



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

**ASSOCIAÇÕES ENTRE BIOMARCADORES SALIVARES
INFLAMATÓRIOS E NEUOTRÓFICOS EM CRIANÇAS E
ADOLESCENTES COM TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA:
ESTUDO TRANSVERSAL EM AMBULATÓRIO DE REFERÊNCIA NO
CEARÁ**

MARISA PERDIGÃO DE NEGREIROS VIANNA

FORTALEZA

2026

MARISA PERDIGÃO DE NEGREIROS VIANNA

ASSOCIAÇÕES ENTRE BIOMARCADORES SALIVARES INFLAMATÓRIOS
E NEUROTRÓFICOS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM
TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA: ESTUDO TRANSVERSAL EM
AMBULATÓRIO DE REFERÊNCIA NO CEARÁ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Farmacologia. Área de concentração: Farmacologia

Orientadora: Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa

FORTALEZA

2026

MARISA PERDIGÃO DE NEGREIROS VIANNA

ASSOCIAÇÕES ENTRE BIOMARCADORES SALIVARES INFLAMATÓRIOS
E NEUROTRÓFICOS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM
TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA: ESTUDO TRANSVERSAL EM
AMBULATÓRIO DE REFERÊNCIA NO CEARÁ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Farmacologia. Área de concentração: Farmacologia

Orientadora: Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa

Aprovada em: 27/03/2026

BANCA EXAMINADORA

Prof.a Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.a Dra. Mariana Lima Vale
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.a Dra. Ana Patrícia Oliveira Moura Lima
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Jesus Misericordioso e a Nossa Senhora, por terem me guiado até aqui e por me sustentarem com força, sabedoria e perseverança durante toda esta caminhada.

À Universidade Federal do Ceará (UFC), meu sincero agradecimento pela formação acadêmica e pelas oportunidades que tornaram possível esta trajetória. Agradeço também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), ao Núcleo de Atenção à Infância e à Adolescência (NAIA), que compõe o Hospital de Saúde Mental Professor Frota Pinto (HSM), e ao Laboratório de Neurofarmacologia do NPDM, pelo suporte institucional, estrutural e científico indispensável à realização deste trabalho.

À minha orientadora, professora Cléa Florenço, agradeço pela disponibilidade, pela generosidade e, sobretudo, pela condução tão humana deste percurso. Sou muito grata pelos ensinamentos compartilhados, pelo acolhimento, pelo suporte oferecido em cada etapa da pesquisa e pela oportunidade que me concedeu. Obrigada por ter confiado em mim e por ter me permitido trilhar esse caminho sob sua orientação, sempre de forma tão sensível, generosa e inspiradora.

Ao Rodrigo Maia, minha mais profunda gratidão por caminhar ao meu lado desde 2012, acompanhando de perto cada passo da minha trajetória acadêmica, profissional e pessoal. Sua presença constante, seu apoio incansável, sua força nos momentos mais difíceis e sua confiança em mim foram essenciais para que eu não desistisse diante dos desafios. Obrigada por me ajudar a seguir, por me fortalecer quando precisei e por estar presente, inclusive no desenvolvimento desta pesquisa. Sua importância nessa caminhada é imensurável, e esta conquista também carrega muito de você.

Aos meus amigos de longa data, James Banner, João Paulo Silva, Mardonio Alves e Igor Sampaio, agradeço pelo companheirismo, por tudo o que compartilharam comigo ao longo desse caminho e por serem fonte de inspiração para que eu continue crescendo profissionalmente.

Ao Daniel Moreira, agradeço de forma muito especial por ter me incentivado a ingressar no mestrado e por ter estado presente desde a seleção até a defesa,

sempre me apoiando e orientando. Ao João Victor Oliveira, agradeço pela presença e pelo apoio ao longo dessa caminhada.

À Ana Patrícia Lima, agradeço imensamente por ter me acolhido neste projeto e por ter me apresentado ao universo do TEA, ampliando meus horizontes de forma tão significativa. Também agradeço a Ludmila, Alice, Sheila e Iardja, cuja parceria foi essencial. À Talita e aos demais colegas do HSM e do Laboratório de Neurofarmacologia, meu agradecimento pelo trabalho, convivência, colaboração e apoio.

A dra Liana Perdigão, dra Shirlene Telmos e dra Karen Gomes, agradeço por serem meu referencial profissional e por sempre me oferecerem oportunidades, depositarem confiança em mim e me incentivarem a buscar constante aperfeiçoamento. Vocês têm meu amor e minha admiração.

Aos meus amigos, meu carinho e agradecimento por me acolherem em tantos momentos e, muitas vezes sem saber, me darem apoio e coragem para concluir esta etapa. Meu muito obrigada a Enock Lee, Luanna Kelly, Edlar Santiago, Thaís Freitas, Dália Monique, Sara Moura, Francisco Iago, Andrey Soares, Thais Bonato, Gabriel Joventino, Joana Veras, Ana Paula Demasi, Gabriel Camargo, Vicente Junior e Mariana Gallego.

À minha família, deixo meu agradecimento mais profundo e amoroso. À minha mãe, Kátia, ao meu pai, Ugo, e aos meus irmãos, Marília e Eduardo, obrigada por toda a torcida, amor e apoio incondicional. Esta conquista é nossa. Amo vocês. Aos meus dois bebês, Eevee e Ully, agradeço pelo carinho diário, por cuidarem de mim e me encherem de alegria.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a construção desta dissertação e para a minha formação até aqui. Levo comigo cada gesto de apoio, incentivo e generosidade recebido nessa caminhada.

RESUMO

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma condição neurodesenvolvimental heterogênea, cuja complexidade clínica tem impulsionado a busca por biomarcadores periféricos capazes de ampliar a compreensão de subgrupos biológicos. Nesse contexto, a saliva destaca-se como matriz promissora por seu caráter não invasivo e boa aceitabilidade em populações pediátricas. Este estudo teve como objetivo analisar o perfil salivar de citocinas inflamatórias (IL-1 β , IL-6 e TNF- α) e neurotrofinas (BDNF e β -NGF) em crianças e adolescentes com TEA atendidos em ambulatório especializado, bem como investigar as associações entre esses biomarcadores e sua relação com variáveis clínicas e contextuais. Trata-se de um estudo translacional, analítico, quantitativo e transversal, realizado com 69 participantes de 2 a 17 anos. Os biomarcadores salivares foram mensurados por ensaios imunoenzimáticos, e a análise estatística incluiu o teste de Shapiro-Wilk e o coeficiente de correlação de Spearman. Todos os biomarcadores apresentaram distribuição não normal. Na amostra total, observou-se correlação positiva forte entre IL-6 e TNF- α ($\rho = 0,85$; $p < 0,001$), além de associações positivas entre ambas e β -NGF ($\rho \geq 0,71$; $p < 0,001$), configurando um eixo relacional mais estável entre inflamação e sinalização neurotrófica. Nas análises estratificadas por faixa etária, esse padrão permaneceu presente, com maior coesão no grupo de 2 a 4 anos e manutenção das associações entre IL-6, TNF- α e β -NGF nos grupos de 5 a 9 anos e de 10 a 17 anos, enquanto IL-1 β e BDNF apresentaram comportamento mais variável entre os estratos. Também foram identificadas associações exploratórias entre biomarcadores e variáveis clínicas e contextuais, com destaque para a correlação negativa entre IMC e β -NGF no grupo de 2 a 4 anos, a correlação positiva entre renda familiar e BDNF em diferentes faixas etárias, e as associações negativas entre seletividade alimentar e IL-6/TNF- α no grupo de 10 a 17 anos. Conclui-se que os biomarcadores salivares revelaram um padrão consistente de associação entre inflamação e neurotrofia, com destaque para o eixo IL-6, TNF- α e β -NGF, reforçando a saliva como matriz promissora para a pesquisa translacional no TEA.

Palavras-chave: transtorno do espectro autista; biomarcadores; saliva; citocinas; fatores de crescimento neural.

ABSTRACT

Associations Between Salivary Inflammatory and Neurotrophic Biomarkers in Children and Adolescents with Autism Spectrum Disorder: A Cross-Sectional Study at a Reference Outpatient Clinic in Ceará

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a heterogeneous neurodevelopmental condition whose clinical complexity has driven the search for peripheral biomarkers capable of broadening the understanding of biological subgroups. In this context, saliva stands out as a promising matrix due to its non-invasive nature and good acceptability in pediatric populations. This study aimed to analyze the salivary profile of inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, and TNF- α) and neurotrophins (BDNF and β -NGF) in children and adolescents with ASD treated at a specialized outpatient clinic, as well as to investigate the associations among these biomarkers and their relationship with clinical and contextual variables. This was a translational, observational, analytical, cross-sectional study conducted with 69 participants aged 2 to 17 years. Salivary biomarkers were measured using immunoenzymatic assays, and statistical analysis included the Shapiro-Wilk test and Spearman's correlation coefficient. All biomarkers showed non-normal distribution. In the total sample, a strong positive correlation was observed between IL-6 and TNF- α ($\rho = 0.85$; $p < 0.001$), in addition to positive associations between both cytokines and β -NGF ($\rho \geq 0.71$; $p < 0.001$), configuring a more stable relational axis between inflammation and neurotrophic signaling. In age-stratified analyses, this pattern remained present, with greater cohesion in Group 1 (2–4 years) and maintenance of the associations among IL-6, TNF- α , and β -NGF in Group 2 (5–9 years) and Group 3 (10–17 years), whereas IL-1 β and BDNF showed more variable behavior across strata. Exploratory associations were also identified between biomarkers and clinical and contextual variables, notably the negative correlation between BMI and β -NGF in Group 1, the positive correlation between family income and BDNF across different age groups, and the negative associations between food selectivity and IL-6/TNF- α in Group 3. It is concluded that salivary biomarkers revealed a consistent pattern of association between inflammation and neurotrophin, especially involving the IL-6, TNF- α , and β -NGF axis, reinforcing saliva as a promising matrix for translational research in ASD.

Keywords: autism spectrum disorder; biomarkers; saliva; cytokines; nerve growth factors.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 — Diagrama de fluxo da composição da amostra final e critérios de exclusão	33
Figura 2 — Distribuição da amostra segundo sexo e faixa etária.	34
Figura 3 — Distribuição do IMC/idade segundo faixa etária.	35
Figura 4 — Frequência dos sintomas gastrointestinais na amostra.	36
Figura 5 — Diagnóstico de normalidade por histogramas e gráficos Q-Q.	38
Figura 6 — Matriz de correlações de Spearman (ρ) entre biomarcadores, por faixa etária.	41
Figura 7 — Matriz de correlações de Spearman (ρ) entre biomarcadores e variáveis clínicas e sociodemográficas.	42
Figura 8 — Matriz de correlações de Spearman (ρ) entre fatores da Escala LABIRINTO de Avaliação do Comportamento Alimentar no TEA e biomarcadores salivares, por grupo etário.	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 — Estrutura fatorial e intervalos de pontuação da Escala LABIRINTO de Avaliação do Comportamento Alimentar no TEA.	28
Tabela 2 — Classificação da magnitude das correlações ($ r $ ou $ \rho $).	31
Tabela 3 — Composição da amostra analítica por faixa etária.	37
Tabela 4 — Teste de Shapiro-Wilk para os biomarcadores na amostra total (N = 69).	38
Tabela 5 — Correlações entre biomarcadores na amostra total.	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- 4PL — Regressão logística de quatro parâmetros
- ADDM — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network
- ASD — Autism Spectrum Disorder
- BDNF — Fator neurotrófico derivado do cérebro (*brain-derived neurotrophic factor*)
- β -NGF — *Beta nerve growth factor* (fator de crescimento neural beta)
- CARS — Childhood Autism Rating Scale
- CDC — Centers for Disease Control and Prevention
- DSM-5-TR — *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition, Text Revision*
- ELISA — *Enzyme-linked immunosorbent assay*
- FDA-NIH — *Food and Drug Administration / National Institutes of Health*
- HHA — Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
- HSM — Hospital de Saúde Mental Professor Frota Pinto
- IBGE — Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- IL-1 β — Interleucina 1 beta
- IL-6 — Interleucina 6
- IMC — Índice de massa corporal
- NAIA — Núcleo de Atenção à Infância e Adolescência
- NPDM — Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos
- OMS — Organização Mundial da Saúde
- Q-Q — Quantil-quantil
- SUS — Sistema Único de Saúde
- TDAH — Transtorno do déficit de atenção e hiperatividade
- TEA — Transtorno do Espectro Autista
- TNF- α — Fator de necrose tumoral alfa
- UFC — Universidade Federal do Ceará

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 Heterogeneidade clínica do Transtorno do Espectro Autista	10
1.2 Epidemiologia do TEA	11
1.3 Determinantes sociais, desigualdades e barreiras de acesso ao diagnóstico e ao cuidado no TEA	12
1.4 Bases etiopatogênicas do TEA: multifatorialidade e vias convergentes	13
1.5 Neuroimunologia, neuroinflamação e interface cérebro-sistema imune	14
1.6 Biomarcadores, saliva e desafios translacionais	15
1.7 Citocinas inflamatórias e neurotrofinas salivares no TEA	16
1.8 Farmacologia das vias neuroimunes e neurotróficas	17
1.9 Escala LABIRINTO do Comportamento Alimentar	19
1.10 Estresse, suporte social e biomarcadores	19
2 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA	22
3 OBJETIVO	24
3.1 Objetivo geral	24
3.2 Objetivos específicos	24
4 METODOLOGIA	25
4.1 Delineamento do estudo	25
4.2 Período e local do estudo	26
4.3 População e amostra	26
4.4 Critérios de inclusão e exclusão	27
4.5 Coleta de dados dos participantes	27
4.6 Coleta e análise das amostras de saliva	28
<i>4.6.1 Coleta e processamento da saliva</i>	28
<i>4.6.2 Dosagem dos biomarcadores salivares</i>	29
4.7 Plano de análise estatística	30
<i>4.7.1 Análise descritiva e distribuição dos dados</i>	30
<i>4.7.2 Escala de Magnitude das Correlações</i>	30
<i>4.7.3 Teste de Hipótese e Significância</i>	31
4.8 Aspectos éticos	31
5 RESULTADOS	33
5.1 Caracterização sociodemográfica da amostra	33

5.2 Estado nutricional.....	34
5.3 Sintomas gastrointestinais.....	35
5.4 Comportamento alimentar.....	36
5.5 Distribuição das variáveis biológicas	37
5.6 Associações entre biomarcadores na amostra total	39
5.7 Associações biomarcador–biomarcador por faixa etária.....	39
5.7.1 Grupo 1 (2 a 4 anos; n = 14).....	39
5.7.2 Grupo 2 (5 a 9 anos; n = 29).....	40
5.7.3 Grupo 3 (10 a 17 anos; n = 26).....	40
5.8 Associações entre biomarcadores e variáveis clínicas, sociodemográficas e antropométricas	41
5.8.1 Grupo 1 (2 a 4 anos; n = 14).....	41
5.8.2 Grupo 2 (5 a 9 anos; n = 29).....	42
5.8.3 Grupo 3 (10 a 17 anos; n = 26).....	42
5.9 Associações entre fatores da Escala LABIRINTO e biomarcadores salivares	43
6 DISCUSSÃO	45
7 CONCLUSÃO.....	50
REFERÊNCIAS	Erro! Indicador não definido.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Heterogeneidade clínica do Transtorno do Espectro Autista

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma condição de desenvolvimento neurológico que é caracterizada por déficits persistentes em comunicação social e interação social, associados a padrões restritos e repetitivos de comportamento, interesses ou atividades começando no período do desenvolvimento e com implicações funcionais variáveis (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2022). A expressão "espectro" refere-se ao grande intervalo de variabilidade da apresentação clínica do transtorno, tanto em intensidade, bem como no perfil funcional. Há crianças que apresentam linguagem preservada, maior autonomia adaptativa e necessidade mais localizada de apoio, enquanto outras têm ausência de linguagem funcional, déficits cognitivos associados, maior sensibilidade sensorial e limitações adaptativas maiores em nível diário. Essa heterogeneidade se reflete diretamente na prática clínica, no planejamento terapêutico e na pesquisa, ao sugerir que diferentes trajetórias biológicas podem levar a uma mesma apresentação comportamental.

No Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, 5ª edição, texto revisado (DSM-5-TR), os níveis de suporte expressam a gravidade do TEA, organizados em nível 1 (requer suporte), nível 2 (requer suporte substancial) e nível 3 (requer suporte muito substancial), em função dos prejuízos nas áreas de comunicação social e da gravidade dos comportamentos restritos e repetitivos. Além disso, o diagnóstico do TEA pode vir acompanhado de especificadores clínicos, como a presença de deficiência intelectual, de comprometimento de linguagem, condição médica ou genética associada e fatores ambientais relevantes. Esse modelo reforça a natureza dimensional do TEA e aumenta o potencial descritivo do diagnóstico, especialmente em estudos que visam caracterizar subfenótipos clínicos e biológicos (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2022).

O TEA é, essencialmente, avaliado em termos clínicos com base na história do desenvolvimento, observação da conduta e relatos dos cuidadores, muitas vezes complementados por instrumentos padronizados. No Brasil, a Escala LABIRINTO de Avaliação do Comportamento Alimentar no Transtorno do Espectro Autista tem sido utilizada como instrumento para caracterização padronizada de dimensões alimentares relevantes do TEA. A escala apresenta 26 itens, agrupados em sete fatores, que têm respostas pontuadas de 0 a 4 (os valores mais altos decorrendo de maior frequência do

comportamento avaliado). Assim, a pontuação de cada fator corresponde à soma dos itens que o compõem, variando conforme o número de itens de cada domínio. Desse modo, o Fator 1 (motricidade na mastigação) varia de 0 a 16 pontos; o Fator 2 (seletividade alimentar), de 0 a 12 pontos; o Fator 3 (habilidades nas refeições), de 0 a 20 pontos; o Fator 4 (comportamento inadequado em relação às refeições), de 0 a 8 pontos; o Fator 5 (comportamentos inflexíveis em relação à alimentação), de 0 a 24 pontos; o Fator 6 (comportamento opositor em relação à alimentação), de 0 a 12 pontos; e o Fator 7 (alergias e intolerância alimentar), de 0 a 12 pontos. Considerando a totalidade da escala, a pontuação total varia de 0 a 104 pontos (LÁZARO; SIQUARA; PONDÉ, 2019). Ainda assim, assim como outras métricas padronizadas, a sua função é auxiliar a avaliação especializada, nunca substituindo o diagnóstico clínico, que segue sendo o padrão-ouro (PONDÉ et al., 2021).

A heterogeneidade clínica também se reflete na alta frequência de comorbidades. Revisões sistemáticas revelam que crianças com TEA podem apresentar, frequentemente, transtornos de ansiedade, alterações do sono, TDAH, epilepsia, sintomas gastrointestinais, seletividade alimentar, distúrbios metabólicos e manifestações alérgico-imunológicas (BOUGEARD et al., 2021; HOLINGUE et al., 2023; LASHERAS et al., 2023). Essa condição aumenta a complexidade do fenômeno autístico, pois o fenótipo que é observado na prática resulta, muitas vezes da combinação de características centrais do TEA e condições intercorrentes. Além disso, as comorbidades tem potencial para interferir diretamente em perfis inflamatórios, neurotróficos e neuroendócrinos, agindo como variáveis de confusão, moderação ou mediação em investigações com biomarcadores.

O impacto do TEA não diz respeito apenas à criança. As famílias frequentemente vivenciam sobrecarga do cuidado, limitações econômicas, barreiras de acesso a terapias, estigma e grandes reorganizações da rotina. Esses fatores afetam a qualidade do sono, a alimentação, a continuidade terapêutica e a adesão às intervenções, de modo que o suporte social e os determinantes sociais tornam-se dimensões centrais para compreender o curso clínico do quadro e suas possíveis interfaces com estresse, inflamação e funcionamento adaptativo.

1.2 Epidemiologia do TEA

As estimativas de prevalência do TEA variam conforme os critérios diagnósticos adotados, a faixa etária pesquisada, a estrutura metodológica utilizada, a qualidade dos

registros dos sistemas de vigilância e a capacidade desses serviços para identificar os casos acometidos. Não obstante, o conjunto das evidências aponta para um crescimento expressivo da identificação diagnóstica nos últimos anos. A Organização Mundial de Saúde (OMS), no ano de 2021, estimou que 1 a cada 127 pessoas no mundo era autista. Nos Estados Unidos, os dados da Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network (ADDM), ligada ao Centers for Disease Control and Prevention (CDC), registraram prevalência de 32,2 para cada 1.000 crianças com idade de 8 anos em 2022, isto é, aproximadamente 1 para cada 31. No Brasil, os resultados preliminares do Censo Demográfico 2022 indicaram pela primeira vez 2,4 milhões de pessoas com diagnóstico referido de autismo, correspondentes a 1,2% da população residente. Esses números têm sua relevância epidemiológica, mas devem ser considerados cautelosamente, pois expressam, ao mesmo tempo, mudança de fato na detecção, ampliações de critérios, maior conscientização, melhora dos mecanismos de triagem bem como persistência de desigualdades de acometimento no acesso ao diagnóstico (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2025; SHAW et al. 2025; IBGE, 2025).

Sendo assim, o aumento da prevalência observada não deve ser lido automaticamente como crescimento biológico isolado da incidência. Em muitos contextos, os dados também espelham expansão da cobertura diagnóstica, maior integração entre saúde e educação, fortalecimento de políticas públicas e diminuição progressiva do subdiagnóstico. Ao mesmo tempo, persistem assimetrias relevantes entre regiões, grupos sociais e sistemas assistenciais, tornando a epidemiologia do TEA indissociável da discussão sobre desigualdade e acesso ao cuidado. Em escala mundial, os estudos recentes do Global Burden of Disease também corroboram a magnitude do TEA enquanto relevante causa de anos vividos com incapacidade sendo, portanto, condição prioritária para o planejamento de serviços e alocação de recursos em saúde (GLOBAL BURDEN OF DISEASE STUDY 2021 AUTISM SPECTRUM COLLABORATORS, 2025).

1.3 Determinantes sociais, desigualdades e barreiras de acesso ao diagnóstico e ao cuidado no TEA

A identificação e o tratamento do TEA têm forte amparo em determinantes sociais. Em contextos sociais de maior desigualdade, a probabilidade de uma criança ser classificada precocemente, ter diagnóstico formal e ter acesso a intervenções continuadas depende da captação territorial de serviços especializados, da renda familiar, da

escolaridade dos cuidadores, do tipo de cobertura assistencial e da habilidade de mobilização da rede de suporte. Como resultado, parte do observado como “variação na prevalência” pode ser explicada pelas divergências na capacidade de reconhecimento e confirmação diagnóstica.

No Brasil, tais barreiras enfrentadas pelas famílias incluem longas listas de espera, baixa disponibilização de serviços especializados, altos custos, concentração do recurso nas capitais e necessidade de locomoção elevada para avaliação e tratamento. Os usuários urbanos do sistema público e cuidadores com menor escolaridade, em geral, possuem maior dificuldade de acesso às intervenções comportamentais e ao cuidado multiprofissional, o que pode resultar em diagnóstico tardio, descontinuidade terapêutica e maior carga de trabalho familiar (ARARIPE et al., 2022; BANDEIRA et al., 2024).

Este debate é central, tanto para a construção do conhecimento, quanto para uma análise metodológica. Nas investigações de clínica, desigualdades de acesso interferem nas características das amostras, na descrição clínica dos participantes e na interpretação dos resultados. Quando grupos de maior renda e de maior acesso a terapias são comparados com os sociais vulneráveis, as divergências em biomarcadores podem refletir as características do TEA, mas também os contrastes em cuidado, rotina, nutrição, uso de medicamentos e exposição a estressores crônicos. Para que possam fazer uma leitura mais próxima do fenômeno autístico, a incorporação de determinantes sociais e de características de suporte social confere maior realismo à interpretação, menos reducionista e, portanto, mais translacional (ARARIPE et al., 2022; BANDEIRA et al., 2024).

1.4 Bases etiopatogênicas do TEA: multifatorialidade e vias convergentes

Atualmente, TEA é encarado como uma condição multifatorial, produzida pela junção de predisposições genéticas e fatores ambientais em janelas críticas do neurodesenvolvimento. Esta combinação pode afetar processos como conectividade neural, plasticidade sináptica, regulação transcricional, balanceamento entre excitação e inibição, maturação cortical e mecanismos neuroimunes (LYALL et al., 2017; ZHUANG et al., 2024). Ao invés de um único mecanismo etiológico, a literatura atual aponta para a noção de vias convergentes, nas quais diferentes combinações de fatores podem levar a manifestações comportamentais similares.

Parte dos estudos genômicos de larga escala tem mostrado que tanto as variantes comuns de pequeno efeito quanto as variantes raras ou as variantes de novo de maior

impacto são importantes, principalmente para genes relacionados a processos como a sinapse, a organização da cromatina, a regulação transcricional e o desenvolvimento cortical (SATTERSTROM et al., 2020). Este cenário reforça a ideia de heterogeneidade biológica, bem como pelo menos parte do motivo pelo qual a identificação de marcadores universais e específicos do TEA é tão difícil.

Estudam-se também associações entre o TEA e fatores ambientais ou perinatais como idade paterna avançada, exposições a poluentes e condições obstétricas e estados inflamatórios maternos e alterações no metabolismo durante a gestação. Não obstante a variabilidade das associações em coeficiente e a presença de confundidores residuais, o modelo explicativo atual sugere que tais fatores atuam, não como causas isoladas, mas como moduladores de susceptibilidades biológicas em janelas críticas do desenvolvimento cerebral (LYALL et al., 2017).

1.5 Neuroimunologia, neuroinflamação e interface cérebro-sistema imune

A hipótese neuroimune destaca-se entre as vias biológicas atualmente investigadas no TEA. Evidências conjuntas indicam que alterações imunológicas periféricas e centrais podem estar relacionadas a subgrupos do espectro, com eventuais repercussões sobre poda sináptica, função glial, microglia, sinaptogênese e plasticidade neural (ESTES; McALLISTER, 2015). É relevante mencionar, no entanto, que essa hipótese não pressupõe homogeneidade. A inflamação não deve ser considerada marcador universal do TEA, mas um componente biologicamente plausível em determinados perfis clínicos e em determinadas interações ambiente-comorbidades.

As meta-análises e as revisões sistemáticas revelam, em média, perfil pró-inflamatório moderado em parte dos indivíduos com TEA, principalmente em relação a citocinas e quimiocinas periféricas, não obstante a heterogeneidade metodológica significativa (MASI et al., 2015; SAGHAZADEH et al., 2019; ZHAO et al., 2021). Entre as moléculas mais prevalentes, IL-1 β , IL-6 e TNF- α recebem atenção, em consequência de sua participação na sinalização inflamatória, modulação da microglia e interface imune-cérebro.

Para além disso, a literatura tem ampliado a visão para modelos integrativos como o eixo intestino-cérebro, onde microbiota intestinal, permeabilidade intestinal, mediadores imunes, eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e sistema nervoso entérico interagem de maneira dinâmica. Como os pacientes com TEA, frequentemente, apresentam sintomas gastrointestinais, seletividade alimentar e exposição diferenciada a

dietas, antibióticos e probióticos, esses elementos podem influenciar a biologia inflamatória e, portanto, os perfis de biomarcadores detectáveis em fluidos periféricos, incluindo saliva (BJORKLUND et al., 2020; KORTENIEMI; KARLSSON; AATSINKI, 2023).

1.6 Biomarcadores, saliva e desafios translacionais

Os biomarcadores são indicadores que se podem calcular que indicam processos biológicos normais, processos patológicos e respostas a intervenções. No que se refere ao TEA, a busca por biomarcadores baseia-se em sua heterogeneidade clínica, na necessidade de o entendimento de subgrupos biológicos e no desejo de encontrar medidas que possam complementar o acompanhamento clínico. Entretanto, a verdadeira utilidade de um biomarcador depende da articulação entre validade analítica e validade clínica e, conseqüentemente, veremos que isso não é apenas uma questão de mensuração adequada, pois eles devem ser demonstrados como tendo relação com o construto em questão e com sua efetividade na prática (FDA-NIH BIOMARKER WORKING GROUP, 2025).

A saliva vem sendo mencionada como uma matriz promissora nessa direção por sua coleta não invasiva, de custo baixo, repetível e, principalmente, por ser especialmente adequada à pediatria e a populações que têm aversão a punções venosas ou, mesmo, que possuem maior sensibilidade sensorial. Entretanto, esta não pode ser considerada como uma alternativa direta ao sangue, uma vez que a origem dos analitos pode ser local ou sistêmica, e essa contribuição é distinta para cada marcador. Por isso, a interpretação de biomarcadores salivares requer atenção dedicada a fatores orais, comportamentais e pré-analíticos.

Estudos metodológicos recentes mostram que o valor analítico da saliva depende da padronização do horário de coleta, bem como do controle do jejum ou do intervalo pós-prandial, da anotação da higiene bucal, do uso de medicamentos, da presença de infecções recentes, do pH, da taxa de fluxo salivar, de sinais de contaminação por sangue e de suas condições de armazenamento e de processamento. Na população infantil, o próprio método de coleta é uma variável crítica, pois drenagem passiva, expectoração, absorção e sucção podem criar diferentes perfis de biomarcadores e têm viabilidades diferentes de acordo com idade, desenvolvimento e cooperação da criança (XU et al., 2025).

Em uma revisão de escopo com população pediátrica, Fey, Bikker e Hesse (2024) mostraram que os métodos de absorção e sucção tendem a ser mais factíveis em crianças

menores ou pouco cooperativas e que a drenagem passiva e a expectoração podem ser mais adequadas para as crianças maiores. Por outro lado, protocolos metodológicos recentes afirmam que o registro sistemático de taxa de fluxo, pH, contaminação por sangue, dieta, exercício, sono e medicações prévias à coleta não constituem um detalhe operacional, mas constituem parte da confiabilidade do estudo (FEY; BIKKER; HESSE, 2024; XU et al., 2025).

Também é necessário considerar a saúde bucal como possível fonte de confundimento. Em crianças e adolescentes saudáveis, as concentrações de citocinas salivares variam conforme a idade, as condições orais e a taxa de fluxo salivar, o que reforça a importância do controle dessas variáveis em estudos comparativos. Da mesma forma, revisões recentes sugerem que crianças e jovens com TEA podem indicar piores indicadores de saúde bucal, enquanto estudos de microbioma oral encontraram diferenças composicionais entre os grupos autistas e não autistas, com possíveis repercussões sobre os mediadores inflamatórios locais. Assim, a interpretação dos biomarcadores salivares no TEA deve incluir registros sobre higiene bucal, história odontológica, condições de inflamação gengival e possíveis fontes locais de inflamação (RINDERKNECHT et al., 2022; SAMI et al., 2024; EVENEPOEL et al., 2024).

1.7 Citocinas inflamatórias e neurotrofinas salivares no TEA

Entre os alvos mais estudados para o TEA, citocinas inflamatórias e neurotrofinas continuam a ter prioridade. IL-1 β , IL-6 e TNF- α constituem mediadores principais da resposta inflamatória e têm plausibilidade mecanística entre a imunidade periférica, microglia, barreiras biológicas e plasticidade neural. Os estudos periféricos tendem a denotar um perfil pró-inflamatório em média, em pelo menos uma parcela dos indivíduos com TEA, distribuição essa marcada por forte heterogeneidade entre amostras e desenhos (MASI et al., 2015; SAGHAZADEH et al., 2019; ZHAO et al., 2021). No caso da saliva, essa plausibilidade se mantém, porém a leitura dos resultados se torna mais sensível a confundidores locais e pré-analíticos.

As neurotrofinas BDNF e β -NGF também são de interesse pela sua participação no neurodesenvolvimento, na plasticidade sináptica, na manutenção de circuitos neurais e na interação com sistemas endócrino e imune. Metanálises indicam que existem alterações periféricas dessas moléculas em parte das crianças com TEA, embora sem especificidade de diagnóstico e com ampla variabilidade segundo a idade, estágio puberal, gravidade clínica, comorbidades e matriz biológica utilizada (ZHENG et al.,

2016; LIU et al., 2021). Neste sentido, o potencial de valor dessas moléculas reside mais na estratificação de subgrupos e na compreensão da variabilidade clínica do que na identificação de um marcador binário de diagnóstico.

Com relação à saliva, existem evidências de detectabilidade de BDNF e β -NGF por métodos imunoenzimáticos, o que reforça a investigação destas como marcadores não invasivos. De toda forma, por serem proteínas eventualmente presentes em concentrações muito baixas, a sua mensuração requer rigoroso padrão de coleta, armazenamento, processamento e validação analítica do ensaio. Em resumo, a incorporação conjunta de citocinas e neurotrofinas possibilitará uma leitura mais integrada sobre as relações entre inflamação, estresse e plasticidade neural.

