

CÉLULAS SANGUÍNEAS DA SÉRIE BRANCA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM AUTISMO

BÁRBARA PETER GONÇALVES¹; EDUARDA SOUZA DA SILVA²
REGINA HOBUS³; GIULIA CUNHA PEREIRA⁴; JULIANA DOS SANTOS VAZ⁵;
SANDRA COSTA VALLE⁶

¹ Universidade Federal de Pelotas – barbarapeterg@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – 98silvaeduarda@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – reginahobus2010@hotmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – giuliacpereira@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas – juliana.vaz@gmail.com

⁶ Universidade Federal de Pelotas – sandracostavalle@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O Transtorno do Espectro do Autismo (TEA) é uma desordem do neurodesenvolvimento infantil, caracterizada por comprometimento na interação social, comunicação e presença de padrões restritos e repetitivos de comportamentos e interesses (DSM-V, 2013). O TEA é uma condição multigênica e multifatorial com combinação de variantes genéticas raras e comuns e fatores ambientais. As formas não sindrômicas têm uma herança multifatorial associada a riscos ambientais e genéticos em uma combinação de característica aditiva. Alterações no sistema imunológico e na neuroinflamação estão implicadas no desenvolvimento e na severidade dos sintomas (BJØRKLUND et al., 2016; NURMALIA et al., 2020; HESAPCIOGLU et al., 2017; KUTLU AND CEVHER BINICI, 2018).

A concentração de leucócitos e das subpopulações neutrófilos, linfócitos e monócitos, bem como das citocinas liberadas por estas células foram associadas a um estado inflamatório crônico e preditores no diagnóstico e severidade dos sintomas de autismo (HESAPCIOGLU et al., 2017; KUTLU AND CEVHER BINICI, 2018).

A contagem de leucócitos e de suas subpopulações celulares são marcadores clínicos de processos inflamatórios e podem ser acessados por um exame de sangue de baixa complexidade, o hemograma. Alterações na concentração sérica destas células estão presentes em casos de excesso de peso e patologias de causas imunológicas, bem como nos casos de neuroinflamação, investigados em indivíduos do TEA (OLIVEIRA et al., 2014; KELISHADI et al., 2017; BJØRKLUND et al., 2016).

O objetivo deste trabalho foi investigar a concentração sérica de células sanguíneas da série branca segundo características sociodemográficas e clínicas de crianças e adolescentes com autismo.

2. METODOLOGIA

Estudo transversal, realizado entre outubro de 2018 a março de 2020 no Núcleo de Neurodesenvolvimento, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS. Foram incluídos 97 crianças e adolescentes elegíveis, com idade entre três a dezoito anos, diagnosticadas com TEA, que não tivessem diagnóstico médico de neuropatias e cardiopatia congênita cujos pais ou responsáveis manifestassem interesse de participar da pesquisa, não houve recusas. Vinte e dois pacientes não realizaram os exames bioquímicos por apresentarem dificuldade na coleta de sangue e foram excluídos do estudo, representando 22% de perdas, ao todo foram incluídos 75 pacientes nesse estudo.



As variáveis de exposição analisadas foram as sociodemográficas: escolaridade do cuidador (<8 e ≥ 9 anos de estudo), renda familiar (<1 e ≥ 1 salário mínimo), idade da criança/adolescente (≤ 5 anos, de 6 a 10 anos e ≥ 11 anos), sexo (masculino e feminino), cor da pele (branca e não branca), uso de antipsicótico (sim ou não), horas de sono (<7 e ≥ 7 horas), obtidas de um questionário geral, estado nutricional através do índice de massa corporal (IMC) para idade. Para o cálculo de IMC foram coletadas medidas antropométricas de altura e peso, por nutricionistas previamente treinados e padronizados. Os pacientes foram pesados com roupas leves, em balança digital (TRENTIN®) com capacidade de 150 kg e precisão de 100 g. A estatura foi obtida com estadiômetro vertical acoplado a balança com 213 cm e precisão de 0,1 cm. A avaliação do estado nutricional dos participantes foi realizada por meio do índice de massa corporal (IMC) de acordo com a idade em escore-z, utilizando o software Anthro® e Anthro Plus®. Para tanto, foi utilizado como referência a proposta da OMS de 2006 e 2007. O estado nutricional foi avaliado sem excesso de peso considerando $IMC \leq +1$ escore-z e com excesso peso $IMC > +1$ escore-z.

