a degradação de moléculas por enzimas digestivas (SANIOTO, 2012).

O glúten quando chega ao o intestino delgado sofre um processo de digestão pelas enzimas presentes na borda em escova, esse é reduzido a peptídeos, entre eles se encontra o gliadina, que é resistente à degradação por proteases gástricas, pancreáticas e intestinais delgadas. Esse peptídeo, possui a capacidade de induzir células epiteliais a expressar IL-15, uma citocina pró-inflamatória, que leva à ativação e proliferação de linfócitos epiteliais T CD8+. Em resposta ao estresse, os enterócitos são reconhecidos por linfócitos intra-epiteliais, resultando em dano epitelial, que permite a passagem de outros peptídeos de gliadina para a lâmina própria, onde terão contato com a transglutaminase tecidual (Figura 3) (ROBBINS AND COTRAN, 2010).

**Figura 3** – Na parte esquerda, tem-se indicada as alterações morfológicas apresentadas na DC, incluindo atrofia das vilosidades, aumento de linfócitos intraepiteliais (IELs) e proliferação epitelial com cripta alongada. A direita ilustra-se um modelo de patogênese da DC.

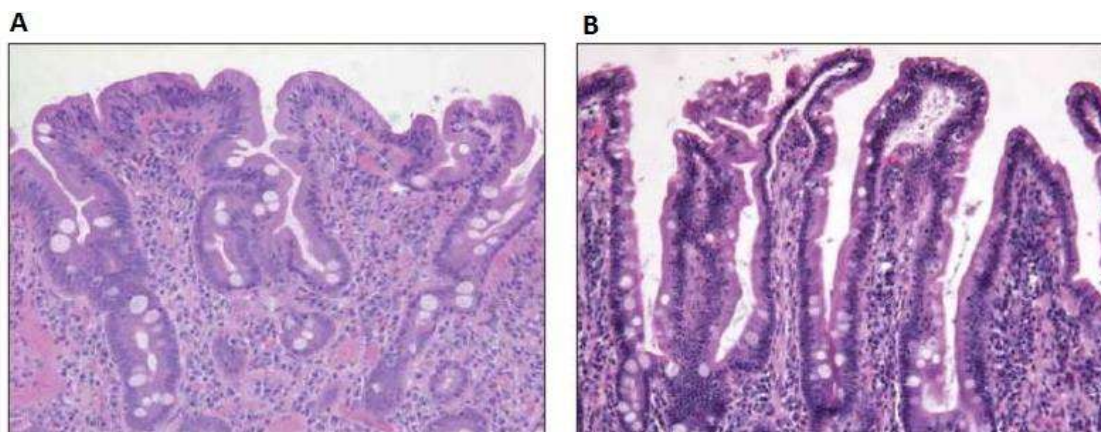


**Fonte:** Livro Robbins & Cotran Bases Patológicas das Doenças 8 ed. (2010).

A vulnerabilidade da barreira permite a passagem de peptídeos e antígenos do lúmen para a lâmina própria intestinal, estes que serão desaminados pela transglutaminase tecidual (tTG) (SOLLID, 2002). A transglutaminase tecidual (tTG), como outras transglutaminases cria uma ligação intra ou intermolecular entre proteínas com um grupo e-amino de um resíduo de lisina e um grupo c-carboxamida de um resíduo de glutamina, ampliando a resistência à proteólise (DE RE et al., 2010). A desaminação dos peptídeos de gliadina pela tTG eleva a probabilidade de ligação ao bolso do antígeno leucocitário humano HLA-DQ2 ou HLA-DQ8, constituindo um complexo que estimula a resposta imune adaptativa e a posterior formação de anticorpos antitransglutaminase (IgA e IgG) específicos pelas células B (DEGEORGE et al., 2017). A apresentação de glúten desaminado pelas variantes HLA-DQ2 / 8 gera uma ativação mais intensa das células T CD4 T-helper 1, o que resulta em inflamação da mucosa intestinal.

A inflamação crônica e alteração da permeabilidade intestinal causam lesões na mucosa do intestino, que são histologicamente caracterizadas por atrofia das vilosidades (Figura 4), mucosa plana com criptas alongadas, lâmina própria com denso infiltrado de linfócitos T CD8+ e plasmócitos, epitélio superficial cubóide com vacuolizações e aumento de linfócitos intraepiteliais (LINDON; NICHOLSON; HOLMES, 2006) (MN, 1992).

**Figura 4 - A.** Lâmina feita a partir da biópsia do duodeno de uma paciente diagnosticada com doença celíaca na qual é demonstrado o encurtamento das vilosidades e aumento de linfócitos intraepiteliais. **B.** Lâmina feita a partir da biópsia de um duodeno normal (Ampliado 200 vezes e corado com hematoxilina-eosina).