1.8 Farmacologia das vias neuroimunes e neurotróficas

Do ponto de vista farmacológico e neuroquímico, as citocinas pró-inflamatórias e as neurotrofinas não operam apenas como marcadores periféricos isolados, mas como potentes neuromoduladores da sinalização intracelular e da plasticidade sináptica. No sistema nervoso central (SNC), citocinas como IL-1 β , IL-6 e TNF- α são sintetizadas predominantemente pela micróglia e por astrócitos ativados. A ligação dessas moléculas aos seus respectivos receptores (como os receptores TNFR e IL-1R) deflagra cascatas intracelulares clássicas, notadamente a ativação do fator nuclear kappa B (NF- κ B) e das vias JAK/STAT, que culminam na amplificação da resposta imune. A hiperativação sustentada dessas vias está intrinsecamente ligada a falhas na recaptação de glutamato, à excitotoxicidade e a prejuízos no delicado processo de poda sináptica neuronal, mecanismos extensamente documentados pela neuroimunologia clássica e atualmente considerados cruciais na fisiopatologia do TEA (DANTZER et al., 2008).

Em contrapartida, as neurotrofinas atuam como reguladoras vitais da homeostase e da sobrevivência neuronal. O BDNF e o β -NGF exercem seus efeitos biológicos ao se ligarem aos seus receptores tirosina quinase de alta afinidade, TrkB e TrkA, respectivamente. Essa interação ativa vias intracelulares de sobrevivência e plasticidade, como as cascatas MAPK/ERK, PI3K/Akt e PLC γ . Conforme a literatura farmacológica fundamental consolida, tais vias de sinalização são indispensáveis para a potenciação de longa duração (LTP), neurogênese e para a estabilização de circuitos sinápticos saudáveis (HUANG; REICHARDT, 2001; CHAO, 2003).

A complexa interação antagonista entre o excesso de mediadores inflamatórios e a supressão de fatores neurotróficos tem sido um dos eixos centrais de investigação do

Laboratório de Neurofarmacologia do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Universidade Federal do Ceará (NPDM/UFC). Trabalhos progressos do grupo evidenciam que condições crônicas de inflamação e estresse induzem a elevação persistente de IL-6 e TNF- α , o que se associa de forma direta a uma redução na expressão central de BDNF e ao desenvolvimento de déficits comportamentais mediada pelo eixo neuroendócrino (MALLMANN, 2019; FORTE, 2021). Adicionalmente, estudos pré-clínicos recentes desenvolvidos no laboratório demonstram que a supressão farmacológica da neuroinflamação, limitando a liberação citocínica por astrócitos e células da glia, é capaz de proteger as redes neurais e mitigar prejuízos neurofuncionais de forma robusta (CAPIBARIBE, 2024; BANDEIRA, 2025).

Trazendo essa base neurofarmacológica de volta para a realidade da prática clínica no autismo, pesquisas recentes apontam que fatores estressores constantes, como a extrema seletividade e o comportamento alimentar disruptivo, possuem forte intersecção com o estado nutricional. Esse cenário pode atuar como um fator metabólico associado à manutenção da neuroinflamação crônica de baixo grau, podendo repercutir sobre a manutenção da sinalização neurotrófica no TEA (LIMA et al., 2024). Dessa forma, a compreensão das cascatas intracelulares ativadas por essas moléculas legitima cientificamente a pesquisa de biomarcadores salivares capazes de espelhar o perfil de neuromodulação em pacientes no espectro.

O papel específico do fator de crescimento neural beta (β -NGF) merece destaque ao se considerar a interface entre a biologia sensorial e a inflamação. Classicamente, o β -NGF é indispensável para o desenvolvimento, sobrevivência e manutenção funcional dos neurônios sensoriais periféricos, em especial os nociceptores e termorreceptores. No entanto, em tecidos maduros, essa neurotrofina assume uma robusta função de mediador pró-inflamatório. Em estados de inflamação periférica, o β -NGF é ativamente secretado por células imunes e mastócitos, ligando-se ao receptor TrkA nas terminações nervosas e induzindo quadros de hiperalgesia e sensibilização sensorial (ALOE et al., 2012). No contexto do TEA, essa dupla função é compatível com uma hipótese mecanicista relevante para o entendimento da seletividade alimentar. Considerando que grande parte das crianças no espectro apresenta hiper-reatividade a estímulos texturais, gustativos e olfativos, é biologicamente plausível que a inflamação sistêmica crônica, frequentemente associada a distúrbios gastrintestinais nesse público, possa estar associada à elevação dos níveis periféricos de β -NGF. Esse aumento poderia contribuir para maior sensibilidade das vias aferentes orais, o que poderia tornar o ato de mastigar e engolir determinados

alimentos mais sensorialmente aversivo, achado compatível com a hipótese de participação desses mecanismos na rigidez e na recusa alimentar observadas clinicamente.

1.9 Escala LABIRINTO do Comportamento Alimentar

A avaliação pormenorizada do comportamento alimentar na população com TEA é imprescindível, visto que a literatura científica demonstra uma forte intersecção entre as características nucleares do transtorno e a presença de extrema rigidez, inflexibilidade rotineira e seletividade nas refeições. Tais padrões dietéticos restritivos não apenas limitam o repertório nutricional, mas também predispõem frequentemente esses pacientes a comorbidades metabólicas, como a obesidade, que atua como um gatilho para o estabelecimento de um estado crônico de inflamação sistêmica de baixo grau.

Considerando que a inflamação periférica e o estado nutricional são fatores que interferem diretamente nas vias imunológicas e neurotróficas, torna-se pertinente investigar em que medida a gravidade das atipicidades alimentares correlaciona-se com as concentrações de citocinas e neurotrofinas salivares. É neste contexto que a escolha da Escala LABIRINTO de Avaliação do Comportamento Alimentar como variável de análise se justifica, uma vez que se configura como um instrumento psicométrico validado no Brasil especificamente para o TEA, possuindo alta funcionalidade para a prática clínica e capacidade de traçar um perfil fenotípico fidedigno da amostra (LÁZARO et al., 2019).

Dessa forma, a aplicação do instrumento garante que a modulação dos biomarcadores salivares avaliados não seja analisada de forma isolada, mas sim ancorada no real contexto comportamental e metabólico do paciente. Essa integração metodológica confere maior precisão e robustez aos achados do estudo, alinhando-se à perspectiva translacional desta investigação.

1.10 Estresse, suporte social e biomarcadores

Mais um eixo relevante para compreender o TEA e sua heterogeneidade biológica é o estresse. As crianças autistas estão frequentemente expostas a uma carga elevada de estressores sensoriais, ambientais e sociais, além de apresentarem, em algumas crianças, maior reatividade fisiológica. O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e o sistema nervoso autônomo regulam a inflamação e as neurotrofinas, tornando-se plausível que, em

ambientes e contextos psicossociais específicos, tais condições acarretam modificações em marcadores mensuráveis na saliva (MAKRIS et al, 2022).

Para compreender o impacto biológico dessas vivências, é fundamental distinguir as respostas adaptativas e desadaptativas ao estresse. O estresse agudo consiste em uma reação fisiológica de curta duração e essencial para a sobrevivência. Nessa fase, a ativação transitória do eixo HHA e do sistema simpático promove a liberação rápida de glicocorticoides e catecolaminas, preparando o organismo para um desafio imediato e otimizando temporariamente a função imunológica (DHABHAR, 2014). Em contrapartida, quando a exposição a estressores torna-se contínua, imprevisível ou não mitigada, cenário comum diante das sobrecargas sensoriais e barreiras sociais enfrentadas no TEA, instala-se o estresse crônico. A persistência dessa ativação leva à chamada "carga alostática", conceituada como o desgaste sistêmico resultante da hiperatividade prolongada das redes alostáticas (MCEWEN, 1998). Nesse estado de esgotamento, observa-se frequentemente a resistência aos efeitos anti-inflamatórios dos glicocorticoides, o que facilita o estabelecimento de um estado crônico de inflamação de baixo grau (com a elevação de citocinas como IL-6 e TNF- α) e interfere negativamente nas cascatas de neurotrofinas necessárias à plasticidade neural.

Nesse sentido, o apoio social ganha centralidade teórica. O modelo biopsicossocial e o conceito de carga alostática sustentam que acumulados estressores crônicos, na ausência de recursos adequados de enfrentamento, produzem custos fisiológicos, envolvidos com disfunção neuroendócrina, autonômica e inflamatória (ENGEL, 1977; MCEWEN et al., 1998). A hipótese do *buffering* sugere que o apoio social pode atenuar tanto os efeitos fisiológicos quanto psicológicos do estresse, enquanto a Social Safety Theory argumenta que a sensação de ameaça e segurança social influencia as respostas neuroimunes e inflamatórias (COHEN; WILLS, 1985; SLAVICH, 2020).

No contexto do Transtorno do Espectro Autista (TEA), o suporte social não é apenas uma variável secundária. Ele se manifesta na disponibilidade de terapias, na continuidade dos cuidados, na organização das rotinas, na capacidade de manejar comorbidades, e na diminuição da sobrecarga, o que, por sua vez, melhora a adesão ao tratamento. Esses elementos podem impactar diretamente fatores como sono, alimentação, uso de medicamentos e exposição a estressores do dia a dia, afetando, assim, os perfis de biomarcadores inflamatórios e neurotróficos. Portanto, a investigação de biomarcadores salivares em associação com variáveis contextuais, como indicadores

sociodemográficos e comportamentais, está alinhada a uma abordagem contemporânea e integrativa do TEA.

Nesse contexto, fatores sociais e ambientais afetam não só o estresse, mas também a capacidade de acesso aos cuidados e a manutenção de práticas protetivas diárias. O estresse gerado por essas variáveis, por sua vez, tem repercussões nos eixos regulatórios neuroendócrinos e autonômicos, que interagem com mediadores inflamatórios e neurotróficos. Esses, por sua vez, podem estar associados ao perfil clínico, às comorbidades e ao funcionamento adaptativo do indivíduo. Ademais, os resultados observados retroalimentam a dinâmica familiar e a demanda por cuidados, formando um sistema onde biologia e contexto se influenciam reciprocamente.

Esse encadeamento teórico destaca a importância de conduzir estudos em ambientes clínicos reais, especialmente em serviços públicos, onde diversas variáveis podem ser analisadas de maneira integrada. Nesse sentido, os biomarcadores devem ser considerados como partes de uma rede mais ampla que abrange relações clínicas, sociais e biológicas. Sob essa perspectiva, sua análise pode enriquecer a estratificação clínica dos participantes, permitindo uma melhor compreensão dos níveis de suporte e de suas possíveis associações com outras variáveis.

2 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

Apesar da evolução em triagem e do aperfeiçoamento dos critérios diagnósticos, a detecção do TEA ainda depende principalmente da observação clínica e de escalas comportamentais, que são valiosas, mas muitas vezes a sua aplicação é dificultada em serviços públicos com grande demanda, em contextos de diversidade sociocultural e em crianças com importante sensibilidade sensorial, intolerância ao ambiente clínico e comprometimento funcional que limita a comunicação; nessas condições, fica evidente o abismo entre a demanda assistencial e a possibilidade de avaliação, ressaltando assim a relevância da investigação de medidas complementares que sejam objetivas, viáveis e potencialmente aplicáveis ao cotidiano da prática.

Nesse sentido, biomarcadores não devem ser considerados substitutos do diagnóstico clínico, mas, ao contrário, ferramentas auxiliares que podem fornecer a informação necessária para estratificação de risco, entendimento dos subgrupos e acompanhamento longitudinal. A saliva, em particular, destaca-se como uma alternativa promissora nesse campo, por ser um método não invasivo, de baixo custo, facilmente repetível e melhor aceito em pediatria, aspecto especialmente relevante no caso de crianças autistas, que frequentemente apresentam desconforto diante de exames invasivos, o que pode comprometer a adesão. Portanto, a escolha da saliva não se apresenta apenas como uma conveniência técnica, mas como uma necessidade prática de adequação metodológica à realidade do cuidado.

Em termos biológicos, há plausibilidade relevante em estudar citocinas inflamatórias e neurotrofinas no TEA: IL-1 β , IL-6 e TNF- α estão interligadas a vias centrais da sinalização inflamatória e podem se interligar a neurodesenvolvimento, função glial e comunicação imune-cérebro; por outro lado, BDNF e β -NGF estão ligadas à plasticidade sináptica, manutenção do circuito neural e modulação neuroimune. Além disso, estressores e suporte social podem atuar como moduladores relevantes para esses sistemas, principalmente em contextos mais vulneráveis e sob alta demanda assistencial.

Apesar do cenário promissor, existem lacunas. Existem poucos estudos que realizam a avaliação simultânea de citocinas inflamatórias, neurotrofinas salivares e variáveis psicossociais, de forma integrada e metodologicamente estruturada. Além disso, grande parte da produção ainda se concentra em ambientes experimentais ou em amostras pouco representativas da prática real dentro dos serviços públicos.

Nesse sentido, produzir evidências em um ambulatório de referência do Ceará possui valor científico e translacional. Esse ambiente permite investigar a viabilidade de biomarcadores salivares em ambiente do SUS, marcado pela diversidade clínica, social e assistencial, aproximando a pesquisa da realidade na qual essas ferramentas apresentarão maior utilidade.

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Analisar o perfil salivar de citocinas inflamatórias (IL-1 β , IL-6 e TNF- α) e neurotrofinas (BDNF e β -NGF) em crianças e adolescentes com Transtorno do Espectro Autista atendidos em ambulatório especializado, investigando as associações entre esses biomarcadores e sua relação com variáveis clínicas e contextuais.

3.2 Objetivos específicos

- Investigar as associações entre o perfil salivar das citocinas inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α e das neurotrofinas BDNF e β -NGF em crianças e adolescentes com Transtorno do Espectro Autista.
- Analisar a distribuição desses biomarcadores em diferentes grupos etários (2-4, 5-9 e 10-17 anos), com vistas à identificação de padrões biológicos relacionados ao desenvolvimento.
- Examinar a relação entre os biomarcadores salivares e variáveis clínicas e contextuais, como idade materna, renda familiar, índice de massa corporal e comportamento alimentar, buscando compreender possíveis interfaces entre parâmetros biológicos periféricos e aspectos do fenótipo clínico do TEA.

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento do estudo

É um estudo translacional, analítico, quantitativo e de delineamento transversal, realizado em ambiente ambulatorial especializado e em laboratório de pesquisa. O protocolo foi concebido para avaliar, na saliva, biomarcadores cuja relação com a inflamação e a neuroplasticidade (as interleucinas IL-1 β e IL-6, o TNF- α , o BDNF e o β -NGF) foi integrada a variáveis clínicas, nutricionais e comportamentais das crianças e adolescentes com Transtorno do Espectro do Autismo (TEA), buscando investigar possíveis associações entre parâmetros biológicos periféricos e aspectos do fenótipo clínico.

A seleção dos analitos abarcou dois eixos biológicos complementares. O primeiro está relacionado às citocinas inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α , reconhecidas como mediadores centrais da ativação imune e frequentemente estudadas em investigações sobre TEA, particularmente por serem implicadas em trajetórias inflamatórias, na resposta de fase aguda e na sinalização neuroimune (ZHAO et al., 2021; HUGHES et al., 2023). O segundo eixo é composto pelas neurotrofinas BDNF e β -NGF, moleculares relacionadas à plasticidade sináptica, desenvolvimento neurocognitivo e interface entre neurodesenvolvimento e imunomodulação, o que as inclui como marcadores de interesse nos estudos que buscam uma leitura integrada da inflamação periférica com a neurobiologia do TEA (PANVINO et al., 2025; SPOTO et al., 2025).

A escolha da saliva como matriz biológica teve como base seu caráter minimamente invasivo, maior aceitabilidade em populações pediátricas e neurodiversas e maior aplicabilidade para investigações translacionais. Porém, por se tratar de uma matriz biologicamente sensível a fatores pré-analíticos, o estudo considerou a necessidade de controle rigoroso das variáveis como o horário da coleta, ingestão alimentar, higiene oral, uso de medicamentos, bem como condições de saúde bucal, como recomendam as mais recentes revisões metodológicas (SZABO; SLAVISH, 2021; RIIS et al., 2021; MORTAZAVI et al., 2024).

Além das análises salivares, foram coletadas informações sociodemográficas, clínicas, antropométricas e comportamentais, para a contextualização dos resultados laboratoriais e a minimização de potenciais fatores de confusão na interpretação dos biomarcadores. Essa estratégia permitiu uma abordagem mais abrangente do fenótipo

clínico ao considerar a própria heterogeneidade do TEA e a possível influência das condições associadas sobre os marcadores biológicos periféricos.

