



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**NÍVEIS SÉRICOS DE BDNF EM CRIANÇAS BRASILEIRAS PORTADORAS
DE TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA**

ALEXANDRE GARCIA BARBOSA

BRASÍLIA

2020

ALEXANDRE GARCIA BARBOSA

**NÍVEIS SÉRICOS DE BDNF EM CRIANÇAS BRASILEIRAS PORTADORAS
DE TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA**

**Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
da Saúde da Faculdade de Medicina da
Universidade de Brasília como requisito
para a obtenção do título de Mestre em
Ciências Aplicadas à Saúde.**

Orientador: Prof. Dr. Riccardo Pratesi

BRASÍLIA

2020

ALEXANDRE GARCIA BARBOSA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas em Saúde.

Aprovada em 19 de fevereiro de 2020.

Banca examinadora

Prof. Dr. Riccardo Pratesi
(Orientador)

Dr. Luiz Cláudio Gonçalves de Castro
1º Membro

Dr^a Rosa Harumi Uenishi
2º Membro

Dr^a Lenora Gandolfi
3º Membro (Suplente)

Brasília
2020

Dedico este trabalho à minha família, especialmente aos meus pais (meus primeiros orientadores), minha esposa e meus filhos, pela paciência e pelo apoio.

AGRADECIMENTOS

À Deus, em primeiro lugar, por me dar saúde e sabedoria;

Minha mãe e meu pai, meus primeiros educadores;

Minha doce e amada esposa (companheira), pela paciência, apoio e parceria no desenvolvimento desse trabalho;

Meus filhos pela compreensão e pelo incentivo;

Meu orientador, Professor Dr. Riccardo Pratesi, pela paciência e cobrança na medida certa;

Dra. Lenora Gandolfi, pelo incentivo apaixonado;

Ao Laboratório Interdisciplinar da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília;

À doutora Cláudia Pratesi, pela ajuda na tradução do artigo;

Ao professor e amigo Dr. Luiz Cláudio pelo incentivo e ajuda;

Aos colegas do laboratório, Geysa, Cida, Rosa, Nakano e Dani;

Ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina;

Às crianças do CAPSi e seus pais com quem eu pude aprender muito;

Aos profissionais do CAPSi que não mediram esforços para que esta pesquisa lograsse êxito (Janaína, Luana, Ana Paula, Vanessa e Andreia).

“Jamais considere seus estudos uma obrigação, mas uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer.”

(Albert Einstein)

RESUMO

Introdução: O transtorno do espectro autista (TEA) é uma deficiência no neurodesenvolvimento que causa mudanças sociais significativas, dificuldades na comunicação e alterações no comportamento. As características essenciais são o prejuízo persistente na comunicação e na interação social, com padrões repetitivos de comportamento, interesses ou atividades. O diagnóstico do TEA é bastante complexo pois baseia-se em critérios clínicos e não em testes de imagem, testes sanguíneos ou biomarcadores sorológicos, o que torna o diagnóstico muitas vezes tardio, acarretando prejuízos no desenvolvimento e na aquisição de habilidades que poderiam ser estimuladas caso o diagnóstico fosse pensado mais precocemente. O Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) é a principal neurotrofina cerebral, produzida pela glia e pelos núcleos neuronais. É responsável pela modulação de funções sinápticas, estimulando a maturação, nutrição, crescimento e integridade neuronal. A BDNF pode ser encontrada tanto no soro quanto no plasma sanguíneo, sendo a sua concentração sérica maior que a do plasma. Pacientes e métodos: Esta pesquisa foi realizada no Centro de Assistência Psicossocial infantil (CAPSi) do Recanto das Emas (Brasília-DF) onde foram selecionadas crianças autistas e crianças controle. Ao todo foram coletadas 49 amostras de sangue de crianças autistas (44 do sexo masculino) com idades entre 2 e 15 anos, e 37 amostras de crianças não autistas (14 do sexo feminino) com idades entre 3 e 15 anos. Resultados e conclusões: Ao analisar os resultados, utilizando vários testes estatísticos (Spearman, ROC, Shapiro-Wilk), concluiu-se que, embora haja diferença estatística entre os valores de BDNF no sangue de crianças autistas e crianças do grupo controle, esta não se mostrou um marcador isolado de acurácia suficiente para o diagnóstico de TEA, mas pode servir como ferramenta complementar no auxílio ao profissional que trabalha com esse transtorno.

Palavras-chave: Autismo; TEA; BDNF; Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro.

ABSTRACT

Introduction: Autism spectrum disorder (ASD) is a deficiency in neurodevelopment that causes significant social disturbances, difficulties in communication and changes in behavior. The essential characteristics are the persistent impairment in communication and social interaction, with repetitive behavior patterns, interests or activities. The diagnosis of ASD is quite complex because it is based on clinical criteria and not on imaging or blood tests or serological biomarkers, which makes the diagnosis often late, causing losses in the development and acquisition of skills that could be stimulated if the diagnosis was thought of earlier. Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) is the main brain Neurotrophin, produced by glial and neuronal nuclei. It is responsible for the modulation of synaptic functions, stimulating maturation, nutrition, growth and neuronal integrity. BDNF can be found in both serum and blood plasma, being higher than that of plasma. **Patients and methods:** This research was carried out at the CAPSi of Recanto das Emas (Brasília-DF) where autistic children and control children were selected. In total, 49 blood samples were collected from autistic children (44 males) aged 2 to 15 years, and 37 samples from non-autistic children (14 females) aged 3 to 15 years to evaluate BDNF levels. **Results and conclusions:** The analysis of the results, using various statistical tests (Spearman, ROC, Shapiro-Wilk), concluded that, although there was a statistical difference between the BDNF values from blood of autistic children and children in the control group, it is not a reliable isolated marker for the diagnosis of ASD, but it can be used as a complementary tool in helping professionals working with this disorder.

Key-words: Autism; ASD; Brain-Derived Neurotrophic Factor.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Frequências para sexo, idade e BDNF.....	35
Tabela 2. Resultados de regressão logística simples e múltiplas.....	36
Tabela 3 - Teste Shapiro-Wilk.....	37
Tabela 4 - Mediana, 1º e 3º Quartis para a construção do <i>Boxplot</i>	37
Tabela 5 - Divisão das crianças por sexo.....	42
Tabela 6 - Média e Mediana das idades das crianças.....	42
Tabela 7 - Variação do escore de pontos CARS.....	42
Tabela 8 – Concentração sérica de BDNF.....	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Regressão logística com TEA e controles	37
Figura 2: Teste de correlação não paramétrica de Spearman	38
Figura 3: Sobreposição dos testes de Spearman.....	39
Figura 4: Tabela ROC	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADDM: Rede de Monitoramento de Deficiências;

ADOS: Tabela de Observação para o Diagnóstico de Autismo;

BDNF: Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro;

M-BDNF: Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro Maduro;

Pró-BDNF: Precursor do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro;

CAPSI: Centro de Atenção Psicossocial infantil;

CARS: Escala de avaliação de autismo infantil;

CDC: Centro de Controle de Doenças;

CID-10: Classificação Estatística Internacional de Doenças;

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa;

DSM-5: Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais;

DZ: Dizigóticos;

ELISA: *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (Ensaio Imunoenzimático);

FEPECS: Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde;

HRP: Peroxidase de Rábano;

IRDI: Indicadores Clínicos de Risco para o Desenvolvimento Infantil;

ISRS: Inibidores Seletivos de Receptação de Serotonina;

LCR: Líquido Cefalorraquidiano;

M-CHAT: Checklist Modificado para Crianças Autistas;

MZ: Monozigóticos;

NGF: Fator de crescimento neuronal;

OMS: Organização Mundial de Saúde;

PEP-R: Perfil Psicoeducacional Revisado;

P75 NTR: Receptor de Neurotrofina pan-neurotrofina;

ROC: *Receiver Operating Characteristic*;

SESDF: Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal;

TCLE: Termo de Consentimento Livre Esclarecido;

TEA: Transtorno do Espectro Autista;

TMB: TetraMetilBenzidina;

TrkB: Receptor Tirosina-Cinase B;

VIP: Peptídeo vasoativo intestinal;

CGRP: Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina.

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	13
1.1 HISTÓRIA E CONCEITO DO AUTISMO	13
1.2 DIAGNÓSTICO DE AUTISMO.....	16
1.3 INSTRUMENTOS PARA RASTREAR E CLASSIFICAR O AUTISMO....	23
1.4 ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA DO AUTISMO	25
1.5 TERAPIA PARA O AUTISMO	27
1.6 FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF)	28
2 - OBJETIVOS	31
2.1 OBJETIVO GERAL	31
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3 - METODOLOGIA E ANÁLISE ESTATÍSTICA	32
3.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO.....	32
3.2 POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	33
3.3 COLETA DO MATERIAL.....	33
3.4 APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA.....	34
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
4 - RESULTADOS	42
5 - DISCUSSÃO	43
6 - CONCLUSÃO.....	50
7 - REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	51
ANEXOS.....	59
ANEXO A - M-CHAT (MODIFIED CHECKLIST FOR AUTISM IN TODDLERS) CHECKLIST MODIFICADO PARA CRIANÇAS AUTISTAS.....	59
ANEXO B – CARS: CHILDHOOD AUTISM RATING SCALE (ESCALA DE PONTUAÇÃO PARA AUTISMO NA INFÂNCIA).....	60
ANEXO C - PLATAFORMA BRASIL: PARECER CONSUBSTANCIADO DA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA.....	66
ANEXO D - PLATAFORMA BRASIL: PARECER CONSUBSTANCIADO DA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA DA SECRETARIA DE SAÚDE DO DISTRITO FEDERAL.....	67
APÊNDICE - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO	68
APÊNDICE - TERMO DE ASSENTIMENTO.....	72

1 - INTRODUÇÃO

1.1 HISTÓRIA E CONCEITO DO AUTISMO

O transtorno do espectro autista (TEA) é uma condição clínica que resulta de anormalidades no neurodesenvolvimento do indivíduo ainda na vida fetal, acarretando mudanças significativas na maneira como o indivíduo se socializa, provocando dificuldades na comunicação e alterações no comportamento. As características essenciais do transtorno autista são o prejuízo persistente na reciprocidade da comunicação e na interação social, padrões repetitivos e restritos do comportamento, dos interesses ou das atividades (CDC, 2019).

Em 1906, Bleuler introduziu o termo autismo na literatura psiquiátrica (Suplicy, 1993). Ao pesquisar distúrbios do pensamento de pacientes com o que chamou na época de portadores de “demência precoce”. Heller (1928), um educador austríaco, publicou um trabalho onde descreveu seis casos de crianças com uma patologia pouco usual, que tinha início precoce, em torno dos três anos de idade, e logo após um desenvolvimento aparentemente normal, havia diminuição rápida nos interesses habituais, a perda da linguagem e dos controles esfinterianos, porém com a função motora preservada. Heller também denominou esses quadros de “demência infantil”.

A primeira definição de autismo como quadro clínico aconteceu em 1943 no Hospital Johns Hopkins, na cidade de Baltimore (EUA), quando o médico austríaco Leo Kanner (Kanner, 1943), observando cuidadosamente onze crianças, descreveu uma psicose infantil congênita, também denominada síndrome de Kanner ou autismo infantil, a qual caracterizava-se por extrema solidão e um desejo para a preservação da mesmice, com variedade de sintomas de comportamento cognitivo e afetivo (Kanner, 1943). Este grupo de pacientes já vinha chamando sua atenção desde 1938, pois apresentavam um quadro clínico diferente de tudo o que já havia sido descrito na literatura psiquiátrica infantil até então.

No mesmo ano, em Viena (Áustria), o pediatra Hans Asperger (Asperger, 1943) apresenta tese de livre docência com casos que constituíam uma síndrome caracterizada por dificuldades de integração social, mas que,

diferentemente dos pacientes de Kanner, possuíam um bom nível intelectual e de linguagem (Asperger, 1943), que posteriormente ficou conhecido como a síndrome de Asperger, nomenclatura utilizada em 1991 pela psiquiatra inglesa Lorna Wing (1991), após retomar as pesquisas do médico em questão.

Os trabalhos de Hans Asperger foram escritos em alemão, o que trouxe notoriedade após a tradução para a língua inglesa em 1975 pela médica Lorna Wing. A descrição dos casos do doutor Asperger, apesar de detalhada, deixou de levar em consideração casos semelhantes já descritos na literatura da época. Cabe lembrar que se tratava de um período no qual a troca de informações era muito mais lenta em relação aos dias de hoje, além do fato de Kanner trabalhar nos EUA, sendo suas publicações feitas na língua inglesa, o que conferiu maior difusão do seu trabalho. Além de Asperger, outros autores austríacos também descreveram quadros clínicos específicos (Rett, Heller etc.), todos de início na infância e classificados como transtornos do desenvolvimento.

Após a descrição inicial, o próprio Kanner, juntamente com Eisenberg (1956), elegeram dois sintomas principais: isolamento extremo e insistência obsessiva na manutenção da “mesmice”, associados com o surgimento nos primeiros 2 anos de vida.

Em 1971, Kanner conseguiu reavaliar os casos iniciais corroborando a sua descrição inicial de que o quadro já se apresentava desde a primeira infância. Ele ressaltou, então, o quanto a inclusão, as técnicas de manejo, de educação e a consideração das habilidades dos indivíduos portadores da síndrome podem contribuir para o seu desenvolvimento mais pleno. O mesmo pode-se dizer da abordagem do médico francês Itard, que – muito antes da descrição clínica da síndrome – dedicou sua vida e demonstrou ser possível educar e humanizar um menino de aproximadamente 11 anos de idade que havia sido achado numa floresta em 1798, ferido, sujo, andando de quatro e praticamente mudo, que hoje receberia o diagnóstico provável de Asperger. Os métodos educacionais usados por Itard são aplicados até os dias atuais.

No início dos anos de 1980, o trabalho de Asperger recebeu bastante atenção, e o foco da investigação era em “indivíduos de alto funcionamento”, o que impulsionou o conceito de espectro do autismo, que se mostrou útil tanto no campo clínico quanto no âmbito das pesquisas genéticas, e que atualmente é a adotada como nova denominação para o transtorno.

Lorna Wing (1991) foi a responsável pela divulgação da tese de Asperger no mundo científico e também pela associação desta com o autismo de Kanner. Ela fez uma comparação entre os artigos de Kanner e Asperger e concluiu que existiam similaridades entre as crianças descritas por ambos. Também havia notado que as duas condições, a de Kanner e a de Asperger, eram variedades do mesmo transtorno, tornando-se responsável pela grande divulgação do autismo e da introdução da noção de espectro no campo científico, indicando dois pontos extremos de uma mesma entidade nosológica (Wing, 1991).

O conceito de autismo infantil sofreu modificações desde a sua descrição inicial, passando a ser agrupado em um contínuo ou espectro de condições com as quais guarda várias similaridades, atualmente denominado transtorno do espectro autista – TEA (Ministério da saúde, 2009). O TEA engloba todos os transtornos antes denominados de autismo infantil precoce, autismo infantil, autismo de Kanner, autismo de alto funcionamento, autismo atípico, transtorno global do desenvolvimento sem outra especificação, transtorno desintegrativo da infância e síndrome de Asperger (DSM 5, 2014).

A identificação de sinais iniciais de problemas possibilita a instauração imediata de intervenções extremamente importantes (Ministério da saúde, 2009), uma vez que os resultados positivos em resposta a terapias são tão mais significativos quanto mais precocemente instituídos. A plasticidade das estruturas anatomofisiológicas do cérebro nos primeiros anos de vida e o papel fundamental das experiências de vida de um bebê para o funcionamento das conexões neuronais e para a constituição psicossocial, tornam este período um momento sensível e privilegiado para as intervenções. Assim, essas intervenções em casos de sinais iniciais de problemas de desenvolvimento, que podem estar futuramente associados aos TEA, podem ter maior eficácia, devendo ter uma atenção mais cuidadosa por parte dos profissionais. Sabe-se que, para fins de diagnóstico, manifestações do quadro sintomatológico devem estar presentes até os 3 anos de idade, o que não impede uma observação mais cuidadosa já a partir do nascimento. Profissionais mais treinados podem perceber sinais do transtorno a partir dos dezoito meses de vida.

1.2 DIAGNÓSTICO DE AUTISMO

Quando Leo Kanner, que na época trabalhava no Hospital Johns Hopkins (Baltimore – EUA), sistematizou a cuidadosa observação de um grupo de crianças com idades que variavam entre 2 e 8 anos, notou que o principal sinal clínico era isolamento, e a criteriosa descrição permitiu a diferenciação do quadro de autismo de outros, como esquizofrenia e as psicoses infantis. Seu trabalho foi de fundamental importância para formar as bases da psiquiatria da infantil no mundo e na América.

No diagnóstico do TEA, duas questões são fundamentais: a importância da detecção precoce dos sinais de problema de desenvolvimento em bebês que podem estar futuramente associados aos TEA, e a necessidade do diagnóstico diferencial. A primeira se refere à importância e à necessidade de uma intervenção precoce, o que aumenta a chance de maior eficácia na terapia e no cuidado dispensado. A segunda questão se refere à implementação de procedimentos que devem ser utilizados por uma equipe multiprofissional responsável para o estabelecimento do diagnóstico e a identificação de comorbidades.

O diagnóstico do TEA tem como principais fontes de consulta o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, 5ª edição (DSM-5), da Associação Americana de Psiquiatria, e o Código Internacional de Doenças, 10ª edição (CID 10).

O Ministério da Saúde Brasileiro descreve as características que devem ser levadas em consideração para o diagnóstico do transtorno:

- (a) inabilidade em desenvolver relacionamentos;
- (b) atraso no desenvolvimento da fala;
- (c) uso não comunicativo da linguagem após o seu desenvolvimento;
- (d) tendência à repetição da fala de outras pessoas;
- (e) uso inadequado de pronomes;
- (f) brincadeiras repetitivas e estereotipadas;
- (g) obsessão na manutenção de rotinas rígidas;
- (h) falta de imaginação;
- (i) boa memória mecânica;

(j) aparência física normal.