O desfecho estudado foi a concentração sérica de leucócitos totais, neutrófilos, linfócitos e monócitos. Para isso, foi realizado coleta de sangue sem jejum, em laboratório de análises clínicas através de punção venosa. As amostras foram analisadas por citometria de fluxo seguindo as instruções do fabricante. As amostras de sangue foram imediatamente analisadas em equipamento automático para determinação da contagem total do número de leucócitos e suas subpopulações.

Todos os dados foram duplamente digitados no EpiData® versão 3.1 e analisados no software Stata® versão 13. A distribuição das variáveis foi avaliada pelo teste de *Shapiro Wilk*. Para comparar variáveis simétricas entre dois ou três grupos de exposição utilizou-se o teste T de Student e Anova, respectivamente, para comparar as variáveis assimétricas entre dois grupos utilizou-se *Mann-Whitney* e para três grupos de exposição utilizou-se o teste de *Kruskal Wallis*. Os resultados são apresentados como frequência absoluta e relativa, mediana e intervalo interquartil (IIQ), média e desvio padrão (DP). Foi considerado um nível de significância de 5%. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas, sob protocolo nº 2.835.793. O termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado pelos responsáveis das crianças e adolescentes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Participaram do estudo 75 crianças e adolescentes com TEA com idade média de $8,2 \pm 3,4$ anos, a maioria era do sexo masculino (77,3%), de cor da pele branca (78,6%) e com idade entre 6 a 10 anos (46,6%). A maioria dos pacientes possuíam renda familiar superior a um salário mínimo (72,0%) e a escolaridade do cuidador principal correspondeu a nove anos de estudo (62,5%) (Tabela 1). Resultados similares quanto ao perfil sociodemográfico do TEA foram observados por estudos similares (BAIO et al., 2018; LUÇARDO et al., 2021).

Quanto as características clínicas a maioria estava com excesso de peso (61,9%), fazia uso de antipsicótico (58,6%) e dormia sete horas por dia (84,9%). A concentração de leucócitos foi $8,0$ ($6,7 - 10,1$) mm^3 , neutrófilos $4,1$ ($3,0 - 4,9$) mm^3 , monócitos $473,0$ ($347,0 - 606,0$) mm^3 e linfócitos $3,1$ ($2,5 - 3,9$) mm^3 .

A concentração de leucócitos e de linfócitos foram estatisticamente menores na nas maiores faixas etárias. A queda da concentração das células sanguíneas da série branca é um fenômeno fisiológico devido a maturação de células imunes com



a idade. Outros fatores também influenciam os níveis destas células como a dieta, exercícios físicos, estado nutricional, doenças respiratórias e infecções parasitárias (TAHMASEBI et al., 2020).

O excesso de peso foi elevado nesta população, conforme observado em outros estudos que analisaram estado nutricional de indivíduos com TEA (CRIADO et al., 2017; KAMAL et al., 2019). As concentrações de leucócitos, neutrófilos e monócitos foram estatística e significativamente maiores nos pacientes com excesso de peso. Outros estudos encontraram resultados similares em crianças e adolescentes com desenvolvimento típico, os quais foram relacionados a presença de um estado inflamatório crônico (OLIVEIRA et al., 2014; TENÓRIO et al., 2014; KELISHADI et al., 2017).