Fonte: Adaptado de LEFFLER, 2012

### 4.3 BIOMARCADORES DA DOENÇA CELÍACA

As moléculas utilizadas como marcadores para diagnóstico inicial da Doença Celíaca são os Anticorpos Antiendomísio (EMA), anticorpos antitransglutaminase tecidual (anti-tTG) e o exame de tipagem HLA (RASHID; LEE, 2016; WOLF et al., 2014).

O anti-tTG, é o anticorpo contra a transglutaminase tecidual que é a enzima responsável pela desaminação da gliadina, é o marcador mais eficiente para detecção da DC. Já o anticorpo antiendomísio IgA (EMA) é direcionado contra a enzima transglutaminase (antígeno), e sua presença indica a progressão da atrofia das vilosidades. Por último, o exame de tipagem HLA também é utilizado para identificar pacientes que apresentam o alelo HLA DQ2/DQ8 (presente em 90% dos pacientes celíacos). Em casos positivos desses exames, deve-se também confirmar o diagnóstico a partir da biópsia de intestino. (SUDBRACK DA GAMA E SILVA; FURLANETTO, 2010).

### 4.4 METABOLÔMICA

A metabolômica consiste no estudo dos metabólitos de um organismo vivo, em resposta a alterações genéticas, fisiológicas ou até mesmo de acordo com a dieta (LINDON; NICHOLSON; HOLMES, 2006). Esse estudo utiliza de tecnologias analíticas para a avaliação de vias metabólicas, a fim de caracterizar e identificar moléculas que podem ser utilizadas como marcadores específicos para uma determinada doença (CLISH, 2015). Uma vantagem é a possibilidade de realizar diagnósticos e prognósticos de resposta à tratamentos a partir de exames não invasivos, a partir de fluidos como urina e plasma (CANUTO et al., 2018).

O metaboloma pode ser considerado a base de todos os processos catabólicos e anabólicos de um organismo, refletindo suas vias bioquímicas e metabólicas. O metaboloma alimentar é diretamente derivado do processamento (digestão e biotransformação) dos alimentos e dos seus constituintes, esse processo é realizado pelas enzimas digestivas e também por microorganismos presentes na microbiota intestinal. Mais de 25.000 metabólitos como ácidos graxos de cadeia curta, ácidos biliares

secundários, peptídeos e aminoácidos são gerados durante o processo de digestão. (SCALBERT et al., 2014).

Os metabólitos são produtos finais das vias metabólicas, derivados da biotransformação do metaboloma endógeno, dessa forma podem ser utilizados como biomarcadores e correlacionados com mudanças patológicas, genéticas ou ambientais. A alteração da concentração destes compostos, permite identificar as vias metabólicas alteradas e o possível mecanismo de patogênese, ajudando assim a diagnosticar e/ou monitorar uma doença (BELINATO et al., 2019).

A Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e a Espectrometria de Massa (MS) são as técnicas analíticas mais utilizadas na metabolômica. Enquanto a MS permite identificar a estrutura dos metabólitos, a RMN possibilita medir as concentrações relativas e absolutas dos mesmos (VEENSTRA, 2012).

A Espectrometria de massas é uma técnica que determina a massa das moléculas em uma amostra. As moléculas da amostra são convertidas em íons em fase gasosa, que são posteriormente separados de acordo com a razão carga sobre massa, que fornecem o espectro. A principal vantagem é que tem alta sensibilidade e é importante na determinação da estrutura molecular. Geralmente os metabólitos devem ser separados antes da detecção por cromatografia gasosa, para análise de compostos voláteis, ou cromatografia líquida, para análise de substâncias não voláteis ou termicamente instáveis (DETTMER; ARONOV; HAMMOCK, 2007).

Já a Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear utiliza das características magnéticas das moléculas para analisar as propriedades físicas e químicas das mesmas. Essas moléculas quando entram em contato com um campo magnético, absorvem a radiação eletromagnética e depois a reemitem em várias frequências e assim constitui o espectro de RMN, o qual depende da estrutura molecular e da concentração da molécula. A principal desvantagem é que essa técnica possui baixa sensibilidade, além de fornecer espectros complexos que podem dificultar a identificação dos metabólitos das amostras (MARKLEY et al., 2017).

Deste modo, é possível analisar e caracterizar metabólitos utilizando as técnicas citadas anteriormente e correlacionar esses metabólitos com possíveis doenças. A

principal vantagem do uso dessas técnicas é o fato de que as amostras utilizadas para realizar as análises não são obtidas de forma invasiva.