4.2 Período e local do estudo

A fase clínica deste estudo, composta por triagem, consentimento, coleta de dados e obtenção de amostras biológicas foi realizada no Núcleo de Atenção à Infância e Adolescência (NAIA) do Hospital de Saúde Mental Professor Frota Pinto (HSM), em Fortaleza, Ceará, serviço de referência para o manejo de crianças e adolescentes com o diagnóstico de Transtorno do Espectro Autista (TEA).

As amostras foram coletadas entre 31 de julho de 2024 e 10 de setembro de 2024. O processamento inicial da saliva e as dosagens laboratoriais dos biomarcadores foram conduzidos no Laboratório de Neurofarmacologia do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Universidade Federal do Ceará (NPDM/UFC) em condições adequadas à análise biomolecular e com rastreabilidade das etapas pre-analíticas e analíticas.

4.3 População e amostra

O alvo populacional deste estudo foram crianças e adolescentes com diagnóstico clínico de TEA atendidos em serviço ambulatorial especializado em saúde mental do Ceará.

De acordo com o banco de dados final do projeto, foram registrados 69 participantes únicos, constituídos por crianças com idades de 2 a 17 anos. O recrutamento foi feito por amostragem por conveniência consecutiva, em conformidade com o fluxo assistencial do serviço, foram incluídos os elegíveis durante o período de coleta. Também foram registrados as perdas amostrais e os motivos de não inclusão ou exclusão, tais como: volume insuficiente da amostra de saliva, intercorrências clínicas ou impossibilidade de cumprir as restrições antes da coleta.

A caracterização clínica contemplou, quando disponível na rotina assistencial, a estratificação da gravidade dos sintomas do TEA por alguns instrumentos padronizados, como escalas. Também foram consideradas outras condições clínicas potencialmente relevantes para a interpretação dos biomarcadores salivares.

4.4 Critérios de inclusão e exclusão

Considerou-se elegível participante com idade entre 2 e 17 anos, atendido no serviço de referência, com diagnóstico clínico de TEA registrado no fluxo assistencial e possibilidade de obter amostra salivar por drenagem passiva, com auxílio do dispositivo Salivette. Também se exigiu a presença de responsável legal em condições de fornecer o consentimento e as informações clínicas e comportamentais necessárias ao estudo.

Adotaram-se como critérios de exclusão ou adiamento da coleta: presença de sinais de infecção aguda, febre ou inflamação oral intensa no dia da coleta; sangramento gengival perceptível; lesões orais extensivas; tratamento odontológico recente; impossibilidade de atendimento das restrições pré-coleta, como intervalo mínimo após alimentação, escovação dentária ou uso de medicação via oral; e uso recente de fármacos com potencial para afetar de forma relevante a resposta imune sistêmica, como corticosteroides sistêmicos, conforme avaliação clínica e registro no questionário (AKUTSU et al., 2025).

Igualmente foram registradas condições potencialmente interferentes, tais como xerostomia, doença periodontal aparente, uso de enxaguatórios antissépticos e presença de sangue visível na amostra. Quando identificadas, tais condições foram tratadas como não conformidades pré-analíticas, podendo acarretar a exclusão da amostra e, quando viável, o reagendamento da coleta.

4.5 Coleta de dados dos participantes

A coleta de dados dos participantes compreendeu informações sociodemográficas, clínicas, antropométricas e comportamentais, colhidas mediante registro em protocolo padronizado, entrevista com o responsável legal e consulta às informações que constam do acompanhamento no serviço.

Foram coletadas as seguintes variáveis: faixa etária, renda familiar, idade materna, índice de massa corporal (IMC), informações sobre seletividade alimentar e os escores da Escala LABIRINTO de Avaliação do Comportamento Alimentar no Transtorno do Espectro Autista. Na análise da escala, consideraram-se os sete fatores e o escore total.

A Escala LABIRINTO é composta por 26 itens distribuídos em sete fatores, cujas respostas são pontuadas de 0 a 4, onde valores mais elevados indicam maior frequência do comportamento avaliado. Assim, a pontuação de cada fator é a soma dos

itens que o compõem, e varia conforme o número de itens de cada domínio. Assim, o Fator 1 - Motricidade na Mastigação, varia de 0 a 16 pontos; o Fator 2 - Seletividade alimentar, de 0 a 12 pontos; o Fator 3 - Habilidades nas refeições, de 0 a 20 pontos; o Fator 4 - Comportamento inadequado relacionado às refeições, de 0 a 8 pontos; o Fator 5 - Comportamentos rígidos relacionados à alimentação, de 0 a 24 pontos; o Fator 6 - Comportamento opositor relacionado à alimentação, de 0 a 12 pontos; e o Fator 7 - Alergias e intolerância alimentar, de 0 a 12 pontos. Considerando-se o conjunto da escala, a pontuação total pode variar de 0 a 104 pontos (Tabela 1).

Tabela 1 – Estrutura fatorial e intervalos de pontuação da Escala LABIRINTO de Avaliação do Comportamento Alimentar no TEA

Fator	Domínio	Nº de itens	Pontuação mínima	Pontuação máxima
Fator 1	Motricidade na mastigação	4	0	16
Fator 2	Seletividade alimentar	3	0	12
Fator 3	Habilidades nas refeições	5	0	20
Fator 4	Comportamento inadequado relacionado às refeições	2	0	8
Fator 5	Comportamentos rígidos relacionados à alimentação	6	0	24
Fator 6	Comportamento opositor relacionado à alimentação	3	0	12
Fator 7	Alergias e intolerância alimentar	3	0	12

Fonte: Adaptado de Lázaro, Siquara e Pondé (2019).

4.6 Coleta e análise das amostras de saliva

4.6.1 Coleta e processamento da saliva

A coleta de saliva foi realizada por equipe qualificada, tendo a presença do responsável legal e, no período da manhã, entre 08h00 e 10h30, a fim de minimizar variações circadianas e efeitos agudos causados pela alimentação e pela higiene oral.

A amostra foi obtida por drenagem passiva, utilizando-se o dispositivo Salivette, evitando-se a realização de qualquer ato que estimulasse a salivação ou mastigação, uma vez que estes atos poderiam alterar a composição proteica da saliva e prejudicar a recuperação dos analitos de interesse (SZABO; SLAVISH, 2021; RIIS et al., 2021). Antes da coleta, foi respeitado um intervalo mínimo de 60 minutos sem ingesta alimentar ou hídrica, sem escovação dentária e sem uso de medicamentos via oral, além de pelo menos 10 minutos após o último enxágue com água. Quando necessário, as orientações foram adaptadas à realidade comportamental e sensitiva dos participantes, mas sem prejudicar as exigências mínimas para o controle pré-analítico.

O horário de coleta e dados do dia, como uso de medicamentos, intercorrências clínicas e comportamentos que poderiam interferir nos biomarcadores foram registrados. Na presença de sangramento oral visível ou quando não foi possível obter o volume mínimo de saliva necessário, a coleta foi suspensa e agendada novamente.

Após a coleta, as amostras foram mantidas refrigeradas até o processamento inicial. O eluato salivar foi obtido por centrifugação, com a força de $1.000 \times g$ por 2 minutos, a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, e a saliva clarificada foi distribuída em microtubos devidamente identificados. A alicotagem foi feita para minimizar ciclos de congelamento e descongelamento que, por sua vez, podem comprometer a estabilidade proteica e aumentar a variabilidade analítica, principalmente em marcadores de baixa concentração (MORTAZAVI et al., 2024).

As amostras foram guardadas em $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização dos ensaios. Também foi feito o registro de informações relacionadas à integridade da amostra, como turbidez, presença de sangue visível e número de ciclos de descongelamento, de acordo com recomendações metodológicas para estudos de biomarcadores salivares (SZABO; SLAVISH, 2021; RIIS et al., 2021).

Foram adotados critérios para rejeição às amostras: identificação incompleta, volume insuficiente, atraso superior ao limite operacional estabelecido antes do congelamento e evidências de contaminação. As amostras que não apresentaram esses critérios de qualidade foram excluídas das análises biomoleculares.

4.6.2 Dosagem dos biomarcadores salivares

Os níveis salivares de IL-1 β , IL-6 e TNF- α foram medidos com o uso de ensaios imunoenzimáticos do tipo ELISA sanduíche, utilizando kits comerciais da plataforma Quantikine (R&D Systems / Bio-Techne), de acordo com as instruções do fabricante e com o procedimento operacional padrão (POP) institucional. Nesse sistema, placas já sensibilizadas com anticorpo de captura foram adicionados os padrões, controles e as amostras; após incubação e lavagens, adicionava-se o anticorpo de detecção conjugado à enzima, permitindo a reação cromogênica proporcional à concentração do analito.

As leituras foram feitas em leitor de microplacas a 450 nm, com correção por comprimento de onda de referência entre 540 e 570 nm, e os valores de densidade óptica (DO) foram corrigidos pela subtração do sinal de referência e adicionalmente do branco de reagente, estratégia que contribui para reduzir interferências ópticas e melhorar linearidade e reprodutibilidade das medições, principalmente na saliva, matriz que pode

apresentar maior variabilidade de viscosidade e composição proteica (RIIS et al., 2021; SZABO; SLAVISH, 2021).

Para BDNF e β -NGF foram utilizados ensaios ELISA do tipo DuoSet, também da R&D Systems/Bio-Techne. Nesse sistema, placas de alta ligação foram sensibilizadas com anticorpo de captura, seguidas das etapas de bloqueio, incubação com padrões e amostras, aplicação do anticorpo de detecção e revelação com estreptavidina-HRP e substrato cromogênico. Embora esse modelo possua flexibilidade metodológica e melhor custo-benefício, exige rigoroso controle sobre as condições de padronização incluindo concentrações dos anticorpos, bloqueio, diluentes e lavagens, de forma a evitar aumento de background e perda de sensibilidade analítica.

Em todos os ensaios foram incluídos branco de reagente e curva padrão obtida por diluição seriada. O ajuste da curva foi feito por regressão logística de quatro parâmetros (4PL), metodologia correta para curvas sigmóides de ELISA, com as concentrações finais calculadas após a aplicação do fator de diluição, sendo expressas em pg/mL.

4.7 Plano de análise estatística

4.7.1 Análise descritiva e distribuição dos dados

A análise descritiva das variáveis biológicas e das características clínicas e sociodemográficas da amostra foi realizada primeiramente. Para a verificação da distribuição dos biomarcadores salivares, utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk e a inspeção gráfica de histogramas e gráficos Q-Q. Como foi verificada a ausência de normalidade das variáveis, optou-se por métodos não paramétricos na análise da correlação.

4.7.2 Escala de Magnitude das Correlações

A interpretação da força das associações observadas, tanto para o coeficiente de Pearson (r) quanto para o de Spearman (ρ), obedece a critérios de magnitude predefinidos. Embora a significância estatística ($p < 0,05$) indique a probabilidade de a associação ocorrer ao acaso, a magnitude descreve a relevância clínica ou biológica do fenômeno. Adotou-se a classificação para a intensidade da correlação em valores absolutos como apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 — Classificação da magnitude das correlações ($|r|$ ou $|\rho|$).

Coefficiente (r ou ρ)	Interpretação
 0,9 a 1 	Muito forte
 0,7 a 0,89 	Forte
 0,5 a 0,69 	Moderada
 0,3 a 0,49 	Fraca
 0 a 0,29 	Desprezível

Fonte: Adaptado de Mukaka (2012).

4.7.3 Teste de Hipótese e Significância

As associações entre biomarcadores e entre biomarcadores e variáveis clínicas/contextuais foram examinadas por meio do coeficiente de correlação de Spearman (ρ), com testes bicaudais e nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Considerando o caráter exploratório do estudo e o tamanho reduzido de alguns estratos etários, os resultados foram interpretados de forma integrada à magnitude dos coeficientes, ao valor de p e ao contexto clínico da amostra.

O teste de significância baseia-se na estatística t de Student, distribuída com $n - 2$ graus de liberdade, calculada por:

$$t = \frac{\rho\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-\rho^2}}$$

As análises foram apresentadas para a amostra total e para os subgrupos etários definidos no protocolo analítico.

4.8 Aspectos éticos

Este estudo foi conduzido de acordo com as diretrizes éticas vigentes para pesquisas com seres humanos, com aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa. Foram obtidos o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dos responsáveis legais e, quando aplicável, o assentimento das crianças. A coleta de saliva foi realizada de modo a minimizar o desconforto, respeitando as particularidades sensoriais e comportamentais de crianças com Transtorno do Espectro Autista (TEA).

A pesquisa integra um projeto mais amplo, aprovado pela Plataforma Brasil (parecer nº 5.230.635), em conformidade com a Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Aos responsáveis, foram fornecidas informações claras sobre os objetivos, procedimentos, riscos e benefícios, sendo garantido o direito de desistência a qualquer momento, sem prejuízo do acompanhamento no serviço.

5 RESULTADOS

Considerando a presença de campos não preenchidos no banco de dados, os denominadores variaram conforme a disponibilidade de informações válidas para cada variável analisada. Nas análises correlacionais, o número de observações também variou segundo a completude de cada biomarcador e de cada par de variáveis investigado; assim, os tamanhos amostrais por grupo etário devem ser interpretados como o número máximo de participantes elegíveis em cada estrato (Figura 1).

Figura 1 — Diagrama de fluxo da composição da amostra final e critérios de exclusão.



Fonte: Dados da pesquisa.

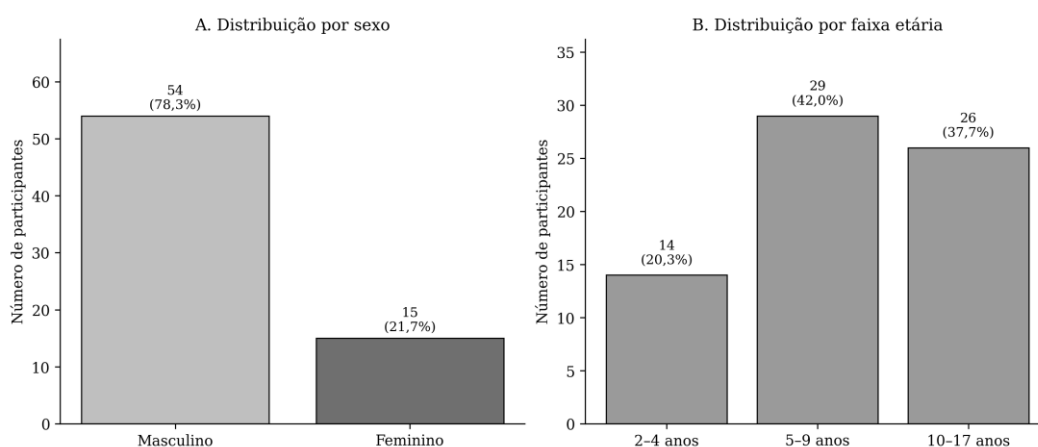
5.1 Caracterização sociodemográfica da amostra

A amostra foi composta por 69 crianças e adolescentes com transtorno do espectro autista, com idades entre 2 e 17 anos. Observou-se predomínio do sexo masculino,

correspondente a 76,8% da amostra (n = 53), enquanto o sexo feminino representou 21,7% (n = 15), com um caso sem informação registrada. Em relação à distribuição etária, 20,3% dos participantes tinham entre 2 e 4 anos (n = 14), 42,0% entre 5 e 9 anos (n = 29) e 37,7% entre 10 e 17 anos (n = 26).

Entre os participantes com informação válida sobre renda familiar (n = 48), verificou-se maior frequência de famílias com renda de até 1 salário mínimo, correspondendo a 60,4% (n = 29), seguidas daquelas com renda entre 1 e 2 salários mínimos, com 33,3% (n = 16), e entre 2 e 3 salários mínimos, com 6,3% (n = 3). Quanto aos benefícios sociais, entre os 50 registros válidos, o Benefício de Prestação Continuada foi o mais frequente, presente em 58,0% (n = 29), seguido do Bolsa Família, em 32,0% (n = 16), e da combinação Bolsa Família + Benefício de Prestação Continuada, em 8,0% (n = 4). Entre os 58 participantes com informação sobre aposentadoria, 91,4% não eram aposentados (n = 53) e 8,6% recebiam aposentadoria (n = 5). A Figura 2 sintetiza a composição da amostra segundo sexo e faixa etária.

Figura 2 — Distribuição da amostra segundo sexo e faixa etária.



Fonte: Dados da pesquisa.