O diagnóstico do TEA é complexo, pois baseia-se em critérios clínicos e não em testes de imagem, testes sanguíneos ou biomarcadores sorológicos (CDC, 2019). Os profissionais de saúde pensam no diagnóstico observando o desenvolvimento e o comportamento das crianças; caso esse diagnóstico seja tardio, acarreta prejuízo no desenvolvimento neurológico e na aquisição de habilidades.

Os sintomas costumam ser reconhecidos entre o segundo e o terceiro ano de vida, embora possam ser vistos antes do primeiro ano de idade se os atrasos no desenvolvimento forem graves (DSM 5, 2014), desde que observados por profissionais treinados. O transtorno é mais frequente em meninos, na proporção de 4:1, e tem uma prevalência de 1:59 nascimentos, de acordo com estimativas da Rede de Monitoramento de Deficiências (ADDM) do CDC. No ano de 2014, a prevalência geral de TEA entre os locais acompanhados pela Rede de monitoramento de Autismo, nos Estados Unidos, foi de 168 por 1.000 crianças com oito anos de idade (uma relação de uma para cada 59 crianças – 1:59).

A Classificação Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde (CID), traz em seu capítulo de Transtornos Mentais e Comportamentais (OMS, 1996), o código F84 que define os Transtornos Globais do Desenvolvimento e é caracterizado por alterações qualitativas das interações sociais recíprocas e modalidades de comunicação e por um repertório de interesses e atividades restritos, estereotipados e repetitivos. Estas anomalias qualitativas constituem uma característica global do funcionamento da criança. A subclassificação F84.0 é o diagnóstico propriamente dito de Autismo Infantil, que traz em sua redação o *“transtorno global do desenvolvimento caracterizado por desenvolvimento anormal, manifestado antes dos três anos de idade, com perturbações do funcionamento em cada um dos domínios seguintes: interação social, comunicação, comportamento repetitivo”* (OMS, 1996). É acompanhado por fobias, perturbações do sono e da alimentação, crises de birra, agressividade aos pares ou agressividade a si mesmo.

Os critérios diagnósticos para o transtorno também encontram-se no Manual diagnóstico Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5) e são caracterizados por alterações em quatro áreas com *“(A) déficits persistentes na comunicação social e na interação social em vários contextos, (B) padrões*

restritos e repetitivos de comportamento, interesses ou atividades, (C) com sintomas presentes no período do desenvolvimento e (D) causando prejuízo significativo no funcionamento social, profissional ou em outras áreas da vida do indivíduo” (DSM-5, 2014).

No aspecto comunicação social, os déficits afetam a reciprocidade social e emocional, dificultam o estabelecimento de uma simples conversa ou compartilhamento de interesses mútuos; o contato visual habitual é prejudicado, a linguagem corporal é inadequada, além de não haver compreensão da linguagem corporal e constante utilização de gestos inapropriados. Também há ausência de expressões faciais e comunicação não verbal, notáveis problemas para desenvolver, manter e compreender relações interpessoais, dificuldade em compartilhar brincadeiras ou fazer amizades, e ausência de interesse por pares.

No que diz respeito aos padrões repetitivos do comportamento, ocorrem movimentos motores repetitivos (*flapping*, movimentos giratórios, balanços), uso inadequado de brinquedos como alinhamento por cores ou fixação em detalhes do brinquedo ao invés do brinquedo como um todo, ecolalia, sofrimento extremo em relação a pequenas mudanças, padrões rígidos de pensamento, rituais de saudação, necessidade de fazer o mesmo caminho ou ingerir os mesmos alimentos diariamente, observação excessiva em detalhes, hiper-reatividade ou hipo-reatividade a estímulos sensoriais, indiferença aparente à dor ou à temperatura, reação contrária a sons específicos, mania de cheirar e tocar objetos de forma excessiva, obsessão por texturas, fascinação visual por luzes ou movimentos giratórios.

O DSM-5 traz os critérios diagnósticos que comprometem os aspectos de comunicação social, comportamentos restritos e repetitivos, o início do comprometimento e os prejuízos sociais (DSM-5, 2014):

A. Déficits persistentes na comunicação social e na interação social em múltiplos contextos, conforme manifestado pelo que segue, atualmente ou por história prévia (DSM-5, 2014):

- Déficits na reciprocidade socioemocional, variando de abordagem social anormal e dificuldade para estabelecer uma conversa normal a compartilhamento reduzido de interesses, emoções ou afetos, a dificuldade para iniciar ou responder a interações sociais.

- Déficits nos comportamentos comunicativos não verbais usados para interação social, variando de comunicação verbal e não verbal pouco integrada a anormalidade no contato visual e linguagem corporal ou déficits na compreensão e uso gestos, a ausência total de expressões faciais e comunicação não verbal.

- Déficits para desenvolver, manter e compreender relacionamentos, variando de dificuldade em ajustar o comportamento para se adequar a contextos sociais diversos até dificuldade em compartilhar brincadeiras imaginativas ou em fazer amigos, além da ausência de interesse pelos pares.

B. Padrões restritos e repetitivos de comportamento, interesses ou atividades, conforme manifestado por pelo menos dois dos seguintes:

- Movimentos motores, uso de objetos ou fala estereotipados ou repetitivos (estereotipias motoras simples, alinhar brinquedos).

- Insistência nas mesmas coisas, adesão inflexível a rotinas ou padrões ritualizados de comportamento verbal ou não verbal (sofrimento extremo em relação a pequenas mudanças, padrões rígidos de pensamento, rituais de saudação, rigidez na rotina).

- Interesses fixos e altamente restritos que são anormais em intensidade ou foco (forte apego com objetos, interesses excessivamente circunscritos).

- Hiper ou hiporreatividade a estímulos sensoriais ou interesse incomum por aspectos sensoriais do ambiente (indiferença aparente a dor/temperatura, reação contrária a sons ou texturas específicas, cheirar ou tocar objetos de forma excessiva, fascinação visual por luzes ou objetos giratórios).

C. Os sintomas devem estar presentes no período do desenvolvimento, mas podem não se tornar plenamente manifestos até que as demandas sociais excedam as capacidades limitadas ou podem ser mascarados por estratégias apreendidas mais tarde na vida (DSM-5, 2014).

D. Os sintomas causam prejuízo significativo no funcionamento social, profissional ou em outras áreas importantes da vida do indivíduo (DSM-5, 2014).

Déficits na reciprocidade socioemocional, na capacidade de envolver-se, de compartilhar ideias e sentimentos são evidentes em crianças com o transtorno, podendo apresentar pouca ou nenhuma capacidade de iniciar interações sociais. A linguagem, quando presente, costuma ser unilateral, sem

reciprocidade, usada mais para solicitar do que para comentar, compartilhar ou conversar. Nos adolescentes sem comprometimento cognitivo ou dificuldades na linguagem, os déficits na reciprocidade socioemocional podem aparecer manifestamente em dificuldades de como e quando iniciar uma conversa, o que dizer e o que não dizer, podendo ser inconvenientes. Se veem forçados a desenvolver estratégias para compensar desafios sociais, enfrentando dificuldades em situações novas e inesperadas, sofrendo com o esforço e com a ansiedade para calcular o que é intuitivo e habitual para a maioria dos indivíduos, não conseguem improvisar diante de novas situações (DSM-5, 2014).

Problemas na comunicação não verbal são notados por uso reduzido ou ausente de contato visual, de gestos, expressões faciais, orientação corporal ou entonação da fala (DSM-5, 2014).

Um aspecto do transtorno é o prejuízo na atenção compartilhada, notada pela falta do gesto de apontar, indicar objetos para compartilhar o interesse com outros ou seguir o gesto de outros. Aprendem poucos gestos funcionais com repertório limitado, costumam fracassar no uso de gestos expressivos espontâneos (DSM-5, 2014).

Interesse social ausente ou atípico, manifestado por rejeição de outros, passividade ou abordagens inadequadas que pareçam agressivas ou desproporcionais, bem evidentes em crianças pequenas, onde há a falta do jogo social e imaginação compartilhados, além da insistência em brincar respeitando de forma bastante rígida as regras. Adultos e adolescentes têm dificuldades na figura de linguagem como a ironia. Há preferência por atividades solitárias sem uma ideia realística do significado de amizade (DSM-5, 2014).

A reatividade a estímulos sensoriais, manifestada por meio de respostas desproporcionais a ruídos ou texturas específicas, tocar, sentir, cheirar objetos demasiadamente, fixação por luzes ou objetos giratórios. Restrições ou exageros alimentares são comuns, podendo trazer prejuízos no ganho ponderal das crianças, tanto para a desnutrição quanto para a obesidade (DSM-5, 2014).

Muitos indivíduos autistas também apresentam comprometimento intelectual ou da linguagem como atraso na fala e compreensão da linguagem. Déficits motores costumam estar presentes, como marcha atípica, dificuldade na coordenação motora, a maneira de caminhar na ponta dos pés.

A descrição inicial pode incluir atrasos do desenvolvimento ou perdas de habilidades sociais ou linguísticas.

Os primeiros sinais costumam ser notados por profissionais pedagogos, com a apresentação de sintomas envolvendo atraso na aquisição da linguagem, ausência de interesse social ou interações sociais incomuns como brincar sozinho ou puxar pessoas pela mão sem olhar para elas, padrões estranhos de brincadeiras como carregar brinquedos, mas nunca brincar com eles de forma adequada, também quando a criança que alinha os objetos durante horas e sofre bastante quando algum deles é movimentado (Ministério da saúde, 2009).

Além disso, destacam-se em seu quadro clínico:

(a) problemas no desenvolvimento social, que se manifestam de inúmeras formas e não condizem com o nível de desenvolvimento da faixa etária;

(b) padrão alterado no desenvolvimento de linguagem com características peculiares que não condizem com o nível de desenvolvimento da faixa etária;

(c) repertório limitado e repetitivo de comportamentos e interesses, o que inclui alterações nos padrões dos movimentos.

Costumam ser observados comportamentos repetitivos e estereotipados, o que indica a necessidade de encaminhamento para avaliação diagnóstica de TEA, como descrito a seguir:

- Alterações motoras:

a) Movimentos estereotipados: *flapping* de mãos, “espremer-se”, correr de um lado para o outro, movimentos giratórios em torno do próprio eixo;

b) Ações repetitivas: alinhar ou empilhar brinquedos de forma rígida e organizada; observar objetos com aproximação exagerada; prestar atenção exacerbada a detalhes dos brinquedos; obsessão por determinados objetos em movimento (ventiladores, máquinas de lavar);

c) Dissimetrias como movimentação dos membros de um lado do corpo; dificuldades de rolamento na idade esperada; movimentos corporais em bloco e não suaves e distribuídos pelo eixo corporal;

- Alterações sensoriais:

a) Hábito de cheirar ou passar a língua em objetos;

b) Sensibilidade desproporcional a sons (liquidificador, secador de cabelos), reagindo a eles de forma inadequada;

c) Insistência visual em objetos que têm luzes que piscam, bem como nas partes que giram (ventiladores, máquinas, rodas);

- Alterações na rotina:

- a) Rotinas ritualizadas e rígidas;

- b) Restrição alimentar, como por exemplo, utilizando sempre os mesmos utensílios; alimentos dispostos no prato na mesma distribuição;

- c) Sentar no mesmo lugar, usar a mesma roupa, assistir o mesmo filme e colocar as coisas no mesmo lugar. Mudanças desencadeiam crises.

- Alterações na fala:

- a) Repetição de palavras que acabaram de ouvir (ecolalia); emissão de falas ou *slogans* e vinhetas que ouviram na televisão sem sentido;

- b) Apresentam características particulares na entonação da voz.

- Alterações emocionais:

- a) Expressividade emocional limitada;

- b) Dificuldade de se aninhar no colo dos cuidadores;

- c) Passividade no contato corporal;

- d) Sensibilidade em situações de desconforto;

- e) Indiferença em responder às tentativas dos adultos de compreendê-las.

O diagnóstico de TEA permanece essencialmente clínico e é feito a partir de observações das crianças e entrevistas com pais ou cuidadores. O uso de escalas e instrumentos de triagem padronizados ajuda a identificar problemas específicos, sendo muito importantes para o rastreamento e a triagem de casos suspeitos (Losapio et al. 2008), mas não é essencial para a avaliação nosológica. A partir da identificação dos sinais de alerta, podem ser iniciadas as intervenções e o monitoramento dos sinais e sintomas ao longo do tempo.

Importante salientar que existem instrumentos de triagem que podem ser aplicados por profissionais de diversas áreas e que detectam sinais relativos ao que pode direcionar ao espectro, mas não determinar o diagnóstico; tais instrumentos fornecem dados que levantam a suspeita de sinais que podem vir a ser associados ao diagnóstico, sendo necessário o devido encaminhamento para que o diagnóstico propriamente dito seja realizado por profissional treinado e capacitado (Losapio et al. 2008).

1.3 INSTRUMENTOS PARA RASTREAR E CLASSIFICAR O AUTISMO

Os instrumentos de rastreamento do TEA são aqueles que, em linhas gerais, detectam sinais relativos ao que pode estar relacionado com espectro, mas não determinam o diagnóstico. Entre os instrumentos para o rastreamento ou para a triagem de sinais clínicos iniciais de problemas de desenvolvimento, existem os Indicadores Clínicos de Risco para o Desenvolvimento Infantil (IRDI). Os IRDI são instrumentos usados no rastreamento de anormalidades no desenvolvimento; foram criados e validados por um grupo de especialistas brasileiros, são de uso livre pelos profissionais de saúde da Atenção Básica. Compostos por 31 indicadores do desenvolvimento do vínculo do bebê com os pais, distribuídos em quatro faixas etárias, de zero a 18 meses de idade, para observação e perguntas dirigidas à dupla mãe e bebê.

Escalas de avaliação alternativas foram desenvolvidas para auxiliar o rastreio desses transtornos em crianças. O *Checklist for Autism in Toddlers* (CHAT) foi desenvolvido na Inglaterra para ser usado em crianças aos 18 meses e possui uma alta especificidade, porém baixa sensibilidade. Os critérios são baseados nas manifestações clínicas como o olhar fixo, o apontar e as brincadeiras, sendo medidas pelos relatos dos cuidadores e por observação direta das crianças.

O *Infant Toddler Checklist* (ITC) foi desenvolvido para o rastreio dos atrasos na comunicação. Num estudo recente com uma amostra de 5.385 crianças, variando entre nove e 24 meses de idade, rastreadas através do ITC, foi possível identificar mais de 90% dos casos de TEA, sendo necessária uma avaliação posterior para distinguir estes transtornos de outros atrasos da comunicação.

Existe um outro instrumento de classificação interativa designado *Screening Tool for Autism in Two-Year-Olds* (STAT); o qual auxilia na identificação dos sinais de TEA em crianças de risco aos dois anos de idade.

O *Autism Diagnostic Observation Schedule* (ADOS) leva em conta a avaliação do desenvolvimento social e da comunicação da criança, podendo ajudar na decisão mais adequada para cada caso.

O Perfil Psicoeducacional-Revisado (PEP-R) avalia a idade de desenvolvimento em crianças com autismo ou alterações da comunicação, identifica padrões de aprendizagem irregulares e é destinado a crianças do primeiro ano de vida até os 12 anos.

Entre os instrumentos de rastreamento de indicadores do autismo adaptados e validados no Brasil, apenas o M-CHAT (*Modified Checklist for Autism in Toddlers*) é de uso livre e gratuito. Foi desenvolvido para abranger um maior número de pacientes no tocante à idade (16 a 30 meses) e às manifestações clínicas, tendo uma sensibilidade de cerca de 85%. O M-Chat (Anexo A) foi traduzido para o português (Losapio et al. 2008) e é um questionário usado como triagem de TEA; pode ser aplicado por qualquer profissional de saúde e é composto por 23 perguntas para os pais ou cuidadores de crianças com idade entre 18 e 24 meses; podem indicar a presença de comportamentos conhecidos como sinais precoces de autismo. A legislação brasileira obriga a aplicação da avaliação do M-CHAT para crianças em consultas pediátricas de acompanhamento realizadas pelo Sistema Único de Saúde Brasileiro (Lei 13.438/2017).

O M-CHAT classifica em três níveis de riscos para o auxílio diagnóstico:

1) Baixo risco (pontuação de 0 a 2): há pouca chance de desenvolvimento do Transtorno do Espectro Autista e não é necessária medida adicional para esclarecimento diagnóstico. Se a criança foi avaliada antes dos 24 meses de idade, é necessário repetir o teste.

2) Risco moderado (pontuação de 3 a 7): neste caso, é importante que os pais participem da Entrevista de Seguimento, o M-CHAT-R/F, que é a segunda etapa do instrumento de avaliação. Esta etapa reúne informações adicionais sobre indícios do transtorno.

3) Alto risco (pontuação de 8 a 20): com este resultado, os pais devem marcar uma consulta com especialistas para confirmação do diagnóstico e avaliação da terapia personalizada.

A Escala CARS (*Childhood Autism Rating Scale*) é uma escala de pontuação para autismo na infância, considerada pela maioria dos estudiosos a melhor escala para classificação de comportamentos associados ao autismo. Foi desenvolvida em 1980 por Schopler Reichler, DeVillis e Kock (Rapin et al. 2008), e escalona o grau de severidade das crianças com TEA.

Em 2008 foi traduzido e validado para o português do Brasil (Pereira et al. 2008); trata-se de uma escala de avaliação de crianças autistas que foi desenvolvido para fazer a classificação do transtorno nos graus de gravidade do comprometimento do desenvolvimento. É recomendada para crianças a partir dos dois (2) anos de idade, e avalia o comportamento das crianças em catorze (14) aspectos que são afetados no TEA, além de uma categoria de impressão diagnóstica. São vários os itens avaliados como: relações pessoais, imitação, resposta emocional, uso corporal, uso de objetos, resposta a mudanças, resposta visual, resposta auditiva, resposta e uso do paladar, medo ou nervosismo, comunicação verbal, comunicação não verbal, nível de atividade, nível e consistência da resposta intelectual e impressões gerais (Pereira et al. 2008).

Após examinar a criança, o profissional classifica cada item através de pontuação que varia de 1 a 4 pontos (sendo possível valores intermediários como 1,5 2,5 e 3,5 pontos). A pontuação mínima é de 15 e a máxima é de 60 pontos. O ponto de corte para o diagnóstico de autismo é trinta (30); escore de 30 a 36 indica um autismo leve a moderado, enquanto pontuação acima de 37 sinaliza o autismo grave. O CARS (Anexo B), por ser um instrumento de classificação de fácil aplicação, é acessível ao uso por profissionais de saúde, educadores e pesquisadores que trabalham com crianças portadoras do TEA.