#### 4.5 METABOLOMA DA DOENÇA CELÍACA

A doença celíaca após um estudo metabolômico foi definida pela apresentação de alterações na absorção, no metabolismo energético e na microflora intestinal e / ou permeabilidade intestinal (FATHI et al., 2013).

Sobre absorção dos pacientes celíacos, foi detectado concentrações séricas de piruvato e lactato reduzidas, enquanto a concentração sérica de glicose está aumentada. Tal alteração indica um comprometimento da via glicolítica ou uma redução da ingestão de glicose no nível celular (FATHI et al., 2014).

A composição corporal, a taxa metabólica de repouso e o metabolismo energético de pacientes celíacos tratados e não tratados foi investigado por Capristo et al. (2018) e depois comparados com um grupo de voluntários saudáveis, pareados por sexo e idade. Os resultados mostraram que os pacientes com DC não tratados e tratados tiveram um menor peso corporal, menor índice de massa corpórea (IMC) e menor massa gorda em comparação com os controles saudáveis, o que indica o biótipo do paciente celíaco.

Em relação ao metabolismo energético, quando a glicólise está comprometida ocorre conseqüentemente um aumento da  $\beta$ -oxidação, sendo assim é identificado um aumento do uso de corpos cetônicos como uma fonte de energia em pacientes celíacos, o que é consistente com as concentrações elevadas de ácido 3-hidroxi-butírico identificado no sangue e acetoacetato na urina. A fadiga, que é constantemente relatada por pacientes celíacos não tratados é elucidada pelo comprometimento da glicólise e a decorrente conversão de energia a partir de lipídios e catabolismo de corpos cetônicos, que são menos eficientes do que a via glicolítica. Após 12 meses em dieta livre de glúten a concentração de glicose e ácidos 3-hidroxi-butíricos no soro normalizaram, explicando ausência de fadiga em pacientes celíacos tratados (BERTINI. et al., 2009).

As mudanças na microbiota e/ou permeabilidade intestinal, são um dos principais fatores ambientais envolvidos na patogênese da DC devido sua composição e atividade

metabólica. Em relação a indivíduos saudáveis, os pacientes celíacos não tratados apresentam valores elevados de ácido meta-hidroxifenil-propiónico (m-HPPA), indoxil sulfato (IS) e fenilacetilglicina (PAG) na urina. A m-HPPA é um dos vários produtos de degradação da microflora intestinal. No fígado, o IS é produzido a partir de indol, um subproduto do metabolismo do triptofano pelas bactérias intestinais. A modulação da excreção de PAG na urina tem sido recentemente atribuída à microflora intestinal. A presença desses metabólitos na urina também pode ser causada por uma permeabilidade intestinal alterada, que leva a passagem de fragmentos de gliadina ricos em prolina e glutamina através do epitélio intestinal, ativando assim a resposta imune (SAROSIEK et al., 2016).

O diagnóstico preciso da doença celíaca em um estágio inicial e seu tratamento com uma dieta sem glúten são importantes para o tratamento e prognóstico ideais. Com intenção de identificar uma assinatura metabólica para a DC a partir da aplicação da metabolômica, Lami e colaboradores (2010), realizaram um estudo entre pacientes celíacos diagnosticados, pacientes celíacos potenciais e pacientes controles. Foi empregado um grupo amostral de 61 pacientes com CD diagnosticada, 29 pacientes com CD em potencial e 51 indivíduos controle. Os metabólitos do soro e da urina de todos os indivíduos foram examinados por RMN de 1H. Encontrou-se que os pacientes celíacos potenciais possuem similaridade com o perfil metabólico de pacientes celíacos sintomáticos, compartilhando amplamente a assinatura metabólica destes; dos 29 pacientes com CD em potencial, 24 foram classificados como celíacos e apenas 5 como sujeitos de controle. Já a relação entre o perfil metabólico de pacientes celíacos e indivíduos controle descoberta foi significativamente diferente, como mostram as tabelas 1 e 2.

**Tabela 1** - Metabólitos encontrados estatisticamente diferentes no Soro de pacientes celíacos não tratados, potenciais e controles não celíacos. Os + e - indicam, respectivamente, concentrações mais altas e mais baixas dos metabólitos no primeiro grupo de cada classificação, em relação ao segundo grupo.