Tabela1: Concentração sérica de leucócitos totais, neutrófilos, monócitos e linfócitos de acordo com características sociodemográficas e clínicas de crianças e adolescentes com autismo. Núcleo de Neurodesenvolvimento, Pelotas, 2018-2020 (n=75).

| Variáveis | Distribuição amostral | | Leucócitos (mm ³) | Neutrófilos (mm ³) | Monócitos (mm ³) | Linfócitos (mm ³) |
|---|-----------------------|-------|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| | N | % | Mediana (IIQ) | Mediana (IIQ) | Média (DP) | Mediana (IIQ) |
| Sociodemográficas | | | | | | |
| Escolaridade cuidador (anos) ¹ | | | | | | |
| < 8 | 27 | 37,50 | 8,0 (6,4-10,0) | 3,7 (3,1-4,6) | 500,5 (177,7) | 2,8 (2,4-4,1) |
| >9 | 45 | 62,50 | 7,9 (7,1-10,1) | 4,2 (2,9-5,5) | 485,1 (220,3) | 3,1 (2,6-3,7) |
| p | | | 0,564 ⁵ | 0,425 ⁵ | 0,759 ⁷ | 0,944 ⁵ |
| Renda | | | | | | |
| < 1 SM | 21 | 28,00 | 8,6 (7,2-11,5) | 4,2 (3,3-5,5) | 495,5 (209,6) | 3,0 (2,7-4,1) |
| >1 SM | 54 | 72,00 | 7,9 (6,7-10,0) | 3,9 (3,9-4,8) | 487,9 (198,4) | 3,2 (2,5-3,9) |
| p | | | 0,490 ⁵ | 0,376 ⁵ | 0,884 ⁷ | 0,953 ⁵ |
| Idade (anos) | | | | | | |
| ≤ 5 | 20 | 26,67 | 10,3 (6,6-11,4) | 3,8 (2,9-6,2) | 479,0 | 4,0 (2,7-5,4) |
| 6 a 10 | 35 | 46,67 | 7,7 (7,1-9,9) | 3,7 (3,1-4,9) | 492,0 | 3,1 (2,6-3,6) |
| ≥ 11 anos | 20 | 26,67 | 7,9 (6,2-9,3) | 4,4 (3,0-4,4) | 497,0 | 2,6 (2,2-3,4) |
| p | | | 0,114 ⁶ | 0,941 ⁶ | 0,915 ⁸ | 0,013 ⁶ |
| Sexo | | | | | | |
| Masculino | 58 | 77,33 | 8,0 (7,0-10,0) | 4,0 (3,0-4,9) | 489,2 (186,6) | 3,3 (2,6-3,9) |
| Feminino | 17 | 22,67 | 7,9 (6,6-10,4) | 4,3 (3,3-5,5) | 493 (247,6) | 2,7 (2,4-4,1) |
| p | | | 0,995 ⁵ | 0,560 ⁵ | 0,94 ⁷ | 0,265 ⁵ |
| Cor da pele | | | | | | |
| Branca | 59 | 78,67 | 8,0 (6,6-10,0) | 3,9 (3,0-4,8) | 497,6 (208,1) | 3,0 (2,5-3,9) |
| Não branca | 16 | 21,33 | 8,7 (6,9-10,5) | 4,4 (3,1-5,0) | 462,3 (170,6) | 3,3 (2,5-4,0) |
| p | | | 0,636 ⁵ | 0,604 ⁵ | 0,535 ⁷ | 0,717 ⁵ |
| Clinicas | | | | | | |
| Antipsicótico | | | | | | |
| Faz uso | 44 | 58,67 | 7,9 (7,0-10,0) | 4,0 (2,9-4,8) | 506,2 (214,0) | 3,2 (2,5-3,9) |
| Não usa | 31 | 41,33 | 9,0 (6,6-10,4) | 4,1 (3,1-5,5) | 467,2 (179,6) | 3,0 (2,6-3,9) |
| p | | | 0,643 ⁵ | 0,655 ⁵ | 0,410 ⁷ | 0,927 ⁵ |
| Estado Nutricional ^{2,3} | | | | | | |
| Com excesso peso | 44 | 61,97 | 9,2 (7,3-10,5) | 4,4 (3,4-5,5) | 522,3 (213,3) | 3,3 (2,6-4,5) |
| Sem excesso peso | 27 | 38,03 | 7,3 (6,3-9,9) | 3,3 (2,8-4,6) | 419,5 (160,8) | 3,0 (2,5-4,1) |
| p | | | 0,057 ⁵ | 0,030 ⁵ | 0,034 ⁷ | 0,430 ⁵ |
| Sono ⁴ | | | | | | |
| < 7 horas | 11 | 15,07 | 7,7 (6,4-9,9) | 4,1 (2,9-5,4) | 416,4 (168,8) | 2,8 (2,5-4,9) |
| ≥7 horas | 62 | 84,93 | 8,0 (7,0-10,1) | 4,0 (3,1-4,9) | 503,2 (204,2) | 3,2 (2,5-3,9) |
| p | | | 0,557 ⁵ | 0,926 ⁵ | 0,188 ⁷ | 0,746 ⁵ |