5.2 Estado nutricional

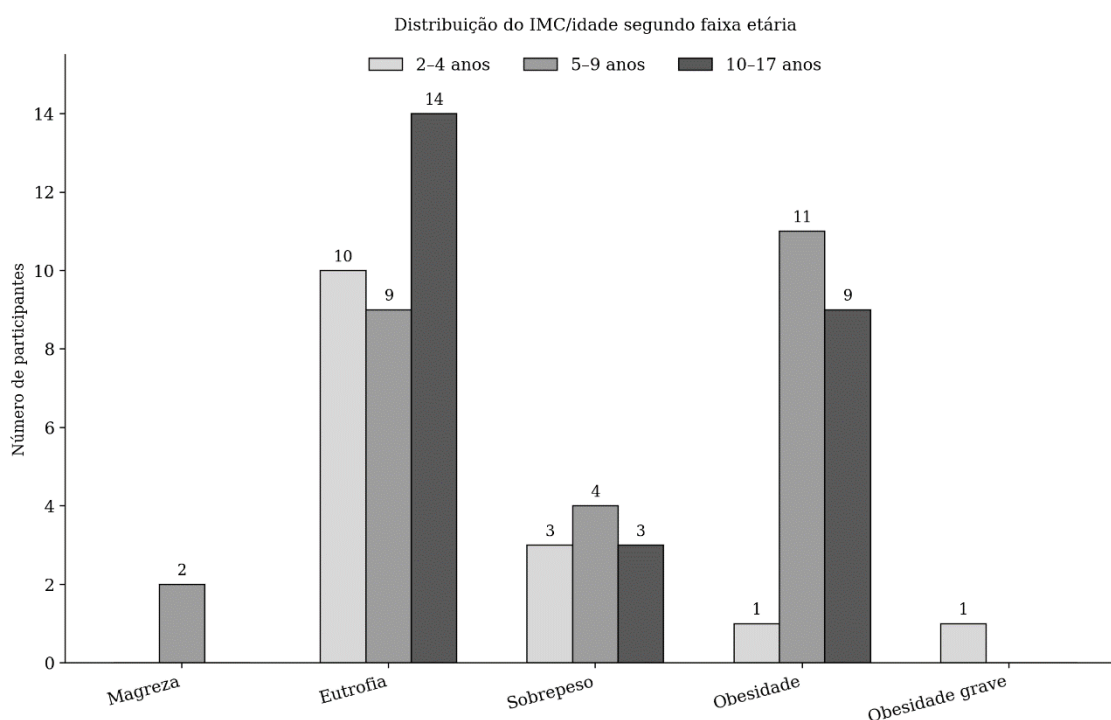
A classificação do índice de massa corporal para a idade esteve disponível para 67 participantes. Nessa análise, observou-se predomínio de eutrofia, presente em 49,3% dos casos (n = 33), seguida de obesidade, em 31,3% (n = 21), sobrepeso, em 14,9% (n = 10), magreza, em 3,0% (n = 2), e obesidade grave, em 1,5% (n = 1).

Na estratificação por faixa etária, entre as crianças de 2 a 4 anos predominou a eutrofia, observada em 71,4% (n = 10), seguida de sobrepeso, em 21,4% (n = 3), e

obesidade, em 7,1% (n = 1). Na faixa de 5 a 9 anos, observou-se maior concentração de obesidade, em 40,7% (n = 11), seguida de eutrofia, em 33,3% (n = 9), sobrepeso, em 14,8% (n = 4), magreza, em 7,4% (n = 2), e obesidade grave, em 3,7% (n = 1). Entre 10 e 17 anos, manteve-se predominância de eutrofia, em 53,8% (n = 14), embora a obesidade também tenha sido frequente, em 34,6% (n = 9), seguida de sobrepeso, em 11,5% (n = 3).

Quanto à estatura para a idade, considerando 67 registros válidos, 86,6% dos participantes apresentaram estatura adequada, enquanto 10,4% (n = 7) apresentaram muito baixa estatura e 3,0% (n = 2), baixa estatura. Já para o indicador peso para a idade, disponível em 41 participantes, 65,9% (n = 27) apresentaram peso adequado para a idade, 31,7% (n = 13) peso elevado e 2,4% (n = 1) muito baixo peso. A Figura 3 apresenta a distribuição do IMC/idade segundo faixa etária.

Figura 3 — Distribuição do IMC/idade segundo faixa etária.



Fonte: Dados da pesquisa.

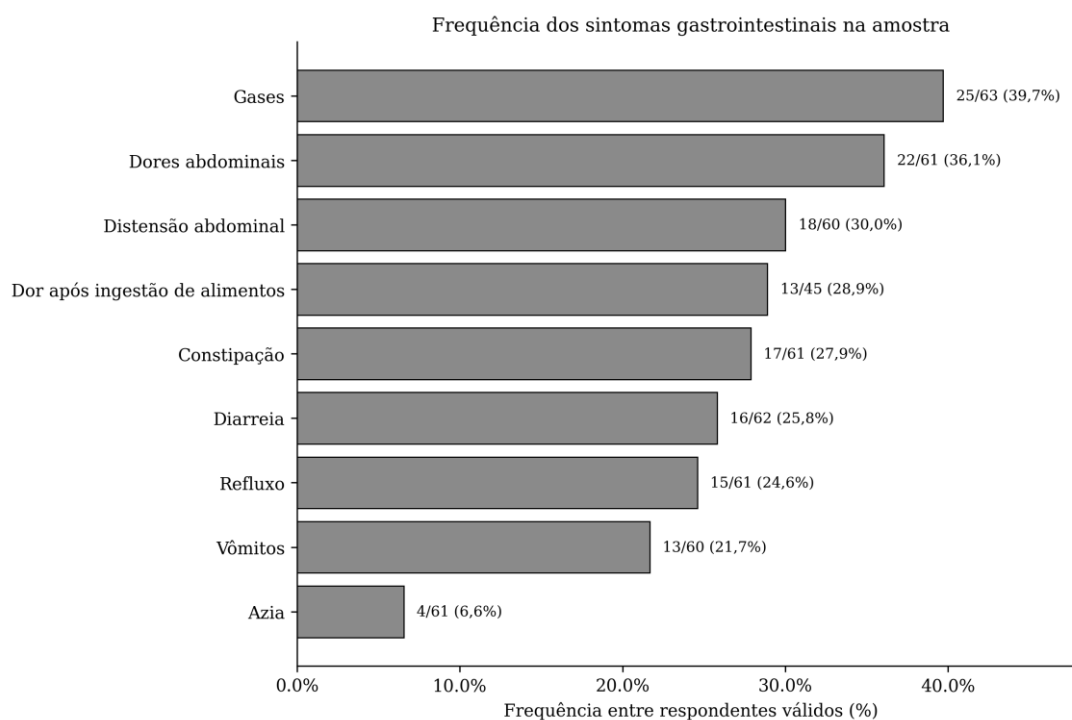
5.3 Sintomas gastrointestinais

A presença de pelo menos um sintoma gastrointestinal foi observada em 79,4% dos participantes com alguma informação disponível para esse bloco de variáveis. Na

análise individual dos sintomas, os achados mais frequentes foram gases, presentes em 39,7% dos respondentes (25/63), dores abdominais, em 36,1% (22/61), distensão abdominal, em 30,0% (18/60), e dor após a ingestão de alimentos, em 28,9% (13/45). Também foram observadas constipação em 27,9% (17/61), diarreia em 25,8% (16/62), refluxo em 24,6% (15/61), vômitos em 21,7% (13/60) e azia em 6,6% (4/61).

Esses achados evidenciam frequência relevante de queixas gastrointestinais na amostra, especialmente relacionadas a desconforto abdominal e alterações do hábito intestinal. A Figura 4 resume a frequência desses sintomas na amostra estudada.

Figura 4 — Frequência dos sintomas gastrointestinais na amostra.



Fonte: Dados da pesquisa.

5.4 Comportamento alimentar

Na avaliação do comportamento alimentar pela Escala LABIRINTO, o escore total esteve disponível para 43 participantes, com média de $46,4 \pm 17,9$ pontos. Entre esses casos, predominou a classificação “sem dificuldade”, observada em 74,4% ($n = 32$), seguida de dificuldades leves, em 16,3% ($n = 7$), e dificuldades severas, em 9,3% ($n = 4$).

Na Escala LABIRINTO, os domínios com maior comprometimento relativo, considerando a proporção do escore máximo possível para cada fator, foram seletividade

alimentar, com média equivalente a 50,8% do escore máximo, habilidades nas refeições, com 48,7%, e comportamento opositor relacionado à alimentação, com 46,4%.

Na estratificação etária, entre 2 e 4 anos destacou-se o fator habilidades nas refeições, com média correspondente a 70,0% do escore máximo, seguido de seletividade alimentar, com 60,9%. Na faixa de 5 a 9 anos, a seletividade alimentar foi o domínio mais proeminente, com 55,2%, seguida de habilidades nas refeições, com 48,1%. Entre 10 e 17 anos, o maior destaque ocorreu para comportamento opositor relacionado à alimentação, com 46,4%, seguido de seletividade alimentar, com 39,5%, e comportamentos rígidos relacionados à alimentação, com 37,5%.

5.5 Distribuição das variáveis biológicas

Inicialmente, procedeu-se à definição da amostra analítica utilizada nas análises correlacionais, considerando a exclusão de registros classificados como não coletados ou inválidos. Assim, foram mantidos, para fins analíticos, 69 participantes, distribuídos em três grupos etários, conforme apresentado na Tabela 3.

Por se tratar de um conjunto amplo de correlações, e como não foi aplicada correção formal para múltiplas comparações nesta etapa exploratória, os resultados foram interpretados de forma integrada à magnitude dos coeficientes, aos valores de *p* e à plausibilidade biológica, com cautela especial para associações limítrofes.

Tabela 3 – Composição da amostra analítica por faixa etária

Grupo etário	Número de amostras
Grupo 1 (2–4 anos)	14
Grupo 2 (5–9 anos)	29
Grupo 3 (10–17 anos)	26
Total analítico	69

Fonte: Dados da pesquisa.

Antes da realização das análises correlacionais, foi verificada a aderência das variáveis biológicas à distribuição normal por meio do teste de Shapiro-Wilk, escolhido em função de sua adequação para amostras de tamanho moderado. Na amostra total (N = 69), todos os biomarcadores apresentaram distribuição não normal, com valores de *p* inferiores a 0,001. As estatísticas *W* observadas foram 0,542 para IL-1 β , 0,618 para IL-6, 0,695 para TNF- α , 0,812 para β -NGF e 0,884 para BDNF (Tabela 4).

Tabela 4 – Teste de Shapiro-Wilk para os biomarcadores na amostra total (N = 69)

Biomarcador	W	p
IL-1 β	0,542	<0,001
IL-6	0,618	<0,001
TNF- α	0,695	<0,001
β -NGF	0,812	<0,001
BDNF	0,884	<0,001

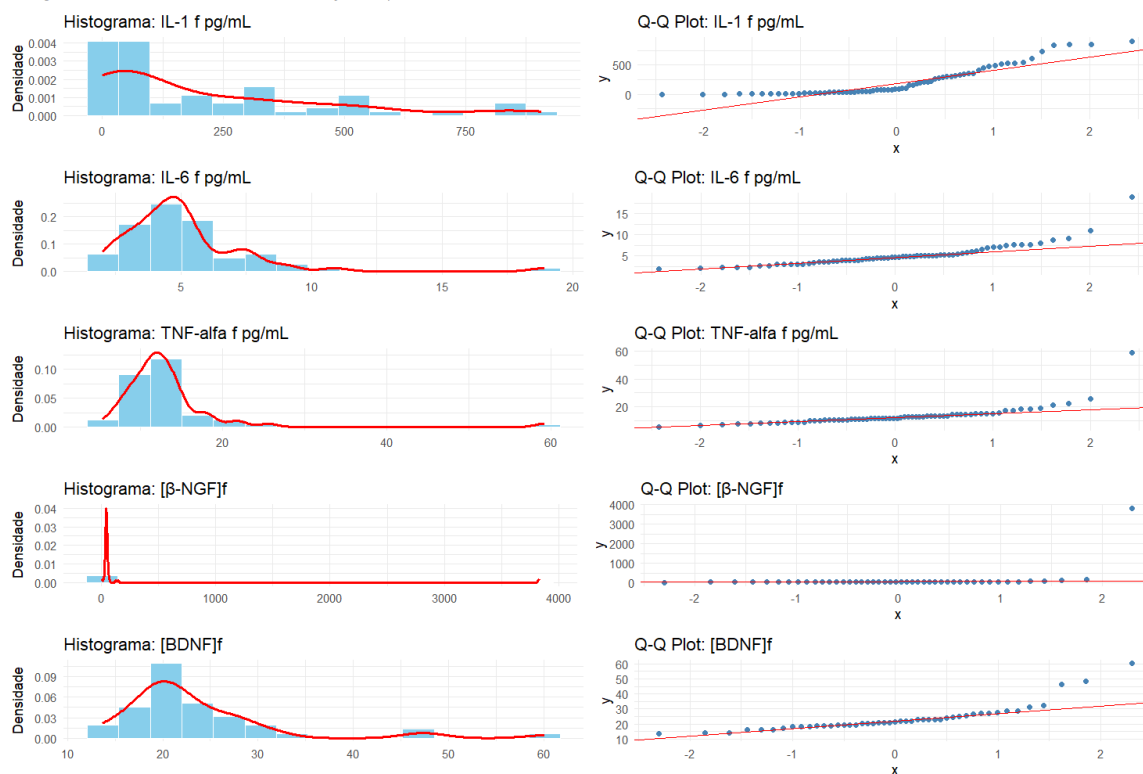
Fonte: Dados da pesquisa.

A avaliação gráfica por histogramas e gráficos de probabilidade normal (Q-Q plots) corroborou os resultados do teste, evidenciando assimetria positiva e presença de valores extremos. Em razão desse perfil distribucional, optou-se pela utilização do coeficiente de correlação de postos de Spearman (ρ), considerado apropriado para a avaliação de associações monotônicas entre variáveis que não seguem distribuição gaussiana. Os resultados do diagnóstico de normalidade estão apresentados na Figura 5.

Figura 5 — Diagnóstico de normalidade por histogramas e gráficos Q-Q.

Diagnóstico de Normalidade: Biomarcadores Inflamatórios e Neurotróficos

Histogramas e Gráficos Q-Q confirmando a distribuição não-paramétrica



Fonte: Dados da pesquisa.

5.6 Associações entre biomarcadores na amostra total

Na análise da amostra total, observou-se, de forma exploratória, um padrão de associação consistente entre IL-6, TNF- α e β -NGF. Foi encontrada uma correlação positiva forte e estatisticamente significativa entre IL-6 e TNF- α ($\rho = 0,85$; $p < 0,001$). Da mesma forma, IL-6 e TNF- α mostraram correlações positivas com β -NGF, com coeficientes iguais ou superiores a 0,71 e valores de $p < 0,001$.

Em contraste, IL-1 β e BDNF não apresentaram correlações estatisticamente significativas com os demais biomarcadores na análise global. Assim, na amostra total, IL-6, TNF- α e β -NGF configuraram o principal eixo de associação entre os biomarcadores analisados, conforme sintetizado na Tabela 5.

Tabela 5 – Correlações entre biomarcadores na amostra total

Variável 1	Variável 2	ρ de Spearman	p	Observação
IL-6	TNF- α	0,85	<0,001	Correlação positiva forte
IL-6	β -NGF	$\geq 0,71$	<0,001	Correlação positiva forte
TNF- α	β -NGF	$\geq 0,71$	<0,001	Correlação positiva forte

Nota: a tabela sintetiza apenas as principais correlações da amostra total. Para IL-6 \times β -NGF e TNF- α \times β -NGF, manteve-se a faixa de magnitude observada na matriz de correlação, com coeficientes iguais ou superiores a 0,71 e $p < 0,001$.

Fonte: Dados da pesquisa.

5.7 Associações biomarcador–biomarcador por faixa etária

A análise por faixa etária revelou particularidades marcantes no padrão de correlação entre os biomarcadores, evidenciando que a natureza dessas associações se modifica ao longo do desenvolvimento.

5.7.1 Grupo 1 (2 a 4 anos; n = 14)

No Grupo 1, notou-se maior coesão entre os biomarcadores, especialmente entre IL-6 e TNF- α , cuja correlação foi $\rho = 0,937$. Nesse grupo, também foram observadas correlações positivas entre IL-6 e β -NGF ($\rho = 0,79$), entre TNF- α e β -NGF ($\rho = 0,82$), entre IL-6 e BDNF ($\rho = 0,512$) e entre TNF- α e BDNF ($\rho = 0,58$).

