

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC  
CURSO DE FARMÁCIA**

**NATALIA DOS SANTOS TRAMONTIN**

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES PLASMÁTICOS DE DEFICIÊNCIA  
INTELLECTUAL EM CRIANÇAS ENCAMINHADAS AO CENTRO  
ESPECIALIZADO EM REABILITAÇÃO II LOCALIZADO NA UNIVERSIDADE  
DO EXTREMO SUL CATARINENSE**

**CRICIÚMA**

**2019**

**NATALIA DOS SANTOS TRAMONTIN**

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES PLASMÁTICOS DE DEFICIÊNCIA  
INTELLECTUAL EM CRIANÇAS ENCAMINHADAS AO CENTRO  
ESPECIALIZADO EM REABILITAÇÃO II LOCALIZADO NA UNIVERSIDADE  
DO EXTREMO SUL CATARINENSE**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado para  
obtenção do grau de Bacharel, no curso de  
Farmácia da Universidade do Extremo Sul  
Catarinense, UNESC.

Orientador(a): Prof. Dr. Paulo Cesar Lock Silveira

Coorientador (a): Prof. Dr Alexandre Pastoris  
Muller

**CRICIÚMA**

**2019**

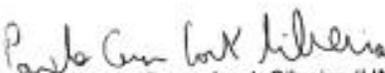
NATALIA DOS SANTOS TRAMONTIN

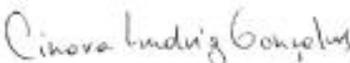
**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES PLASMÁTICOS DE DEFICIÊNCIA  
INTELLECTUAL EM CRIANÇAS ENCAMINHADAS AO CENTRO  
ESPECIALIZADO EM REABILITAÇÃO II LOCALIZADO NA UNIVERSIDADE  
DO EXTREMO SUL CATARINENSE.**

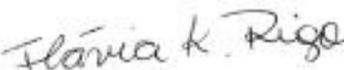
Trabalho de Conclusão de Curso  
aprovado pela Banca Examinadora para  
obtenção do Grau de Bacharel, no Curso  
de Farmácia da Universidade do Extremo  
Sul Catarinense, UNESC.

Criciúma, 12 de novembro de 2019.

**BANCA EXAMINADORA**

  
Orientador: Prof. Paulo Cesar Lock Silveira (UNESC)

  
Banca Examinadora: Profª. Cinara Ludvig Gonçalves (UNESC)

  
Banca Examinadora: Profª. Flávia Karine Rigo (UNESC)

Dedico este trabalho aos meus pais, avós e demais familiares, orientadores, professores e amigos que sempre me apoiaram em toda essa caminhada.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer a uma força maior chamada Deus, que de alguma forma me deu forças para continuar esses cinco anos sem desistir. Tenho que agradecer imensamente a minha mãe, a pessoa mais importante da minha vida, que muitas vezes me consolou quando eu disse que estava cansada, me abraçou e disse o quanto eu sou capaz para tal. Ao meu pai/padrasto Giovane que sempre me incentivou e tomou uma cervejinha comigo para me deixar mais feliz. Agradeço também pai Giovani, que sempre ajudou como podia e que, da mesma forma, sempre me incentivou a fazer o que eu gosto. Aos meus avós, Idileta e Renato, que sempre se prontificaram quando eu precisei, principalmente neste último ano em que vim morar sozinha. A minha tia Paula, que sempre me aconselhou muito bem e me fez rir até chorar várias vezes. Agradeço a meu irmão e minha irmã, a futura pedagoga mais linda desse mundinho, por estarem sempre ao meu lado. Enfim, agradeço de coração a todos os familiares que estiveram presentes em toda essa caminhada, me apoiando e me ajudando quando precisei.

Aos mestres, agradeço primeiramente ao meu orientador Alexandre, obrigada de ter me aceitado no seu grupo de pesquisa, obrigada pelas broncas, conselhos e obrigada por me orientar à distância, eu não teria conseguido sem você, você é minha inspiração para quando eu “crescer”. Ao meu orientador Paulo, obrigada por me acolher e me ajudar quando eu precisei. Aos demais professores/orientadores, o meu muito obrigada também, cada um tem sua marca nesta caminhada.

Aos amigos, muito obrigada o Perito André, por alimentar minha curiosidade e meu amor pelo café, com toda a certeza você é uma das pessoas que me inspiram a ser melhor cada vez mais, obrigada por sempre me ensinar algo novo todos os dias e por me acolher de forma tão carinhosa todos os dias. A fofa Katherine, *Kellermana de Jesus*, o meu obrigadinho com muito amor, por me ajudar com a formatação do TCC, pelas plantinhas – que cuidarei com muito amor, e por me oferecer uma bebida quente quando eu precisei, pode ter certeza que isso fez uma diferença muito grande. Obrigada a Tuannynha do meu coração, pelos abraços carinhosos e pelas conversas, e Gis, por serem ótimas colegas de trabalho.

As minha amigas de laboratório, Isadora por me ouvir quando precisei e Lígia pelas conversas, ao meu amigo Gabriel, por ir no bar comigo e cuidar de mim, a Lari, por aparecer agora e por ser uma ótima colega de laboratório, obrigada aos demais colegas que não citei, mas são muito especiais também.

Aos colegas de turma, temos nossas diferenças, muitas vezes não nos demos tão bem, mas serão colegas que nunca esquecerei, alguns carregarei para sempre em meu coração.

Aos meus colegas da Farmácia Panvel, a Claudinha obrigada por me acolher tão bem e por lembrar de mim quando surgiu uma grande oportunidade, a Gerusa por me fazer rir demais, ao Glauco só uma frase resume: *Oh yes, né!?*, a Fernanda obrigada por me ensinar e aos demais colegas, obrigada por animar minhas manhãs!

Por fim, a todos que fizeram parte de toda essa caminhada, aos que não estão mais ao meu lado, aos colegas dos estágios que fiz, aos guias, aos amigos que encontrei neste percurso, obrigada, obrigada e obrigada, nada disso seria possível se não tivesse vocês na minha vida!

**“Nunca deixe ninguém te dizer que não pode fazer alguma coisa. Se você tem um sonho tem que correr atrás dele. As pessoas não conseguem vencer e dizem que você também não vai vencer. Se você quer uma coisa corra atrás.”**

**À procura da felicidade.**

**TRABALHO DE ACORDO COM AS NORMAS DA REVISTA DE INICIAÇÃO  
CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE**

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES PLASMÁTICOS DE DEFICIÊNCIA  
INTELLECTUAL EM CRIANÇAS ENCAMINHADAS AO CENTRO  
ESPECIALIZADO EM REABILITAÇÃO II LOCALIZADO NA UNIVERSIDADE  
DO EXTREMO SUL CATARINENSE**

Natalia dos Santos Tramontin<sup>1\*</sup>

Dr. Paulo Cesar Lock Silveira<sup>2</sup>

Dr Alexandre Pastoris Muller<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Curso de Farmácia – Universidade do Extremo Sul Catarinense / Criciúma, Santa Catarina, Brasil.

<sup>2</sup>Programa de pós graduação em Ciências da Saúde - Universidade do Extremo Sul Catarinense / Criciúma, Santa Catarina, Brasil.

<sup>3</sup>Programa de pós graduação em Farmacologia – Universidade Federal de Santa Catarina / Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

**Resumo:** Os processos que levam a deficiência intelectual (DI) ainda não estão completamente elucidados e a busca por marcadores que possam diagnosticar e auxiliar no tratamento de crianças com DI se faz necessário para tornar o seu aprendizado mais adequado e eficiente. Esse estudo tem como objetivo avaliar marcadores séricos de desenvolvimento neuronal, vitamina B12 e estresse oxidativo em crianças que apresentam deficiência cognitiva. A amostra da pesquisa foi composta por crianças que apresentaram algum comprometimento na aprendizagem escolar encaminhadas ao Centro Especializado em Reabilitação II (CERII) localizado na Universidade do Extremo Sul Catarinense. A pesquisa foi composta por Grupo Controle (GC) e Grupo Deficiência Intelectual (DI). Foi observado que pacientes que possuem DI apresentam diminuição do Fator de Crescimento Neuronal Beta (NGF- $\beta$ ), em relação ao grupo controle, assim como os níveis de vitamina B12, que apresentaram um padrão semelhante. Já os níveis de DCFH e carbonilação de

---

<sup>1\*</sup> Curso de Farmácia, Universidade do Extremo Sul Catarinense. Av. Universitária, 1105 Bairro Universitário, 88806-000 Criciúma, Santa Catarina, Brasil. Tel: +55-48-9 965423585; E-mail: [nataliastramontin@hotmail.com](mailto:nataliastramontin@hotmail.com)

proteínas aumentaram significativamente nos pacientes com DI. Esses resultados demonstram que alguns marcadores bioquímicos podem estar associados com o déficit cognitivo infantil e podem auxiliar, futuramente, no diagnóstico para o tratamento e acompanhamento precoce, a fim de fornecer ganho cognitivo e maior qualidade de vida a crianças com DI.

**Palavras-chave:** Deficiência intelectual infantil. Vitamina B12. Fator de Crescimento Neuronal Beta. Estresse oxidativo.

**Abstract:** The processes leading to intellectual problems (ID) are not yet fully understood and are sought by markers that can diagnose and assist in the treatment of children with ID if they are needed to make their learning more appropriate and efficient. This study aims to evaluate biological markers of neuronal development, vitamin B12 and oxidative stress in children with cognitive impairment. A sample of the research consisted of children who had some impairment in school learning referred to the Specialized Center for Rehabilitation II (CERII) located at the University of Santa Catarina. One research was composed by the Control Group (CG) and the Intellectual Disability Group (DI). It was observed that patients with DI had a fall in the Neuronal Growth Factor Beta (NGF- $\beta$ ), compared to the control group, such as vitamin B12 levels, which presented a similar pattern. There are already increased levels of DCFH and increased protein carbonylation in patients with ID. These results demonstrate that some biochemical markers may be associated with childhood cognitive impairment and may help, in the future, without diagnosis for early treatment and follow-up, in order to achieve cognitive gain and higher quality of life in children with ID.