<b>Metabólito</b>	<b>Pacientes Celíacos vs Paciente Controle</b>	<b>Pacientes Potenciais vs Paciente Controle</b>	<b>Pacientes Celíacos vs Pacientes Potenciais</b>
Colina			
Creatinina		-	
Glicose		+	
Glicoproteínas			
Isoleucina			
Lactato			
Leucina		-	
Lipídios	-	-	-
Metionina	-		
Valina	-	-	
Citrato	+		
Serina	+		
Fenilalanina	+		
Glutamato	+	+	+
Dimetilglicina		-	+
Prolina		+	
Arginina		-	

**Fonte:** Adaptado de Lami et al. (2010).

**Tabela 2** - Metabólitos encontrados estatisticamente diferentes na Urina de pacientes celíacos não tratados, potenciais e controles não celíacos. Os + e - indicam, respectivamente, concentrações mais altas e mais baixas dos metabólitos no primeiro grupo de cada classificação, em relação ao segundo grupo.

<b>Metabólito</b>	<b>Pacientes Celíacos vs Paciente Controle</b>	<b>Pacientes Potenciais vs Paciente Controle</b>	<b>Pacientes Celíacos vs Pacientes Potenciais</b>
Acetoacetato	+	++	
Colina	+	+	
Glutamato/ Glutamina	+		+
Indoxil Sulfato	+		+
mHPPA	+		+
PAG	+		+
3-OH-butirato	+		
Metilamina	+		
Valerato	+		
Sarcosina	+		
p-creosulfato	+		
1-methylnicotinamida	+	-	
Citrato	+	-	+
Hipurato		-	

**Fonte:** Adaptado de Lami et al.,2010.

Em outro estudo, realizado por Ricciuti et al.(2009) foi analisado a metabolômica de amostras de fezes e urina de crianças saudáveis e com DC em uma dieta livre de glúten por pelo menos 2 anos (paciente tratado), por espectroscopia de <sup>1</sup>H-RMN e SPME GC-MS (fezes). As concentrações fecais de Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) foram maiores que as concentrações encontradas na urina, e a concentração de COVs e aminoácidos livres (prolina, metionina, histidina e triptofano) foram elevados na DC.

Neste estudo, os níveis de ácidos graxos de cadeia curta (ácido butírico, isocapróico e propanóico) foram menores em crianças com DC tratadas, em comparação com crianças saudáveis, como apresentado na tabela 3. Essas alterações podem estar associadas a modificações de bactérias intestinais e fecais que poderiam induzir uma inflamação inespecífica e uma redução da superfície de absorção da mucosa intestinal, o que pode levar a uma redução da absorção de aminoácidos que são então perdidos com as fezes.

**Tabela 3** - Tabela demonstrando a diferença encontrada entre os metabólitos de crianças celíacas tratadas e crianças saudáveis.

	<b>Crianças Celíacas Tratadas</b>	<b>Crianças Saudáveis</b>
<i>COVs</i>	++	+
<i>Aminoácidos Livres</i>	++	+
<i>Ácidos graxos de cadeia curta</i>	+	++

**Fonte:** Tabela criada a partir dos dados de Ricciuti et al., (2009).

#### 4.6 RELAÇÃO MICROBIOTA INTESTINAL E DOENÇA CELÍACA

O microbioma intestinal é o conjunto da microbiota de todo o trato gastrointestinal, constituído por milhares de espécies procarióticas e simbióticas. Assim, modificações nas colônias de bactérias intestinais estão diretamente associadas ao desenvolvimento de doenças, já que podem originar disbiose ou probiose do trato gastrointestinal (HOLMES et al., 2011). A microbiota intestinal desempenha atua beneficiando o organismo e abrangendo: (i) desenvolvimento de células imunes e homeostase, (ii) digestão de alimentos, (iii) apoio ao metabolismo da gordura, (iv) homeostase epitelial, (v) regulação do nervo entérico e (vi) promoção da angiogênese. Desse modo, a desregulação da microbiota intestinal pode prejudicar esses papéis negativamente, podendo levar a doenças como alergia, doença inflamatória intestinal, obesidade, câncer e diabetes (HOLMES; WILSON; NICHOLSON, 2008).

Uma comparação entre adultos celíacos saudáveis, doentes e tratados demonstrou que há um número menor de *Streptococcus spp.* e *Prevotella spp.* em adultos celíacos não tratados. Curiosamente, padrões semelhantes também foram observados em crianças com DC, sugerindo que essas populações bacterianas podem ter sido modificadas por mudanças no ambiente intestinal causadas por DC ativa (CALABRÒ et al., 2014).

Nadal et al. (2007) realizou um estudo no qual caracterizou a microbiota duodenal de crianças celíacas e saudáveis, por meio da análise de amostras de biópsias duodenais, e constatou que os grupos *Bacteroides* e *E. coli* foram mais abundantes em pacientes celíacos do que em saudáveis. Além disso, a proporção entre *Lactobacillus* – *Bifidobacterium* e *Bacteroides* - *E. coli* foi significativamente reduzida em pacientes celíacos não tratados em comparação aos saudáveis. Esses resultados indicam que a disbiose intestinal está associada com a Doença Celíaca e que algumas das alterações não são apenas secundárias ao meio inflamatório da fase ativa desse transtorno, mas os fatores genéticos e a exposição ao glúten desempenham um papel primordial no desenvolvimento da DC. A tabela 4 descreve os resultados encontrados.