As correlações envolvendo IL-1 β mostraram magnitudes mais contidas, variando de $\rho = -0,049$, com BDNF, até $\rho = 0,387$, com IL-6. Em conjunto, esses resultados indicam que, entre os indivíduos de menor idade, as associações entre os marcadores inflamatórios e neurotróficos foram mais coesas, sendo particularmente forte a associação entre IL-6, TNF- α e β -NGF.

5.7.2 Grupo 2 (5 a 9 anos; n = 29)

No Grupo 2, o padrão de correlação positiva entre IL-6, TNF- α e β -NGF permaneceu presente, com coeficientes de $\rho = 0,825$ para IL-6 e TNF- α , $\rho = 0,609$ para IL-6 e β -NGF e $\rho = 0,604$ para TNF- α e β -NGF. Nesse grupo, ainda se evidenciou uma correlação negativa entre IL-1 β e TNF- α ($\rho = -0,411$; $p = 0,04$). Por se tratar de associação limítrofe em um conjunto amplo de comparações exploratórias, esse resultado deve ser interpretado com cautela.

As demais interações envolvendo IL-1 β e BDNF apresentaram magnitudes fracas, com valores próximos de zero ou discretamente negativos, como demonstrado para IL-1 β e β -NGF ($\rho = 0,004$), β -NGF e BDNF ($\rho = 0,021$), IL-6 e BDNF ($\rho = -0,108$) e TNF- α e BDNF ($\rho = -0,077$). Assim, no Grupo 2, o eixo composto por IL-6, TNF- α e β -NGF permaneceu presente, embora com menor integração com os demais biomarcadores.

5.7.3 Grupo 3 (10 a 17 anos; n = 26)

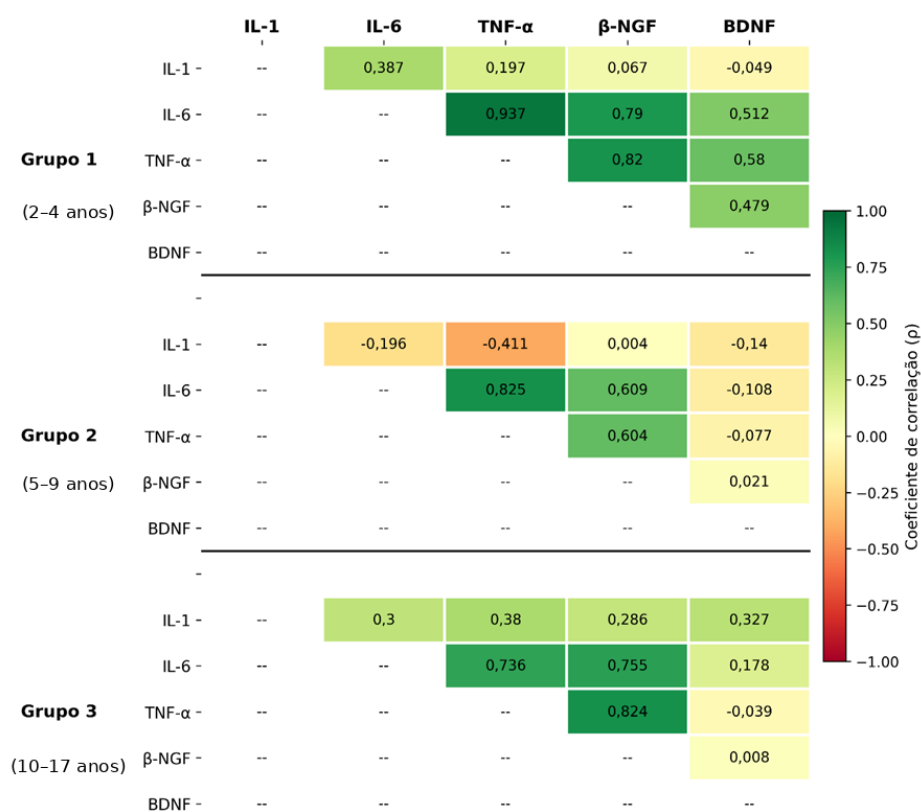
No Grupo 3, o padrão de associação também indicou forte relação entre os biomarcadores inflamatórios e β -NGF. As correlações observadas foram de $\rho = 0,736$ entre IL-6 e TNF- α , $\rho = 0,755$ entre IL-6 e β -NGF e $\rho = 0,824$ entre TNF- α e β -NGF.

Em contrapartida, as associações entre BDNF e os demais marcadores foram reduzidas, com $\rho = 0,178$ para IL-6, $\rho = -0,039$ para TNF- α e $\rho = 0,008$ para β -NGF. As correlações envolvendo IL-1 β permaneceram de baixa a moderada magnitude, variando entre $\rho = 0,286$ e $\rho = 0,38$. Esses achados demonstram que, no grupo etário mais velho, persistiu a organização de um eixo robusto entre IL-6, TNF- α e β -NGF, enquanto BDNF e IL-1 β apresentaram menor participação relativa na rede de associações observada.

De maneira geral, a análise por grupos mostrou que a associação entre IL-6 e TNF- α permaneceu elevada em todas as faixas etárias, acompanhada por correlações positivas com β -NGF. Em contraste, IL-1 β e BDNF apresentaram comportamento mais variável entre os grupos, com menor uniformidade na magnitude e na direção das correlações. Esses resultados reforçam a existência de um padrão de associação mais estável entre IL-

6, TNF- α e β -NGF, sobretudo nas correlações de maior magnitude e menor valor de p, enquanto as associações limítrofes devem ser lidas como achados exploratórios (Figura 6).

Figura 6 — Matriz de correlações de Spearman (ρ) entre biomarcadores, por faixa etária.



Fonte: Dados da pesquisa.

5.8 Associações entre biomarcadores e variáveis clínicas, sociodemográficas e antropométricas

Além das correlações entre biomarcadores, foram investigadas, de forma exploratória, associações entre marcadores biológicos e variáveis clínicas e sociodemográficas, incluindo renda familiar, índice de massa corporal (IMC), seletividade alimentar e idade materna.

5.8.1 Grupo 1 (2 a 4 anos; n = 14)

No Grupo 1, verificou-se correlação negativa forte entre IMC e β -NGF ($\rho = -0,71$), assim como correlação positiva moderada entre renda familiar e BDNF ($\rho = 0,62$).

5.8.2 Grupo 2 (5 a 9 anos; n = 29)

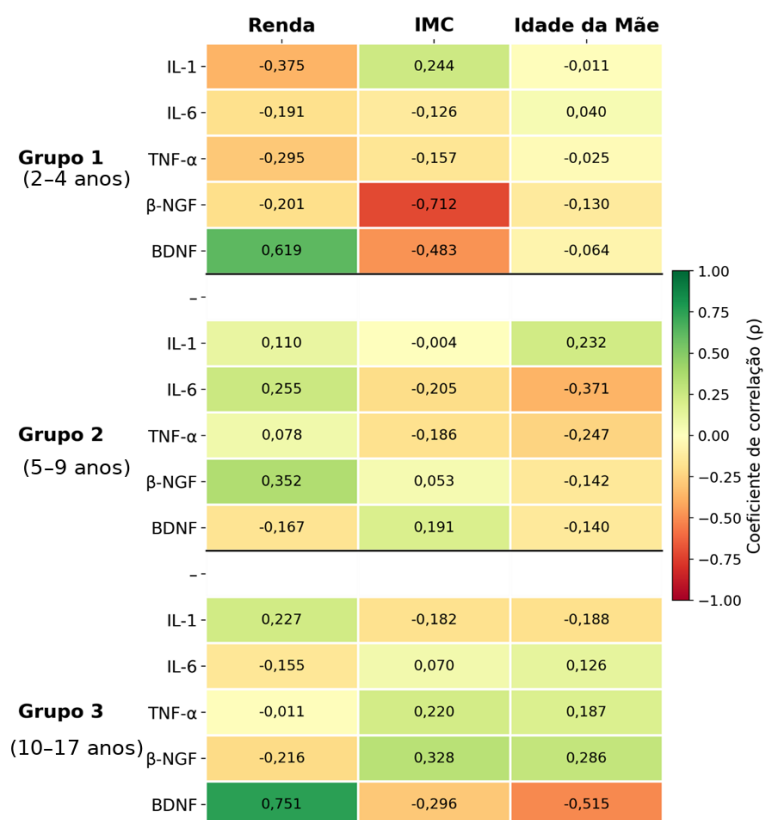
No Grupo 2, não se observaram correlações de maior magnitude, predominando coeficientes situados aproximadamente entre 0,3 e 0,4.

5.8.3 Grupo 3 (10 a 17 anos; n = 26)

No Grupo 3, identificou-se correlação positiva entre renda familiar e BDNF ($\rho = 0,75$), correlação negativa entre seletividade alimentar e TNF- α ($\rho = -0,58$), correlação negativa entre seletividade alimentar e IL-6 ($\rho = -0,41$) e correlação negativa moderada entre idade materna e BDNF ($\rho = -0,51$).

Esses achados sugerem que as associações entre biomarcadores e variáveis clínicas e sociodemográficas também não se distribuíram de maneira homogênea entre as faixas etárias, sendo mais expressivas nos grupos de menor e de maior idade. Ainda assim, tais resultados devem ser entendidos como exploratórios, sobretudo em razão do tamanho reduzido de alguns subgrupos e do número elevado de comparações realizadas (Figura 7).

Figura 7 — Matriz de correlações de Spearman (ρ) entre biomarcadores e variáveis clínicas e sociodemográficas.



Fonte: Dados da pesquisa.

5.9 Associações entre fatores da Escala LABIRINTO e biomarcadores salivares

A análise exploratória das correlações entre os fatores da Escala LABIRINTO de Avaliação do Comportamento Alimentar no TEA e os biomarcadores salivares revelou padrões contrastantes entre os grupos etários. Os coeficientes de Spearman a seguir indicam a direção e a força das associações encontradas entre citocinas inflamatórias, neurotrofinas e os domínios da escala e devem ser interpretados em conjunto com o caráter exploratório da análise.

No Grupo 1 (2 a 4 anos), os coeficientes mais expressivos concentraram-se em correlações positivas entre IL-1 β e o Fator 4 ($\rho = 0,501$), TNF- α e o Fator 5 ($\rho = 0,456$), β -NGF e o Fator 7 ($\rho = 0,415$), além de associações positivas entre BDNF e os Fatores 2 ($\rho = 0,462$), 3 ($\rho = 0,498$) e 5 ($\rho = 0,424$). Em sentido inverso, destacou-se a correlação negativa entre β -NGF e o Fator 1 ($\rho = -0,567$), sugerindo que o padrão alimentar nos participantes mais jovens pode se relacionar de maneira heterogênea com os marcadores avaliados.

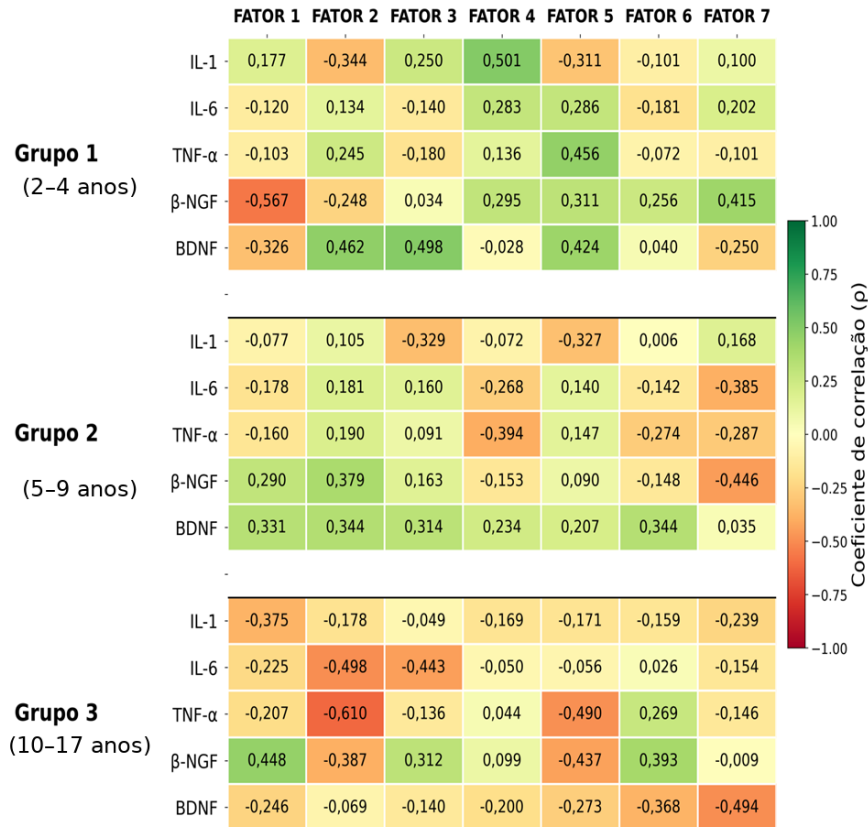
No Grupo 2 (5 a 9 anos), observou-se predomínio de correlações de baixa a moderada magnitude. β -NGF apresentou correlação positiva com o Fator 2 ($\rho = 0,379$) e correlação negativa com o Fator 7 ($\rho = -0,446$). O BDNF mostrou associações positivas distribuídas entre os Fatores 1, 2, 3 e 6 (ρ entre 0,314 e 0,344), enquanto TNF- α e IL-6 exibiram correlações inversas de maior magnitude com o Fator 4 ($\rho = -0,394$) e com o Fator 7 ($\rho = -0,385$), respectivamente.

No Grupo 3 (10 a 17 anos), as correlações tenderam a assumir direção negativa para parte dos marcadores inflamatórios, sobretudo entre TNF- α e o Fator 2 ($\rho = -0,610$), TNF- α e o Fator 5 ($\rho = -0,490$), IL-6 e o Fator 2 ($\rho = -0,498$) e IL-6 e o Fator 3 ($\rho = -0,443$). Em contraste, β -NGF apresentou correlações positivas com o Fator 1 ($\rho = 0,448$) e o Fator 6 ($\rho = 0,393$), bem como correlação negativa com o Fator 5 ($\rho = -0,437$). O BDNF mostrou associação inversa mais evidente com o Fator 7 ($\rho = -0,494$).

No geral, os achados sugerem que os domínios do comportamento alimentar obtidos pela Escala LABIRINTO não se relacionaram de forma uniforme com os biomarcadores salivares. Em contrapartida, observou-se variação entre os grupos etários e entre fatores específicos da escala, indicando que, de forma exploratória, a relação entre comportamento alimentar, inflamação e sinalização neurotrófica no TEA pode apresentar diferentes padrões associados às características do desenvolvimento. Associações de

baixa magnitude ou com significância limítrofe não foram interpretadas como evidência conclusiva (Figura 8).

Figura 8 — Matriz de correlações de Spearman (ρ) entre fatores da Escala LABIRINTO de Avaliação do Comportamento Alimentar no TEA e biomarcadores salivares, por grupo etário.



Legenda dos fatores

- Fator 1 — Motricidade na mastigação
- Fator 2 — Seletividade alimentar
- Fator 3 — Habilidades nas refeições
- Fator 4 — Comportamento inadequado relacionado às refeições
- Fator 5 — Comportamentos rígidos relacionados à alimentação
- Fator 6 — Comportamento opositor relacionado à alimentação
- Fator 7 — Alergias e intolerância alimentar

Fonte: Dados da pesquisa.

6 DISCUSSÃO

Os achados deste estudo indicam, como eixo central, a presença de uma correlação positiva consistente entre IL-6, TNF- α e β -NGF, observada tanto na amostra total quanto, com variações de magnitude, nas análises estratificadas por faixa etária. Na análise global, a correlação forte entre IL-6 e TNF- α , acompanhada das associações positivas entre ambas e β -NGF, sugere que esses mediadores não se comportaram como marcadores isolados, mas como componentes de uma mesma rede biológica. Esse padrão desloca a interpretação de uma lógica centrada em analitos individualizados para uma perspectiva de organização neuroimune-neurotrófica, mais compatível com a heterogeneidade biológica do TEA e com a noção contemporânea de subgrupos fisiopatológicos dentro do espectro (ESTES; MCALLISTER, 2015; MASI et al., 2015; SAGHAZADEH et al., 2019).