**Keywords:** Child intellectual disability. B12 vitamin. Beta Neuronal Growth Factor. Oxidative stress.

# **AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES PLASMÁTICOS DE DEFICIÊNCIA INTELECTUAL EM CRIANÇAS ENCAMINHADAS AO CER II -UNESC**

## **INTRODUÇÃO**

O termo deficiência é utilizado para descrever alguma limitação do funcionamento humano, que pode resultar em problemas estruturais, funções corporais e atividades individuais (SCHALOCK et al., 2009). A deficiência intelectual infantil (DII) é caracterizada por limitações que podem ocorrer antes dos 18 anos de idade, sendo elas a deficiência no funcionamento intelectual e adaptativo (BROWDER, 2010). Os conceitos de incapacidade e adaptação funcional à deficiência foram incorporados a Classificação Internacional de Funcionalidade, Incapacidade e Saúde (CIF) (FARIAS; BUCHALLA, 2005; FUNCTIONING AND DISABILITY REFERENCE GROUP, 2010) e é complementada pela Classificação Internacional de Doenças, versão 10 (CID10) (WHO, 2010).

Para Binet e Simon (1904), deve-se empregar três métodos diferentes para diagnosticar a deficiência intelectual, sendo eles os métodos: médico, cujo o objetivo é observar os sinais anatômicos, fisiológicos e patológicos; o pedagógico, que objetiva julgar a inteligência de acordo com conhecimentos adquiridos; e o psicológico, que faz observações e medidas diretas sobre o grau de inteligência através do estado intelectual no momento presente, por experiências que obrigam o indivíduo a realizar um esforço, que demonstram sua capacidade de compreensão, julgamento, raciocínio e invenção.

Atualmente, funcionamento intelectual mensurado através de testes individuais de inteligência, como a análise do quociente de inteligência (QI), sendo considerada deficiência intelectual valores abaixo da média da população, que é em torno de 70 ou menos, segundo o DSM-V (AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATION, 2010; VAHIA, 2013). A prevalência da DI na população geral é cerca de 1-3% (GONZÁLEZ RABELINO et al., 2013; PASCHOS, 2008), enquanto a incidência é de 9,1 e 12,6 por mil habitantes (HEIKURA et al., 2003), mas Mckenzie et al. (2016), em sua revisão, destaca a escassez de estudos atuais relatando a prevalência e Incidência da DI.

Os métodos psicológicos/psicométricos já estão bem definidos, porém algumas alterações fisiológicas podem estar ligadas ao estado intelectual mal desenvolvido

(BROWDER, 2010). Para Durkin (2002), alguns fatores de risco podem estar envolvidos no desenvolvimento da DI, dentre esses riscos podemos citar anomalias ou danos no sistema nervoso central em pleno desenvolvimento, causados por deficiências nutricionais, infecções ou exposição a toxinas ambientais, fatores genéticos, complicações peri ou neonatais, trauma, estado socioeconômico ou uma combinação destes fatores. Desta maneira, novas tecnologias e ensaios bioquímicos podem ser uma possibilidade de diagnosticar por meio de análises biológicas a DI.

Nos últimos 50 anos, descobriu-se que moléculas extrínsecas que podem influenciar o comportamento dos neurônios, tanto durante o desenvolvimento quanto durante o decorrer da vida, essas moléculas são chamadas neurotrofinas (DURAIKANNU et al., 2019), a principal molécula deste grupo chama-se Fator de Crescimento Nervoso Beta (NGF-  $\beta$ ), do inglês *Nerve growth factor beta*, uma proteína essencial no sistema nervoso central (SNC) para a diferenciação neuronal, desempenhando funções de sobrevivência do neurônios simpáticos e sensoriais (LEVI-MONTALCINI et al., 1975). Essa proteína pode influenciar no crescimento e manutenção do neurônios, plasticidade sináptica, síntese e liberação de neurotransmissores e neuropeptídios, desenvolvimento da memória, funções cognitivas e aprendizado, principalmente em áreas do hipocampo e córtex cerebral (ACHESON et al., 1995; LU et al., 2013; MINNONE; DE BENEDETTI; BRACCI-LAUDIERO, 2017).

Outros possíveis biomarcadores que podem influenciar no funcionamento cerebral são os marcadores de estresse oxidativo, quadro caracterizado pelo excesso de Espécie Reativas de Oxigênio (ERO's) ou de nitrogênio e diminuição de agentes antioxidantes. As moléculas ou fragmentos que causam o estresse oxidativo são as chamadas, principalmente, ERO's, ou radicais livres, sendo altamente instáveis e reativas, podendo possuir um ou mais elétrons desemparelhados em seu orbital, isso faz com que essas moléculas necessitem extrair um elétron de outras moléculas para se tornarem estáveis (HALLIWELL, 2006). Os radicais livres podem provocar danos cumulativos, e, até, irreversíveis em macromoléculas saudáveis, resultando em perda de função e morte celular, que a longo prazo possivelmente impactará diretamente na saúde e expectativa de vida do indivíduo (ECHTAY, 2007).

Alguns fatores nutricionais podem influenciar no funcionamento cognitivo também. Diversos estudos sugerem uma grande conexão boa nutrição e função cerebral ideal, pois os nutrientes são capazes de desempenhar funções cruciais no cérebro, como proliferação

celular, síntese de DNA e neurotransmissores, metabolismo do hormonal, além de fazer parte de sistemas enzimáticos essenciais para desempenhar várias funções cerebrais (DE SOUZA; FERNANDES; TAVARES DO CARMO, 2011). A vitamina B12, ou cianocobalamina, é um dos principais cofatores cerebrais, exercendo funções importantes, como a proteção do neurônios contra a degeneração, a mielinização axonal, sendo essencial para condução do impulso nervoso, além de poder alterar a síntese de diferentes citocinas, fatores de crescimento e metabólitos de energia (NYARADI et al., 2013)

Esses biomarcadores, podem auxiliar no diagnóstico do indivíduo para gerar ganho funcional e cognitivo, melhorando a reabilitação, autonomia, independência, possibilitando melhor qualidade de vida e inclusão social (AMORIM et al., 2010). Evidências apontam que, quanto mais precoce o diagnóstico e intervenção, menores serão as chances destes problemas impactarem negativamente o desenvolvimento social e intelectual de crianças que apresentem esta deficiência (BRASIL, 2012). Desta forma, o presente estudo visa auxiliar na pesquisa de biomarcadores, que possam ser, futuramente, promissores para o diagnóstico de DII, como os níveis plasmáticos de neurotrofinas, mais especificamente o NGF- $\beta$ , níveis de vitamina B12 e estado oxidativo, através da carbonilação de proteínas e formação de peróxido de hidrogênio, em crianças que apresentam algum déficit cognitivo encaminhadas ao Centro Especializado em Reabilitação II, localizado nas Clínicas Integradas da Universidade do Extremo Sul Catarinense.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

A amostra da pesquisa foi composta por crianças e adolescentes de 6 a 16 anos de idade, de ambos os sexos, com ou sem o diagnóstico de deficiência intelectual que frequentaram o Centro Especializado em Reabilitação II (CERII), localizado nas clínicas integradas da Universidade do Extremo Sul Catarinense. As crianças com ou sem diagnóstico de DI foram divididas em dois grupos, o Grupo Controle composto por crianças que não possuem diagnóstico ou suspeita de patologias (n=18); e o Grupo Experimental ou Grupo Deficiência Intelectual (DI), composto por crianças com diagnóstico de DI (n=16).

De ambos os grupos, coletaram-se amostras sanguíneas, onde as mesmas, foram submetidas a avaliações bioquímicas para identificação dos biomarcadores.

A pesquisa foi aprovada e iniciada no segundo semestre de 2016 pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos da Universidade do Extremo Sul Catarinense, tendo como base a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Os tutores das crianças foram inicialmente convidados a participar da pesquisa, autorizando sua realização por meio de assinatura de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os materiais biológicos (sangue) foram enviados ao Laboratório de Biomedicina Translacional Localizado na UNESC e o Programa de Pós-Graduação da Universidade se responsabilizou pelas análises bioquímicas das mesmas.

As variáveis analisadas foram: WISC IV – Escala De Inteligência Weschsler Para Crianças, Colúmbia, DFH – Desenho da Figura Humana - escala de SISTO, TIG-NV – Teste de Inteligência Geral Não Verbal para diagnóstico da deficiência e compreensão dos aspectos mais ou menos afetados.

Os critérios de exclusão foram: qualquer tipo de diagnóstico neurológico (doença neurológica ou física); não estar na faixa etária proposta para o estudo, não aceitar participar da pesquisa, não assinar o TCLE.

As amostras foram centrifugadas para obtenção do plasma, 3.500 rotações por minuto (RPM's) por 15 minutos à temperatura ambiente (ANDRIOLO et al., 2014). As espécies reativas de oxigênio foram analisadas através do método Diacetato de 2',7'-diclorofluoresceína (DCFH-DA) pela metodologia de Lebel; Ischiropoulos; Bondy (1992), os danos oxidativos em proteínas foram mensurados pela determinação de grupos carbonílicos baseado na reação com dinitrofenilhidrazina, conforme previamente descrito por Levine et al. (1990), a neurotrofina NGF- $\beta$ , foi investigada utilizando a técnica de imunensaio, Elisa (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA). Para determinar os níveis de vitamina B12, houve uma colaboração do Laboratório Diagnósticos do Brasil (referência no país todo como laboratório de apoio). As amostras de soro das crianças de ambos os grupos foram enviadas para o laboratório citado. Os resultados foram expressos em pg/mL. O método utilizado para a dosagem da vitamina B12 é a quimioluminescência.

Para as análises estatísticas foi elaborado um banco de dados em planilhas do software Microsoft Excel versão 2010. Para a comparação da média das variáveis quantitativas, como

por exemplo, idade, entre as categorias variáveis de gênero, foi aplicado o teste t de *Student* para amostras independentes. O nível de significância adotado foi  $p \leq 0,05$  com intervalo de confiança de 95%. As representações gráficas foram produzidas utilizando o software GraphPad\Prism5.

## RESULTADOS

Os dados da caracterização da amostra estudada estão dispostos na Tabela 1. Neste estudo foram avaliadas 34 crianças e adolescentes de ambos os sexos, alocados em dois grupos, Grupo DI (n=16) compostos por indivíduos com a característica em estudo e o Grupo Controle (n=18), o qual foi pareado de acordo com sexo e idade. No grupo controle, 58,8% (n=10) eram do sexo masculino, 41,2% (n=7) sexo feminino e apenas um participante não informou o sexo. A média de idade dos controles foi de 10,71 ( $\pm 3,35$ ) anos. Já no Grupo DI, 56,3% (n=9) eram do sexo masculino e 43,8% (n=7) do sexo feminino, com média de idade de 10,81 ( $\pm 2,71$ ) anos.