**Tabela 4** – Tabela demonstrando a diferença encontrada na composição da microbiota de crianças celíacas não tratadas e crianças saudáveis, indicando prevalência de *Bacteróides* e *E. coli* em crianças celíacas não tratadas.

	<b>Crianças Não Tratadas</b>	<b>Crianças Saudáveis</b>
<i>Lactobacillus</i>	+	++
<i>Bifidobacteria</i>	+	++
<i>Bacteroides</i>	++	+
<i>E. coli</i>	++	+

**Fonte:** Tabela criada a partir dos dados de Nadal et al. (2007).

Sánchez et al. (2010) a partir de amostras de biópsias duodenais de pacientes pediátricos com doença celíaca ativa e tratada, investigou também a composição da microbiota intestinal e caracterizar as espécies de populações microbianas. A diversidade de bacteroides foi maior em amostras de biópsia de controles do que naqueles de

pacientes com doença celíaca ativa e tratada. A diversidade de *Bacteroides* foi maior em pacientes com doença celíaca que em controles. Foi observado que as bactérias *Weissella spp* e *Lactobacillus* eram mais abundantes e diversificadas em pacientes celíacos tratados e controles do que em pacientes com doença celíaca não tratada. Além disso, observou-se que um tratamento com dieta sem glúten não restaurou o equilíbrio da composição de *Bacteroides*. Os autores sugerem que algumas das mudanças na comunidade bacteriana duodenal poderiam ser por causa das consequências inflamatórias da fase ativa da doença e a influência de diferentes hábitos alimentares.

A Tabela 5 apresenta um resumo dos resultados que os autores encontraram nos estudos.

**Tabela 5** – Tabela demonstrando a diferença encontrada na composição da microbiota de crianças celíacas não tratadas e crianças saudáveis, indicando prevalência de *Bacteróides* em crianças celíacas não tratadas.

	<b>Crianças Não Tratadas</b>	<b>Crianças Saudáveis</b>
<i>Bacteroides</i>	++	+
<i>Weissela</i>	+	++
<i>Lactobacillus</i>	+	++

**Fonte:** Tabela criada a partir dos dados de Sánchez et al. (2010).

Di Cagno et al. (2011), também analisou a diversidade microbiana a partir de biópsias duodenais em crianças celíacas sob uma dieta livre de glúten comparado com crianças saudáveis. Foi encontrada uma maior diversidade da comunidade de *Eubactéria* no duodeno de crianças celíacas sob uma dieta sem glúten em relação a crianças saudáveis. Em comparação com as biópsias duodenais, a população bacteriana fecal foi mais diversificada. Os perfis fecais de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* diferem entre crianças celíacas tratadas e controles saudáveis. Assim como Nadal et al, também encontrou que a relação entre *Lactobacillus* / *Bifidobacterium* e *Bacteroides* / *Enterobactérias* foi menor em crianças celíacas em tratamento em comparação com crianças saudáveis. Na Tabela 6 são apresentadas as conclusões encontradas.

**Tabela 6** – Tabela demonstrando a diferença encontrada na composição da microbiota de crianças celíacas tratadas e crianças saudáveis, indicando prevalência de *Bacteróides*, *Enterobactérias* em crianças celíacas tratadas. As crianças saudáveis apresentam predominância de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*.

	<b>Crianças Celíacas Tratadas</b>	<b>Crianças Saudáveis</b>
<i>Eubacteria</i>	++	+
<i>Lactobacillus</i>	+	++
<i>Bifidobacterium</i>	+	++
<i>Bacteroides</i>	++	+
<i>Enterobacterias</i>	++	+

**Fonte:** Tabela criada a partir dos dados de Di Cagno et al. (2011).

Di Cagno et al. (2011), assim como Nadal et al. (2007) e Sánchez et al. (2010), também analisou a diversidade bacteriana a partir de biópsias intestinais de crianças celíacas tratadas, e também confirmou que uma dieta sem glúten com duração de dois ou mais anos não é capaz de restaurar completamente a microbiota, pois ainda se encontram valores alterados de aminoácidos livres nas fezes e na urina. Como tal, algumas moléculas incluindo acetato de etilo, acetato de octilo, aminoácidos de cadeia curta e glutamina, que podem então ser considerados assinaturas da DC.