1.4 ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA DO AUTISMO

A fisiopatologia do TEA é complicada e multifatorial, e na maioria dos pacientes não é possível identificar qualquer explicação etiológica para o distúrbio, apesar de extensas investigações médicas (Rutter et al. 2005). Diversos estudos têm sugerido que vários diferentes genes podem ser atuantes na eclosão desse transtorno. Consequentemente, apesar de ser razoável supor que tanto fatores genéticos como fatores epigenéticos e ambientais possam contribuir para o aparecimento de seu fenótipo clínico, a etiologia do TEA ainda continua incerta. Também foi aventada a possibilidade de uma disfunção sináptica ser o possível mecanismo de progressão de desordens pós-natais do neurodesenvolvimento (Zoghbi et al. 2003); o comportamento autista ser

decorrente de disfunção sináptica é corroborado pelo fato de o TEA ser mais comum em pacientes com doenças genéticas, por exemplo a Síndrome X frágil (Zoghbi et al. 2003).

Entre os transtornos psiquiátricos, o autismo tem uma das mais fortes evidências de base genética (Gupta et al. 2006), embora a busca dos genes específicos tenha se mostrado extremamente difícil. Recentemente, os avanços das tecnologias genômicas, a finalização do sequenciamento do genoma humano entre outras, trouxeram as primeiras evidências reproduzíveis que implicam regiões cromossômicas e genes específicos no TEA.

O autismo é um transtorno genético; a herdabilidade, que é a proporção de variância fenotípica atribuível a causas genéticas, é calculada em aproximadamente 90% (Zanolla et al. 2015). Uma importante linha de evidência é a que deriva da comparação do grau em que o diagnóstico do autismo é compartilhado entre gêmeos monozigóticos (MZ) e dizigóticos (DZ). O achado de um índice maior de concordância entre pares MZ sugere que os genes têm importante contribuição na etiologia do transtorno. No caso do TEA, os índices observados de concordância para o autismo estritamente diagnosticado são de 60% em MZ e zero em DZ (Zanolla et al. 2015). Mas para o diagnóstico do espectro mais amplo, os índices de concordância são de 92% para MZ e 10% para DZ, sugerindo forte componente genético de risco. Na maioria dos casos parece não haver uma correspondência simples e direta entre ter uma anormalidade genética única e ter autismo. Os dados dão suporte à noção de que, na grande maioria dos indivíduos, os múltiplos loci interagem para levar às manifestações da síndrome. Mesmo que seja amplamente aceito que não existe um gene único do autismo, é difícil prever o número de regiões genéticas que contribuem para ele (Zanolla et al. 2015). Estima-se que cerca de 15 genes possam estar envolvidos; atualmente pesquisadores notaram padrões promissores nas regiões dos cromossomos dois e sete com sugestiva ligação genética com o autismo, respectivamente em seus braços longos 2q e 7q. O cromossomo 7q (braço longo do cromossomo 7) é uma área de intenso interesse com ligação em pacientes com TEA. Além desses dois cromossomos, regiões dos cromossomos 1, 5 e 16 também revelaram algumas evidências de ligação genética (Gupta et al. 2006).

Dada a predominância do autismo no sexo masculino, foi levantada a hipótese de que amostras estratificadas por gênero podem revelar os *loci* que predisõem os meninos a este transtorno. Um gene candidato atraente no intervalo é o *SLC6A4*, que codifica o transportador de serotonina, envolvido na recaptação da serotonina na sinapse (Gupta et al. 2006).

1.5 TERAPIA PARA O AUTISMO

Uma vez diagnosticado o autismo, o ideal é submeter as crianças a uma intervenção educacional e terapêutica o mais rápido possível. Os tipos mais usuais de intervenções são:

1) Tratamento e educação para crianças autistas e com distúrbios correlatos da comunicação (TEACCH): este tratamento foi desenvolvido nos anos 60 pelo Departamento de Psiquiatria da Faculdade de Medicina da Universidade da Carolina do Norte, Estados Unidos, e é atualmente muito utilizado em várias partes do mundo. Foi idealizado e desenvolvido pelo Dr. Eric Schoppler; atualmente tem como responsável o Dr. Gary Mesibov. O método utiliza uma avaliação Perfil Psicoeducacional Revisado, possibilitando um programa individualizado a cada criança. Baseia-se em rotinas organizadas em quadros, painéis ou agendas e sistemas de trabalho, de forma a adaptar o ambiente para torná-lo mais fácil à compreensão da criança.

Através da organização do ambiente e das tarefas da criança, o TEACCH tem o objetivo de desenvolver a independência de modo que ela necessite do professor para o aprendizado, mas que possa também passar grande parte de seu tempo ocupando-se de forma independente.

2) Análise aplicada do comportamento (ABA) é um tratamento que procura ensinar à criança habilidades que ela não possui, introduzindo as habilidades por etapas. Cada habilidade é ensinada em esquema individual, inicialmente associada a uma instrução. Às vezes é oferecido apoio que deverá ser retirado tão logo seja possível, para não trazer dependência. Tem o objetivo de fazer com que o aprendizado seja prazeroso. O segundo ponto é ensinar a criança a identificar os estímulos.

3) Sistema de comunicação através de trocas de figuras (PECS) foi desenvolvido para ajudar crianças autistas a adquirir habilidades comunicativas. O sistema é utilizado em indivíduos que não se comunicam ou que a utilizam com baixa eficiência. Ajuda a criança a perceber que ela pode conseguir muito mais rapidamente as coisas que deseja através da comunicação. Existem outras formas de tratamento como tratamentos psicoterapêuticos, fonoaudiológicos, equoterapia, musicoterapia entre outros.

1.6 FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF)

A história das neurotrofinas começou com a médica italiana Rita Levi-Montalcini, após transplantar um fragmento de um tumor maligno de rato em embriões de galinha. Ela observou que o tecido cancerígeno estimulava o crescimento e a diferenciação de neurônios em desenvolvimento. Em 1946, mudou-se para os Estados Unidos, onde recebeu uma bolsa de estudos na Universidade de Washington. Depois de duplicar os resultados obtidos em seu laboratório na Itália, ela conduziu seu mais importante trabalho em 1952: isolar o fator de crescimento neural através de observações de tecidos cancerosos, o que causava um crescimento rápido de células nervosas (Levi-Montalcini, 1951).

A hipótese colocada foi a de que o tumor liberava um fator solúvel capaz de estimular o crescimento neuronal (Levi-Montalcini, 1951). Com essa descoberta, a médica foi agraciada com o Prêmio Nobel de Medicina em 1986 pela descoberta da substância do corpo que estimulava e influenciava o crescimento de células nervosas, o *nerve growth factor* (NGF). Durante muito tempo as neurotrofinas foram consideradas apenas como fatores de crescimento específicos para neurônios, mas na verdade são mediadoras de diversas funções incluindo a regulação do crescimento axonal, modulação da atividade sináptica, diferenciação, mielinização, promoção de sobrevivência e regulação de morte neuronal (Levi-Montalcini et al. 1951).

Trinta anos após a identificação do NGF, o protótipo das neurotrofinas para neurônios do sistema nervoso autônomo foi isolado em 1982, em neurônios de porcos, e foi batizado de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF). O BDNF é a principal neurotrofina do cérebro, sendo produzido pela glia e pelos

núcleos neuronais. Tem grande expressão no hipocampo, neocórtex, amígdala e cerebelo, faz a modulação de diversas funções sinápticas, induzindo estímulo à maturação, nutrição, crescimento e integridade neuronal (Armeanu et al. 2017).

O BDNF maduro é um polipeptídeo de 13 kilodaltons (kDa) que desempenha importante papel na sobrevivência, diferenciação e crescimento neurônios periféricos e centrais durante o desenvolvimento e também durante a vida adulta. Evidências sugerem um papel crucial para o BDNF na fisiopatologia da depressão, bem como nos mecanismos terapêuticos de medicamentos antidepressivos. O BDNF maduro (m-BDNF) é inicialmente sintetizado como uma proteína oriunda BDNF pre-pro, sintetizada no retículo endoplasmático. A seguir, ocorre a clivagem do peptídeo de sinal, o pro-BDNF de aproximadamente 32 kDa, que é convertido para a forma madura por proteases extracelulares (plasmina). Pensou-se inicialmente que apenas secretado, m-BDNF seria biologicamente ativo, e que o pro-BDNF, localizado no intracelular, serviria apenas como um precursor. Meng (2017) mostrou que o pro-BDNF e o m-BDNF têm efeitos opostos através do estímulo dos respectivos receptores, o Receptor de Neurotrofina (p75 NTR) e o Receptor tirosina-cinase B (TrkB).

As neurotrofinas, em especial o BDNF, parecem estar implicadas na fisiopatologia de doenças neurodegenerativas e psiquiátricas. Evidências clínicas indicam que o BDNF desempenha papel fundamental na plasticidade neuronal. O BDNF parece mediar os principais processos dependentes de estímulo externo, isto é, aprendizado, experiência e memória, tornando-o um potencial mediador neurobiológico dos efeitos das experiências de vida.

Os antidepressivos e os estabilizadores do humor são capazes de aumentar os níveis séricos de BDNF. A administração crônica de antidepressivos aumenta a expressão de BDNF no hipocampo. Também tem sido demonstrado que o tratamento crônico com Lítio ou Ácido Valproico aumenta a expressão do BDNF em cérebro de ratos. Os antidepressivos inibidores seletivos de receptação de serotonina (ISRS) inibem a recaptção de serotonina em poucas horas, mas os efeitos antidepressivos só ocorrem, em geral, após duas semanas. Este fato sugere que os antidepressivos possam atuar através de mudanças adaptativas na transdução de sinal intracelular. Existe um crescente corpo de evidências sugerindo que a via de sinalização do

BDNF/TrkB parece estar envolvida na fisiopatologia dos transtornos do humor, na ação de antidepressivos e de estabilizadores de humor (Meng et al. 2017).

Foi demonstrado que o BDNF pode ser encontrado tanto no soro quanto no plasma sanguíneo, sendo a sua concentração sérica maior do que a plasmática. Parte do BDNF circulante no sangue é produzido por tecidos periféricos não neuronais, como células vasculares endoteliais, células T, células B e monócitos, e a maior parte dessa concentração de BDNF circulante é estocada nas plaquetas. O BDNF estocado em plaquetas contribui de maneira importante para a concentração de BDNF sérico. Foi sugerido que as plaquetas tenham participação na regulação da homeostase, estocando BDNF para liberação em situações onde há um aumento da demanda pelo Sistema Nervoso Central (SNC). A concentração do BDNF no soro é 200 vezes superior em comparação aos níveis plasmáticos, sendo essa diferença reflexo do montante que é estocado nas plaquetas (Hashimoto et al. 2006).

O BDNF pode atravessar a barreira hematoencefálica em ambas as direções, tanto do cérebro para a periferia, quanto o sentido inverso, através de um sistema de transporte de alta capacidade. Sendo assim, pode-se relacionar a concentração de BDNF sérico com os níveis no cérebro, além da correlação com BDNF no líquido cefalorraquidiano (LCR). Portanto, é provável que os níveis de BDNF periféricos forneçam informações importantes sobre alterações do BDNF cerebral (Yoshida et al. 2017).

A disponibilidade de biomarcadores para dar suporte ao diagnóstico ou monitorar a eficácia das terapias é uma das principais necessidades clínicas não atendidas em neurologia e psiquiatria. Diante do grande número de estudos publicados sobre a associação entre distúrbios cerebrais e marcadores moleculares presentes em fluidos biológicos, o BDNF tem sido um dos biomarcadores mais promissores para os distúrbios cerebrais, mas ainda não existe uma validação clínica definitiva. É um fator de crescimento dimérico, secretor, presente na maioria dos tecidos humanos, incluindo cérebro e sangue, também conhecido por desempenhar papel fundamental na sobrevivência e diferenciação de populações neuronais durante o desenvolvimento e também na plasticidade de redes neuronais durante a idade adulta (Armeanu et al. 2017). Os níveis plasmáticos de BDNF podem ser usados como marcadores biológicos de prejuízos à memória e função cognitiva geral (Zheng et al. 2016).

2 - OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

A presente pesquisa tem como objetivo determinar a concentração sérica do BDNF no sangue de crianças autistas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Correlacionar os níveis séricos do BDNF entre pacientes com diagnóstico de TEA e crianças saudáveis.

b) Verificar a possibilidade do BDNF ser considerado um biomarcador para o diagnóstico de TEA.

3 - METODOLOGIA E ANÁLISE ESTATÍSTICA

3.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal cujo universo de amostras foi por conveniência (não probabilística), pois foi constituída por indivíduos reunidos em uma amostra que o pesquisador tinha acesso por estarem concentrados no CAPSi. A amostra será por conglomerado, visto que será feita dentro da unidade de Assistência infantil. Os casos serão de crianças diagnosticadas com TEA grave.

De acordo com o cálculo estatístico, o tamanho da amostra foi determinado pela fórmula: $n = \frac{Z^2 \cdot p \cdot (100-p)}{E^2}$

onde **n** é o tamanho da amostra, **Z** uma constante que está relacionada com o nível de confiança do estudo, **E** é desvio padrão (margem de erro) e **p** é a porcentagem esperada de autismo na população.

A porcentagem **p** de autistas na população geral varia de 1 a 3% (CDC, 2019), para efeito de cálculo será considerado 3%, a constante **Z** é 1,96, dado fornecido por uma tabela estatística com o grau de confiança de 95% e a margem de erro **E** admitida nesta pesquisa será de 5%:

$$n = \frac{(1,96)^2 \cdot 3 \cdot (100-3)}{(5)^2} \rightarrow n = \frac{(3,84) \cdot (291)}{(25)} \rightarrow n = 45$$

Portanto, para a presente pesquisa, o número da amostra em torno de 45 seria estatisticamente adequado. O tamanho da amostra do estudo foi de 49 crianças com diagnóstico de autismo. Os critérios de inclusão para o presente estudo foram compostos por crianças com o diagnóstico de TEA grave, que estavam sendo acompanhadas pelo Centro de Atenção Psicossocial infantil (CAPSi) do Recanto das Emas, que se encontravam na faixa etária entre 2 e 15 anos de idade e não estavam em uso de medicações que interferiam nas concentrações séricas do BDNF.

O CAPSi é um serviço de referência no acompanhamento de crianças com transtornos mentais graves em sofrimento agudo. As crianças normalmente são oriundas de unidades da rede de saúde da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal e já têm o diagnóstico estabelecido por profissionais médicos

especializados (psiquiatra infantil ou neurologista pediátrico); o diagnóstico é feito com base nos critérios da 5ª edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais da Associação Americana de Psiquiatria (DSM-5). Todas as crianças autistas tinham diagnóstico de TEA grave segundo a *Childhood Autism Rating Scale* (CARS), uma das escalas mais utilizadas para classificação do comprometimento do transtorno. Os critérios de exclusão compreenderam crianças com TEA de alto funcionamento (Asperger), crianças com comorbidades como Síndrome de Down ou Síndrome de Rett e que estavam em uso de medicações que influenciavam na concentração sérica do BDNF.

3.2 POPULAÇÃO DO ESTUDO

O grupo controle foi composto por 37 crianças acompanhadas no ambulatório de gastroenterologia pediátrica do Hospital Universitário de Brasília (HUB) com paridade etária, que não tinham nenhuma patologia neurológica ou psiquiátrica e que não estavam fazendo uso de medicação que interferisse no BDNF sérico.

As crianças selecionadas para este estudo foram divididas em dois grupos: o grupo de 49 crianças autistas e o grupo de 37 crianças controle. Os pais de todas as crianças foram orientados e esclarecidos a respeito da pesquisa, dos riscos inerentes da coleta do sangue, assinaram o termo de consentimento livre esclarecido (TCLE).

3.3 COLETA DO MATERIAL

O presente estudo iniciou em março de 2018, quando o mestrando e o orientador começaram a coletar artigos relacionados ao autismo e ao fator neurotrófico. No decorrer do ano de 2018, foram levantados e pesquisados sessenta artigos. No final de 2018, o trabalho foi submetido à Plataforma Brasil e aprovado pela comissão de ética em pesquisa. No início de 2019, foram coletadas as amostras de sangue das crianças, todas respeitando o jejum e comparecendo no horário de abertura do laboratório, às 7:00 horas da manhã

do dia da coleta. A coleta de sangue ocorreu no laboratório da Clínica da Família 1 do Recanto das Emas (5 ml de sangue), armazenado em caixa de isopor com gelox, transportado até o Laboratório Interdisciplinar de Biociências Bioquímica da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (UnB), onde foi centrifugado a 1.000xG por 15 minutos, aliquotado e armazenado a -80° C, identificado e separado em grupos controles e autistas.

Ao todo foram coletadas 49 amostras de sangue de crianças autistas e 37 amostras de crianças não autistas. O grupo de crianças autistas era composto por crianças entre 2 anos e 15 anos de idade, 44 do sexo masculino. O grupo controle variou entre 3 e 15 anos de idade, 14 eram do sexo feminino.

O Kit para aferição da concentração da BDNF foi adquirido através da *Lab-Research* do Brasil comércio de produtos para pesquisa, da marca Biosensis® com a designação *mature BDNF Rapid ELISA Kit: Human, Mouse, Rat (1plate) 1 x 96-well pre-coated strip plate*. O kit de ensaio imunoenzimático (ELISA) *BDNF Mature BDNF Rapid™* é um ensaio ELISA em sanduíche que permite a quantificação preferencial do BDNF maduro em menos de 3 horas. Este kit consiste num anticorpo de captura de BDNF anti-maduro monoclonal de camundongo, pré-revestido, um anticorpo de detecção de BDNF anti-maduro biotinizado e estreptavidina conjugada com peroxidase de rábano (HRP). A adição de um substrato (3,3, 5,5 - tetrametilbenzidina, TMB) produz um produto de reação colorido que é diretamente proporcional à concentração de BDNF maduro presente em amostras e padrões de proteína. Este kit de ELISA para BDNF maduro emprega um padrão de BDNF maduro humano recombinante aprovado pela Organização Mundial de Saúde (OMS). A sequência de aminoácidos do BDNF é idêntica para o homem, camundongo, rato e várias outras espécies. Portanto, este kit foi adequado para medir o BDNF maduro em todas essas espécies e usa os mesmos anticorpos e antígenos.