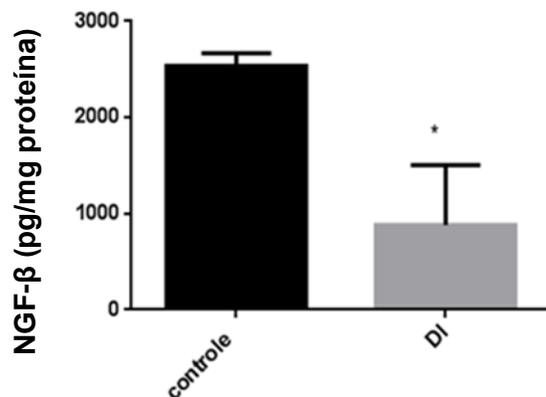
Tabela 1 - Caracterização da amostra de crianças e adolescentes pertencentes ao Grupo Controle e DI.

<b>Características da população</b>	<b>Controle (n = 18)</b>		<b>DI (n = 16)</b>	
	<b>N</b>	<b>(%), Média (<math>\pm dp</math>)</b>	<b>N</b>	<b>(%), Média (<math>\pm dp</math>)</b>
<b>Sexo</b>				
Masculino	10	(58,8)	9	(56,3)
Feminino	7	(41,2)	7	(43,8)
Não Informado	1	-	0	-
<b>Tipo de parto</b>				
Normal	7	(50,0)	9	(60,0)
Cesária	7	(50,0)	6	(40,0)
Não Informado	4	-	1	-
<b>Idade (anos)</b>	17	10,71 ( $\pm 3,35$ )	16	10,81 ( $\pm 2,71$ )
<b>Peso ao Nascer (kg)</b>	10	2,95 ( $\pm 0,65$ )	13	2,82 ( $\pm 0,47$ )
<b>Est. ao Nascer (cm)</b>	10	48,35 ( $\pm 3,11$ )	10	47,70 ( $\pm 2,85$ )

Fonte: Elaborado pelo autor.

Inicialmente, analisaram-se os níveis de NGF- $\beta$ , e foi possível observar, segundo a figura 1, que o grupo de crianças que possuem DI demonstrou menores níveis plasmáticos desta neurotrofina, em comparação ao grupo controle.

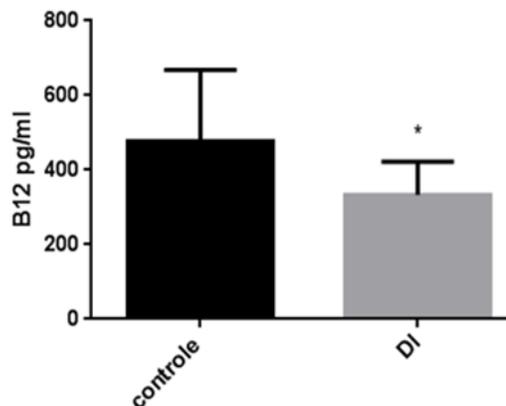
Figura 1 – Níveis plasmáticos do Fator de Crescimento Nervoso Beta



Legenda: Os resultados representam média  $\pm$  desvio padrão. Os valores do NGF- $\beta$  estão expressos em pg /mg de proteína. \* DI < controle,  $p < 0,05$ .

A figura 2 mostra uma diminuição significativa de vitamina B12 no plasma de crianças que apresentam DI em relação ao grupo controle.

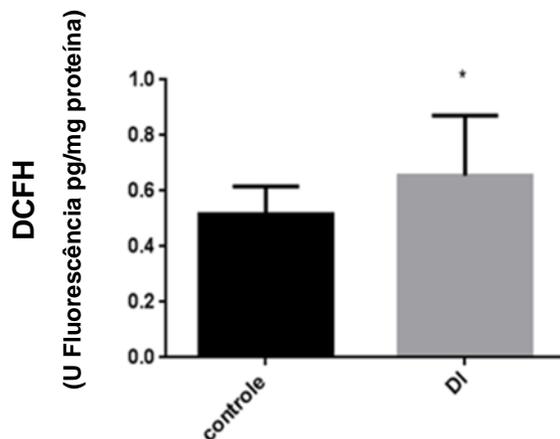
Figura 2 – Níveis plasmáticos de Vitamina B12



Legenda: Os resultados representam média  $\pm$  desvio padrão. Os valores de B12 estão expressos em pg/ml. \* DI < controle,  $p < 0,05$ .

As espécies reativas ou níveis plasmáticos de radicais livres podem ser observados na figura 3. Este estudo demonstrou que os níveis de DCFH estão aumentados no grupo DI em comparação ao grupo controle.

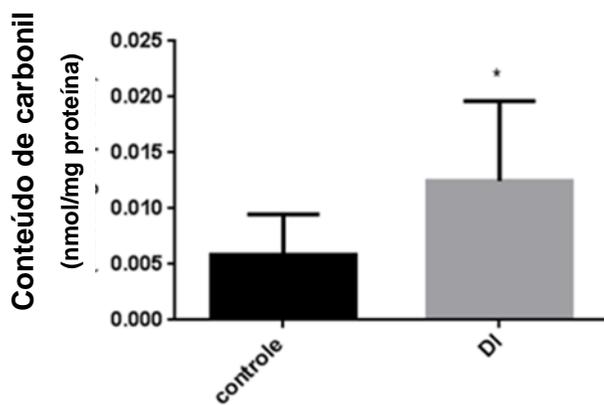
Figura 3 – Níveis plasmáticos de DCFH



Legenda: Os resultados representam média  $\pm$  desvio padrão. Os valores de DCF estão expressos em U fluorescência/mg de proteína. \* DI > controle,  $p < 0,05$ .

Os danos em proteína foram mensurados através da carbonilação de proteínas, ou níveis do conteúdo de Carbonil. Na figura 4 é possível observar que o conteúdo de carbonil no grupo DI foi maior, em comparação ao grupo controle.

Figura 4 – Níveis plasmáticos de Carbonil



Legenda: Os resultados representam média  $\pm$  desvio padrão. Os valores de Carbonil expressos em nmol/mg de proteína. \* DI > controle,  $p < 0,05$ .

## DISCUSSÃO

A DI pode prejudicar o desenvolvimento social nos primeiros anos de vida, pois, muitas vezes, essas crianças enfrentam problemas para se incluir em grupos, sejam eles na escola ou não, dificultando seu relacionamento com as demais, gerando preconceitos dentre

elas por ter seu aprendizado retardado em comparação às crianças saudáveis. Para que o tratamento e acompanhamento adequados se iniciem de forma precoce, é de grande importância que o diagnóstico seja o mais rápido e preciso possível, por isso, os biomarcadores podem auxiliar nesse processo, já que os testes cognitivos acabam sendo subjetivos, pois podem variar de acordo com o estado atual da criança. Esse trabalho tem como objetivo investigar se alguns biomarcadores possam ser uma possibilidade de diagnóstico da DI.

As neurotrofinas, como o NGF- $\beta$ , estão envolvidas em várias doenças que afetam a cognição, pois está presente várias atividades benéficas ao cérebro. O início da sua sinalização ocorre com a ligação a receptores específicos transmembranares no cérebro, tendo como principal o receptor de tropomiosina quinase isoforma A (TrkA) (BOTHWELL, 1995). Uma vez ligado a esse receptor ocorre a dimerização e transformação do mesmo seguida de ativação de vias de sinalização intracelulares que, por sua vez, irá promover fatores protetivos ao sistema nervoso central (SNC), plasticidade neuronal e sináptica, diferenciação e crescimento neuronal e sobrevivência neuronal em condições patológicas (CANTLEY, 2002; CHAO, 2003; YOSHII; CONSTANTINE-PATON, 2010; KAPLAN; MILLER, 2000; REICHARDT, 2006).

Ainda não existem estudos relacionando a DI com menores níveis de NGF- $\beta$  especificamente, mas algumas doenças que apresentam déficit cognitivo demonstram que os níveis dessa neurotrofina podem estar diminuídos, como na Doença de Alzheimer (DA), onde há diminuição de NGF- $\beta$  e acetilcolina (ACh) com simultânea redução do receptor TrkA, que leva à atrofia e apoptose de neurônios colinérgicos (CUELLO, 2019; ETIENNE et al., 1986; IULITA et al., 2014; MUFSON et al., 1997). Mecanismos semelhantes afetam os neurônios colinérgicos na síndrome de Down (SD), doença na qual há déficit cognitivo de forma bem descrita, o processamento da proteína precursora amilóide em ambas as doenças pode levar ao mal funcionamento mitocondrial, estresse oxidativo e disfunção metabólica do NFG- $\beta$  (CHEN; SAWA; MOBLEY, 2018; COOPER et al., 2001; IULITA; CUELLO, 2014; PEARCE; GALDZICKI; RAPOPORT, 1995).

A síndrome de Rett (SR) é um distúrbio neurológico de etiologia desconhecida que acomete o desenvolvimento mental e físico, sendo prevalente em crianças do sexo feminino (BOLTSHAUSER, 2019). Em um estudo investigando os cérebros *post-mortem* de 9

meninas e mulheres com SR, de 7 a 41 anos, demonstrou que a expressão de NGF- $\beta$  e TrkA foram menores em relação as pacientes controle (LIPANI et al., 2000). Sabendo que no transtorno do espectro do autismo (TEA) há, em alguns casos, déficit cognitivo, Tsukurova (2018) também demonstrou que os níveis sorológicos de NGF- $\beta$  e outras neurotrofinas estavam diminuídos em crianças com TEA, sugerindo que há deterioração nos processos neuroprotetores de crianças acometidas por essa doença (MORADI et al., 2018).

O resultado anteriormente apresentado, dos níveis de NGF- $\beta$  no presente estudo, demonstra que há uma possível associação entre os níveis dessa neurotrofina e deficiência intelectual infantil, já que doenças que possuem alguma perda na cognição ou no estado intelectual no indivíduo também revelaram diminuição nos níveis desse biomarcador. Porém, o diagnóstico das mesmas já estão bem descritos na literatura, ao contrário da DI, por isso, o NGF- $\beta$  pode ser um marcador específico para diagnóstico dessa patologia.

Além disso, o mau desenvolvimento cerebral também pode estar associado a estados nutricionais deficientes. Vários estudos associam o déficit cognitivo com deficiência de vitamina B12, podendo ser tanto na infância, comprometendo o crescimento e desenvolvimento cognitivo (DAWSON-HUGHES et al., 2000; GEWA et al., 2009), quanto durante a gestação (BHATE et al., 2008, 2012; GRAHAM; ARVELA; WISE, 1992; JADHAV et al., 1962), já que o desenvolvimento cerebral do feto inicia na terceira semana de gravidez, e deficiências nutricionais neste período ou em todo o período pré-natal podem afetar o *status* cognitivo pós-natal (BENTON, 2010; NYARADI et al., 2013; SMITH; WARREN; REFSUM, 2018) e o diagnóstico tardio de níveis baixos de vitamina B12 pode levar a danos cognitivos irreversíveis (GREEN, 2017).