Essa leitura é coerente com a literatura sobre neuroinflamação no TEA. Evidências acumuladas indicam que a ativação imune inata, a disfunção de micróglia e astrócitos e a liberação de citocinas pró-inflamatórias podem participar de alterações de plasticidade sináptica, poda neuronal e homeostase do desenvolvimento cerebral. Em termos mecanísticos, IL-1 β , IL-6 e TNF- α estão ligadas à ativação de vias como NF- κ B, JAK/STAT, MAPK e inflamassoma NLRP3, que amplificam a resposta inflamatória e podem manter um estado de neuroinflamação de baixo grau, com repercussões sobre excitabilidade neuronal, comunicação neurônio-glia e dinâmica sináptica. Assim, a forte associação entre IL-6 e TNF- α observada nesta pesquisa não parece representar mera coexistência casual, mas possivelmente a expressão periférica de um eixo inflamatório coordenado (DANTZER et al., 2008; HUGHES; MILNER; ASHWOOD, 2023; XIONG et al., 2023).

A presença do β -NGF nesse eixo merece destaque especial. Embora classicamente reconhecido por seu papel no crescimento, sobrevivência e diferenciação neuronal, o NGF também participa ativamente da comunicação entre sistema nervoso e sistema imune. Estudos experimentais e revisões translacionais mostram que TNF- α e NGF podem estabelecer circuitos de retroalimentação positiva, nos quais mediadores inflamatórios favorecem a expressão de neurotrofinas e, em contrapartida, estas também contribuem para a manutenção da inflamação. Em outras palavras, o β -NGF pode operar, ao mesmo tempo, como molécula neurotrófica e como modulador inflamatório, o que torna biologicamente plausível sua associação positiva com IL-6 e TNF- α na saliva de

crianças e adolescentes com TEA (MINNONE; DE BENEDETTI; BRACCI-LAUDIERO, 2017; TAKEI; LASKEY, 2008; ALOE et al., 2012).

Do ponto de vista farmacológico, essa interface pode ser compreendida à luz dos sistemas receptoriais envolvidos. As neurotrofinas exercem seus efeitos principalmente por meio dos receptores tirosina-quinase Trk, especialmente TrkA e TrkB, acionando vias intracelulares relacionadas à sobrevivência neuronal, plasticidade, remodelamento sináptico e transcrição gênica dependente de atividade. Paralelamente, a sinalização inflamatória por citocinas depende de receptores próprios e de cascatas que convergem para programas transcricionais inflamatórios. Quando inflamação e neurotrofia permanecem persistentemente ativadas, a resposta biológica final tende a refletir não apenas estimulação, mas também mecanismos de adaptação, retroalimentação e compensação (HUANG; REICHARDT, 2001; CHAO, 2003).

Nesse contexto, a variabilidade do BDNF e da IL-1 β na presente amostra pode ser interpretada de forma particularmente relevante. Enquanto IL-6, TNF- α e β -NGF configuraram um eixo mais estável, BDNF e IL-1 β mostraram comportamento menos uniforme entre os grupos. Uma hipótese plausível é que essas duas moléculas sejam mais sensíveis a fatores moduladores, como estágio do desenvolvimento, exposição a estressores, condições clínicas associadas, padrão alimentar, sono, uso de medicamentos e mecanismos de adaptação receptorial. A literatura mostra que a exposição prolongada a determinados estímulos pode induzir dessensibilização funcional, downregulation de receptores ou regulação negativa das vias downstream. No caso do BDNF, alterações da responsividade de TrkB já foram descritas em situações de ativação sustentada; para IL-6, a própria via JAK/STAT sofre modulação negativa por proteínas como SOCS3, que limitam a sinalização em contextos de estímulo persistente. Assim, mais do que “tolerância dos receptores” em sentido estrito, pode haver regulação compensatória da sensibilidade biológica, o que ajudaria a explicar por que algumas associações perdem linearidade em contextos de estresse e inflamação crônicos (GAO et al., 2018).

A estratificação por faixa etária acrescenta densidade à interpretação dos resultados. O grupo de 2 a 4 anos mostrou maior coesão entre os biomarcadores, inclusive com correlação muito forte entre IL-6 e TNF- α e maior integração relativa do BDNF. Já nos grupos de 5 a 9 anos e de 10 a 17 anos, o eixo IL-6/TNF- α / β -NGF permaneceu presente, mas o BDNF tornou-se menos integrado, e IL-1 β passou a ocupar posição mais periférica. Esse padrão é compatível com a noção de que os perfis inflamatórios e neurotróficos no TEA são modulados pelo desenvolvimento. Metanálises em TEA já

apontaram que idade, sexo e outras variáveis amostrais influenciam a magnitude e até a direção de alterações de citocinas periféricas, o que reforça a importância de interpretar os biomarcadores dentro de uma perspectiva desenvolvimental, e não como marcadores fixos ao longo da infância e da adolescência (SAGHAZADEH et al., 2019; MOLLOY; GALLAGHER, 2022).

Outro resultado que merece discussão aprofundada é a correlação negativa entre IMC e β -NGF no grupo de 2 a 4 anos. Esse achado é particularmente instigante porque não acompanha, de forma direta, parte da literatura pediátrica geral, na qual BDNF e β -NGF salivares mostraram associação positiva com medidas antropométricas em crianças com obesidade. Em crianças e adolescentes com TEA, também já foi descrita associação entre excesso de peso e aumento de monócitos, reforçando a ideia de que sobrepeso e inflamação periférica podem caminhar juntos. O presente resultado, portanto, não deve ser interpretado como contraditório de maneira simplista, mas como indicativo de que, em crianças mais novas com TEA, a relação entre estado nutricional, neurotrofia e inflamação pode seguir dinâmica própria, talvez mais dependente de janela desenvolvimental, padrão alimentar, composição corporal ainda em transição e heterogeneidade clínica do grupo (SELVARAJU; BABU; GEETHA, 2022; GONÇALVES et al., 2023).

A partir disso, uma hipótese gerada por este estudo é a existência de dois padrões simultâneos dentro da amostra. O primeiro seria um padrão relativamente estável, representado pelo eixo IL-6/TNF- α / β -NGF, possivelmente associado a uma resposta neuroimune mais robusta e integrada. O segundo seria um padrão mais sensível a moduladores contextuais, representado sobretudo por BDNF e IL-1 β , no qual variáveis como idade, IMC, alimentação, renda familiar e características clínicas individuais exerceriam maior influência. Essa hipótese é relevante porque sugere que a biologia periférica do TEA pode não ser unificada, mas organizada em camadas: um núcleo de correlação mais consistente e uma periferia mais sujeita à regulação ambiental, farmacológica e desenvolvimental.

A possível influência do tratamento clínico e do uso de medicamentos também precisa ser considerada. Em populações com TEA, fármacos como risperidona e aripiprazol permanecem entre os mais utilizados para irritabilidade e disfunções comportamentais associadas. Há evidência de que o tratamento com risperidona em crianças com autismo pode modificar mediadores inflamatórios plasmáticos ao longo do tempo, o que sustenta a hipótese de que o início do tratamento, o tempo de uso e o perfil

farmacoterapêutico do participante possam interferir no padrão de biomarcadores observado em estudos transversais. Portanto, é biologicamente plausível que parte da heterogeneidade entre os grupos, sobretudo nos marcadores menos estáveis, reflita não apenas o fenótipo do TEA, mas também a modulação farmacológica em curso. Como o presente estudo não foi desenhado para estratificar formalmente os participantes segundo tempo de tratamento e medicação, essa interpretação deve ser lida como hipótese plausível, e não como conclusão causal (CHOI et al., 2014).

Essa hipótese farmacológica dialoga, inclusive, com a ideia de adaptação receptorial. Em contextos de estimulação biológica persistente, seja por mediadores inflamatórios, seja por neurotrofinas, o sistema tende a acionar mecanismos de contenção para evitar hiper-resposta sustentada. Assim, a menor integração de BDNF e IL-1 β em alguns estratos pode refletir um estado de regulação compensatória, no qual a exposição crônica a estresse, inflamação, alterações metabólicas e tratamento medicamentoso leve à modulação da sensibilidade receptorial e das vias intracelulares. Em linguagem farmacológica, isso se aproxima de um modelo de dessensibilização funcional, ainda que essa hipótese precise ser testada em estudos longitudinais com acompanhamento clínico e terapêutico mais detalhado.

Também merece atenção o fato de as associações com renda familiar, seletividade alimentar e idade materna terem se concentrado mais nos grupos extremos de idade. Isso sugere que a expressão periférica dos biomarcadores talvez seja mais permeável ao contexto em fases específicas do desenvolvimento. A associação positiva entre renda familiar e BDNF, observada em mais de um estrato, pode ser lida como marcador indireto de um contexto material e assistencial potencialmente mais favorável, enquanto as associações entre seletividade alimentar e menores níveis de IL-6 e TNF- α em adolescentes reforçam que o comportamento alimentar pode influenciar o fenótipo biológico de forma não linear. Em um transtorno tão heterogêneo quanto o TEA, essas interações entre biologia e contexto provavelmente são mais informativas do que a busca de um único biomarcador do autismo.

A escolha da saliva como matriz biológica permanece um dos pontos de maior originalidade e aplicabilidade translacional desta dissertação. Em crianças e adolescentes com TEA, a coleta salivar oferece vantagem prática inequívoca por ser não invasiva, melhor tolerada e mais factível em ambiente ambulatorial. Ao mesmo tempo, essa matriz exige cautela analítica, porque fatores orais e pré-analíticos podem influenciar os níveis detectados. Ainda assim, justamente por sua viabilidade clínica, a saliva se destaca como

alternativa promissora para estudos de estratificação biológica em populações pediátricas neurodiversas, o que confere relevância particular a esta pesquisa (SZABO; SLAVISH, 2021; HUGHES; MILNER; ASHWOOD, 2023).

Em síntese, esta dissertação contribui para o campo ao demonstrar, em uma amostra clínica real de crianças e adolescentes com TEA atendidos em serviço público de referência, que os biomarcadores salivares podem revelar um padrão relacional biologicamente plausível entre inflamação e sinalização neurotrófica. O principal achado foi a identificação de um eixo robusto entre IL-6, TNF- α e β -NGF, ao passo que IL-1 β e BDNF apresentaram comportamento mais variável e potencialmente mais sensível a moduladores clínicos, farmacológicos e desenvolvimentais. Mais do que propor um biomarcador diagnóstico, os resultados sugerem a utilidade de painéis relacionais e de uma leitura integrada entre imunidade, neurotrofia, desenvolvimento e contexto.

As limitações do estudo devem ser reconhecidas. O delineamento transversal impede inferências causais, a amostra de conveniência e de centro único limita a generalização dos achados, a ausência de grupo controle restringe comparações com crianças neurotípicas, e o número reduzido em alguns estratos aumenta a sensibilidade a oscilações amostrais. Além disso, a falta de estratificação sistemática por medicação, tempo de tratamento, estágio puberal e saúde bucal impede avaliar o peso de alguns confundidores relevantes. Ainda assim, o estudo apresenta originalidade por investigar simultaneamente citocinas inflamatórias e neurotrofinas na saliva de crianças e adolescentes com TEA, em contexto ambulatorial real, o que ainda é pouco explorado na literatura translacional.

Por fim, os dados apontam para a necessidade de estudos longitudinais, com amostras maiores, multicêntricas e com registro sistemático de medicações, tempo de tratamento, alimentação, sono, puberdade e saúde bucal. A hipótese mais promissora gerada por esta pesquisa é a de que exista, no TEA, um núcleo neuroimune mais estável, representado por IL-6, TNF- α e β -NGF, e um conjunto de mediadores mais sensíveis ao contexto clínico e terapêutico, como BDNF e IL-1 β . Testar essa hipótese poderá ajudar a compreender melhor subgrupos biológicos dentro do espectro e aproximar a pesquisa com biomarcadores da prática clínica de precisão.

7 CONCLUSÃO

Este estudo identificou, na amostra analisada, um padrão consistente de associação entre os biomarcadores salivares IL-6, TNF- α e β -NGF, tanto na análise global quanto nas estratificações por faixa etária. Em contraste, IL-1 β e BDNF apresentaram comportamento mais variável entre os grupos, sugerindo menor estabilidade relacional dentro da rede de biomarcadores investigada. Também foram observadas associações exploratórias entre biomarcadores e variáveis contextuais, especialmente IMC, renda familiar, seletividade alimentar e idade materna, o que reforça a necessidade de interpretar esses achados à luz do desenvolvimento e do contexto clínico.

Conclui-se que a saliva é uma matriz promissora para a investigação translacional de biomarcadores em crianças e adolescentes com TEA, especialmente por sua viabilidade e boa aplicabilidade em contexto ambulatorial pediátrico. A originalidade deste trabalho reside justamente em demonstrar, em população clínica real, que a análise salivar pode revelar uma interface biologicamente plausível entre inflamação e sinalização neurotrófica no TEA. Ainda assim, os resultados devem ser considerados exploratórios e insuficientes para inferências diagnósticas ou causais, devendo ser aprofundados em estudos longitudinais e com melhor controle de variáveis clínicas e terapêuticas.

REFERÊNCIAS

AKUTSU, F.; SUGINO, S.; WATANABE, M. et al. A highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay allows accurate measurements of brain-derived neurotrophic factor levels in human saliva. *F1000Research*, v. 14, p. 161, 2025. DOI 10.12688/f1000research.160304.2.

ALOE, L. et al. Nerve growth factor: from the early discoveries to the potential clinical use. *Journal of Translational Medicine*, [S. l.], v. 10, p. 239, 2012. DOI 10.1186/1479-5876-10-239.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5*. 5. ed. Arlington: American Psychiatric Publishing, 2013.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5-TR*. 5. ed. rev. Washington, DC: American Psychiatric Association Publishing, 2022.

ANESIADOU, S. et al. Salivary cortisol and alpha-amylase daily profiles and stress responses to an academic performance test and a moral cognition task in children with neurodevelopmental disorders. *Stress and Health*, v. 37, n. 1, p. 45-59, 2021. DOI 10.1002/smi.2971.

ARARIPE, B. L. et al. Profile of service use and barriers to access to care among Brazilian children and adolescents with autism spectrum disorders. *Brain Sciences*, v. 12, n. 10, e1421, 2022. DOI 10.3390/brainsci12101421.

BANDEIRA, L. V. S. et al. *Autism spectrum disorder association with socioeconomic and demographic factors: a case-control study*. Portuguese Journal of Public Health, v. 42, n. 1, p. 15-22, 2024. DOI 10.1159/000534840.

BANDEIRA, S. M. A. *Efeitos do baricitinibe sobre a neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeo: estudo in vitro em células PC12 e astrócitos e in vivo em camundongos*. 2025. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2025.

BANDINI, L. G. et al. Food selectivity in children with autism spectrum disorders and typically developing children. *The Journal of Pediatrics*, v. 157, n. 2, p. 259-264, 2010. DOI 10.1016/j.jpeds.2010.02.013.

BHATTARAI, K. R.; KIM, H.-R.; CHAE, H.-J. Compliance with Saliva Collection Protocol in Healthy Volunteers: Strategies for Managing Risk and Errors. *International Journal of Medical Sciences*, v. 15, n. 8, p. 823-831, 2018. DOI 10.7150/ijms.25146. Disponível em: <https://www.medsci.org/v15p0823.htm>. Acesso em: 5 mar. 2026.

BJØRKLUND, G. et al. Gastrointestinal alterations in autism spectrum disorder: what do we know? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 118, p. 111-120, 2020. DOI 10.1016/j.neubiorev.2020.06.033.

BOUGEARD, C.; PICARDI, A.; SCHNEIDER, T.; et al. Prevalence of autism spectrum disorder and co-morbidities in children and adolescents: a systematic literature

review. *Frontiers in Psychiatry*, v. 12, p. 744709, 2021. DOI 10.3389/fpsyt.2021.744709.

CAPIBARIBE, V. C. C. *Avaliação dos parâmetros neuroinflamatórios, adiposidade e expressão de pro-BDNF no SNC*. 2024. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2024.

CHAO, M. V. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways. *Nature Reviews Neuroscience*, [S. l.], v. 4, n. 4, p. 299-309, 2003. DOI 10.1038/nrn1078.

CHOI, J. E. et al. Change in plasma cytokine levels during risperidone treatment in children with autism. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*, [S. l.], v. 24, n. 10, p. 586-589, 2014. DOI 10.1089/cap.2013.0108.

COHEN, S.; WILLS, T. A. Stress, social support, and the buffering hypothesis. *Psychological Bulletin*, v. 98, n. 2, p. 310-357, 1985.

DANTZER, R. et al. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 46-56, 2008. DOI 10.1038/nrn2297.