3.4 APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA

Esta pesquisa foi submetida à Comissão de Ética em Pesquisa (CEP) envolvendo seres humanos na Plataforma Brasil, com número de Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) 01220818.3.3001.5553 sendo

aprovada com o Parecer Consubstanciado da Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde (CEP/FEPECS) da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal (ANEXO D) sob o número 3.253.126, e com aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília (CEP/UnB), com o CAAE 01220818.3.0000.0030 sob o número 3.127.531 na data de 31 de janeiro de 2019 (ANEXO C). Foram desenvolvidos os Termos de Consentimento Livre Esclarecido e Termos de Assentimento (Apêndice) dividido por faixa etária, devidamente lidos para os pais e para as crianças não autistas, além de serem assinados pelos responsáveis legais, cumprindo os termos da Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística após obtidos os resultados do soro dos indivíduos ao ensaio ELISA com a obtenção da absorbância de BDNF maduro (m-BDNF) estão descritos a seguir.

O nível médio de concentração sérica de BDNF obtido no estudo foi estatisticamente maior em crianças com TEA ($p < 0,000$) em comparação com o controle ($34,38 \pm 2,81$ ng/ml e $31,24 \pm 3,75$ ng/ml), conforme Tabela 1.

Tabela 1 - Frequências para sexo e a média para as variáveis idade e BDNF.

Variável	Autistas	Controles	p
Idade (anos)	$6,74 \pm 3,35$	$9,32 \pm 3,54$	0,001*
Sexo			
Masculino	44 (89,8%)	23 (62,2%)	0,002**
Feminino	5 (10,2%)	14 (37,8%)	
BDNF (ng/ml)	$34,38 \pm 2,81$	$31,24 \pm 3,75$	0.000*

* Teste Mann-Whitney

**Teste chi-quadrado Pearson

Modelos de regressão logística simples e múltiplas foram aplicados para estabelecer, provisoriamente, o diagnóstico de TEA. As variantes sexo e idade foram consideradas no emprego do modelo de análise de regressão múltipla. Os resultados são apresentados na Tabela 2.

Como pode ser visto na Tabela 2, um valor mais alto de BDNF pode estar associado a uma maior probabilidade do indivíduo ser diagnosticado com TEA (para análise bruta e ajustada). Além disso, a idade teve um efeito negativo na probabilidade de TEA, ou seja, para crianças da mesma idade e nível de BDNF, quanto maior a idade, menor a probabilidade de TEA. Finalmente, as crianças do sexo feminino eram menos propensas a ter TEA.

Tabela 2 - Resultados de regressão logística simples e múltiplas

Variável	Regressão logística simples			Regressão logística múltipla		
	β (SE)	OR* (95% CI)	p	β (SE)	OR* (95% CI)	p
Idade (anos)	---	---	---	-0,86±0,088	0,75 (0,63;0,89)	0,001
Sexo						
Masculino	---	---	---	0	1	
Feminino	---	---		-1,880±0,706	0,15 (0,04;0,61)	0,008
BDNF (ng/ml)	0,328±0,091	1,39 (1,16;1,66)	0,000	0,396±0,109	1,49 (1,20;1,84)	0,000
Intercept	-10,564			-10,084		

* Odds Ratio; CI: Confidence Interval.

Existem dois grupos de testes estatísticos: o teste paramétrico e o teste não paramétrico. Quando os dados estatísticos não seguem uma curva de normalidade (Gauss), utiliza-se teste não-paramétrico. Este primeiro teste avalia o comportamento dos dados, se existe uma distribuição normal, e este teste mostra que não se pode assumir que as variáveis não possuem uma distribuição normal, isto é, eles não seguem um padrão de normalidade tipo a curva de Gauss. Foi utilizado o teste Shapiro-Wilk (Tabela 3) e percebe-se que não houve um comportamento no padrão de normalidade porque o p foi 0,000. Para que esse teste seguisse o padrão de normalidade, o p teria que ser maior que 0,05.

Tabela 3: Teste de normalidade - Shapiro-Wilk

Variável	W	p-valor
BDNF	0,933	0,000

No teste de normalidade de Shapiro Wilk (Tabela 3), o valor W é o resultado, que no caso foi de 0,933. Os testes paramétricos são válidos quando aplicados a dados que obedecem a uma distribuição normal; uma distribuição normal é aquela que é perfeitamente simétrica em torno da média.

Para a construção do Boxplot, os valores dos quartis foram obtidos estatisticamente (Tabela 4). O *Boxplot* (Figura 1) faz uma análise mostrando diferença significativa quanto ao valor de BDNF entre os grupos controle e autista ($p < 0,000$).

Tabela 4 - Mediana, 1º e 3º Quartis de BDNF para a construção do *Boxplot*.

Grupo	N	Mediana	1º Quartil	3º Quartil
Controle	37	31,19 ng/ml	30,38 ng/ml	33,61 ng/ml
Autistas	49	34,57 ng/ml	33,04 ng/ml	36,40 ng/ml

Como apresentado no bloxplot (Figura 1), a maioria dos valores de BDNF dos autistas são superiores aos encontrados no grupo controle. Para que o dado seja significativo, o p-valor tem que ser menor que 0,05. Sendo o valor de p-valor maior que 0,05 não haverá diferença estatística significativa. Para isso, será obtido um valor de corte para aumentar a sensibilidade do teste.

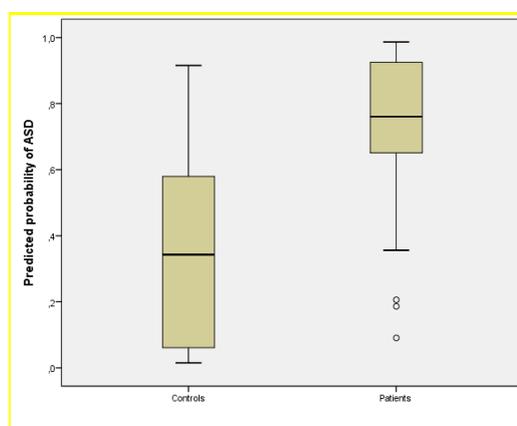


Figura 1. Regressão logística múltipla em crianças com TEA e casos de controle (Boxplot).

O *Boxplot* (Figura 1) apresenta a probabilidade de TEA estimada por regressão logística múltipla para crianças com TEA e casos de controle. Em geral, as crianças do grupo de estudo apresentaram maior nível de BDNF (média: $0,742 \pm 0,224$ ng/ml) relação ao controle (média: $0,341 \pm 0,276$ ng/ml).

Foi aplicado o teste de correlação não paramétrica de Spearman para identificar possível relação entre idade e níveis de BDNF (Figura 2). O sinal da correlação de Spearman indica a associação entre a variável independente e a variável dependente. Se tende a aumentar quando aumenta, o coeficiente de correlação de Spearman é positivo (próximo de +1). Se tende a diminuir, o coeficiente de correlação de Spearman é negativo (próximo de -1). Um coeficiente de Spearman igual a zero indica que não há tendência de que aumente ou diminua. Quando são perfeitamente relacionadas, o coeficiente de correlação de Spearman se torna +1. Isto significa dizer que, quando os valores se aproximam de -1, o dado tem valor inversamente proporcional, e quando os valores se aproximam de +1, significa que os dados têm relação diretamente proporcional.

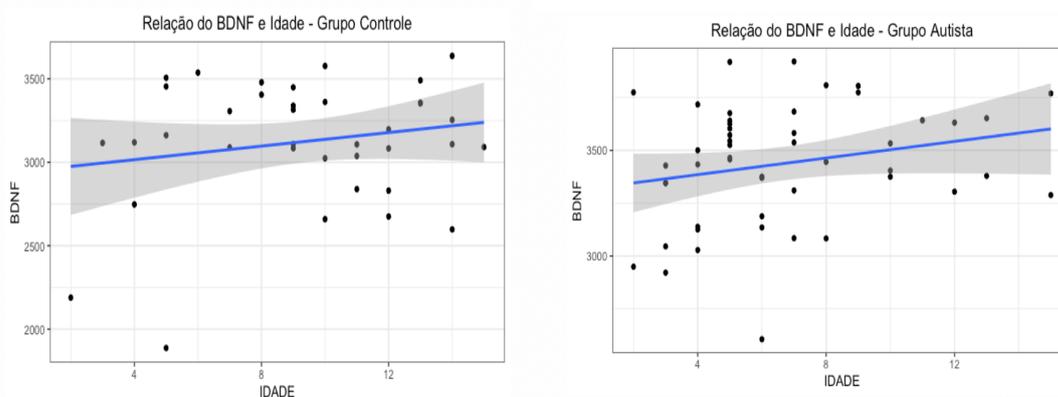


Figura 2: Teste de correlação não paramétrica de Spearman por grupo.

No grupo controle não é observada relação entre a idade e a BDNF, pois o coeficiente de correlação de Spearman (Figura 2) está próximo de zero. Já no grupo de crianças autistas, nota-se uma relação positiva (diretamente proporcional), isto é, quanto maior a idade, maior o BDNF. Embora positiva, essa relação é de fraca intensidade (correlação de Spearman 0,247). Apesar da relação direta, os níveis de BDNF e a idade em crianças autistas, como o valor é mais próximo ao zero do que +1, a relação não foi intensa. Significa dizer que a relação entre os níveis de BDNF e a idade em crianças autistas teve relação

diretamente proporcional, mas relação de fraca intensidade. Com a sobreposição dos gráficos comparando o grupo controle e de autistas, é nítida a observação da diferença entre as concentrações dos fatores neurotróficos, mostrando que em crianças autistas a concentração é maior (Figura 3).

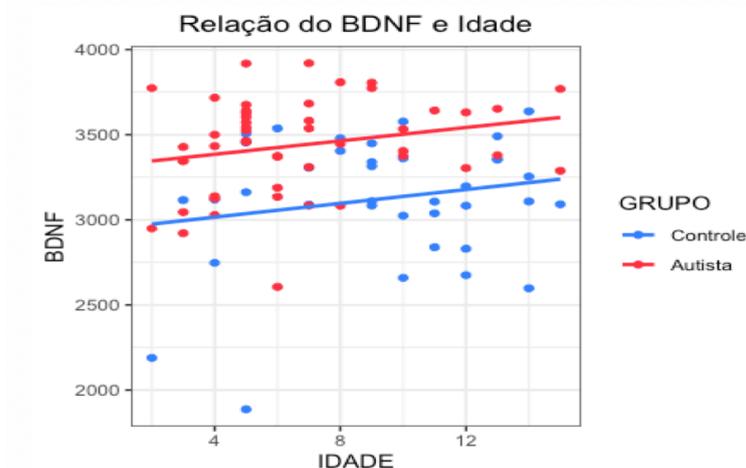


Figura 3: Sobreposição dos testes não paramétricas de Spearman.

Grande percentagem de testes diagnóstico origina respostas sob a forma de variáveis qualitativas ordinais ou quantitativas discretas ou contínuas, por isso, é necessário aplicar “uma regra de decisão baseada em encontrar o ponto de corte que resume tal quantidade numa resposta dicotômica”, valor que separa indivíduos doentes de saudáveis no teste de classificação. O ponto de corte corresponde a um ponto de separação na identificação dos indivíduos como doentes ou saudáveis, considerando uma medida utilizada para fazer o diagnóstico. O ponto de separação representa um valor definido para essa medida, estabelecendo assim quais os indivíduos que estão acima ou abaixo desse ponto.

Esta capacidade de distinguir uma informação corretamente é de fundamental importância em muitos setores da atividade humana, incluindo aqui a medicina. Podemos assim determinar se um método diagnóstico (um teste de laboratório) é confiável ou não, e em que grau. Associado a este parâmetro existe outro que serve de contraprova, a especificidade, definida como a probabilidade de diagnosticar negativamente um caso que, de fato, não tenha a doença, ou seja, a razão entre os casos diagnosticados como não tendo a doença pelo total de todos os casos diagnosticados (positivos e negativos).

A partir da década de 1970 ficou demonstrada a grande utilidade do método da curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC) para as ciências médicas. A análise ROC é uma medida da capacidade de um observador classificar corretamente um dado dentro de uma chave dicotômica (Figura 4). É uma ferramenta poderosa para medir e especificar problemas no desempenho do diagnóstico em medicina. Esta análise por meio de um método gráfico permite estudar a variação da sensibilidade e especificidade para diferentes valores de corte. O grau de acerto consiste na probabilidade de diagnosticar corretamente uma doença ou condição na população, parâmetro que se define como sensibilidade, quantificado como a razão entre o diagnóstico positivo verdadeiro para a condição, e o total de casos (positivo e negativos verdadeiros) diagnosticados.

Neste trabalho foi feita a descrição da evolução da análise, bem como o desenvolvimento do índice área abaixo da curva ROC (Figura 4). A área abaixo da curva ROC está associada ao poder discriminante de um teste de diagnóstico. Os valores da curva ROC mostram que, apesar da diferença significativa entre o grupo controle e os autistas, há uma dificuldade em discriminar os dois grupos a partir do BDNF.

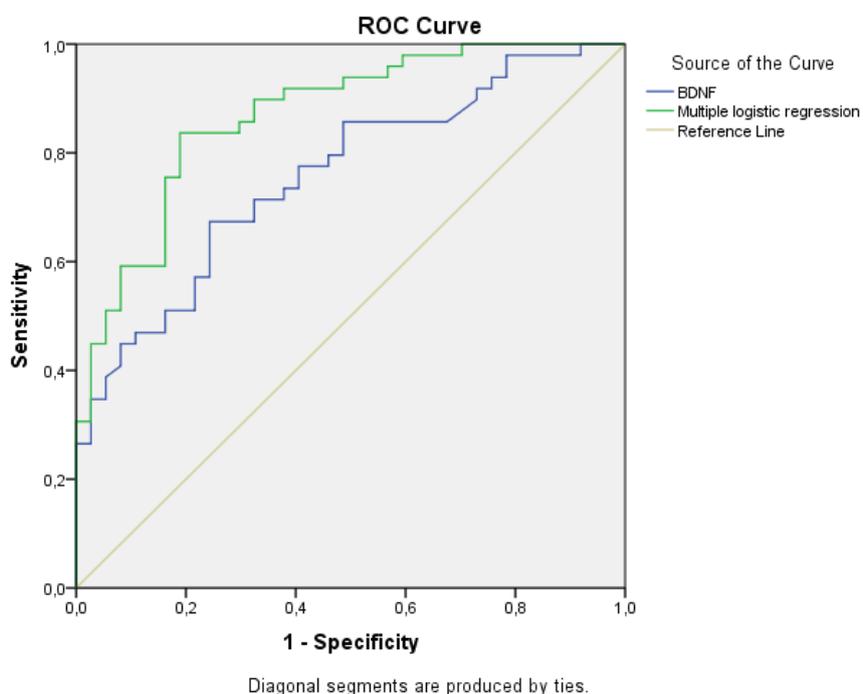


Figura 4: Curva ROC.

Foi realizada uma regressão logística para a variável dependente grupo autistas e controles para quantificar o impacto dos níveis de BDNF sobre a probabilidade do indivíduo apresentar TEA. Esse modelo busca quantificar o impacto do BDNF para o autismo, controlado pelo sexo e idade dos pacientes. A cada unidade de valor a mais do BDNF aumenta, em média, 0,4% a chance de a criança ter autismo. Então se a BDNF aumentar em 100, a chance ter autismo aumenta em 40%. Essa estimativa é controlada para sexo e idade. Significa dizer que se houver um aumento de 1000 unidades no valor de BDNF, há um aumento em 4 vezes da possibilidade de se tratar de uma criança autista. Estatisticamente falando, a BDNF é um marcador que pode auxiliar no diagnóstico, mas não deve ser tratado isoladamente como biomarcador.

4 - RESULTADOS

Os resultados obtidos no presente estudo, onde foram analisadas um total de 86 crianças, foram 44 TEA do sexo masculino e 13 controles do sexo feminino (Tabela 5).

Tabela 5: Divisão das crianças por sexo.

Grupo	Masculino	Feminino	Total
TEA	44	5	n = 49 (56%)
Controle	24	13	n = 37 (44%)
Total	66	18	n = 86 (100%)

A idade das crianças variou em média de 6,6 anos para o grupo de autistas e 9,3 anos para o grupo controle (Tabela 6), sendo a idade mínima para ambos os grupos de 2 anos e a idade máxima para ambos os grupos de 15 anos.

Tabela 6: Média e mediana das idades das crianças.

Grupo	Idade média	Mediana	Total
TEA	6,6 anos	6 anos	n = 49
Controle	9,3 anos	10 anos	n = 37
Total			n = 86

A classificação de gravidade do quadro de autismo variou de 37 pontos no escore CARS a 57 pontos (Tabela 7).

Tabela 7: Variação do escore de pontos CARS

CARS	Mínimo	Média	Máximo
TEA (n = 49)	37	47,6	57

Os resultados da concentração sérica do BDNF variaram no grupo de autistas e controle. Os autistas tiveram concentrações de BDNF mínima de 26,06 ng/ml e máximo de 39,20 ng/ml. Já o grupo controle teve concentração sérica de 18,87 ng/ml e o máximo de 36,37 ng/ml (Tabela 8).

Tabela 8: Concentração sérica do BDNF.

BDNF (ng/ml)	Menor	Média	Mediana	Maior	Desvio Padrão
TEA (n = 49)	26,06	34,37	34,57	39,20	2,80
Controle (n = 37)	18,87	31,23	31,19	36,37	3,75

5 - DISCUSSÃO

Em uma meta-análise, Armeanu (2017) selecionou um total de 15 estudos, onde foram envolvidos 1.242 participantes. O resultado concluiu que a BDNF periférica estaria moderadamente aumentada em crianças com TEA em comparação com controles saudáveis. Esses resultados sugerem que níveis elevados de BDNF podem estar associados com a etiologia ou com o desenvolvimento dos sintomas do transtorno do espectro autista. Dos 15 estudos, 12 utilizaram medidas de BDNF do soro e 3 utilizaram medidas do plasma (Armeanu et al. 2017).