O estudo de Duong et al. (2015), demonstrou que a deficiência de vitamina B12 aumenta o índice de reprovação de série e faltas escolares em uma escola em Bogotá, Colômbia. Outro estudo, realizado com meninas do ensino médio, demonstrou relação positiva entre a ingestão de vitamina B12 no café da manhã e as médias escolares durante o ano (AHMADI; SOHRABI; EFTEKHARI, 2009). Na Guatemala, Rogers et al. (2003), a fim de avaliar o desempenho psicoeducacional, demonstrou em seu estudo que um grupo de crianças que apresentaram baixos níveis de vitamina B12 apresentaram déficit de memória de curto prazo e pior raciocínio lógico, comparadas ao grupo de crianças que apresentaram níveis normais.

Os resultados apresentados neste estudo demonstraram menores níveis de NGF, isso pode estar associado à deficiência de vitamina B12, já que ela pode alterar a síntese de fatores de crescimento no cérebro de ratos, desta forma, imagina-se que tais atividades possam acontecer no cérebro humano (DROR; ALLEN, 2008; MILLER, 2002; SCALABRINO et al., 2000).

Von Schenck et al (1997), em um relato de caso, mostrou que a deficiência de vitamina B12 induzida por dietas veganas maternas podem causar atrofia craniana frontal e frontoparietal grave, seguido de sintomas neurológicos, como o desenvolvimento cognitivo e da linguagem. Em um estudo analisando a prole de ratas, foi possível observar que a suplementação de vitamina B12 no período gestacional delas podem aumentar os níveis de NGF e fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) no cérebro da prole (RATHOD et al., 2015).

É possível que o tratamento para normalizar o nível de vitamina B12 possam ajudar no ganho cognitivo, mas não é capaz de reverter quadros de demência, por isso, o acompanhamento regular do estado nutricional pode prevenir danos cognitivos futuros (EASTLEY; WILCOCK; BUCKS, 2000; GRAHAM; ARVELA; WISE, 1992). Os resultados demonstrados neste estudo não caracterizam a deficiência de vitamina B12 (PANIZ et al., 2005), mas sugere uma possível ligação entre baixos níveis desta vitamina e DI.

Algumas alterações metabólicas também podem modificar o funcionamento celular, e de forma crônica no cérebro pode aumentar o risco para doenças neurológicas que causam comprometimento cognitivo. Desta forma, alguns parâmetros de estresse oxidativo foram investigados no presente estudo. Foi analisado através do método de DCFH-DA a formação das EROs, essa molécula em níveis fisiológicos é essencial para sinalização redox e defesa do organismo, por exemplo. Já em níveis elevados pode se tornar uma espécie reativa capaz de causar danos em proteínas, DNA, membranas celulares e até apoptose neurônios e células da glia (SIES, 2017). Nosso estudo demonstrou que os níveis de DCFH estavam aumentados em crianças que possuem DI, em comparação ao grupo controle.

Da mesma forma, no estudo de Sengupta et al. (2019) utilizando meninos de 10 ±5 anos em uma casa de reabilitação, foi possível observar que os níveis de estresse oxidativo foram relativamente maiores em crianças com DI moderada e severa, em comparação ao

grupo DI leve, os autores concluem que o aumento do estresse oxidativo pode contribuir para o desenvolvimento da DI. Na SD o estresse oxidativo também pode estar aumentado, como demonstrado no estudo de Garlet et al. (2013), e até as enzimas antioxidantes estavam aumentadas, indicando que possivelmente elas estariam trabalhando para eliminar os radicais livres e prevenir o organismo de danos celulares.

A neuroinflamação pode estar associada a neurodegeneração e prejuízo na cognição, além disso, inflamação crônica induz estresse oxidativo (LIN; BEAL, 2006). Em modelo animal de inflamação crônica de baixo grau para mimetizar a DA induzida por LPS, demonstrou que ratos que apresentaram déficit cognitivo, mostrados através de testes comportamentais, também apresentaram maiores níveis de DCFH, indicando maior quantidade do radical hidroxila no cérebro (BORTOLUZZI CANTEIRO et al., 2019).

O carbonil é um dos principais marcadores de estresse oxidativo e dano em proteínas, podendo gerar produtos finais de glicação avançada (AGEs), associados a doenças neurodegenerativas, as ERO's podem produzir carbonilação de forma direta e irreversivelmente, gerando agregados protéicos danificados ou desdobrados de alto peso molecular que podem inibir a atividade do proteossoma, induzindo a apoptose de neurônios, gerando perda cognitiva de forma irrecuperável (GEORGIU et al., 2018). No presente estudo foi possível observar o aumento de proteínas carboniladas no grupo DI, sugerindo que crianças que apresentam déficit cognitivo tem maior dano em proteínas comparado às crianças saudáveis.

Corroborando com nossos resultados, vários estudos demonstram que na DA e SD esses resultados são semelhantes, ou seja, o dano em proteínas em indivíduos com essas doenças também é maior (BALCZ et al., 2001; DALLE-DONNE et al., 2003; GARLET et al., 2013).

Em contra partida, estudo de Parisotto et al. (2014) também com crianças que apresentam SD, mostrou que a suplementação de vitaminas C e E são capazes de atenuar o dano oxidativo e melhorar a capacidade antioxidante através de análises do sangue das mesmas. Além disso, o exercício físico aeróbico pode ser um fator protetivo contra o estresse oxidativo em adolescentes com SD, sendo capaz de diminuir os níveis plasmáticos de proteínas carboniladas (ORDONEZ et al., 2012). Desta forma, estratégias para diminuir os níveis ERO's e dano em proteínas pode auxiliar no tratamento de crianças com DI. Além

do mais, bebês que nasceram com peso menor ou prematuros, podem apresentar DI futuramente (MOSING et al., 2018).

Este estudo demonstrou que alguns fatores nutricionais, marcadores de estresse oxidativo e fatores neurotróficos podem estar associados com diminuição ou disfunção cognitiva. É possível que o monitoramento destes biomarcadores possam auxiliar em trabalhos futuros, com o objetivo de utiliza-los com parâmetros de diagnóstico laboratorial da DI, já que ainda não há uma maneira de avaliar bioquimicamente essa doença.

O diagnóstico precoce pode auxiliar na promoção do tratamento e acompanhamento adequados dessas crianças antecipadamente, a fim de melhorar o desenvolvimento intelectual e social delas. Ainda há muito o que pesquisar sobre a relação destes marcadores com a DI, mas este é o passo inicial para possíveis avanços no diagnóstico laboratorial da DI.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, aos meus pais, avós e demais familiares, orientadores, professores e amigos que sempre me apoiaram em toda essa caminhada.

## **REFERÊNCIAS**

ACHESON, A. et al. A BDNF autocrine loop in adult sensory neurons prevents cell death. **Nature**, 1995.

AHMADI, A.; SOHRABI, Z.; EFTEKHARI, M. H. Evaluating the relationship between breakfast pattern and short-term memory in junior high school girls. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 2009.

AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATION. American Psychological Association annual report. **American Psychologist**, v. 65, n. 5, p. 311–350, 2010.

AMORIM, F. F. et al. Avaliação de Tecnologias em Saúde: Contexto Histórico e Perspectivas. **Comunicação em Ciências da Saúde**, 2010.

ANDRIOLO, A. et al. **Coleta e preparo da amostra biológica**. [s.l.: s.n.]. v. 4

BALCZ, B. et al. Increased brain protein levels of carbonyl reductase and alcohol dehydrogenase in Down syndrome and Alzheimer's disease. **Journal of neural transmission. Supplementum**, n. 61, p. 193–201, 2001.

BENTON, D. Neurodevelopment and neurodegeneration: Are there critical stages for nutritional intervention? **Nutrition Reviews**, 2010.

BHATE, V. et al. Vitamin B12 status of pregnant Indian women and cognitive function in their 9-year-old children. **Food and Nutrition Bulletin**, 2008.

BHATE, V. K. et al. Vitamin B12 and folate during pregnancy and offspring motor, mental and social development at 2 years of age. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, 2012.

BINET, A.; SIMON, T. Méthodes nouvelles pour le diagnostic du niveau intellectuel des anormaux. **L'année psychologique**, v. 11, n. 1, p. 191–244, 1904.

BOLTSHAUSER, E. Aicardi's Diseases of the Nervous System in Childhood. **Neuropediatrics**, 2019.

BORTOLUZZI CANTEIRO, P. et al. Insulin treatment protects the brain against neuroinflammation by reducing cerebral cytokines and modulating mitochondrial function. **Brain Research Bulletin**, 2019.

BOTHWELL, M. Functional Interactions of Neurotrophins and Neurotrophin Receptors. **Annual Review of Neuroscience**, v. 18, n. 1, p. 223–253, 1 jan. 1995.

BRASIL. **VIVER SEM LIMITE - Plano Nacional dos Direitos da Pessoa com Deficiencia**. [s.l: s.n.].

BROWDER, D. M. Book Review: Intellectual Disability: Definition, Classification, and Systems of Supports. 11th Edition. **Research and Practice for Persons with Severe Disabilities**, 2010.

CHAO, M. V. Neurotrophins and their receptors: A convergence point for many signalling pathways. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 4, n. 4, p. 299–309, abr. 2003.

CHEN, X. Q.; SAWA, M.; MOBLEY, W. C. **Dysregulation of neurotrophin signaling in the pathogenesis of Alzheimer disease and of Alzheimer disease in Down syndrome** **Free Radical Biology and Medicine**, 2018.

CUELLO, A. C. Editorial: The Involvement of NGF in the Alzheimer's Pathology. **Frontiers in Neuroscience**, 2019.

DALLE-DONNE, I. et al. **Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress** **Clinica Chimica Acta**, 2003.

DAWSON-HUGHES, B. et al. Signs of impaired cognitive function in adolescents with marginal cobalamin status. **American Journal of Clinical Nutrition**, 2000.

DE SOUZA, A. S.; FERNANDES, F. S.; TAVARES DO CARMO, M. DAS G. Effects of maternal malnutrition and postnatal nutritional rehabilitation on brain fatty acids, learning, and memory. **Nutrition Reviews**, 2011.