Com base na hipótese de que a introdução de glúten em uma microbiota intestinal imatura poderia acelerar ou desencadear o desenvolvimento de autoimunidade, foi investigado a introdução retardada de glúten em bebês de risco, com base. O impacto da introdução de glúten precoce (aos 6 meses) versus tardia (aos 12 meses) na microbiota e no metaboloma fecal de crianças do nascimento aos 24 meses, foi examinado através de um ensaio clínico prospectivo aleatório e duplamente cego. Os resultados, estabelecidos através de avaliação sorológica, mostraram que os bebês geneticamente suscetíveis à DC desenvolvem evidências de autoimunidade (anticorpos anti-gliadina IgG) mais frequentemente após a exposição precoce ao glúten em comparação com a introdução tardia. A caracterização da microbiota fecal mostrou que crianças com risco de DC tinham uma relativa ausência de Bacteroidetes e abundância de Firmicutes, enquanto em crianças saudáveis os Bacteroidetes eram o grupo mais abundante. Um dos bebês no grupo de exposição precoce ao glúten foi diagnosticado com DC aos 24 meses de idade o que facilitou um exame prospectivo da microbiota e do metaboloma. Neste bebe, foi observado diferença na composição da microbiota nos períodos de 6 a 8

meses, com redução da diversidade microbiana nas amostras colhidas antes do aparecimento da DC, quando comparado com os outros bebês (SELLITTO et al., 2012).

O resumo destes resultados encontrados pelos autores é apresentado na Tabela 7.

**Tabela 7** - Tabela demonstrando a diferença encontrada na composição da microbiota de crianças celíacas potenciais e crianças saudáveis, indicando prevalência de *Firmicutes* em crianças potenciais, enquanto as crianças saudáveis apresentam predomínio de *Bacteroidetes*.

	<b>Crianças potenciais</b>	<b>Crianças saudáveis</b>
<i>Bacteroidetes</i>	+	++
<i>Firmicutes</i>	++	+

Fonte: Adaptado de Sellitto et al. (2012).

Em razão do aleitamento materno exclusivo, curiosamente, o metaboloma do intestino em todas as crianças até 30 dias de idade foi muito semelhante: concentrações altas de lactose, glicose e outros açúcares. Com o desmame aos 6 meses, no entanto, ocorre uma mudança que resulta em valores consideravelmente diminuídos de açúcares e aumento de vários aminoácidos e ácidos graxos de cadeia curta. Concentrações elevadas de lactato foram encontradas em amostras de 6 a 12 meses de idade, o que foi correlacionado com a presença de valores elevados de *Lactobacillus spp* nas fezes. Além disso, os resultados sugerem que uma introdução retardada de glúten na dieta de bebês geneticamente suscetíveis pode pelo menos atrasar o início da doença (RYAN et al., 2015). Como foi demonstrado pelos vários estudos apresentados, existem diferenças na composição da microbiota entre pacientes normais, potenciais e celíacos.

## 5. CONCLUSÃO

Diversos estudos apresentam diferenças entre os perfis séricos, urinários e do microbioma quando são comparados pacientes celíacos, potenciais e normais. Também, há uma indicação de genes específicos que normalmente são encontrados apenas no

genoma dos indivíduos que possuem predisposição para desenvolvimento da DC. Além disso, as mudanças histopatológicas apresentadas no epitélio do intestino delgado dos portadores dessa doença acabam interferindo e ocasionando um desequilíbrio em outros mecanismos celulares. Sendo assim, essas mudanças apresentadas pelos portadores de DC possuem grande potencial para serem quantificadas, avaliadas e utilizadas na criação de novos métodos de diagnóstico da doença.

Apesar da doença celíaca ainda não possuir um único biomarcador específico é essencial a investigação de novas moléculas que possam auxiliar na identificação dos indivíduos portadores da mesma. Sendo assim, a metabolômica pode ser utilizada para o desenvolvimento de novas alternativas para detecção de possíveis biomarcadores da doença celíaca, já que essa por usar técnicas analíticas propicia a identificação e caracterização de metabólitos. Além disso, essa técnica pode proporcionar uma forma de detecção mais rápida e menos invasiva da doença.

Por enquanto, todos os diagnósticos realizados sobre a DC continuam sendo baseados em análises feitas a partir de amostra obtidas por múltiplas biópsias do intestino, o que demonstra a extrema necessidade do desenvolvimento de novos estudos em relação a essa patologia.

## 6. BIBLIOGRAFIA

ABBAS, A.K., FAUSTO, N, KUMAR, V. **Robbins & Cotran - Patologia - Bases Patológicas das Doenças** 8ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2010.

ANTON, A. A.; ARTFIELD, S. D. Hydrocolloids in gluten-free breads: A review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 59, n. 1, p. 11–23, 2008.