Outro trabalho de pesquisa utilizando meta-análise procurou verificar se crianças com TEA tinham a concentração da BDNF sérica alterada. Esta meta-análise incluiu 19 estudos com 2.896 participantes. Mostrou que crianças com TEA tinham níveis de BDNF significativamente mais elevado em relação às crianças controle, reforçando as evidências clínicas de um fator neurotrófico alterado nesta população. Quatro trabalhos demonstraram não haver aumento da proteína em neonatos que foram diagnosticados tardiamente com TEA. A conclusão é que os níveis de BDNF fortalecem as evidências clínicas do perfil de anormalidade desta proteína (Qin et al. 2016).

Em uma revisão sistemática tipo meta-análise destinada a síntese qualitativa e quantitativa dos estudos das medidas dos níveis de BDNF no sangue de crianças autistas e controles, Saghazadeh (2016) selecionou um total de 183 artigos, e desses, apenas 20 atendiam as exigências da pesquisa. Em um total de 887 pacientes com diagnóstico de TEA e 901 indivíduos saudáveis, observou-se níveis de BDNF significativamente mais altos em comparação com os controles, levando ao entendimento que esta proteína estaria envolvida de alguma forma com o autismo podendo, portanto, ser considerado um possível biomarcador de TEA. Concluiu que o fator BDNF poderia ser considerado importante na plasticidade sináptica (Saghazadeh et al. 2016).

Também Zheng (2016) realizou uma revisão sistemática e metanálise de estudos que examinam os níveis periféricos de BDNF no TEA em comparação com controles saudáveis. Quatorze estudos envolvendo 2.707 participantes e 1.131 casos incidentes (TEA) foram incluídos. A metanálise forneceu evidências

de níveis mais altos de BDNF periférico no TEA em comparação com os controles (Zheng et al. 2016).

Em estudo, Kasarpalkar (2014) avaliou 48 crianças com TEA e retardo mental e 29 controles saudáveis. Os níveis séricos de BDNF achados foram significativamente altos em crianças com autismo atípico quando comparado com os controles, porém não aconteceu com os sujeitos com autismo típico. No entanto, foi significativamente baixo em meninas com síndrome de Rett. Os níveis baixos de BDNF indicam prejuízo nos mecanismos de proteção neuronal, enquanto níveis altos devem implicar uma resposta protetiva. As conclusões desse estudo demonstram diferentes comportamentos dos níveis da BDNF conforme a gravidade do déficit neurocomportamental, sugerindo uma molécula com função neuroprotetiva e dando suporte a um estudo de terapia com o uso da BDNF em crianças com TEA (Kasarpalkar et al. 2014).

Em 2004, Miyazaki e seus colaboradores coletaram amostras de 18 crianças com diagnóstico de autismo, 20 crianças com retardo mental e 16 crianças saudáveis como controle usando método ELISA, concluindo que o BDNF tem potencial para se tornar um biomarcador para o transtorno autista por ter havido diferença estatística entre os valores do BDNF desses indivíduos. Miyazaki (2004) e Kasarpalkar (2014) são grandes entusiastas na relação da concentração de BDNF e o autismo (Miyazaki et al. 2004; Kasarpalkar et al. 2014). Em seus estudos notaram diferenças estatisticamente significante para concluir que a neurotrofina tem potencial para ser utilizada como biomarcador do TEA (Miyazaki et al. 2004).

À procura de um biomarcador que pudesse auxiliar no diagnóstico precoce do TEA, Nelson et al (2001) formularam a hipótese de que o autismo seria o resultado de uma desregulação no desenvolvimento normal do cérebro e os marcadores desse desvio da normalidade estariam presentes no período neonatal. A previsão seria de que os marcadores resultariam em expressão anormal de fatores de crescimento importantes para o desenvolvimento cerebral. Para Nelson, a substância mais plausível ligada com o desenvolvimento do autismo é o fator neurotrófico BDNF. Neste trabalho foram medidos os níveis de duas neurotrofinas, BDNF e NT4/5, e dois neuropeptídeos, Peptídeo Vasoativo Intestinal (VIP) e Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina (CGRP). Em 65% das 69 crianças com TEA houve diferença significativa dos níveis medidos

em relação aos controles saudáveis. Demonstrou que os níveis de BDNF em crianças autistas foi mais elevado em comparação com os controles e indistinguível em comparação com crianças com retardo mental. Em 99% das crianças com autismo e 97% das crianças com retardo mental houve pelo menos uma das substâncias com os níveis elevados em relação aos controles. Individualmente, a VIP mostrou-se elevada em cerca de 90% (62 das 69) das crianças com TEA, 87% das crianças com TEA (60 de 69) tiveram os níveis de NT4/5 aumentados em relação aos controles. E o BDNF esteve aumentado em 65% (45 de 69) das crianças com TEA em comparação com os controles (Nelson et al. 2001).

Meng et al. (2017) pesquisaram a relação entre os níveis séricos de BDNF e a gravidade do TEA dado pelo método CARS de classificação, num total de 82 crianças com autismo sem uso de medicação e 82 crianças saudáveis, pareados em idade e sexo. A concentração do BDNF sanguíneo foi obtida pelo método ELISA, e os níveis do BDNF foram relacionados com a gravidade do transtorno do espectro autista. O BDNF foi significativamente mais elevado em relação aos controles, com relação positiva entre os níveis de BDNF e o escore CARS (gravidade do transtorno) e uma relação negativa entre BDNF e Quociente Intelectual (Meng et al. 2017).

No trabalho de AL-Ayadhi (2011), cujo objetivo foi o de explorar a possível relação do BDNF no TEA, foram pesquisadas 46 crianças autistas, sendo 41 meninos, com idade de até 12 anos, com o diagnóstico utilizando os critérios do DSM-4, além de 53 crianças controle. Diferente de outros estudos, demonstrou que níveis séricos de BDNF foram mais baixos quando comparados com as crianças controle. Também não perceberam correlação entre níveis de BDNF e variações clínicas nos autistas, embora o estudo sugira a possibilidade de a fisiopatologia do autismo envolver a BDNF (AL-Ayadhi et al. 2011).

Na mesma linha de pesquisa, Hashimoto et al (2016) mediram os níveis séricos do BDNF em 18 pacientes adultos do sexo masculino com autismo e 18 controles saudáveis do sexo masculino pareados por idade. Os níveis séricos de BDNF em pacientes adultos com autismo foram significativamente menores do que os controles normais. Este estudo sugere que os níveis reduzidos de BDNF podem desempenhar um papel na fisiopatologia do TEA (Hashimoto et al. 2016).

Diante das variações no comportamento do BDNF em indivíduos com transtorno do espectro autista, foi proposto um trabalho para aferir a concentração do BDNF em crianças brasileiras com TEA acompanhadas no CAPSi de uma cidade satélite do Distrito Federal (Recanto das Emas), que é um serviço de referência em Brasília. No presente estudo, notou-se que as concentrações de BDNF em crianças com TEA eram moderadamente mais elevadas quando comparadas aos valores encontrados em crianças saudáveis ($p < 0,000$). No entanto, como visto na Figura 1, um pequeno número de crianças, tanto no grupo de autistas quanto no grupo controle, revelou níveis séricos comparáveis de BDNF. Esses resultados sobrepostos influenciaram significativamente a sensibilidade e especificidade do nível de BDNF como marcador do transtorno. O uso dos níveis sanguíneos de BDNF como instrumento para o diagnóstico de TEA tem sido sugerido por vários autores (Hashimoto et al. 2006; Qin et al. 2016; Saghazadeh et al. 2017; Zheng et al. 2016), enquanto outros autores consideram que seus resultados dificultam o uso clínico como ferramenta auxiliar de diagnóstico (Bryn et al. 2015; Halepoto et al. 2014; AL-Ayadhi et al. 2011).

Em nosso estudo, de acordo com os resultados da regressão logística múltipla e da curva ROC (Figura 4), o ponto de corte ideal (que maximiza a soma de sensibilidade e especificidade) foi de 0,60. Esse ponto de corte corresponde a uma sensibilidade de 83,7% (41/49), e uma especificidade de 81,1% (30/37), com acertos totais de 82,6% (71/86). Seria um valor acima do qual mais de 80% dos indivíduos poderiam ser diagnosticados com transtorno com grau de acerto significativo.

Os valores da curva ROC mostram que, apesar da diferença significativa entre os grupos controle e autista, há uma dificuldade em discriminar os dois grupos considerando apenas a concentração do BDNF. Isso ocorre porque muitos são do grupo de controle e têm alto BDNF, além de haver alguns autistas com baixo BDNF.

Existem outras situações em que os níveis de BDNF são alterados, por isso, apesar de sua sensibilidade e especificidade relativamente aceitáveis, quando usadas como teste de diagnóstico para TEA, essas variáveis precisam ser levadas em consideração. Além de sua estreita associação com o autismo, níveis aumentados ou diminuídos de BDNF têm sido associados a uma

variedade de transtornos. Níveis sanguíneos anormais de BDNF foram descritos em doenças neurológicas e psiquiátricas, como esquizofrenia (Fernandes et al. 2015), depressão e ansiedade (Martinowich et al. 2007; Sen et al. 2008), ou mesmo quando apenas traços de personalidade depressivos estão presentes (Lang et al. 2004). Níveis sanguíneos anormais de BDNF também são detectados em síndromes genéticas associadas a retardo mental e autismo, como a Síndrome X frágil (Castrén & Castrén, 2014) e a Síndrome de Angelman (Wink et al. 2015, Peters et al. 2011). Os níveis séricos de BDNF são alterados em crianças com deficiência intelectual e TEA, e também em crianças com outros distúrbios do desenvolvimento neurológico, mesmo na ausência de TEA (Yeom et al. 2016). Outros distúrbios nos quais foram descritas anormalidades do BDNF são a epilepsia (Lughetti et al. 2018), a doença de Parkinson (Scalzo et al. 2009) e a doença de Alzheimer (Laske et al. 2006). Outras causas possíveis de níveis sanguíneos alterados de BDNF são a qualidade nutricional e o exercício físico (Hansen et al. 2019), dois elementos que são frequentemente prejudicados em pacientes autistas. Além disso, os níveis de BDNF também podem variar dependendo do ritmo circadiano (Liang et al. 1988), idade avançada do paciente (Erickson et al. 2010) e características de sua microbiota intestinal (Bercik et al. 2011; Sharon et al. 2019).

As dúvidas quanto à eficácia do uso dos níveis de BDNF como ferramenta de diagnóstico de TEA são ainda mais acentuadas pela observação de que os níveis de BDNF tendem a ser mais altos em crianças com retardo mental, conforme observado por Nelson et al. (2001), e que as concentrações de BDNF foram maiores em crianças com TEA e naquelas com retardo mental sem TEA do que em crianças controle. Corroborando com seus resultados, Miyazaki (2004) determinaram os níveis de BDNF em um grupo de adultos com TEA e em um grupo de adultos com retardo mental. Níveis elevados foram encontrados em ambos os grupos, sendo um pouco mais altos entre o grupo com retardo mental. Além disso, todos os pacientes com TEA incluídos em estudos cujos resultados revelaram níveis normais ou baixos de BDNF eram intelectualmente normais ou tinham, pelo menos, um QI acima de 70 (Hashimoto et al. 2006; Taurines et al. 2014; Francis et al. 2018).

Todos os pacientes que foram selecionados para o presente estudo foram classificados nos critérios do escore CARS e apresentaram pontuação acima de 37, o que significa autismo grave.

Embora ainda existam controvérsias sobre o papel do BDNF no TEA, a maioria dos estudos até hoje aponta para um aumento variável nos níveis sanguíneos. Consequentemente, não há dúvidas aparentes quanto ao funcionamento anormal dessa neurotrofina nesse transtorno. A questão é verificar se o BDNF é um marcador prático e confiável para o diagnóstico de TEA. Diante de um distúrbio com características clínicas e comportamentais típicas, a confirmação do diagnóstico por meio de um marcador que pode variar de acordo com a idade do paciente (Kato-Semba et al. 2007), dieta, estado nutricional e atividade física (Hansen et al. 2019), com o ritmo circadiano (Liang et al. 1998; Begliomini et al. 2008) e com as características da microbiota intestinal (Bercik et al. 2011; Sharon et al. 2019). Além disso, apesar da escassez de estudos, os níveis de BDNF aparentemente não conseguem diferenciar o TEA dos casos de deficiência intelectual sem TEA (Miyazaki et al. 2004, Yeom et al. 2016). Independentemente das inevitáveis diferenças inter e intra-laboratoriais, ainda não há sistematização da técnica laboratorial a ser empregada na determinação dos níveis de BDNF (Polacchini et al. 2015). Se a determinação de seus níveis tivesse especificidade e sensibilidade satisfatórias, seria um instrumento importante na identificação de recém-nascidos que viessem apresentar o quadro de TEA, permitindo intervenção precoce nesses casos, mas os poucos estudos existentes com foco nesse aspecto também são controversos (Nelson et al. 2001; Nelson et al. 2006; Croen et al. 2008; Abdallah et al. 2013; Skogstrand et al. 2019).

Consideramos que o valor do BDNF como marcador é relativo, se uma criança exibir um quadro clínico clássico de TEA com níveis sanguíneos normais ou reduzidos de BDNF, o diagnóstico de autismo certamente não será excluído. Uma revisão dos estudos realizados até a presente data deixa poucas dúvidas de que o BDNF desempenha um papel na fisiopatologia do TEA e no neurodesenvolvimento, mas apoiar-se apenas no BDNF como marcador do transtorno não é aconselhável, segundo o presente estudo.

Embora ainda existam algumas controvérsias em relação aos níveis de BDNF no sangue de crianças com Transtorno do Espectro Autista, a maioria dos

trabalhos aponta para um aumento que varia de pequeno, moderado ou até mesmo importante, em seus níveis nas crianças com TEA e com RM. Sua utilidade como biomarcador de autismo se configura pouco relevante. Diante de um transtorno com características de comportamento tão típicas, porém complexas, a comprovação do diagnóstico por meio de um marcador que pode variar dependendo do grupo etário, do nível de atividade física, do uso de medicamentos, da dieta da criança e de características de sua microbiota intestinal, afigura-se pouco relevante. Adicionalmente, apesar da escassez de estudos, aparentemente os níveis de BDNF não conseguem diferenciar o TEA dos casos de retardo mental sem características de autismo. Adicionalmente, independente das inevitáveis diferenças inter e intra-laboratoriais, ainda não existe uma sistematização da técnica laboratorial a ser empregada na determinação dos níveis de BDNF. Se a determinação de seus níveis tivesse uma especificidade e sensibilidade satisfatórias, seria importante instrumento na identificação de neonatos que pudessem vir a apresentar futuramente TEA, permitindo uma precoce intervenção nesses casos, mas os poucos estudos existentes focando esse aspecto são também controversos.

6 - CONCLUSÃO

A presente pesquisa atingiu o objetivo de determinar a concentração sérica do BDNF no sangue de crianças autistas. Os resultados da concentração sérica do BDNF variaram no grupo de autistas e controle. Os autistas tiveram concentrações mínimas de BDNF de 26,06 ng/ml e máxima de 39,20 ng/ml.

Ao correlacionar as concentrações séricas do BDNF entre pacientes autistas e controles, os resultados variaram nos grupos. O grupo controle teve concentração sérica mínima de 18,87 ng/ml e máxima de 36,37 ng/ml.

A curva ROC mostrou que, apesar da diferença significativa entre os grupos, houve uma dificuldade em discriminá-los. O coeficiente de correlação de Spearman no grupo de crianças autistas mostra uma relação positiva, no entanto, a relação foi de fraca intensidade. O *Boxplot* também mostrou diferença significativa quanto aos valores de BDNF entre os grupos, mas não suficiente para ignorar os *outliers*. A concentração do BDNF dos autistas foi superior ao grupo controle, mas insuficiente para dar segurança como um marcador isolado.

Níveis sanguíneos anormais de BDNF também são detectados em síndromes genéticas associadas a retardo mental e autismo, mostrando ser mais elevado em crianças com retardo mental. Embora ainda existam controvérsias sobre o papel do BDNF no TEA, a maioria dos estudos até essa data aponta para um aumento variável nos seus níveis sanguíneos.

A conclusão do nosso estudo, embora os níveis de BDNF tenham se mostrado mais altos no TEA, foi verificar que o fator neurotrófico não é um biomarcador confiável. Não restam dúvidas quanto à influência dessa neurotrofina no TEA, porém, o que temos que questionar não é se os níveis de BDNF podem ser considerados marcadores diagnósticos ou prognósticos do TEA, mas qual é o seu verdadeiro papel no desenvolvimento desse transtorno.

O diagnóstico é difícil por se tratar de uma alteração neuropsiquiátrica, o que torna a busca por um marcador um grande desafio. Muitos pesquisadores chamam esse possível marcador de Santo Graal.

7 - REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Center of disease control and prevention (CDC). Autism spectrum disorder (ASD). <https://www.cdc.gov/ncbddd/autism/features/asd-data-four-year-old-children.html>; acessado em 21 de junho de 2019.
2. Suplicy AM. Autismo infantil: Revisão Conceitual. *Revista Neuropsiquiatria da infância e adolescência* 1(1): 21-28; 1993.
3. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. *The nervous child*; 2:217-250; 1943.
4. Asperger H. Die, Autistische Psychopathen im Kindersalter. *Aus der Wiener Universitäre-Kinderklinik*, pg. 76-136, 8 oktober; 1943.
5. Wing L. The relationship between Asperger's syndrome and Kanner's autism. MRC Social Psychiatry Unit and Diagnostic and Assessment Unit, National Autistic Society, London. Edited by Uta Frith:pg. 93-121.
6. Ministério da Saúde: Linha de cuidado para a atenção às pessoas com transtorno do espectro do autismo e suas famílias na rede de atenção psicossocial do sistema único de saúde. Brasília DF 2015.
7. Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5. American Psychiatric Association. 5ª ed. Artmed; 2014.
8. Levi-Montalcini R, Hamburger V. Selective growth stimulating effects of mouse sarcoma on the sensory and sympathetic nervous system of the chick embryo. *J. Exp. Zool* 1951; 116, 321–361.
9. Baio J, Wiggins L, Christensen DL, Maenner MJ, Daniels J, Warren Z et al. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United

States, 2014. *Surveillance Summaries* / April 27; 2018 / 67(6);1–23. CDC site visitado em 26 de janeiro de 2019.