DROR, D. K.; ALLEN, L. H. **Effect of vitamin B12 deficiency on neurodevelopment in infants: Current knowledge and possible mechanisms** **Nutrition Reviews**, 2008.

DUONG, M.-C. et al. Vitamin B-12 Deficiency in Children Is Associated with Grade Repetition and School Absenteeism, Independent of Folate, Iron, Zinc, or Vitamin A Status

Biomarkers. **The Journal of Nutrition**, 2015.

DURAIKANNU, A. et al. Beyond trophic factors: Exploiting the intrinsic regenerative properties of adult neurons. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 13, n. April, p. 1–22, 2019.

DURKIN, M. The epidemiology of developmental disabilities in low-income countries. **Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews**, v. 8, n. 3, p. 206–211, 2002.

EASTLEY, R.; WILCOCK, G. K.; BUCKS, R. S. Vitamin B12 deficiency in dementia and cognitive impairment: The effects of treatment on neuropsychological function. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, 2000.

ECHTAY, K. S. Mitochondrial uncoupling proteins-What is their physiological role? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 43, n. 10, p. 1351–1371, 2007.

ETIENNE, P. et al. Nucleus basalis neuronal loss, neuritic plaques and choline acetyltransferase activity in advanced Alzheimer's disease. **Neuroscience**, 1986.

FARIAS, N.; BUCHALLA, C. M. A classificação internacional de funcionalidade, incapacidade e saúde da organização mundial da saúde: conceitos, usos e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, 2005.

FUNCTIONING AND DISABILITY REFERENCE GROUP. The ICF: An Overview. **World Health Organization**, 2010.

GARLET, T. R. et al. Systemic oxidative stress in children and teenagers with Down syndrome. **Life Sciences**, 2013.

GEORGIU, C. D. et al. Protein and cell wall polysaccharide carbonyl determination by a neutral pH 2,4-dinitrophenylhydrazine-based photometric assay. **Redox Biology**, 2018.

GEWA, C. A. et al. Dietary micronutrients are associated with higher cognitive function gains among primary school children in rural Kenya. **British Journal of Nutrition**, 2009.

GONZÁLEZ RABELINO, G. et al. Avances en la identificación etiológica del retraso mental. **Revista de Neurologia**, 2013.

GRAHAM, S. M.; ARVELA, O. M.; WISE, G. A. Long-term neurologic consequences of nutritional vitamin B12 deficiency in infants. **The Journal of Pediatrics**, 1992.

GREEN, R. **Vitamin B12 deficiency from the perspective of a practicing hematologist** *Blood*, 2017.

HALLIWELL, B. **Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life** *Plant Physiology*, 2006.

HEIKURA, U. et al. Temporal changes in incidence and prevalence of intellectual disability between two birth cohorts in Northern Finland. **American Journal on Mental Retardation**, 2003.

IULITA, M. F.; CUELLO, A. C. Nerve growth factor metabolic dysfunction in Alzheimer's disease and Down syndrome. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 35, n.

7, p. 338–348, jul. 2014.

JADHAV, M. et al. VITAMIN-B12 DEFICIENCY IN INDIAN INFANTS. A Clinical Syndrome. **The Lancet**, 1962.

KAPLAN, D. R.; MILLER, F. D. Neurotrophin signal transduction in the nervous system. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 10, n. 3, p. 381–391, jun. 2000.

LEBEL, C. P.; ISCHIROPOULOS, H.; BONDY, S. C. Evaluation of the Probe 2',7'-Dichlorofluorescein as an Indicator of Reactive Oxygen Species Formation and Oxidative Stress. **Chemical Research in Toxicology**, 1992.

LEVI-MONTALCINI, R. et al. Nerve growth factor induces volume increase and enhances tyrosine hydroxylase synthesis in chemically axotomized sympathetic ganglia of newborn rats. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 1975.

LEVINE, R. L. et al. Determination of Carbonyl Content in Oxidatively Modified Proteins. **Methods in Enzymology**, 1990.

LIN, M. T.; BEAL, M. F. **Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases** *Nature*, 2006.

LIPANI, J. D. et al. Reduced nerve growth factor in Rett syndrome postmortem brain tissue. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, 2000.

LU, B. et al. **BDNF-based synaptic repair as a disease-modifying strategy for neurodegenerative diseases** *Nature Reviews Neuroscience*, 2013.

MCKENZIE, K. et al. Systematic Review of the Prevalence and Incidence of Intellectual Disabilities: Current Trends and Issues. **Current Developmental Disorders Reports**, 2016.

MILLER, J. W. **Vitamin B12 deficiency, tumor necrosis factor- $\alpha$ , and epidermal growth factor: A novel function for vitamin B12?** *Nutrition Reviews*, 2002.

MINNONE, G.; DE BENEDETTI, F.; BRACCI-LAUDIERO, L. **NGF and its receptors in the regulation of inflammatory response** *International Journal of Molecular Sciences*, 2017.

MORADI, H. et al. The effects of different combinations of perceptual-motor exercises, music, and vitamin D supplementation on the nerve growth factor in children with high-functioning autism. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, 2018.

MOSING, M. A. et al. Associations between birth characteristics and age-related cognitive impairment and dementia: A registry-based cohort study. **PLoS Medicine**, 2018.

MUFSON, E. J. et al. Reduction in p140-trkA receptor protein within the nucleus basalis and cortex in Alzheimer's disease. **Experimental Neurology**, 1997.

NYARADI, A. et al. The role of nutrition in children's neurocognitive development, from pregnancy through childhood. **Frontiers in Human Neuroscience**, v. 7, 2013.

ORDONEZ, F. J. et al. Aerobic training at moderate intensity reduced protein oxidation in adolescents with Down syndrome. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, 2012.

PANIZ, C. et al. Fisiopatologia da deficiência de vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, 2005.

PARISOTTO, E. B. et al. Antioxidant intervention attenuates oxidative stress in children and teenagers with Down syndrome. **Research in Developmental Disabilities**, 2014.

PASCHOS, D. Intellectual Disability: Understanding its Development, Causes, Classifications, Evaluation, and Treatment. **Child and Adolescent Mental Health**, 2008.

RATHOD, R. S. et al. Maternal omega-3 fatty acid supplementation to a vitamin B<sub>12</sub> deficient diet normalizes angiogenic markers in the pup brain at birth. **International Journal of Developmental Neuroscience**, 2015.

ROGERS, L. M. et al. High prevalence of cobalamin deficiency in Guatemalan schoolchildren: Associations with low plasma holotranscobalamin II and elevated serum methylmalonic acid and plasma homocysteine concentrations. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, n. 2, p. 433–440, 2003.

SCALABRINO, G. et al. Further Evidence for the Involvement of Epidermal Growth Factor in the Signaling Pathway of Vitamin B 12 (Cobalamin) in the Rat Central Nervous System. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, v. 59, n. 9, p. 808–814, 1 set. 2000.

SCHALOCK, R. L. et al. **Intellectual Disability: Definition, Classification, and Systems of Supports. Eleventh Edition.** [s.l: s.n.].

SENGUPTA, A. et al. An association study of severity of intellectual disability with peripheral biomarkers of disabled children in a rehabilitation home, Kolkata, India. **Scientific Reports**, 2019.

SIES, H. **Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress** **Redox Biology**, 2017.

SMITH, A. D.; WARREN, M. J.; REFSUM, H. Vitamin B12. In: **Advances in Food and Nutrition Research.** [s.l: s.n.]. v. 83p. 215–279.

TSUKUROVA, L. A. A neuroprotective approach to optimizing treatment and correction activities in children with autism spectrum disorders. **Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova**, v. 118, n. 5, p. 51, 2018.

VAHIA, V. N. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders 5: A quick glance** **Indian Journal of Psychiatry**, 2013.

VON SCHENCK, U.; BENDER-GÖTZE, C.; KOLETZKO, B. Persistence of neurological damage induced by dietary vitamin B-12 deficiency in infancy. **Archives of Disease in Childhood**, 1997.

WHO. International Classification of Diseases (ICD-10). **Family practice management**, 2010.

YOSHII, A.; CONSTANTINE-PATON, M. Postsynaptic BDNF-TrkB signaling in synapse maturation, plasticity, and disease. **Developmental Neurobiology**, p. NA-NA, 2010.



**PROJETO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO ELABORADO  
ANTERIORMENTE OU NA DISCIPLINA DE PROJETO DE PESQUISA**

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC**

**CURSO DE FARMÁCIA**

**NATALIA DOS SANTOS TRAMONTIN**

**DEFICIÊNCIA INTELECTUAL INFANTIL E SEUS  
BIOMARCADORES NEUROTÓFICOS E DE ESTRESSE  
OXIDATIVO**

**CRICIÚMA**

**2019**

**NATALIA DOS SANTOS TRAMONTIN**

**DEFICIÊNCIA INTELECTUAL INFANTIL E SEUS  
BIOMARCADORES NEUROTÓFICOS E DE ESTRESSE  
OXIDATIVO**

Projeto apresentado como parte de avaliação da disciplina de Projeto de Pesquisa, no curso de Farmácia da Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC.

Orientador(a): Prof.<sup>(a)</sup> Dr.<sup>(a)</sup> Alexandre Pastoris Muller

**CRICIÚMA**

**2019**

## RESUMO

A deficiência intelectual infantil (DII) é caracterizada por limitações que podem ocorrer antes dos 18 anos de idade, sendo elas a deficiência no funcionamento intelectual e adaptativo. Alguns fatores de risco podem estar envolvidos no desenvolvimento da DII, podendo ser: anomalias ou danos no sistema nervoso central em pleno desenvolvimento, causados por deficiências nutricionais, infecções ou exposição a toxinas ambientais, fatores genéticos, complicações peri ou neonatais, trauma, estado socioeconômico ou uma combinação destes fatores, além de alterações fisiológicas, que podem estar ligadas ao estado intelectual mal desenvolvido. Desta maneira, novas tecnologias e ensaios bioquímicos, que visam analisar fatores neurotróficos e estresse oxidativo, podem ser uma possibilidade de diagnosticar por meio de análises biológicas a DII. A amostra da pesquisa é composta por crianças com diagnóstico de deficiência intelectual, de ambos os sexos, com idade entre 7 a 10 anos, apresentando comprometimento na aprendizagem escolar, encaminhadas ao Centro Especializado em Reabilitação II (CERII) - UNESC. A pesquisa é composta por Grupo Controle (GC), crianças que não possuem diagnóstico ou suspeita de patologias e Grupo Deficiência Intelectual (DI), composto por crianças que apresentaram algum déficit cognitivo. Todos os participantes foram submetidos à coleta de dados gerais, aplicação de testes cognitivos para diagnóstico da deficiência e coleta de sangue para avaliação e identificação de biomarcadores plasmáticos. Serão analisados o Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) e Fator de Crescimento Neuronal Beta (NGF- $\beta$ ), DCFH e carbonilação proteica. Novas tecnologias, podem auxiliar no diagnóstico do indivíduo para gerar ganho funcional e cognitivo, melhorando a reabilitação, autonomia, independência, possibilitando melhor qualidade de vida e inclusão social. Evidências apontam que, quanto mais precoce o diagnóstico e intervenção, menores serão as chances destes problemas impactarem negativamente o desenvolvimento social e intelectual de crianças que apresentarem esta deficiência. Desta forma, o presente estudo visa auxiliar na pesquisa de biomarcadores, que possam ser, futuramente, promissores para o diagnóstico de DII.