BASCUÑ, K. A. et al. Impact of FODMAP Content Restrictions on the Quality of Diet for Patients with Celiac Disease on a Gluten Free Diet. n. Cd, 2019.

BELINATO, J. et al. Metabolômica Microbiana: inovações e aplicações. **Quimica Nova**, v. 42, n. 5, p. 546–559, 2019.

BERTINI, I. et al. The metabonomic signature of celiac disease. **Journal of proteome research**, v. 8, n. 1, p. 170–177, 2009.

- CALABRÒ, A. et al. A metabolomic perspective on coeliac disease. **Autoimmune Diseases**, v. 2014, 2014.
- CANUTO, G. A. B. et al. Metabolômica: Definições, Estado-Da-Arte E Aplicações Representativas. **Química Nova**, v. 41, n. 1, p. 75–91, 2018.
- CAPRISTO, E. et al. Changes in body composition , substrate oxidation , and resting metabolic rate in adult celiac disease patients after a 1-y gluten-free. n. August, p. 76–81, 2018.
- CASTRO, J., BARROS, J.; MEDINA, L.. 2013. Determinação da quantidade de glúten na farinha de trigo. Universidade Federal do Amazonas – Departamento de química. 1:6
- CLISH, C. B. Metabolomics : an emerging but powerful tool for precision medicine. **Cold Spring Harbor**, p. 1–6, 2015.
- CUNHA, M.; CARNEIRO, F.; AMIL, J. DOENÇA CELÍACA REFRATÁRIA. p. 19–26, 2013.
- DANGI, P.; CHAUDHARY, N.; KHATKAR, B. S. Rheological and microstructural characteristics of low molecular weight glutenin subunits of commercial wheats. **Food Chemistry**, v. 297, n. June, p. 124989, 2019.
- DE RE, V. et al. Proteomic analyses lead to a better understanding of celiac disease: Focus on epitope recognition and autoantibodies. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 55, n. 11, p. 3041–3046, 2010.
- DEGEORGE, K. C. et al. Celiac Disease and Gluten Sensitivity. **Primary Care - Clinics in Office Practice**, v. 44, n. 4, p. 693–707, 2017.
- DETTMER, K.; ARONOV, P. A.; HAMMOCK, B. D. Mass Spectrometry-based metabolomics. p. 51–78, 2007.
- DI CAGNO, R. et al. Duodenal and faecal microbiota of celiac children: molecular, phenotype and metabolome characterization. **BMC Microbiology**, v. 11, n. 1, p. 219, 2011.
- FATHI, F. et al. NMR based metabolomics study on celiac disease in the blood serum. **Gastroenterology and Hepatology**, v. 6, n. 4, p. 190–194, 2013.
- FATHI, F. et al. The Differential Diagnosis of Crohn ' s Disease and Celiac Disease Using Nuclear Magnetic Resonance. p. 451–459, 2014.
- FREEMAN, H. J. Celiac disease and selected long-term health issues. **Maturitas**, v. 73, n. 3, p. 206–211, 2012.
- GREEN, P. H. R.; CELLIER, C. Medical Progress Celiac Disease. The new england journal of medicine, p. 1731–1743, 2007.

- GUTIÉRREZ, S. et al. The human digestive tract has proteases capable of gluten hydrolysis. **Molecular Metabolism**, p. 1–10, 2017.
- HEEL, D. A. VAN. Genetics in coeliac disease. v. 19, n. 3, p. 323–339, 2005.
- HOLMES, E. et al. Understanding the role of gut microbiome – host metabolic signal disruption in health and disease. **Trends in Microbiology**, v. 19, n. 7, p. 349–359, 2011.
- HOLMES, E.; WILSON, I. D.; NICHOLSON, J. K. Metabolic Phenotyping in Health and Disease. **Cell**, v. 134, n. 5, p. 714–717, 2008.
- KUMAR, V., ABBAS, A.K., FAUSTO, N., MITCHELL, R.N. **Robbins Patologia Básica**, 9ª Ed. Rio de Janeiro, Elsevier Editora Ltda., 2013.
- LAMI, G. et al. Are Patients with Potential Celiac Disease Really Potential? The Answer of Metabonomics. **Journal of Proteome Research**, v. 10, n. 2, p. 714–721, 2010.
- LEFFLER, D. Celiac Disease Diagnosis and Management. v. 306, n. 14, p. 1582–1592, 2012.
- LINDON, J.; NICHOLSON, J.; HOLMES, E. The Handbook of Metabonomics and Metabolomics. p. 572, 2006.
- LIU, S. M. et al. Doença celíaca. v. 24, n. Supl 2, p. 38–45, 2014.
- MARKLEY, J. L. et al. The future of NMR-based metabolomics. p. 34–40, 2017.
- Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas: Doença Celíaca. Portaria SAS/MS nº 1.149. Diário Oficial da União, Brasil, 11 nov. 2015. p. 8.
- MN, M. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology* 1992;102:330–54. **Gastroenterology**, v. 102, p. 330–54, 1992.
- MUNIZ, J. G.; SDEPANIAN, V. L.; NETO, U. F. SUSCEPTIBILITY FOR CELIAC DISEASE IN BLOOD DONORS. n. 4, p. 267–272, 2016.
- NADAL, I. et al. Imbalance in the composition of the duodenal microbiota of children with coeliac disease Printed in Great Britain. p. 1669–1674, 2007.
- PARZANESE, I. et al. Celiac disease: From pathophysiology to treatment. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, v. 5330, n. 2, 2017
- PEREIRA, A.; SILVA, B.; ERRANTE, P. Aspectos fisiopatológicos da doença celíaca resumo. v. 55, n. 13, p. 142–155, 2017.
- RASHID, M.; LEE, J. Serologic testing in celiac disease. v. 62, n. C, p. 38–43, 2016.