10. Armeanu R, Mokkonen M, Crespi B. Meta-analysis of BDNF levels in autism. *Cell Mol Neurobiol* 2017; 37:949-954.

11. Kasarpalkar NJ, Kothari ST, Dave UP. Brain-Derived Neurotrophic Factor in children with Autism Spectrum Disorder. *Annals of Neurosciences* 2014, volume 21, number 4, October; 129-133.

12. Nelson KB. Toward a biology of autism: possible role of certain neuropeptides and neurotrophins. *Clinical Neuroscience Research* 1 (2001) 300-306.

13. Miyazaki K, Narita N, Sakuta R, Miyahara T, Naruse H, Okado N et al. Serum Neurotrophin concentrations in autism and mental retardation: a pilot study. *Brain & Development* 26, 2004; 292-295.

14. AL-Ayadhi L. Serum levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Autistic children in Central Saudi Arabia. *The open conference Proceedings Journal* 2011; 2, 36-40.

15. Halepoto DM, Bashir S, AL-Ayadhi L. Possible role of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Autism Spectrum Disorder: Current status. *Journal of the college of Physicians and Surgeons Pakistan* 2014; vol 24 (4): 274-278.

16. Meng WD, Sun SJ, Yang J, Chu RX, Tu W, Liu Q. Elevated serum Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) but not BDNF Gene Val66Met polymorphism is associated with autism spectrum disorders. *Mol Neurobiol* 54, 2017; 1167-1172.

17. Nelson KB, Grether JK, Croen LA, Dambrosia JM, Dickens BF, Jelliffe LL et al. Neuropeptides and Neurotrophins in neonatal blood of children with autism or mental retardation. *Annals of Neurology* 2001; vol 49, n° 5, 597-606.

18. Qin XY, Feng JC, Cao C, Wu HT, Loh YP, Cheng Y. Association of peripheral blood levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor with autism spectrum disorder in children: A systematic review and meta-analysis. *Jama Pediatrics* 2016; November, volume 170, number 11, 1079-1086.
19. Saghazadeh A, Rezaei N. Brain-Derived Neurotrophic Factor levels in autism: a systematic review and meta-analysis. *J Autism Dev Disord* 2017; 47:1018-1029.
20. Hashimoto K, Iwata Y, Nakamura K, Tsujii M, Tsuchiya K J, Sekine Y et al. Reduced serum levels of brain-derived neurotrophic factor in adult male patients with autism. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2006; December 30;30(8):1529-31. Epub 2006 Jul 28.
21. Yoshida T, Ishikawa M, Iyo M, Hashimoto K. Serum Levels of Mature Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and Its Precursor proBDNF in Healthy Subjects. *The Open Clinical Chemistry Journal*, 2012, 5, 7-12.
22. Zheng, Z. *et al.* Peripheral brain-derived neurotrophic factor in autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis. *Sci. Rep.* 6 (2016), 31241;
23. Bryn V, Halvorsen B, Ueland T, Isaksen J, Kolkova K, Ravn K, Skjeldal OH. Brain derived neurotrophic factor (BDNF) and autism spectrum disorders (ASD) in childhood. *European Journal of Pediatric Neurology* 19, 2015; 411-414.
24. Gupta AR, Matthew W. State Autismo: Genética. State. *Revista Brasileira de Psiquiatria* 2006; 28 (Supl I) S29-38.
25. Zanolta TA, Fock RA, Perrone E, Garcia AC, Perez ABA, Brunoni D. Causas genéticas, epigenéticas e ambientais do transtorno do espectro autista. Universidade Presbiteriana Mackenzie, *Cadernos de pós-graduação em distúrbios do desenvolvimento*, São Paulo 2015; vol. 15, n.2, p. 29-42.

26. Rutter M. A etiology of autism: findings and questions. *J Intellect Disabil Res* 2005; 49: 231-8.
27. Zoghbi H Y. Postnatal neurodevelopmental disorders: Meeting at the synapse? *Science* 2003; 302(5646), 826–830.
28. Losapio MF, Pondê MP. Tradução para o português da escala M-CHAT para rastreamento precoce de autismo. *Revista Psiquiátrica* 2008; 30(3)221-229.
29. Rapin I, Goldman S. The Brazilian CARS: a standardized screening tool for autism. *Jornal de Pediatria*, by Sociedade Brasileira de Pediatria 2008. Vol. 84, nº 6, 473 – 475.
30. Pereira A, Riesgo RS, Wagner MB. Childhood autism: translation and validation of the Childhood Autism Rating Scale for use in Brazil. *Jornal de Pediatria (RJ)*, by Sociedade Brasileira de Peditaria 2008. Vol. 84(6):487- 494.
31. Organização Mundial da Saúde. *Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde*. Décima revisão, Universidade de São Paulo 1996, Vol. 1.
32. Anwar A, Abruzzo PM, Pasha S, Rajpoot K, Bolotta A, Ghezzi A et al. Advanced glycation endproducts, dityrosine and arginine transporter dysfunction in autism – a source of biomarkers for clinical diagnosis. *Molecular Autism* 2018; 9:3. 02-16.
33. Abdallah, M. W., Mortensen, E. L., Greaves-Lord, K., Larsen, N., Bonfeld-Jørgensen, E. C., Nørgaard-Pedersen, B., Grove, J. (2013). Neonatal levels of neurotrophic factors and risk of autism spectrum disorders. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 128 (1), 61–69.
34. Begliuomini S, Lenzi E, Ninni F, Casarosa E, Merlini S, Pluchino N, Valentino V, Luisi S, Luisi M, Genazzani AR. Plasma brain-derived neurotrophic

factor daily variations in men: correlation with cortisol circadian rhythm. *J Endocrinol.* 2008 May;197(2):429-35.

35. Bercik P, Denou E, Collins J, Jackson W, Lu J, Jury, J, Deng Y, Blennerhassett P, Macri J, McCoy KD, Verdu EF, Collins, SM (2011). The Intestinal Microbiota Affect Central Levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Behavior in Mice. *Gastroenterology* 141(2), 599–609.e3.

36. Castrén ML, Castrén E. BDNF in fragile X syndrome. *Neuropharmacology.* 2014 Jan;76 Pt C:729-36.

37. Connolly AM, Chez M, Streif EM, Keeling RM, Golumbek PT, Kwon JM, Riviello JJ, Robinson RG, Neuman RJ, Deuel RM. (2006). Brain-Derived Neurotrophic Factor and Autoantibodies to Neural Antigens in Sera of Children with Autistic Spectrum Disorders, Landau-Kleffner Syndrome, and Epilepsy. *Biological Psychiatry*, 59(4), 354–363.

38. Correia, C. T., Coutinho, A. M., Sequeira, A. F., Sousa, I. G., Lourenço Venda, L., Almeida, J. P., Vicente, A. M. (2010). Increased BDNF levels and NTRK2 gene association suggest a disruption of BDNF/TrkB signaling in autism. *Genes, Brain and Behavior*, 9(7), 841–848.

39. Croen, L. A., Goines, P., Braunschweig, D., Yolken, R., Yoshida, C. K., Grether, J. K., Van de Water, J. (2008). Brain-derived neurotrophic factor and autism: maternal and infant peripheral blood levels in the Early Markers for Autism (EMA) study. *Autism Research*, 1(2), 130–137.

40. Fernandes BS, Steiner J, Berk M, Molendijk ML, Gonzalez-Pinto A, Turck CW, Nardin P, Gonçalves CA. Peripheral brain-derived neurotrophic factor in schizophrenia and the role of antipsychotics: meta-analysis and implications. *Mol Psychiatry.* 2015 Sep;20(9):1108-19.

41. Foltran, R. B., & Diaz, S. L. (2016). BDNF isoforms: a round trip ticket between neurogenesis and serotonin? *Journal of Neurochem*, 138(2), 204–221.

42. Francis, K., Dougali, A., Sideri, K., Kroupis, C., Vasdekis, V., Dima, K., & Douzenis, A. (2018). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in children with ASD and their parents: a 3-year follow-up. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 137(5), 433–441.
43. Hansen SL, Lorentzen J, Pedersen LT, Hendrich FL, Jorsal M, Pingel J, Nielsen JB, Kiens B. Suboptimal Nutrition and Low Physical Activity Are Observed Together with Reduced Plasma Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Concentration in Children with Severe Cerebral Palsy (CP). *Nutrients*. 2019 Mar 14;11(3).
44. Hatton, D. D., Sideris, J., Skinner, M., Mankowski, J., Bailey, D. B., Roberts, J., & Mirrett, P. (2006). Autistic behavior in children with fragile X syndrome: Prevalence, stability, and the impact of FMRP. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 140A(17), 1804–1813.
45. Hofer, M., Pagliusi, S. R., Hohn, A., Leibrock, J., & Barde, Y. A. (1990). Regional distribution of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the adult mouse brain. *The EMBO Journal*, 9(8), 2459–2464.
46. Karege, F., Schwald, M., & Cisse, M. (2002). Postnatal developmental profile of brain-derived neurotrophic factor in rat brain and platelets. *Neuroscience Letters*, 328(3), 261–264.
47. Katoh-Semba, R., Wakako, R., Komori, T., Shigemi, H., Miyazaki, N., Ito, H., Nakayama, A. (2007). Age-related changes in BDNF protein levels in human serum: differences between autism cases and normal controls. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 25(6), 367–372.
48. Lord, C., Elsabbagh, M., Baird, G., & Veenstra-Vanderweele, J. (2018). Autism spectrum disorder. *The Lancet*, 392(10146), 508–520.

49. Iughetti L, Lucaccioni L, Fugetto F, Predieri B, Berardi A, Ferrari F. Brain-derived neurotrophic factor and epilepsy: a systematic review. *Neuropeptides*. 2018 Dec;72:23-29.
50. Scalzo, P., Kümmer, A., Bretas, T.L. *et al.* Serum levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with motor impairment in Parkinson's disease. *J Neurol* 257, 540–545 (2010).
51. Schopler, Eric, Robert J. Reichler, Robert F. DeVellis, & Kenneth Daly. (1980). Toward objective classification of childhood autism: Childhood Autism Rating Scale (CARS). Kluwer Academic Publishers-Plenum Publishers, 10(1), 91–103.
52. Sen S, Duman R, Sanacora G. Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. *Biol Psychiatry*. 2008 Sep 15;64(6):527-32.
53. Sharon G, Cruz NJ, Kang DW, Gandal MJ, Wang B, Kim YM⁵ et al. Human Gut Microbiota from Autism Spectrum Disorder Promote Behavioral Symptoms in Mice. *Cell*. 2019 May 30;177(6):1600-1618.e17.
54. Skaper, S. D. (2012). The Neurotrophin Family of Neurotrophic Factors: An Overview. In S. D. Skaper (Ed.), *Neurotrophic Factors* (Vol. 846, pp. 1–12).
55. Skogstrand K, Hagen CM, Borbye-Lorenzen N, Christiansen M, Bybjerg-Grauholm J, Bækvad-Hansen M, Werge T, Børglum A, Mors O, Nordentoft M, Mortensen PB, Hougaard DM. Reduced neonatal brain-derived neurotrophic factor is associated with autism spectrum disorders. *Transl Psychiatry*. 2019 Oct 7;9(1):252.
56. Taurines, R., Segura, M., Schecklmann, M., Albantakis, L., Grünblatt, E., Walitza, S., Gerlach, M. (2014). Altered peripheral BDNF mRNA expression and BDNF protein concentrations in blood of children and adolescents with autism spectrum disorder. *Journal of Neural Transmission*, 121(9), 1117–1128.

57. Wang, M., Chen, H., Yu, T., Cui, G., Jiao, A., & Liang, H. (2015). Increased serum levels of brain-derived neurotrophic factor in autism spectrum disorder: *NeuroReport*, 26(11), 638–641.
58. Wink LK, Fitzpatrick S, Shaffer R, Melnyk S, Begtrup AH, Fox E, Schaefer TL, Mathieu-Frasier L, Ray B, Lahiri D, Horn PA, Erickson CA. The neurobehavioral and molecular phenotype of Angelman Syndrome. *Am J Med Genet A*. 2015 Nov;167 A(11):2623-8.
59. Yang J, Harte-Hargrove LC, Siao CJ, Marinic T, Clarke R, Ma Q, Jing D, Lafrancois JJ, Bath KG, Mark W, Ballon D, Lee FS, Scharfman HE, Hempstead BL., B. L. (2014). proBDNF negatively regulates neuronal remodeling, synaptic transmission, and synaptic plasticity in hippocampus. *Cell Rep*. 2014 May 8;7(3):796-806.
60. Yeom C.W., Park Y.J., Choi S.W., Bhang S.Y. Association of peripheral BDNF level with cognition, attention and behavior in preschool children. *Child Adolesc Psychiatry Ment Health*. 2016 May 19;10:10.

ANEXOS

ANEXO A - M-CHAT (MODIFIED CHECKLIST FOR AUTISM IN TODDLERS) CHECKLIST MODIFICADO PARA CRIANÇAS AUTISTAS

M-CHAT (*Modified Checklist for Autism in Toddlers*):

1. Seu filho gosta de se balançar, de pular no seu joelho, etc.?
2. Seu filho tem interesse por outras crianças?
3. Seu filho gosta de subir em coisas, como escadas ou móveis?
4. Seu filho gosta de brincar de esconder e mostrar o rosto ou de esconde-esconde?
5. Seu filho já brincou de faz-de-conta, como fazer de conta que está falando no telefone ou que está cuidando da boneca, ou qualquer outra brincadeira de faz-de-conta?
6. Seu filho já usou o dedo indicador dele para apontar, para pedir alguma coisa?
7. Seu filho já usou o dedo indicador dele para apontar, para indicar interesse em algo?
8. Seu filho consegue brincar de forma correta com brinquedos pequenos (ex. carros ou blocos), sem apenas colocar na boca, remexer no brinquedo ou deixar o brinquedo cair?
9. Seu filho alguma vez trouxe objetos para você (pais) para lhe mostrar este objeto?
10. Seu filho olha para você no olho por mais de um ou dois segundos?
11. Seu filho já pareceu muito sensível ao barulho (ex. tapando os ouvidos)?
12. Seu filho sorri em resposta ao seu rosto ou ao seu sorriso?
13. Seu filho imita você? (ex. você faz expressões/caretas e seu filho imita?)
14. Seu filho responde quando você o chama pelo nome?
15. Se você aponta um brinquedo do outro lado do cômodo, o seu filho olha para ele?
16. Seu filho já sabe andar?
17. Seu filho olha para coisas que você está olhando?
18. Seu filho faz movimentos estranhos com os dedos perto do rosto dele?
19. Seu filho tenta atrair a sua atenção para a atividade dele?
20. Você alguma vez já se perguntou se seu filho é surdo?
21. Seu filho entende o que as pessoas dizem?
22. Seu filho às vezes fica aéreo, “olhando para o nada” ou caminhando sem direção definida?
23. Seu filho olha para o seu rosto para conferir a sua reação quando vê algo estranho?

ANEXO B – CARS: CHILDHOOD AUTISM RATING SCALE (ESCALA DE PONTUAÇÃO PARA AUTISMO NA INFÂNCIA)

CARS

Escala comportamental composta por 15 itens, desenvolvida para identificar crianças com síndrome autista, permitindo ainda uma classificação clínica da sua gravidade desde ligeiro, moderado ou severo.

ESCALA DE COTAÇÃO			
Domínios		Pontuação	Observações
		1 (1,5), 2 (2,5), 3 (3,5) ou 4	
I	Relação com pessoas		
II	Imitação		
III	Resposta emocional		
IV	Uso corporal		
V	Uso de objetos		
VI	Adaptação à mudança		
VII	Resposta visual		
VIII	Resposta auditiva – ao som		
IX	Resposta ao paladar, olfato e tato		
X	Medo ou ansiedade		
XI	Comunicação verbal		
XII	Comunicação não verbal		
XIII	Nível de atividade		
XIV	Nível e consistência da resposta intelectual		
XV	Impressão global		
Cotação Total:			

COTAÇÃO TOTAL

15 18 21 24 27 30 33 36 39 42 45 48 51 54 57 60



Não autista	Autista Moderado	Autista severo
-------------	---------------------	----------------

I – RELAÇÃO COM AS PESSOAS

1- Sem evidência de anomalia ou dificuldade na relação com as pessoas.

Alguma timidez, agitação ou aborrecimento pode ser observada na avaliação, mas não um nível superior do que é esperado para uma criança da mesma idade.

2- Relação ligeiramente anormal.

Evita olhar nos olhos do adulto, evita o adulto ou zanga-se se a interação é forçada, excessivamente tímido, não responde o adulto como uma criança da sua idade, ou mais ligada aos pais do que é esperado.

3- Relação moderadamente anormal.

A criança mostra-se distante ignorando os adultos e parecendo ausente por momentos. São necessários esforços e persistência para prender a sua atenção. O contato iniciado pela criança e a qualidade é pouco pessoal.

4- Relação severamente anormal.

A criança está distante e desinteressada do que o adulto está fazendo. Quase nunca inicia ou responde ao contato com o adulto. Somente um esforço mais persistente consegue prender a sua atenção.

Observações:

II – IMITAÇÃO

1- Imitação apropriada.

A criança é capaz de imitar sons, palavras e movimentos de forma adequada às suas capacidades.

2- Imitação ligeiramente anormal.

Imita comportamentos simples como bater palmas ou sons simples na maior parte das vezes. Ocasionalmente pode imitar somente depois de muito estimulado ou com algum tempo de atraso.

3- Imitação moderadamente anormal.

Imita só parte do tempo, requerendo uma grande persistência e ajuda do adulto. Pode frequentemente imitar após algum tempo de atraso.

4- Imitação severamente anormal.

Raramente ou nunca imita sons, palavras ou movimentos mesmo com a ajuda do adulto.

Observações:

III – RESPOSTA EMOCIONAL

1- Respostas emocionais adequadas à idade e à situação.