**Palavras-chave:** Deficiência Intelectual Infantil. Neurotrofinas. Estresse oxidativo. Novas tecnologias. Centro Especializado em Reeducação II.



## 1 INTRODUÇÃO

O termo deficiência é utilizado para descrever alguma limitação do funcionamento humano, que pode resultar em problemas estruturais, funções corporais e atividades individuais (AAIDD, 2010).

Segundo a Associação Americana de Deficiências Intelectuais (DI) e do Desenvolvimento (2010), a deficiência intelectual infantil (DII) é caracterizada por limitações que podem ocorrer antes dos 18 anos de idade, sendo elas a deficiência no funcionamento intelectual e adaptativo, e a forma com que se é manifestada as habilidades adaptativas, sociais e práticas.

A prevalência da DI na população geral é cerca de 1-3% (GONZÁLEZ et al., 2013; Harris, 2006), enquanto a incidência é de 9,1 e 12,6 por mil habitantes (HEIKURA et al., 2003), mas McKenzie et al. (2016), em sua revisão, destaca a escassez de estudos atuais relatando a prevalência e incidência da DI.

Os conceitos de incapacidade e adaptação funcional à deficiência foram incorporados a Classificação Internacional de Funcionalidade, Incapacidade e Saúde (CIF) (FARIAS; BUCHALLA, 2005; WHO, 2001) e é complementada pela Classificação Internacional de Doenças, versão 10 (CID10) (WHO, 1992).

Para Binet e Simon (1904), deve-se empregar três métodos diferentes para diagnosticar a deficiência intelectual, sendo eles os métodos: médico, cujo o objetivo é observar os sinais anatômicos, fisiológicos e patológicos, o pedagógico, que objetiva julgar a inteligência de acordo com conhecimentos adquiridos, e o psicológico, que faz observações e medidas diretas sobre o grau de inteligência. O método médico é indicativo, está relacionado desde o físico, a mente. O método pedagógico é menos direto que o psicológico, porque o método psicológico visa observar o estado intelectual no momento presente, por experiências que obrigam o indivíduo a realizar um esforço, que demonstrando sua capacidade de compreensão, julgamento, raciocínio e invenção (BINET; SIMON, 1904).

Atualmente, mensura-se o funcionamento intelectual através de testes individuais de inteligência, como a análise de QI, sendo considerada deficiência intelectual valores abaixo da média da população, que é em torno de 70 ou menos,

segundo o DSM-V (AHIA 2013; ANNUAL REPORT OF THE AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATION, 2015).

Para Durkin (2002) alguns fatores de risco podem estar envolvidos no desenvolvimento da DI, dentre esses riscos, podemos citar anomalias ou danos no sistema nervoso central em pleno desenvolvimento, causados por deficiências nutricionais, infecções ou exposição a toxinas ambientais, fatores genéticos, complicações peri ou neonatais, trauma, estado socioeconômico ou uma combinação destes fatores.

Os métodos psicológicos/psicométricos já estão bem definidos (ANNUAL REPORT OF THE AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATION, 2015), mas algumas alterações fisiológicas podem estar ligadas ao estado intelectual mal desenvolvido. Desta maneira, novas tecnologias e ensaios bioquímicos, que visam analisar fatores neurotróficos e estresse oxidativo, podem ser uma possibilidade de diagnosticar por meio de análises biológicas a DI.

Nos últimos 50 anos, descobriu-se que moléculas extrínsecas que podem influenciar o comportamento dos neurônios, tanto durante o desenvolvimento quanto durante o decorrer da vida, essas moléculas são chamadas neurotrofinas (DURAIKANNU et al., 2019), as principais, e que serão abordadas neste projeto, são o Fator de Crescimento Nervoso (NGF) e Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF)

O Fator de crescimento nervoso, do inglês *Nerve growth factor* (NGF), é uma neurotrofina essencial no sistema nervoso central (SNC) para a diferenciação do sistema nervoso central, desempenhando funções de sobrevivência do neurônios simpáticos e sensoriais (LEVI-MONTALCINI et al. 1975). Essa proteína pode influenciar no crescimento neuronal, formação de sinapses, síntese e liberação de neurotransmissores e neuropeptídeos, principalmente em áreas do hipocampo e córtex (MINNONE, 2017).

Estudos demonstram que o fator neurotrófico derivado do cérebro, do inglês *Brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), tem uma papel importante na formação de memória e modulação da capacidade cognitiva, essa proteína é pertencente de uma família de proteínas provenientes do cérebro, liberada pelos oligodendrócitos, encontrada principalmente em regiões do córtex e hipocampo, áreas indispensáveis para

desenvolvimento da memória, funções cognitivas e aprendizado. (ACHESON et al., 1995; LU et al., 2013). Essa neurotrofina é capaz de promover o desenvolvimento, plasticidade sináptica, neurogênese, manutenção e sobrevivência neuronal (ACHESON et al., 1995; LU et al., 2013).

O estresse oxidativo pode ser uma alternativa para verificação que o organismo não está em harmonia. As moléculas ou fragmentos que causam o estresse oxidativo são as chamadas, principalmente, Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), ou radicais livres, e são altamente instáveis e reativas, podendo possuir um ou mais elétrons desemparelhados em seu orbital, isso faz com que essas moléculas necessitem extrair elétron de outras moléculas para se tornarem estáveis (HALLIWELL, 2006)

Quando há um excesso de EROs e diminuição de agentes antioxidantes, chama-se esse desequilíbrio de estresse oxidativo. Os radicais livres livres podem provocar danos cumulativos, avaliado através da carbonilação proteica, e, até, irreversíveis em macromoléculas saudáveis, resultando em perda de função e morte celular, e a longo prazo possivelmente impactará diretamente na saúde e expectativa de vida do indivíduo (ECHTAY, 2007). O peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) é um dos principais radicais livres, sendo produto da dismutação do radical superóxido ( $O_2^-$ ) pela enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD), que faz parte da primeira linha de defesa antioxidante (HALLIWELL, 2006).

Novas tecnologias, como biomarcadores, podem auxiliar no diagnóstico do indivíduo para gerar ganho funcional e cognitivo, melhorando a reabilitação, autonomia, independência, possibilitando melhor qualidade de vida e inclusão social (AMORIN, 2010). Evidências apontam que, quanto mais precoce o diagnóstico e intervenção, menores serão as chances destes problemas impactarem negativamente o desenvolvimento social e intelectual de crianças que apresentarem esta deficiência (VIVER SEM LIMITE, 2013). Desta forma, o presente estudo visa auxiliar na pesquisa de biomarcadores, que possam ser, futuramente, promissores para o diagnóstico de DII.

## **1.1 JUSTIFICATIVA**

O acréscimo da produção e incorporação de novas tecnologias esteve associado à melhora da prevenção, diagnóstico e tratamento das doenças, o que repercutiu no aumento da qualidade de vida. Novas tecnologias estão surgindo com o intuito de melhorar o diagnóstico e tratamento de indivíduos acometidos por algum tipo de deficiência, especialmente o comprometimento da função cognitiva.

Sabe-se que existem crianças que não apresentam nenhum tipo diagnóstico psiquiátrico ou neurológico específico, entretanto tem um desempenho escolar insatisfatório e dificuldades no aprendizado caracterizando quadro de Deficiência Intelectual. Acreditando que os resultados nos testes cognitivos de crianças com deficiência intelectual podem estar associados a alterações fisiológicas, entende-se a importância de conhecê-los, já que esses fatores podem afetar o desenvolvimento cognitivo normal. A identificação destes fatores pode contribuir com programas de prevenção a deficiência ou mesmo com práticas no tratamento/acompanhamento do quadro.

Para os indivíduos que possuem algum tipo de deficiência intelectual, essas novas tecnologias possibilitam potencializar os ganhos cognitivos e funcionais, apresentando uma nova possibilidade de reabilitação, independência, autonomia, qualidade de vida e inclusão social, e juntamente com todas essas possibilidades há a necessidade de se estudar como essas tecnologias se apresentam para tais disfunções. Portanto o estudo irá facilitar a inserção social das crianças com deficiência e diminuir a necessidade de atendimento especializado durante a adolescência e vida adulta pelo SUS.

Há evidências suficientes de que quanto mais precoces forem o diagnóstico de atraso e a intervenção, menor será o impacto desses problemas no desenvolvimento e na vida futura da criança.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Esse estudo, em um primeiro momento, visa mapear quais as possíveis alterações bioquímicas em crianças encaminhadas ao Centro Especializado em Reabilitação II (CER II) – UNESC, por meio de biomarcadores plasmáticos de crianças que apresentam deficiência intelectual, entretanto não apresentam nenhum outro distúrbio associado, como doenças psiquiátricas ou outros tipos de patologias associadas.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Avaliar espécies reativas de oxigênio por meio do método de diacetato de dicloro-di-hidro-fluoresceína (DCF);

Avaliar danos em proteínas, carbonilação de proteínas, pelo método de carbonil;

Avaliar Avaliar os níveis plasmáticos de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) em crianças com deficiência intelectual;

Avaliar os níveis plasmáticos de fator de crescimento nervoso beta (NGF-beta) em crianças com deficiência intelectual.

### 3 METODOLOGIA

A amostra da pesquisa será composta por crianças com diagnóstico de deficiência intelectual que frequentaram o Centro Especializado em Reabilitação localizado na UNESC (CERII).

A pesquisa foi aprovada no segundo semestre de 2016 pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos da Universidade do Extremo Sul Catarinense, tendo como base a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Os tutores das crianças serão inicialmente convidados a participar da pesquisa, autorizando sua realização por meio de assinatura de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). A avaliação dos indivíduos participantes da pesquisa e coleta de sangue se iniciaram logo após a aprovação do projeto, em agosto de 2016, e seguem até atingir o número necessário de participantes.