¹ Variável com 3 dados faltantes; ²Classificada pelo escore Z do índice de massa corporal (IMC-z) para a idade, sem excesso peso: IMC-z≤1, com excesso peso IMC-z >1; ³Variável com 4 dados faltantes; ⁴ Variável com 2 dados faltantes; ⁵ P valor refere-se ao teste Mann Whitney; ⁶P valor refere-se ao teste Kruskall Wallis; ⁷ P valor refere-se ao teste T Student; ⁸ P valor refere-se ao teste Anova.

4. CONCLUSÕES



A concentração de células sanguíneas da série branca foi associada ao excesso de peso em crianças e adolescentes com autismo. Em particular, o aumento dos monócitos na presença de excesso de peso é um fator de risco ao dano endotelial.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION, A. P. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM-V.** 5º.p. 948, 2013.

BAIO, J. et al. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2014. **MMWR Surveill Summ**, v. 67, n. 6, p. 1-23, 2018.

BJØRKlund G. et al. Immune dysfunction and neuroinflammation in autism spectrum disorder. **Acta Neurobiol Exp**, v. 76: 257–268, 2016.

CRIADO KK. et al. Status de sobrepeso e obesidade em crianças com transtorno do espectro do autismo e comportamento perturbador. **Autism: the International Journal of Research and Practice**, v.22, n.4, p.450-459, 2018.

HESAPCIOGLU ST. et al. High monocyte level and low lymphocyte to monocyte ratio in autism spectrum disorders, **International Journal of Developmental Disabilities**, v. 10, n.45, 2017.

KAMAL NN; GHOZALI AH; ISMAIL J. Prevalence of Overweight and Obesity Among Children and Adolescents With Autism Spectrum Disorder and Associated Risk Factors. **Frontiers in pediatrics**. v.7 n.38, 2019.

KELISHADI, R. et al. Association of childhood obesity and the immune system: a systematic review of reviews. **Childhood Obesity**, v. 13, n. 4, p. 332-346, 2017

KUTLU A, CEVHER BINICI N. Does increased neutrophil-lymphocyte ratio predict autism spectrum disorder? **Anadolu Psikiyatri Derg**, v.19, n6, p. 607-614, 2018

LUÇARDO JC. et al. Interest in food and triglyceride levels in children and adolescents with autistic spectrum disorder. **J Pediatr**. v.97,n.1, p.103-108, 2021.

NURMALIA PS. et al. The Diagnostic Value of Neutrophil-Lymphocyte Ratio in Diagnosis of Autism Spectrum Disorders Indonesian **Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory**, v. 26, n.3, p. 356 – 361, 2020.

OLIVEIRA, TMS; et al. Estado nutricional, alterações metabólicas e células brancas na adolescência. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 32, p. 351-359, 2014.

TAHMASEBI H. et al. CALIPER Hematology Reference Standards (I): Improving Laboratory Test Interpretation in Children (Beckman Coulter DxH 900 – Core Laboratory Hematology System), **American Journal of Clinical Pathology**, v. 154, n.3, p. 330–341, 2020.

TENÓRIO, TR. et al. Relação entre contagem de leucócitos, adiposidade e aptidão cardiorrespiratória em adolescentes púberes. **Einstein (São Paulo, Brasil)** , v. 12, n.4, p.420-424, 2014.