A criança mostra um tipo e um grau de resposta adequada, revelada por alteração na expressão facial, postura e modo/atitude.

2- Resposta emocional ligeiramente anormal.

Ocasionalmente desenvolve um tipo ou grau de reação emocional desajustada. As reações muitas vezes não estão relacionadas com os objetos ou acontecimentos à sua volta.

3- Resposta emocional moderadamente anormal.

Tipo ou grau de resposta desajustada. Reações muito apagadas ou excessivas e outras vezes não relacionadas com a situação. Pode gritar, rir sem motivo.

4- Resposta emocional severamente anormal.

Raramente a resposta é adequada à situação; humor mantém-se independente da alteração dos acontecimentos. Por outro lado, pode manifestar diferentes emoções num curto espaço de tempo, mesmo que nada se altere.

IV- MOVIMENTOS DO CORPO

1- Movimento do corpo apropriado à idade.

Move-se com a facilidade, agilidade e coordenação da criança normal na mesma idade.

2- Movimento do corpo ligeiramente anormal.

Algumas peculiaridades podem estar presentes, tais como uma criança desajeitada, movimentos repetitivos, coordenação pobre ou aparecimento raro de movimentos invulgares referidos no ponto 3.

3- Movimento do corpo moderadamente anormal.

Notados comportamentos nitidamente estranhos e não usuais para esta idade. Pode incluir movimentos finos dos dedos, postura peculiar dos dedos ou corpo, autoagressão, balanceio, rodopiar, enrolar, entrelaçar de dedos, marcha na ponta dos pés.

4- Movimento do corpo severamente anormal.

Movimentos descritos no ponto 3 mais frequentes e intensos. Estes comportamentos persistem, muito embora se proibam e se envolva a criança em outras atividades.

Observações:

V- UTILIZAÇÃO DOS OBJETOS

1- Interesse e uso apropriados de brinquedos ou objetos.

A criança mostra um interesse normal em objetos ou brinquedos apropriados para o seu nível e usa-os de um modo adequado.

2- Interesse e uso ligeiramente inapropriados de objetos ou brinquedos.

Pode mostrar menos interesse que o normal num brinquedo ou brincar com ele de modo infantil, como batendo com ele ou levando-o à boca numa idade em que este comportamento já não é aceitável.

3- Interesse e uso moderadamente inapropriado de objetos ou brinquedos.

Mostra pouco interesse em brinquedos e objetos, ou pode estar preocupado em os utilizar de um modo anômalo e estranho. Pode focar a atenção numa parte insignificante destes ficar fascinado com a reflexão de luz do objeto, mover repetidamente uma parte do objeto em particular ou brincar só com um objeto excluindo os outros. Este comportamento pode ser pelo menos parcial ou temporariamente modificado.

4- Interesse e uso severamente inapropriados de objetos ou brinquedos.

Comportamento semelhante ao ponto 3, mas de um modo mais frequente e intenso. É muito difícil desligar-se destas atividades uma vez nela embrenhada, sendo muito difícil alterar esta utilização desajustada.

Observações:

VI- ADAPTAÇÃO À MUDANÇA

1- Adaptação à mudança adequada.

Pode reagir à mudança de rotina, mas aceita-a sem stress desajustado.

2- Adaptação à mudança ligeiramente anormal.

Quando o adulto tenta mudar de tarefa esta pode querer continuar na mesma tarefa ou usar o mesmo material, mas consegue-se desviar a sua atenção facilmente. Por exemplo, pode-se zangar se é levada a um supermercado diferente ou se fez um percurso diferente da escola, mas acalma-se facilmente.

3- Adaptação à mudança moderadamente anormal.

Resiste ativamente às mudanças de rotina. Quando se pretende alterar uma atividade, tenta manter a anterior, sendo difícil de dissuadir. Por exemplo, insiste em recolocar a mobília que foi mudada. Fica zangada e infeliz quando uma rotina estabelecida é alterada.

4- Adaptação à mudança severamente anormal.

Quando ocorrem mudanças mostra uma reação intensa que é difícil de eliminar. Se a mudança é imposta, fica extremamente zangada, não colabora respondendo com birras.

Observações:

VII- RESPOSTA VISUAL

1- Resposta visual adequada à idade.

O comportamento visual é normal. A visão é usada em conjunto com os outros sentidos para explorar novos objetos.

2- Resposta visual ligeiramente anormal.

Tem de ser lembrada de tempos a tempos para olhar para os objetos. Pode estar mais interessada em olhar para um espelho ou luzes que uma criança da mesma idade e, ocasionalmente, ficar com olhar ausente. Pode também evitar o contato visual.

3- Resposta visual moderadamente anormal.

Tem de ser lembrada frequentemente para olhar o que está a fazer. Pode ficar com o olhar fixo, ausente, evitar olhar nos olhos das pessoas, olhar para os objetos de um ângulo estranho ou levá-los muito perto dos olhos embora os vendo normalmente.

4- Resposta visual severamente anormal.

Evita constantemente olhar para as pessoas ou certos objetos e pode mostrar formas extremas de peculiaridades visuais descritas acima.

Observações:

VIII- RESPOSTA AO SOM

1- Resposta ao som adequada à idade.

O comportamento auditivo é normal. A audição é utilizada em conjunto com os outros sentidos, como a visão e o tato.

2- Resposta ao som ligeiramente anormal.

Alguma falta de resposta para alguns sons ou uma resposta ligeiramente exagerada para outros. Por vezes, a resposta ao som pode ser atrasada e os sons podem ocasionalmente necessitar de repetição para prender a atenção da criança. Pode por vezes distrair-se por sons externos.

3- Resposta ao som moderadamente anormal.

A resposta ao som varia muitas vezes. Muitas vezes ignora um som nos primeiros minutos em que é desencadeado. Pode assustar-se por sons do dia-a-dia tapando os ouvidos quando os ouve.

4- Resposta ao som severamente anormal.

A criança hiper ou hipo reage de um modo externo independentemente do tipo de som.

Observações:

IX - RESPOSTAS AO PALADAR, OLFATO E TATO

1- Resposta normal ao paladar, olfato e tato.

Explora objetos novos de um modo apropriado à idade tocando-lhes e observando-os. O paladar e o olfato podem ser utilizados quando apropriado como nos casos em que o objeto é parecido com algo que se come. Reagem a estímulos dolorosos menores do dia-a-dia decorrentes de quedas, pancadas e beliscões, expressando desconforto, mas não de um modo excessivo.

2- Uso e resposta ligeiramente anormal do paladar, olfato e tato.

Persiste em levar objetos à boca, mesmo quando as crianças da sua idade já ultrapassaram essa fase. Pode por vezes cheirar ou tomar o gosto de objetos não comestíveis. Pode ignorar ou reagir excessivamente a um beliscão ou estímulo doloroso ligeiro que a criança normal expressa apenas como ligeiro desconforto.

3- Uso e resposta moderadamente anormal do paladar, olfato e tato.

Pode estar moderadamente preocupada em tocar, cheirar ou saborear objetos ou pessoas. Pode mostrar uma reação moderadamente anormal à dor reagindo muito ou pouco.

4- Uso e resposta severamente anormal do paladar, olfato e tato.

Mostra-se preocupada em cheirar, saborear ou tocar objetos mais pela sensação do que pela expressão ou uso normal do objeto. Pode ignorar completamente a dor ou reagir fortemente a algo que apenas motiva desconforto ligeiro.

Observações:

X - MEDO OU ANSIEDADE

1- Medo ou ansiedade normais.

O comportamento da criança é adequado à idade e à situação.

2- Medo ou ansiedade ligeiramente anormal.

Revela ocasionalmente medo ou ansiedade que é ligeiramente desajustada.

3- Medo ou ansiedade moderadamente anormal.

A resposta de mesmo desencadeada é excessiva ou inferior ao esperado em idêntica situação mesmo por uma criança mais nova. Pode ser difícil de entender o que a desencadeou sendo também difícil de a confortar.

4- Medo ou ansiedade severamente anormal.

Os medos persistem mesmo após repetidas experiências com situações ou objetos desprovidos de perigo. Pode parecer amedrontada durante toda a consulta sem qualquer motivo. Pelo contrário pode não mostrar qualquer receio a situações como cães desconhecidos ou tráfego, que crianças da mesma idade evitam.

Observações:

XI - COMUNICAÇÃO VERBAL

1- Normal em relação com a idade e situação.

2- Comunicação verbal ligeiramente anormal.

Atraso global da linguagem. Muita linguagem tem sentido. Contudo, ecolalias e troca de pronomes ocorrem ocasionalmente quando já ultrapassada a idade e quem isso normalmente ocorre. Muito ocasionalmente são utilizadas palavras peculiares e jargão.

3- Comunicação verbal moderadamente anormal.

A linguagem pode estar ausente. Se presente, pode ser uma mistura de alguma linguagem com sentido e outra peculiar como o jargão, ecolalia a troca de pronomes. Alguns exemplos incluem repetição sem fins comunicativos, de reclames de TV, reportagens do tempo e jogos. Quando é utilizada linguagem com sentido pode incluir peculiaridades como questões frequentes ou preocupação com tópicos particulares.

4- Comunicação verbal severamente anormal.

Não é utilizada linguagem com sentido. Em vez disso pode ter gritos, sons esquisitos ou parecidos com animais ou barulhos complexos simulando linguagem. Pode mostrar uso persistente e bizarro de palavras ou frases reconhecíveis.

Observações:

XII - COMUNICAÇÃO NÃO VERBAL

1- De forma adequada à idade e situação.

2- Uso ligeiramente anormal da comunicação não verbal.

A comunicação não verbal utilizada é imatura. Pode apontar, por exemplo, vagamente para o que pretende, em situações em que uma criança normal da mesma idade aponta mais especificamente.

3- Uso moderadamente anormal da comunicação não verbal.

É geralmente incapaz de exprimir as suas necessidades ou desejos de um modo não verbal, e é geralmente incapaz de entender a comunicação não verbal dos outros. Pode levar o adulto pela mão ao objeto desejado, mas é incapaz de exprimir o seu desejo por gesto ou apontando.

4- Uso severamente anormal da comunicação não verbal.

Usa somente gestos peculiares e bizarros sem significado aparente e não parece compreender o significado dos gestos e expressões faciais dos outros.

Observações:

XIII – NÍVEL DE ATIVIDADE

1- Normal em relação com a idade e circunstâncias.

A criança não é nem mais nem menos ativa do que uma criança normal, da mesma idade, e nas mesmas circunstâncias.

2- Nível de atividade ligeiramente anormal

Pode ser ligeiramente irrequieta ou lenta. O nível de atividade desta só interfere ligeiramente com a sua realização. Geralmente é possível encorajar a criança a manter o nível de atividade adequado.

3- Nível de atividade moderadamente anormal

Pode ser muito ativa e muito difícil de conter. À noite parece ter uma energia ilimitada e não ir rapidamente para a cama. Pelo contrário, pode ser uma criança completamente letárgica, sendo necessário um grande esforço para a fazer mobilizar. Podem não gostar de jogos que envolvam atividade física parecendo muito preguiçosos.

4- Nível de atividade severamente anormal

Mostra-se extremamente ativa ou inativa, podendo transitar de um extremo para outro. Pode ser muito difícil orientar a criança. A hiperatividade quando presente ocorre virtualmente em todos os aspectos da vida da criança, sendo necessário um controle constante por parte do adulto. Se é letárgica é extremamente difícil despertá-la para alguma atividade e o encorajamento do adulto é necessário para que inicie a aprendizagem ou execute alguma tarefa.

Observações:

XIV - NÍVEL E CONSISTÊNCIA DA RESPOSTA INTELECTUAL

1- Inteligência normal e razoavelmente consistente nas diferentes áreas.

Tem uma inteligência que sobrepõe às outras da sua idade e não apresenta uma incapacidade invulgar ou outro problema.

2- Função intelectual ligeiramente anormal

Não é tão desperta como as da sua idade e as suas capacidades parecem do mesmo modo atrasadas em todas as áreas.

3- Função intelectual moderadamente anormal

No global a criança não é tão esperta como as da sua idade; contudo em uma ou mais áreas pode funcionar próximo do normal.

4- Função intelectual severamente anormal

Enquanto a criança não é tão esperta como as outras da sua idade, pode funcionar melhor que uma criança da sua idade em uma ou mais áreas. Pode ter capacidades invulgares como talento especial para a música, arte ou facilidade particular com os números.

Observações:

XV - IMPRESSÃO GLOBAL

1- Sem autismo

A criança não mostra qualquer sintoma característico do autismo.

2- Autismo ligeiro

A criança revela poucos sintomas ou somente um grau ligeiro de autismo.

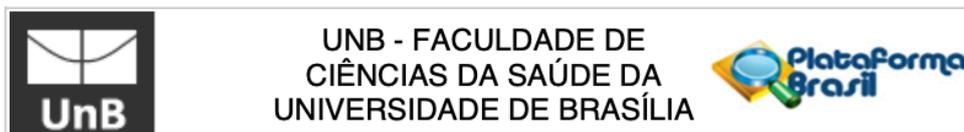
3- Autismo moderado

A criança mostra alguns sintomas ou um grau moderado de autismo.

4- Autismo severo

A criança revela muitos sintomas ou um grau extremo de autismo.

ANEXO C - PLATAFORMA BRASIL: PARECER CONSUBSTANCIADO DA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Comparar a concentração sérica do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no sangue de crianças autistas (TEA) e crianças saudáveis acompanhadas no Centro de Atenção Psicossocial infantil (CAPSi) do Recanto das Emas.

Pesquisador: ALEXANDRE GARCIA BARBOSA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 01220818.3.0000.0030

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.127.531

Apresentação do Projeto:

Resumo: "O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é um transtorno global do neurodesenvolvimento marcado pelo início precoce de atrasos e desvios no desenvolvimento das habilidades sociais, comunicativas, entre outras^{1,2,3,5}. Apresenta interrupção precoce dos processos de socialização, com manifestações comportamentais heterogêneas em diferentes graus de acometimento e múltiplos fatores etiológicos¹. É definido pelo Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5) da Associação Americana de Psiquiatria em sua quinta edição como déficits persistentes na comunicação e interação social em múltiplos contextos, padrões restritos e repetitivos de comportamento, interesses ou atividades. Os sintomas devem estar presentes precocemente no período do desenvolvimento, causando prejuízo significativo no funcionamento profissional, acadêmico, social ou em outras áreas importantes da vida². Caracteriza-se por inabilidade em desenvolver relacionamentos com pessoas, atraso na aquisição da linguagem, uso não comunicativo da linguagem após o seu desenvolvimento, brincadeiras repetitivas e estereotipadas. Segundo a Centers for Disease Control and Prevention (CDC), cerca de 1 em cada 68 criança tem sido identificada com TEA nos Estados Unidos, de acordo com estimativas do Autism and Developmental Disabilities Monitoring (ADDM) Network. A cartilha do Ministério da Saúde orienta o diagnóstico definitivo a partir dos três anos de idade, o que não

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

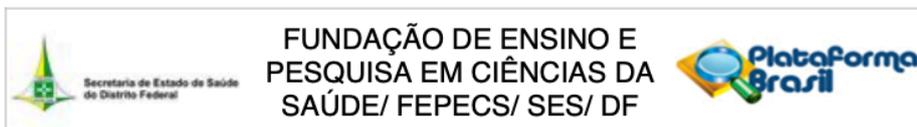
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900

UF: DF **Município:** BRASÍLIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com

ANEXO D - PLATAFORMA BRASIL: PARECER CONSUBSTANCIADO DA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA DA SECRETARIA DE SAÚDE DO DISTRITO FEDERAL.



FUNDAÇÃO DE ENSINO E
PESQUISA EM CIÊNCIAS DA
SAÚDE/ FEPECS/ SES/ DF

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Comparar a concentração sérica do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no sangue de crianças autistas (TEA) e crianças saudáveis acompanhadas no Centro de Atenção Psicossocial infantil (CAPSi) do Recanto das emas.

Pesquisador: ALEXANDRE GARCIA BARBOSA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 01220818.3.3001.5553

Instituição Proponente: DISTRITO FEDERAL SECRETARIA DE SAUDE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.253.126

Apresentação do Projeto:

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é um transtorno global do neurodesenvolvimento marcado pelo início precoce de atrasos e desvios no desenvolvimento das habilidades sociais, comunicativas, entre outras^{1,2,3,5}. Apresenta interrupção precoce dos processos de socialização, com manifestações comportamentais heterogêneas em diferentes graus de acometimento e múltiplos fatores etiológicos¹. É definido pelo Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5) da Associação Americana de Psiquiatria em sua quinta edição como déficits persistentes na comunicação e interação social em múltiplos contextos, padrões restritos e repetitivos de comportamento, interesses ou atividades. Os sintomas devem estar presentes precocemente no período do desenvolvimento, causando prejuízo significativo no funcionamento profissional, acadêmico, social ou em outras áreas importantes da vida². Caracteriza-se por inabilidade em desenvolver relacionamentos com pessoas, atraso na aquisição da linguagem, uso não comunicativo da linguagem após o seu desenvolvimento, brincadeiras repetitivas e estereotipadas^{3,5}. Segundo a Centers for

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS

Bairro: ASA NORTE

CEP: 70.710-904

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)2017-2127

E-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com

APÊNDICE - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO (TCLE)

Convidamos o(a) Senhor(a) e o seu filho(a) a participarem voluntariamente do projeto de pesquisa **“Comparação das concentrações séricas do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no sangue de crianças autistas e crianças saudáveis acompanhadas no Centro de atenção psicossocial infantil (CAPSi) do Recanto das Emas”**, sob a responsabilidade do pesquisador **Alexandre Garcia Barbosa**.

Pesquisadores sugeriram a BDNF como uma ferramenta válida para triagem na identificação de pacientes com autismo. A maioria dos artigos pesquisados indicaram diferenças significativas entre crianças com diagnóstico de autismo e crianças do grupo controle, sendo, portanto, um biomarcador promissor na detecção precoce de indivíduos com o transtorno. O objetivo desta pesquisa é dosar a proteína BDNF no soro de crianças autistas e crianças não-autistas, comparar essas medidas a fim de ajudar no diagnóstico precoce do autismo infantil.