São avaliados indivíduos com diagnóstico de deficiência intelectual, de ambos os sexos, com idade entre 7 a 10 anos de idade. As variáveis analisadas são: WISC IV – Escala De Inteligência Weschsler Para Crianças, Colúmbia, DFH – Desenho da Figura Humana - escala de SISTO, TIG-NV – Teste de Inteligência Geral Não Verbal para diagnóstico da deficiência e compreensão dos aspectos mais ou menos afetados. Os critérios de exclusão serão: qualquer tipo de diagnóstico neurológico (doença neurológica física); não estiver na faixa etária proposta para o estudo, não aceitar da pesquisa, não assinar o TCLE.

As crianças com ou sem diagnóstico de DI serão divididas em dois grupos, o Grupo I, Grupo Controle (GC), composto por crianças que não possuem diagnóstico ou suspeita de patologias para comparação do grupo experimental; e o Grupo II: Grupo Experimental (GE), composto por crianças com diagnóstico de DI. De ambos os grupos, coletaram-se amostras sanguíneas, onde as mesmas, serão submetidas à avaliações bioquímicas para identificação dos biomarcadores.

Os materiais biológicos (sangue) são enviados ao Laboratório de Biomedicina Translacional da Universidade do Extremo Sul Catarinense-UNESC e o Programa de Pós-Graduação da Universidade se responsabilizará pelas análises bioquímicas das amostras.

As amostras foram centrifugadas para obtenção do plasma, por 5 minutos, a 4000 RPM's. Através do método diacetato de dicloro-di-hidro-fluoresceína (DCF) pela metodologia de Lebel e Bondy, (1990), os danos oxidativos em proteínas foram mensurados pela determinação de grupos carboníls baseado na reação com dinitrofenilhidrazina, conforme previamente descrito por Levine et al. (1990), as neurotrofinas BDNF e Beta-NGF, serão investigados utilizando a técnica de imunoenensaio, Elisa (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA).

Para as análises estatísticas será elaborado um banco de dados em planilhas do software Microsoft Excel versão 2010. Para a comparação da média das variáveis quantitativas, como por exemplo, idade, entre as categorias variáveis de gênero, será aplicado o teste t de Student para amostras independentes.



## 5 ORÇAMENTO

Para a realização desta pesquisa, serão necessário insumos, kits para realização das técnicas de identificação dos possíveis biomarcadores e questionários ou testes cognitivos, os mesmos estão descritos na tabela 2, abaixo.

Tabela 2: Orçamento para realização do Projeto de Pesquisa e TCCII.

Discriminação	Quantidade	Valor Unitário R\$	Valor Total R\$
Kits para analisar os marcadores bioquímicos através do método Elisa (DuoSet ELISA) (Beta-NGF e BDNF)	2	4.100,00	<b>8.200,00</b>
WISC IV - Escala Wechsler de Inteligência para Crianças – Kit	1	2.900,00	<b>2.900,00</b>
WISC IV - Escala Wechsler de Inteligência para Crianças - Protocolos de Registro	200	33,00	<b>6.600,00</b>
WISC IV - Protocolos de Resposta 1	100	22,00	<b>2.200,00</b>
WISC IV - Protocolos de Resposta 2	100	22,00	<b>2.200,00</b>
TIG-NV - Teste de Inteligência Geral - Não Verbal – Kit	01	205,00	<b>205,00</b>
TIG-NV - Teste de Inteligência Geral - Não Verbal - Bloco de Resposta c/ 25 folhas	8	35,00	<b>280,00</b>
COLÚMBIA - Escala de Maturidade Mental - Kit	1	500,00	<b>500,00</b>
COLÚMBIA - Escala de Maturidade Mental - Bloco de Resposta c/ 25 folhas	8	43,35	<b>346,80</b>
DFH - Desenho da Figura Humana, Escala Sisto - Kit	1	229,90	<b>229,90</b>
DFH - Desenho da Figura Humana, Escala Sisto - Bloco de Aplicação Feminino	4	33,00	<b>132,00</b>
DFH - Desenho da Figura Humana, Escala Sisto - Bloco de Aplicação Masculino	4	36,30	<b>145,20</b>
Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)	100	0,40	<b>40,00</b>

---

Sub-total

**23.978,70**

---

## REFERÊNCIAS

- ACHESON, Ann et al. A BDNF autocrine loop in adult sensory neurons prevents cell death. **Nature**, [s.l.], v. 374, n. 6521, p.450-453, mar. 1995.
- AHIA, Vihangn. Diagnostic and statistical manual of mental disorders 5: A quick glance. **Indian Journal Of Psychiatry**, [s.l.], v. 55, n. 3, p.220-223, 2013.
- American Association on Intellectual and Developmental Disabilities (AAIDD). **Intellectual Disability**: definition, classification and systems of supports. [s.l.:s.n.], 2010.
- AMORIM, Fábio Ferreira et al. Avaliação de **Tecnologias em Saúde**: Contexto Histórico e Perspectivas. *Com. Ciências Saúde*, Brasília, v..21, n.4, p.343-348, 2010.
- ANNUAL REPORT OF THE AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATION. Washington: American Psychological Association, v. 5, 2015. Disponível em: <<https://www.apa.org/about/governance/bdcmt/2014-report.pdf>>. Acesso em: 12 maio 2019.
- BINET, Alfred; SIMON, Th.. Méthodes nouvelles pour le diagnostic du niveau intellectuel des anormaux. **L'année Psychologique**, [s.l.], v. 11, n. 1, p.191-244, 1904.
- DURAIKANNU, Arul et al. Beyond Trophic Factors: Exploiting the Intrinsic Regenerative Properties of Adult Neurons. **Frontiers In Cellular Neuroscience**, [s.l.], v. 13, p.3-25, 5 abr. 2019.
- DURKIN, Maureen. The epidemiology of developmental disabilities in low-income countries. **Mental Retardation And Developmental Disabilities Research Reviews**, [s.l.], v. 8, n. 3, p.206-211, 2002.
- ECHTAY, K. Mitochondrial uncoupling proteins—What is their physiological role? **Free Radical Biology And Medicine**, [s.l.], v. 43, n. 10, p.1351-1371, 15 nov. 2007.
- FARIAS, Norma; BUCHALLA, Cassia Maria. A classificação internacional de funcionalidade, incapacidade e saúde da organização mundial da saúde: conceitos, usos e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, [s.l.], v. 8, n. 2, p.187-193, jun. 2005.
- GONZÁLEZ, Gabriel et al. Avances en la identificación etiológica del retraso mental. **Revista de Neurología**, [s.l.], v. 57, n. 01, p.75-83, 2013.
- HALLIWELL, B.. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. **Plant Physiology**, [s.l.], v. 141, n. 2, p.312-322, 1 jun. 2006.

HARRIS, James C. **Intellectual Disability: Understanding Its Development, Causes, Classification, Evaluation, and Treatment.** EUA: Oxford University Press Inc, 2005. 448 p.

HEIKURA, Ulla et al. Temporal Changes in Incidence and Prevalence of Intellectual Disability Between Two Birth Cohorts in Northern Finland\*. **American Journal On Mental Retardation**, [s.l.], v. 108, n. 1, p.19-31, 2003.

LEBEL, Carl P.; BONDY, Stephen C.. Sensitive and rapid quantitation of oxygen reactive species formation in rat synaptosomes. **Neurochemistry International**, [s.l.], v. 17, n. 3, p.435-440, 1990.

LEVI-MONTALCINI, R. et al. Nerve growth factor induces volume increase and enhances tyrosine hydroxylase synthesis in chemically axotomized sympathetic ganglia of newborn rats. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 72, n. 2, p.595-599, 1 fev. 1975.

LEVINE, Rodney L. et al. [49] Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Oxygen Radicals In Biological Systems Part B: Oxygen Radicals and Antioxidants**, [s.l.], p.464-478, 1990.

LU, Bai et al. BDNF-based synaptic repair as a disease-modifying strategy for neurodegenerative diseases. **Nature Reviews Neuroscience**, [s.l.], v. 14, n. 6, p.401-416, 15 maio 2013.

MCKENZIE, Katherine et al. Systematic Review of the Prevalence and Incidence of Intellectual Disabilities: Current Trends and Issues. **Current Developmental Disorders Reports**, [s.l.], v. 3, n. 2, p.104-115, 15 abr. 2016.

MINNONE, Gaetana; BENEDETTI, Fabrizio de; BRACCI-LAUDIERO, Luisa. NGF and Its Receptors in the Regulation of Inflammatory Response. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 18, n. 5, p.1028-1046, 11 maio 2017.

NG, Ted et al. Decreased Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Levels in Patients with Alzheimer's Disease (AD): A Systematic Review and Meta-Analysis. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 20, n. 2, p.257-283, 10 jan. 2019.

VIVER SEM LIMITE. **Plano Nacional dos Direitos da Pessoa com Deficiência: SDH-PR/SNPD**, 92 p., 2013.

World Health Organization (WHO). International Classification of Functioning Disability and Health. Genebra, 2001.

World Health Organization (WHO). The International Classification of Diseases – Tenth revision (ICD10). World Health Organization, Geneva, 1992.

## **ANEXOS**

ANEXO A – Parecer consubstanciado do comitê de ética para pesquisa em humanos – CEP

UNIVERSIDADE DO EXTREMO  
SUL CATARINENSE - UNESC



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES SÉRICOS EM PLASMA DE CRIANÇAS COM DEFICIÊNCIA INTELLECTUAL ATENDIDAS EM UM CENTRO ESPECIALIZADO EM REABILITAÇÃO E SUA CORRELAÇÃO COM FATORES GESTACIONAIS E ALIMENTARES

**Pesquisador:** Lisiane Tuon Generoso Bitencourt

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 44961115.5.0000.0119

**Instituição Proponente:** Universidade do Extremo Sul Catarinense

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.212.173

**Apresentação do Projeto:**

Revisão de projeto. vide versões anteriores.