REWERS, M. Epidemiology of Celiac Disease: What Are the Prevalence, Incidence, and Progression of Celiac Disease? n. Figure 2, p. 47–51, 2005.

RICCIUTI, P. et al. Different Fecal Microbiotas and Volatile Organic Compounds in Treated and Untreated Children with Celiac Disease. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 12, p. 3963–3971, 2009.

RYAN, D. et al. Metabolomics as a tool for diagnosis and monitoring in coeliac disease. **Metabolomics**, v. 11, n. 4, p. 980–990, 2015.

SALAZAR, C.; GARCÍA-CÁRDENAS, J. M.; PAZ-Y-MIÑO, C. Understanding Celiac Disease From Genetics to the Future Diagnostic Strategies. n. II, 2017.

SÁNCHEZ, E. et al. Intestinal Bacteroides species associated with coeliac disease. **Journal of Clinical Pathology**, v. 63, n. 12, p. 1105–1111, 2010.

SANIOTO, Sonia Malheiros Lopes. Digestão e absorção de nutrientes orgânicos. In: *Fisiologia*[S.l.: s.n.], 2012.

SANTOS, A. et al. Doença Celíaca : caminhos para o diagnóstico. v. 24, n. 3, p. 381–387, 2014.

SAROSIEK, I. et al. Urinary metabolites as noninvasive biomarkers of gastrointestinal diseases : A clinical review. **World Journal of Gastrointestinal Oncology**, v. 8, n. 5, p. 459–465, 2016.

SCALBERT, A. et al. Narrative Review The food metabolome : a window over dietary exposure 1 – 3. p. 1286–1308, 2014.

SDEPANIAN, V. L.; MORAIS, M. B.; FAGUNDES-NETO, U. Doença Celíaca: a evolução dos conhecimentos desde sua centenária descrição original até os dias atuais. **Arquivo Gastroenterol**, v. 36, n. 4, p. 258–264, 1999.

SELLITTO, M. et al. Proof of concept of microbiome-metabolome analysis and delayed gluten exposure on celiac disease autoimmunity in genetically at-risk infants. **PLoS ONE**, v. 7, n. 3, 2012.

SINGH, P. et al. Global Prevalence of Celiac Disease : Systematic Review. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, p. 823–836, 2018.

SOLLID, L. M. Coeliac disease: Dissecting a complex inflammatory disorder. **Nature Reviews Immunology**, v. 2, n. 9, p. 647–655, 2002.

TONUTTI, E.; BIZZARO, N. Diagnosis and classification of celiac disease and gluten sensitivity. *Autoimmunity Reviews*, v. 13, n. 4–5, p. 472–476, 2014.

VEENSTRA, T. D. Metabolomics : the final frontier ? **Genome Medicine**, p. 2010–2012, 2012.

VELDINK, J. H. et al. Multiple common variants for celiac disease influencing immune gene expression. **Nature Genetics**, v. 42, n. 4, p. 295–302, 2010.

WALKER, M. M. et al. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. **Gut**, v. 62, n. 1, p. 43–52, 2012.

WOLF, J. et al. Antibodies in the Diagnosis of Coeliac Disease. v. 9, n. 5, p. 1–8, 2014.

ZANNINI, E. et al. Functional Replacements for Gluten. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 3, n. 1, p. 227–245, 2012.

*Catharina Donda Baraúna*

---

Aluna: Catharina Donda Baraúna  
São Paulo, 27 de Setembro de 2019

*Ernani D. Pinto*

---

Orientador: Prof. Dr. Ernani Pinto  
São Paulo, 27 de Setembro de 2019