O(a) senhor(a) e seu filho(a) receberão todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguro que seu nome e o nome de seu filho(a) não aparecerão, sendo mantido o mais rigoroso sigilo pela omissão total de qualquer informação que permita identificá-los(as).

O pesquisador solicita a autorização para consultar o prontuário de seu filho(a) para a obtenção de dados para a pesquisa, consulta esta restrita apenas ao pesquisador. A intenção é coletar 5 mililitros de sangue do braço da criança. A coleta será no Centro de Saúde 1 do Recanto das Emas (Quadra 307 área especial sem número, CEP 72.621-422) e o sangue será levado ao Laboratório Interdisciplinar da Faculdade de Ciências da Saúde da UnB. Após a sua utilização, o material restante será descartado em local adequado no próprio laboratório. Como este material pertence ao paciente e seu responsável legal, poderá ser retirado e devolvido ao solicitante a qualquer tempo após pedido do responsável. A data da coleta será agendada no CAPSi do Recanto das Emas e acontecerá em apenas uma única vez. O tempo previsto para a coleta do material é de no mínimo 3 minutos e no máximo 5 minutos.

Os riscos são de infecção, dor, sangramento e formação de hematoma no local onde o sangue será coletado. Caso haja alguma complicação tentaremos minimizar com assepsia local com gaze umedecida com álcool a 70%, higienização das mãos do profissional que fará a punção, o uso de luva descartável, evitando a contaminação cruzada; a compressão com algodão no local após a punção por três minutos para que haja parada completa do sangramento evitando o máximo a formação de hematoma local. Se houver infecção local, agendaremos uma consulta com o pesquisador no CAPSi onde será tratado adequadamente com todas as despesas pagas pelo próprio pesquisador.

Rubrica do participante _____

Se o(a) senhor(a) aceitar participar, estará contribuindo para auxiliar o diagnóstico precoce do autismo infantil. O(a) Senhor(a) pode recusar a participação de seu filho(a), podendo desistir de participar em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a) ou para seu filho(a). Sua participação e a de seu filho(a) são voluntárias, isto é, não há pagamento por sua colaboração, no entanto, todas as despesas que o(a) senhor(a) e seu filho(a) vierem a ter relacionadas diretamente ao projeto de pesquisa tais como deslocamento para o local da pesquisa, alimentação no local da pesquisa serão custeados pelo pesquisador responsável.

O pesquisador e as instituições envolvidas nas diferentes fases da pesquisa devem proporcionar assistência imediata, bem como responsabilizarem-se pela assistência integral aos participantes da pesquisa no que se refere às complicações e danos decorrentes da pesquisa. Os participantes da pesquisa que vierem a sofrer qualquer tipo de dano resultante de sua participação na pesquisa, previsto ou não no TCLE têm direito à indenização, por parte do pesquisador e das instituições envolvidas nas diferentes fases da pesquisa.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Faculdade de Saúde da Universidade de Brasília, podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de cinco anos, após isso serão destruídos.

Se o(a) Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para: Alexandre Garcia Barbosa (celular 99972-2502 ou e-mail drgarciapediatra@hotmail.com) ou para o Orientador Dr. Riccardo Pratesi, no Laboratório Interdisciplinar da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília no telefone (celular 99298-6028) disponível inclusive para ligação a cobrar.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde (CEP/FS) da Universidade de Brasília. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidas pelo telefone (61) 3107-1947 ou do e-mail cepfs@unb.br ou cepfsunb@gmail.com, horário de atendimento de 10:00hs às 12:00hs e de 13:30hs às 15:30hs, de segunda a sexta-feira. O CEP/FS se localiza na Faculdade de Ciências da Saúde, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Asa Norte.

Caso concorde em participar, pedimos que assine este documento que foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o(a) senhor(a).

Nome e assinatura do Participante de Pesquisa

Alexandre Garcia Barbosa
Pesquisador

Brasília, ____ de ____ de ____.

Rubrica do participante _____

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE
INSTITUIÇÃO COPARTICIPANTE**

Convidamos o(a) Senhor(a) e o seu filho(a) a participarem voluntariamente do projeto de pesquisa **“Comparação das concentrações séricas do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no sangue de crianças autistas e crianças saudáveis acompanhadas no Centro de atenção psicossocial infantil (CAPSi) do Recanto das Emas”**, sob a responsabilidade do pesquisador **Alexandre Garcia Barbosa**.

Pesquisadores sugeriram a BDNF como uma ferramenta válida para triagem na identificação de pacientes com autismo. A maioria dos artigos pesquisados indicaram diferenças significativas entre crianças com diagnóstico de autismo e crianças do grupo controle, sendo, portanto, um biomarcador promissor na detecção precoce de indivíduos com o transtorno. O objetivo desta pesquisa é dosar a proteína BDNF no soro de crianças autistas e crianças não-autistas, comparar essas medidas a fim de ajudar no diagnóstico precoce do autismo infantil.

O(a) senhor(a) e o seu filho(a) receberão todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguro que seu nome e o nome de seu filho(a) não aparecerão, sendo mantido o mais rigoroso sigilo pela omissão total de qualquer informação que permita identificá-los(as).

O pesquisador solicita a autorização para consultar o prontuário de seu filho(a) para a obtenção de dados para a pesquisa, consulta esta restrita apenas ao pesquisador. A intenção é coletar 5 mililitros de sangue do braço da criança. A coleta será no Centro de Saúde 1 do Recanto das Emas (Quadra 307 área especial sem número, CEP 72.621-422) e o sangue será levado ao Laboratório Interdisciplinar da Faculdade de Ciências da Saúde da UnB. Após a sua utilização, o material restante será descartado em local adequado no próprio laboratório. Como este material pertence ao paciente e seu responsável legal, poderá ser retirado e devolvido ao solicitante a qualquer tempo após pedido do responsável. A data da coleta será agendada no CAPSi do Recanto das Emas e acontecerá em apenas uma única vez. O tempo previsto para a coleta do material é de no mínimo 3 minutos e no máximo 5 minutos.

Os riscos são de infecção, dor, sangramento e formação de hematoma no local onde o sangue será coletado. Caso haja alguma complicação tentaremos minimizar com assepsia local com gaze umedecida com álcool a 70%, higienização das mãos do profissional que fará a punção, o uso de luva descartável, evitando a contaminação cruzada; a compressão com algodão no local após a punção por três minutos para que haja parada completa do sangramento evitando o máximo a formação de hematoma local. Se houver infecção local, agendaremos uma consulta com o pesquisador no CAPSi onde será tratado adequadamente com todas as despesas pagas pelo próprio pesquisador.

Rubrica do participante _____

Se o(a) senhor(a) aceitar participar, estará contribuindo para auxiliar o diagnóstico precoce do autismo infantil. O(a) Senhor(a) pode recusar a participação de seu filho(a), podendo desistir de participar em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a) ou para seu filho(a). Sua participação e a de seu filho(a) são voluntárias, isto é, não há pagamento por sua colaboração, no entanto, todas as despesas que o(a) senhor(a) e seu filho(a) vierem a ter relacionadas diretamente ao projeto de pesquisa tais como deslocamento para o local da pesquisa, alimentação no local da pesquisa serão custeados pelo pesquisador responsável.

O pesquisador e as instituições envolvidas nas diferentes fases da pesquisa devem proporcionar assistência imediata, bem como responsabilizarem-se pela assistência integral aos participantes da pesquisa no que se refere às complicações e danos decorrentes da pesquisa. Os participantes da pesquisa que vierem a sofrer qualquer tipo de dano resultante de sua participação na pesquisa, previsto ou não no TCLE têm direito à indenização, por parte do pesquisador e das instituições envolvidas nas diferentes fases da pesquisa.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Faculdade de Saúde da Universidade de Brasília, podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de cinco anos, após isso serão destruídos.

Se o(a) Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para: Alexandre Garcia Barbosa (celular 99972-2502 ou e-mail drgarciapediatra@hotmail.com) ou para o Orientador Dr. Riccardo Pratesi, no Laboratório Interdisciplinar da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília no telefone (celular 99298-6028) disponível inclusive para ligação a cobrar.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde (CEP/FS) da Universidade de Brasília. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidas pelo telefone (61) 3107-1947 ou do e-mail cepfs@unb.br ou cepfsunb@gmail.com, horário de atendimento de 10:00hs às 12:00hs e de 13:30hs às 15:30hs, de segunda a sexta-feira. O CEP/FS se localiza na Faculdade de Ciências da Saúde, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Asa Norte.

Além disso, como a Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal é coparticipante desta pesquisa, este projeto também foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal (CEP/FEPECS). As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante de pesquisa também podem ser obtidas por meio do telefone do CEP/FEPECS: **(61) 2017-2132 ramal 6878** ou pelo endereço eletrônico www.fepecs.edu.br.

Caso concorde em participar, pedimos que assine este documento que foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o senhor(a).

Nome e assinatura do Participante de Pesquisa

Alexandre Garcia Barbosa
Pesquisador

Brasília, ____ de _____ de _____.

Rubrica do participante _____

APÊNDICE - TERMO DE ASSENTIMENTO

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

TERMO DE ASSENTIMENTO PARA CRIANÇAS DE 5 A 9 ANOS

Gostaria de te convidar a participar da pesquisa “**Comparação das concentrações séricas do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no sangue de crianças autistas e crianças saudáveis acompanhadas no Centro de atenção psicossocial infantil (CAPSi) do Recanto das emas**” que seus pais permitiram que você participe. Gostaria de saber se tem diferença da quantidade de uma substância chamada BDNF, que pode estar alta no sangue de crianças com um probleminha chamado autismo. Você não precisa participar dessa pesquisa se você não quiser, é um direito seu, não vai ter nenhum problema se você desistir. Mesmo que seu pai ou sua mãe digam SIM, você pode dizer NÃO se não quiser participar desta pesquisa. Sua vontade vai ser respeitada e não vai acontecer nada com você se você não concordar em participar. O mais importante é respeitar sua vontade.

A pesquisa vai ser feita no CAPSi onde um rapaz que trabalha no laboratório vai retirar do seu braço um pouco de sangue com uma injeção. A furadinha não é tão perigosa, mas dói quando a agulha fura o braço e também sai sangue, e o local fica roxo. Às vezes pode dar uma tonteira também, mas eu vou estar junto com você e seu pai ou sua mãe para ajudar a tirar o sangue. Aí a gente aperta com algodão pra não sair muito sangue. Se der alguma coisa errada, eu estarei lá no local para fazer com que não aconteça nada com você. Se acontecer alguma coisa errada em sua casa, depois que você for embora, seu pai ou sua mãe poderão ligar para mim nos telefones (61) 99972-2502 ou (61) 3332-1823 podendo até ligar a cobrar.



Mas coisas boas que podem acontecer com o resultado dessa pesquisa: poderemos achar uma substância que vai ajudar os médicos a perceber mais fácil se uma criança tem esse probleminha chamado de autismo, que é muito difícil de descobrir. Essa informação poderá ajudar outras famílias que têm filhos com autismo e têm dificuldade de saber se seu filho também tem esse problema e assim poder ajudar no tratamento o mais rápido possível.

Se você mora longe do CAPSi que fica na Quadra 307 do Recanto das Emas, eu darei a seus pais dinheiro suficiente para transporte para também acompanhar a pesquisa. Ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa vão ser publicados em revistas científicas, mas não vão identificar vocês que participaram da pesquisa. Quando terminarmos a pesquisa, os dados dela poderão ser publicados em revistas médicas e não mostrarão o nome ou outra informação que te identifique. Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar. Eu escrevi os telefones na parte de cima desse texto.

Eu _____ aceito participar da pesquisa **“Comparação das concentrações séricas do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no sangue de crianças autistas e crianças saudáveis acompanhadas no Centro de Atenção Psicossocial infantil (CAPSi) do Recanto das Emas”**, que quer saber se os níveis da BDNF no sangue de crianças com autismo e de crianças sem autismo são diferentes, tendo a importância de descobrir se poderá servir para ajudar o diagnóstico. Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi também que posso dizer “sim” e participar, mas também posso dizer “não” e desistir que ninguém vai ficar furioso. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus pais. Ganhei uma cópia deste termo e concordei em participar.

Brasília, ____ de _____ de _____.

Assinatura da criança: _____

Assinatura do(a) pesquisador(a)

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

TERMO DE ASSENTIMENTO PARA CRIANÇAS DE 10 A 12 ANOS

Você está sendo convidado a participar da pesquisa **“Comparação das concentrações séricas do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no sangue de crianças autistas e crianças saudáveis acompanhadas no Centro de atenção psicossocial infantil (CAPSi) do Recanto das Emas”**; seus pais permitiram que você participe. Queremos saber se existe diferença entre os níveis dessa proteína BDNF no sangue de crianças com autismo em comparação com crianças sem autismo. As crianças que irão participar dessa pesquisa têm de 10 a 12 anos de idade. Você não é obrigado a participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu, não terá nenhum problema se desistir. Mesmo que seu pai ou sua mãe digam SIM, você pode dizer NÃO se não quiser participar desta pesquisa. Sua vontade vai ser respeitada e não vai acontecer nada com você se você não concordar em participar. O mais importante é respeitar sua vontade.

A pesquisa será feita no CAPS infantil do Recanto das Emas, mas a coleta de sangue acontecerá no Centro de Saúde 1 do Recanto das Emas, onde estará um profissional capacitado para coletar 5 mililitros de sangue do seu braço. Para isso, será usada uma seringa com agulha. O uso desse material é considerado(a) seguro (a), mas ocorrerá dor no momento da perfuração com agulha e um pequeno sangramento, sendo também possível ocorrer um hematoma no local. Caso aconteça algo errado, você pode nos procurar pelos telefones (61) 99972-2502 ou (61) 3332-1823 do pesquisador Alexandre Garcia Barbosa, inclusive pode ser ligado a cobrar.

Mas há coisas boas que podem acontecer como a descoberta de um marcador para ajudar no diagnóstico de autismo, que atualmente é feito apenas com as informações dos pais ou responsáveis. Essa informação poderá ajudar outras famílias que têm filhos com transtorno do espectro autista e têm dificuldade de ter o diagnóstico para poder tomar providências no tratamento o mais rápido possível.

Se você morar longe do CAPSi, que fica na Quadra 307 do Recanto das Emas Área especial sem número, nós daremos a seus pais dinheiro suficiente para transporte, para também acompanhar a pesquisa. Ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas sem identificar as crianças que participaram da pesquisa. Quando terminarmos a pesquisa, os dados dela poderão ser publicados em revistas médicas e não mostrarão o nome ou outra informação que te identifique. Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar. Eu escrevi os telefones na parte de cima desse texto.

Eu _____ aceito participar da pesquisa **“Comparação das concentrações séricas do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no sangue de crianças autistas e crianças saudáveis acompanhadas no Centro de Atenção Psicossocial infantil (CAPSi) do Recanto das Emas”**, que tem o/s objetivo(s) de dosar os níveis da BDNF no soro de crianças com autismo e crianças sem autismo para compará-los e ver se há diferença entre as concentrações, tendo a importância de descobrir se poderá servir como um marcador do transtorno e auxiliar no diagnóstico. Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir que ninguém vai ficar furioso. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li, concordando em participar da pesquisa.

Brasília, ____ de _____ de _____.

Assinatura do menor

Assinatura do(a) pesquisador(a)

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

TERMO DE ASSENTIMENTO PARA ADOLESCENTES DE 13 A 17 ANOS

Você está sendo convidado a participar da pesquisa **“Comparação das concentrações séricas do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no sangue de crianças autistas e crianças saudáveis acompanhadas no Centro de atenção psicossocial infantil (CAPSi) do Recanto das Emas”**; seus pais permitiram que você participe. Queremos saber se existe diferença entre os níveis dessa proteína BDNF no sangue de crianças com autismo em comparação com crianças sem autismo. As crianças que irão participar dessa pesquisa têm de 13 a 17 anos de idade. Você não é obrigado a participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu, não terá nenhum problema se desistir. Mesmo que seu pai ou sua mãe digam SIM, você pode dizer NÃO se não quiser participar desta pesquisa. Sua vontade vai ser respeitada e não vai acontecer nada com você se você não concordar em participar. O mais importante é respeitar sua vontade.

A pesquisa será feita no CAPS infantil do Recanto das Emas, mas a coleta de sangue acontecerá no Centro de Saúde 1 do Recanto das Emas, onde estará um profissional capacitado para coletar 5 mililitros de sangue do seu braço. Para isso, será usada uma seringa com agulha. O uso desse material é considerado(a) seguro (a), mas ocorrerá dor no momento da perfuração com agulha e um pequeno sangramento, sendo também possível ocorrer um hematoma no local. Caso aconteça algo errado, você pode nos procurar pelos telefones (61) 99972-2502 ou (61) 3332-1823 do pesquisador Alexandre Garcia Barbosa, inclusive pode ser ligado a cobrar.

Mas há coisas boas que podem acontecer como a descoberta de um marcador para ajudar no diagnóstico de autismo, que atualmente é feito apenas com as informações dos pais ou responsáveis. Essa informação poderá ajudar outras famílias que têm filhos com transtorno do espectro autista e têm dificuldade de ter o diagnóstico para poder tomar providências no tratamento o mais rápido possível.

Se você morar longe do CAPSi, que fica na Quadra 307 do Recanto das Emas Área especial sem número, nós daremos a seus pais dinheiro suficiente para transporte, para também acompanhar a pesquisa. Ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas sem identificar as crianças que participaram da pesquisa. Quando terminarmos a pesquisa, os dados dela poderão ser publicados em revistas médicas e não mostrarão o nome ou outra informação que te identifique. Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar. Eu escrevi os telefones na parte de cima desse texto.

Eu _____ aceito participar da pesquisa **“Comparação das concentrações séricas do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no sangue de crianças autistas e crianças saudáveis acompanhadas no Centro de Atenção Psicossocial infantil (CAPSi) do Recanto das Emas”**, que tem o/s objetivo(s) de dosar os níveis da BDNF no soro de crianças com autismo e crianças sem autismo para compará-los e ver se há diferença entre as concentrações, tendo a importância de descobrir se poderá servir como um marcador do transtorno e auxiliar no diagnóstico. Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir que ninguém vai ficar furioso. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li, concordando em participar da pesquisa.

Brasília, ____ de _____ de _____.

Assinatura do menor

Assinatura do(a) pesquisador(a)