DHABHAR, F. S. Effects of stress on immune function: the good, the bad, and the beautiful. *Immunologic Research*, [S. l.], v. 58, n. 2-3, p. 193-210, 2014. DOI 10.1007/s12026-014-8517-0. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12026-014-8517-0>. Acesso em: 2 mar. 2026.

DIESCH, T. et al. Cytokines in saliva as biomarkers of oral and systemic oncological or infectious diseases: a systematic review. *Cytokine*, v. 143, art. 155506, 2021. DOI 10.1016/j.cyto.2021.155506.

ENGEL, G. L. The need for a new medical model: a challenge for biomedicine. *Science*, v. 196, n. 4286, p. 129-136, 1977. DOI 10.1126/science.847460.

ESTES, M. L.; MCALLISTER, A. K. Immune mediators in the brain and peripheral tissues in autism spectrum disorder. *Nature Reviews Neuroscience*, [S. l.], v. 16, n. 8, p. 469-486, 2015. DOI 10.1038/nrn3978.

EVENEPOEL, M. et al. Oral microbiota in autistic children: diagnosis-related differences and associations with clinical characteristics. *Brain, Behavior, & Immunity - Health*, v. 38, art. 100801, 2024. DOI 10.1016/j.bbih.2024.100801.

FDA-NIH BIOMARKER WORKING GROUP. *BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource: glossary [Internet]*. Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US); Bethesda (MD): National Institutes of Health (US), 2016-. Revisão: 16 jan. 2025. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK338448/>. Acesso em: 7 jan. 2026.

FEY, J. M. H.; BIKKER, F. J.; HESSE, D. Saliva collection methods among children and adolescents: a scoping review. *Molecular Diagnosis & Therapy*, v. 28, p. 15-26, 2024. DOI 10.1007/s40291-023-00684-9.

FORTE, A. R. C. *Avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo, BDNF, citocinas inflamatórias e proteômica*. 2021. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2021.

GAO, Y. et al. The roles of SOCS3 and STAT3 in bacterial infection and inflammatory diseases. *Scandinavian Journal of Immunology*, [S. l.], v. 88, n. 6, e12727, 2018. DOI 10.1111/sji.12727.

GLOBAL BURDEN OF DISEASE STUDY 2021 AUTISM SPECTRUM COLLABORATORS. The global epidemiology and health burden of the autism spectrum: findings from the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet Psychiatry*, v. 12, n. 2, p. 111-121, 2025. DOI 10.1016/S2215-0366(24)00363-8. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39709974/>. Acesso em: 7 jan. 2026.

GONÇALVES, B. P. et al. Increased monocytes are associated with overweight in children and adolescents with autism spectrum disorder. *Nutrición Hospitalaria*, [S. l.], v. 40, n. 6, p. 1136-1143, 2023. DOI 10.20960/nh.04472.

GRANGER, D. A. et al. Focus on methodology: salivary bioscience and research on adolescence: an integrated perspective. *Journal of Adolescence*, v. 35, n. 4, p. 1081-1095, ago. 2012. DOI 10.1016/j.adolescence.2012.01.005.

GRIEP, R. H. et al. Validade de constructo de escala de apoio social do Medical Outcomes Study adaptada para o português no Estudo Pró-Saúde. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 21, n. 3, p. 703-714, 2005. DOI 10.1590/S0102-311X2005000300004.

HAYES, S. A.; WATSON, S. L. The impact of parenting stress: a meta-analysis of studies comparing the experience of parenting stress in parents of children with and without autism spectrum disorder. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, v. 43, p. 629-642, 2013. DOI 10.1007/s10803-012-1604-y.

HOLINGUE, C. et al. Prevalence of gastrointestinal symptoms among autistic individuals, with and without co-occurring intellectual disability. *Autism Research*, v. 16, n. 8, p. 1609-1618, 2023. DOI 10.1002/aur.2972. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37323113/>. Acesso em: 5 mar. 2026.

HU, C. et al. Microglia: synaptic modulator in autism spectrum disorder. *Frontiers in Psychiatry*, v. 13, p. 958661, 2022. DOI 10.3389/fpsy.2022.958661.

HUANG, E. J.; REICHARDT, L. F. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annual Review of Neuroscience*, [S. l.], v. 24, p. 677-736, 2001. DOI 10.1146/annurev.neuro.24.1.677.

HUGHES, H. K.; MILNER, B. L.; ASHWOOD, P. Innate immune dysfunction and neuroinflammation in autism spectrum disorder (ASD). *Brain, Behavior, and Immunity*, [S. l.], v. 108, p. 245-254, 2023. DOI 10.1016/j.bbi.2022.12.001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). *Censo Demográfico 2022: pessoas com deficiência e pessoas diagnosticadas com transtorno do espectro autista: resultados preliminares da amostra*. Rio de Janeiro: IBGE, 2025.

Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv102178.pdf>. Acesso em: 7 jan. 2026.

JANŠÁKOVÁ, K. et al. Potential of salivary biomarkers in autism research: a systematic review. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 19, art. 10873, 2021. DOI 10.3390/ijms221910873.

KORTENIEMI, J.; KARLSSON, L.; AATSINKI, A. Systematic review: autism spectrum disorder and the gut microbiota. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, v. 148, n. 3, p. 242-254, 2023. DOI 10.1111/acps.13587.

LAM, P. P.; DU, R.; PENG, S.; MCGRATH, C. P. J.; YIU, C. K. Y. Oral health status of children and adolescents with autism spectrum disorder: a systematic review of case-control studies and meta-analysis. *Autism*, v. 24, n. 5, p. 1047-1066, 2020. DOI 10.1177/1362361319877337.

LASHERAS, I. et al. Prevalence of gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorder: A meta-analysis. *Anales de Pediatría (English Edition)*, v. 99, n. 2, p. 102-110, 2023. DOI 10.1016/j.anpede.2023.07.003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37474417/>. Acesso em: 5 mar. 2026.

LÁZARO, C. P.; SIQUARA, G. M.; PONDÉ, M. P. Escala de Avaliação do Comportamento Alimentar no Transtorno do Espectro Autista: estudo de validação. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria*, v. 68, n. 4, p. 191-199, 2019. DOI 10.1590/0047-2085000000256.

LIMA, A. P. O. M. et al. *Comportamento alimentar disruptivo, aspectos nutricionais e neuroinflamação no TEA*. 2024. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2024.

LIU, S.-H.; SHI, X.-J.; FAN, F.-C.; CHENG, Y. Peripheral blood neurotrophic factor levels in children with autism spectrum disorder: a meta-analysis. *Scientific Reports*, v. 11, p. 15, 2021. DOI 10.1038/s41598-020-79080-w.

LORD, C. et al. *Autism spectrum disorder*. Nature Reviews Disease Primers, v. 6, n. 1, art. 5, 2020. DOI 10.1038/s41572-019-0138-4.

LYALL, K.; CROEN, L.; DANIELS, J.; et al. The Changing Epidemiology of *Autism Spectrum Disorders*. Annual Review of Public Health, v. 38, p. 81-102, 2017. DOI 10.1146/annurev-publhealth-031816-044318.

MAENNER, M. J. et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years — *Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network*, 11 sites, United States, 2020. MMWR Surveillance Summaries, v. 72, n. SS-2, p. 1-14, 24 mar. 2023. DOI 10.15585/mmwr.ss7202a1. Disponível em: <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/72/ss/ss7202a1.htm>. Acesso em: 5 mar. 2026.

MAKRIS, G. et al. Stress system activation in children and adolescents with autism spectrum disorder. *Frontiers in Neuroscience*, v. 15, art. 756628, 2022. DOI 10.3389/fnins.2021.756628.

MALLMANN, A. S. V. *Avaliação das citocinas pró-inflamatórias, níveis de BDNF e eixo HHA sob condição de estresse crônico*. 2019. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

MANGHI, P. et al. Large-scale metagenomic analysis of oral microbiomes in autism spectrum disorder. *Nature Communications*, v. 15, 2024. DOI 10.1038/s41467-024-53934-7.

MASI, A. et al. Cytokine aberrations in autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis. *Molecular Psychiatry*, [S. l.], v. 20, n. 4, p. 440-446, 2015. DOI 10.1038/mp.2014.59.

MATIN, M. J. et al. Measuring nerve growth factor in saliva by immunoassay: A cautionary note. *Psychoneuroendocrinology*, v. 63, p. 235-237, 2016. DOI 10.1016/j.psyneuen.2015.09.030. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26519777/>. Acesso em: 5 mar. 2026.

MCEWEN, B. S. Protective and damaging effects of stress mediators. *New England Journal of Medicine*, v. 338, n. 3, p. 171-179, 1998. DOI 10.1056/NEJM199801153380307.

MINNONE, G.; DE BENEDETTI, F.; BRACCI-LAUDIERO, L. NGF and its receptors in the regulation of inflammatory response. *International Journal of Molecular Sciences*, [S. l.], v. 18, n. 5, p. 1028, 2017. DOI 10.3390/ijms18051028.

MOLLOY, C. J.; GALLAGHER, L. Can stratification biomarkers address the heterogeneity of autism spectrum disorder? *Irish Journal of Psychological Medicine*, [S. l.], v. 39, n. 3, p. 305-311, 2022. DOI 10.1017/ipm.2021.73.

MORTAZAVI, H.; YOUSEFI-KOMA, A.-A.; YOUSEFI-KOMA, H. Extensive comparison of salivary collection, transportation, preparation, and storage methods: a systematic review. *BMC Oral Health*, v. 24, n. 1, p. 168, 2024. DOI 10.1186/s12903-024-03902-w.

MUKAKA, M. M. A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Medical Journal*, v. 24, n. 3, p. 69-71, set. 2012. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3576830/>. Acesso em: 5 mar. 2026.

NAM, J.-W. et al. Nerve growth factor concentration in human saliva. *Oral Diseases*, v. 13, n. 2, p. 187-192, 2007. DOI 10.1111/j.1601-0825.2006.01265.x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17305621/>. Acesso em: 5 mar. 2026.

NOMURA, J.; MARDO, M.; TAKUMI, T. Molecular signatures from multi-omics of autism spectrum disorders and schizophrenia. *Journal of Neurochemistry*, v. 159, n. 4, p. 647-659, 2021. DOI 10.1111/jnc.15514.

PANVINO, F.; PAPARELLA, R.; TARANI, F. et al. Neurotrophins in Neurodevelopmental Disorders: A Narrative Review of the Literature. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 26, n. 17, p. 8335, 2025. DOI 10.3390/ijms26178335.

PONDÉ, M. P. et al. A validation study of the LABIRINTO scale for the evaluation of autism spectrum disorder in children aged 2 to 4 years. *Trends in Psychiatry and Psychotherapy*, v. 43, n. 4, p. 320-328, 2021. DOI 10.47626/2237-6089-2020-0141.

RIIS, J. L. et al. Best practice recommendations for the measurement and interpretation of salivary proinflammatory cytokines in biobehavioral research. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 91, p. 105-116, 2021. DOI 10.1016/j.bbi.2020.09.009.

RINDERKNECHT, C. et al. Associations between salivary cytokines and oral health, age, and sex in healthy children. *Scientific Reports*, v. 12, art. 15991, 2022. DOI 10.1038/s41598-022-20475-2.

SAGHAZADEH, A. et al. A meta-analysis of pro-inflammatory cytokines in autism spectrum disorders: effects of age, gender, and latitude. *Journal of Psychiatric Research*, [S. l.], v. 115, p. 90-102, 2019. DOI 10.1016/j.jpsychires.2019.05.019.

SAMBORSKA-MAZUR, J. et al. Salivary Cytokine Profile as a Possible Predictor of Autism Spectrum Disorder. *Journal of Clinical Medicine*, v. 9, n. 10, art. 3101, 2020. DOI 10.3390/jcm9103101. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32992922/>. Acesso em: 5 mar. 2026.

SAMI, W. et al. Oral health statuses of children and young adults with autism spectrum disorder: an umbrella review. *Journal of Clinical Medicine*, v. 13, n. 1, art. 59, 2024. DOI 10.3390/jcm13010059.

SATTERSTROM, F. K. et al. Large-Scale Exome Sequencing Study Implicates Both Developmental and Functional Changes in the Neurobiology of Autism. *Cell*, v. 180, n. 3, p. 568-584.e23, 2020. DOI 10.1016/j.cell.2019.12.036.

SCHOPLER, E.; REICHLER, R. J.; RENNER, B. R. *The Childhood Autism Rating Scale (CARS)*. Los Angeles: Western Psychological Services, 1980.

SELVARAJU, V.; BABU, J. R.; GEETHA, T. Salivary Neurotrophins Brain-Derived Neurotrophic Factor and Nerve Growth Factor Associated with Childhood Obesity: A Multiplex Magnetic Luminescence Analysis. *Diagnostics*, v. 12, n. 5, art. 1130, 2022. DOI 10.3390/diagnostics12051130. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-4418/12/5/1130>. Acesso em: 5 mar. 2026.

SHAW, K. A.; WILLIAMS, S.; PATRICK, M. E.; et al. Prevalence and Early Identification of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 4 and 8 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 16 Sites, United States, 2022. *MMWR Surveillance Summaries*, v. 74, n. SS-2, p. 1-22, 2025. DOI 10.15585/mmwr.ss7402a1. Disponível em: <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/74/ss/ss7402a1.htm>. Acesso em: 7 jan. 2026.

SHERBOURNE, C. D.; STEWART, A. L. The MOS social support survey. *Social Science & Medicine*, v. 32, n. 6, p. 705-714, 1991. DOI 10.1016/0277-9536(91)90150-B.

SLAVICH, G. M. Social Safety Theory: a biologically based evolutionary perspective on life stress, health, and behavior. *Annual Review of Clinical Psychology*, v. 16, p. 265-295, 2020. DOI 10.1146/annurev-clinpsy-032816-045159.

SPOTO, G. et al. The ambiguous role of growth factors in autism: what do we really know? *International Journal of Molecular Sciences*, v. 26, n. 4, p. 1607, 2025. DOI 10.3390/ijms26041607.

SZABO, Y. Z.; SLAVISH, D. C. Measuring salivary markers of inflammation in health research: a review of methodological considerations and best practices. *Psychoneuroendocrinology*, v. 124, p. 105069, 2021. DOI 10.1016/j.psyneuen.2020.105069.

TAKEI, Y.; LASKEY, R. Interpreting crosstalk between TNF-alpha and NGF: potential implications for disease. *Trends in Molecular Medicine*, [S. l.], v. 14, n. 9, p. 381-388, 2008. DOI 10.1016/j.molmed.2008.07.002.

TSILIONI, I. et al. IL-38 inhibits microglial inflammatory mediators and is decreased in amygdala of children with autism spectrum disorder. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 117, n. 28, p. 16475-16484, 2020.

TUMEDEI, M.; CENZATO, N.; PANDA, S.; GOKER, F.; DEL FABBRO, M. Salivary Biomarkers for Early Detection of Autism Spectrum Disorder: a scoping review. *Oral*, v. 5, n. 3, p. 56, 2025. DOI 10.3390/oral5030056.

UCHINO, B. N. et al. Social support, social integration, and inflammatory cytokines: a meta-analysis. *Health Psychology*, v. 37, n. 5, p. 462-471, 2018. DOI 10.1037/hea0000594.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Autism*. 2025. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/autism-spectrum-disorders>. Acesso em: 7 jan. 2026.

XIONG, Y. et al. Microglia and astrocytes underlie neuroinflammation and synaptic pruning in autism spectrum disorder. *Frontiers in Neuroscience*, v. 17, art. 1125428, 2023. DOI 10.3389/fnins.2023.1125428.

XU, S. et al. Methodological considerations in saliva-based biomarker research: addressing patient-specific variability in translational research protocols. *Current Protocols*, v. 5, n. 10, e70235, 2025. DOI 10.1002/cpz1.70235.

ZHAO, H. et al. Association of Peripheral Blood Levels of Cytokines With Autism Spectrum Disorder: a meta-analysis. *Frontiers in Psychiatry*, v. 12, art. 670200, 2021. DOI 10.3389/fpsy.2021.670200.

ZHENG, Z. et al. Peripheral blood levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 1-11, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep27806>. Acesso em: 2 mar. 2026.

ZHUANG, H.; LIANG, Z.; MA, G.; et al. *Autism spectrum disorder: pathogenesis, biomarker, and intervention therapy*. MedComm (2020), v. 5, n. 3, e497, 2024. DOI 10.1002/mco2.497. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10908366/>. Acesso em: 7 jan. 2026.