**Objetivo da Pesquisa:**

Revisão de projeto. vide versões anteriores.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Adequado.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Adequado as considerações foram levadas em conta e corrigidos eventuais problemas.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Adequado as considerações foram levadas em conta e corrigidos eventuais problemas.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Adequado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Avenida Universitária, 1105  
Bairro: Universitário CEP: 88.808-000  
UF: SC Município: CRICIUMA  
Telefone: (48)3431-2723 Fax: (48)3431-2750 E-mail: [cefica@unesc.net](mailto:cefica@unesc.net)

Continuação do Parecer: 1.212.173

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle_atualizado.docx	20/08/2015 22:44:51	Lisiane Tuon Generoso Bitencourt	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	20/08/2015 22:45:36	Lisiane Tuon Generoso Bitencourt	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	20/08/2015 22:53:22	Lisiane Tuon Generoso Bitencourt	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_515244.pdf	20/08/2015 22:53:53		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CRICIUMA, 02 de Setembro de 2015

Assinado por:

RENAN ANTONIO CERETTA  
(Coordenador)

Endereço: Avenida Universitária, 1105  
Bairro: Universitário CEP: 88.808-000  
UF: SC Município: CRICIUMA  
Telefone: (48)3431-2723 Fax: (48)3431-2750 E-mail: cefica@unesc.net

## ANEXO B – Termo de Consentimento livre e esclarecido -TCLE



**Clínicas Integradas**

Termos de Consentimento

### CONSENTIMENTO PÓS-INFORMADO

Eu \_\_\_\_\_ declaro ter sido informado (a) de que o atendimento nas Clínicas Integradas faz parte do ensino dos diversos Cursos da Universidade. Portanto, o atendimento será realizado por alunos capacitados para tal, sob a supervisão direta dos professores. Os casos clínicos aqui atendidos interessam, então, ao ensino e pesquisa e poderão ser utilizados para este fim. Serão mantidos em sigilo conforme as recomendações éticas profissionais, garantindo a privacidade do atendimento.  
Declaro que estou ciente,

Criciúma, 28 de Outubro de 2019

\_\_\_\_\_  
Assinatura do paciente e/ou responsável

### CONSENTIMENTO REGRAS DE UTILIZAÇÃO DOS SERVIÇOS

Eu \_\_\_\_\_ declaro ter sido informado (a) que para utilizar os Serviços das Clínicas Integradas deverão ser atendidas as regras abaixo:

- Chegar pontualmente no horário agendado. Em caso de atraso será cancelada a consulta e registrado falta;
- Comunicar o não comparecimento à consulta com 24 horas de antecedência. Do contrário o paciente receberá falta;
- Após 2 (duas) faltas sem justificativa o paciente não poderá consultar nos diversos Serviços no período de 1 ano;
- As justificativas de faltas só serão aceitas com atestado médico;
- Para consultas com a pediatria, trazer o cartão de vacina;
- Trazer exames realizados anteriormente para a consulta.

Criciúma, 28 de Outubro de 2019

\_\_\_\_\_  
Assinatura do paciente e/ou responsável

**NORMAS DE ENVIO DE ARTIGOS DA REVISTA SELECIONADA**

Normas para publicação  
**Revista de Iniciação Científica da UNESC**

I – Sobre a formatação dos manuscritos

1) Os manuscritos deverão ser redigidos em português, inglês ou espanhol, com resumos em português e abstract em inglês, com título nas duas línguas. Deverão ser enviados em versão eletrônica (arquivo.doc), digitados com espaçamento de 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 12; obedecendo as margens de 3cm. Os textos deverão apresentar uma linguagem precisa, clara e sucinta.

2) Na página de rosto, deverá constar o título do manuscrito, o nome completo dos autores e das instituições envolvidas. Deve-se indicar o autor para correspondência e seus endereços: postal completo e eletrônico (Estas informações serão, posteriormente, retiradas pela Comissão Editorial, para garantir o anonimato dos autores). Abaixo devem vir: resumo, palavras-chave (máximo de cinco), abstract, key words e título abreviado (máximo de 60 caracteres).

3) O resumo e o abstract não poderão exceder a 200 palavras.

**4) O limite de páginas de trabalhos teóricos, artigos originais de pesquisa e revisões, incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas, é de 15.**

5) Os artigos originais de pesquisa deverão conter, sempre que possível, **Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos e Referências**. As demais formas de publicação não necessitam apresentar as subdivisões acima.

6) As citações de referências no texto devem obedecer ao seguinte padrão: um autor (NETTO,2001); dois autores (MOTTA-JÚNIOR; LOMBARDI, 2002); três ou mais autores (RAMOS et al., 2002).

7) No caso do(s) nome(s) do(s) autor(es) fazer(em) parte da frase, os nomes devem ser

grafados apenas com a inicial maiúscula e o ano da publicação deve vir entre parênteses. Por exemplo: "Segundo Assis e Pereira (2010), as aves migram para regiões mais quentes."

8) Quando houver, no mesmo ano, mais de um artigo de mesma autoria, deve-se acrescentar letras minúsculas após o ano, conforme o exemplo: (DAVIDSON et al., 2000a; 2000b). Quando houver mais de uma citação dentro de um mesmo parêntese, essas devem ser colocadas em ordem cronológica. Exemplo: (GIRARD, 1984; GROVUM, 1988; DE TONI et al., 2000).

9) As citações de referências no final do artigo devem obedecer às normas da ABNT, seguindo a ordem alfabética do sobrenome do primeiro autor (e assim sucessivamente para os demais autores). Apenas citações que aparecem no texto devem constar na lista de referências. As citações de resumos de congressos e reuniões científicas não poderão ultrapassar a 10% do total de referências citadas. Trabalhos aceitos para publicação devem ser referidos como "no prelo" ou "in press", quando tratar-se de artigo redigido em inglês. Dados não publicados devem ser citados apenas no texto como "dados não publicados" ou "comunicação pessoal", entre parênteses.

Exemplos de citação na lista final de referências

a) artigos em periódicos

ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. Uso de recursos vegetais da Caatinga: o caso do agreste do estado de Pernambuco. *Interciência*, Caracas, v. 2, n. 28, p. 336-346, 2002.

b) livros na íntegra

MILLIKEN, W.; MILLER, R. P.; POLLARD, S. R.; WANDELLI, E. V. I. *Ethnobotany of the Waimiri atroari indians*. London: Royal Botanic Gardens Kew, 1992. 146 p.

c) capítulo de livros

COLLEAUX, L. Genetic basis of mental retardation. In: JONES, B. C.; MORMÈDE, P.

(Eds). Neurobehavioral Genetics – Methods and applications. 2 ed. New York: CRC Press, 1999. p. 275-290.

d) teses, dissertações e monografias.

FARIA, P. E. P. Uso de biomarcadores de estresse oxidativo no berbigão *Anomalocardia brasiliensis* (GMELIN, 1971) para avaliação de poluição aquática em dois sítios em Florianópolis - Santa Catarina - BRASIL. 2008. 37 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2008.

e) publicações em Congressos, Reuniões Científicas, Simpósios, etc. SILVA, J. F., BOELONI, J. N.; OCARINO, N. M.; BOZZI, A.; GÓES, A. M.; SERAKIDES, R. Efeito dose- dependente da Triiodotironina (T3) na diferenciação osteogênica de células tronco mesenquimais da medula óssea de ratas. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 60, 2008, Campinas. Resumos... Campinas: SBPC, 2008. Versão eletrônica.

f) páginas da Internet

FOX, R. Invertebrate Anatomy-Daphniamagna. 2002. Disponível <<http://www.science.lander.edu/refox/daphnia.html>>. Acesso em: 22 maio 2003.

10) As figuras (fotografias, desenhos, etc.) e as tabelas já devem ser inseridas no corpo do texto, no melhor local após o final do parágrafo em que foram citadas pela primeira vez. Quando for o caso, as figuras devem conter a representação da escala em barras. Sempre que possível, as ilustrações deverão ser coloridas. Tabelas e figuras devem ser numeradas com algarismos arábicos de acordo com sua sequência no texto, sendo que este deve incluir referências a todas elas. As tabelas e figuras deverão ter um título (em cima das mesmas) breve e auto-explicativo. Informações adicionais, necessárias à compreensão das tabelas e figuras, deverão ser dadas em forma de nota de rodapé, embaixo das mesmas.

## II – Sobre a avaliação e a publicação dos manuscritos

1) Preliminarmente, o manuscrito será avaliado por um Editor de Área, que emitirá um parecer sobre a adequação do mesmo ao escopo da Revista e a qualidade de sua redação.

2) Em caso de parecer favorável ao início da tramitação, pelo Editor de Área, o manuscrito será analisado por dois avaliadores, especialistas no tema do mesmo, sendo sua aceitação baseada no seu conteúdo científico.

3) Os autores receberão os pareceres dos avaliadores e deverão encaminhar a nova versão, em um prazo máximo de 20 dias, com as alterações sugeridas, em formato eletrônico (.doc). No caso do não atendimento de alguma sugestão dos avaliadores, os autores deverão apresentar uma justificativa circunstanciada, em documento anexado à parte.

4) A versão corrigida será re-submetida a pelo menos um dos avaliadores para que as alterações procedidas sejam avaliadas.

5) Uma vez aceito quanto ao mérito científico, os autores se responsabilizarão pelo envio do texto em inglês a um dos revisores da língua inglesa indicados pela revista. Após a correção do inglês, os autores deverão encaminhar a versão corrigida juntamente com a certificação do revisor do texto em inglês.

6) Após a aceitação para publicação, provas definitivas do artigo, em formato pdf, serão enviadas para a última correção dos autores. Erros nessa última forma serão de total responsabilidade dos autores.

7) Os arquivos PDF's dos manuscritos aceitos serão disponibilizados, com acesso livre, na página da revista (<http://periodicos.unesc.net>) Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista.

2. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word (.doc).

3. URLs para as referências foram informadas quando necessário.

4. O texto está em espaço 1,5; usa fonte Times New Roman, tamanho 12; emprega itálico apenas em nomes científicos (gênero e espécie) em vez de sublinhado (exceto em endereços URL); as figuras e tabelas estão inseridas no texto, no melhor local após sua primeira citação.

5. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em Diretrizes para Autores, na seção Sobre a Revista.

6. O(s) autor(es) se compromete(m), caso o manuscrito seja aceito, a submeter e arcar com as despesas da correção do texto em inglês (seja apenas o abstract, seja o texto completo). Esta correção deverá ser feita por um dos revisores da confiança da comissão editorial da revista. Após a correção ser realizada, o(s) autor(es) deverá(ão) encaminhar a cópia da correção feita pelo revisor, bem como uma certificação da correção realizada.

7) Os arquivos PDF's dos manuscritos aceitos serão disponibilizados, com acesso livre, na página da revista.

ISSN Eletrônico: 2594-7931

ISSN Impresso: 1678-7706

Qualis

Engenharias II e Interdisciplinar - B5

Ciências Ambientais, História e Saúde Coletiva - C

**Editores:**

Profa. Dra. Luciane Bisognin Ceretta

Prof. Dr. André Cechinel

Prof. Dr. Juliano Bitencourt Campos