



Universidade de Brasília

Faculdade de Ceilândia

Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias em Saúde

POLIMORFISMO GENÉTICO DA IL4 E SUA ASSOCIAÇÃO COM O TRANSTORNO DO
ESPECTRO AUTISTA

ALINE RIBEIRO BARROS

Orientadora: Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

Brasília

2022

ALINE RIBEIRO BARROS

**Polimorfismo genético IL4 e sua associação com o Transtorno do
Espectro Autista**

Dissertação, para obtenção do título de Mestre, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências e Tecnologias em Saúde da Faculdade de Ceilândia – Universidade de Brasília.

Área de concentração: Mecanismos Básicos e Tecnologias em Saúde.

Linha de pesquisa Mecanismos Moleculares e Funcionais da Saúde Humana.

Orientador: Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

Brasília 2022

RB277b RABELO, ALINE
BARROS / ALINE RABELO; orientador Izabel Cristina
Rodrigues da Silva. -- Brasília, 2022.
122 p.

Dissertação (Mestrado - Mestrado em Ciências e
Tecnologias em Saúde) -- Universidade de Brasília, 2022.

1. Transtorno do Espectro Austista. 2. Polimorfismo
Genético. 3. Interleucina. 4. Interleucina 4. I. Rodrigues
da Silva, Izabel Cristina , orient. II. Título.

ALINE RIBEIRO BARROS

Polimorfismo genético IL4 e sua associação com o Transtorno do Espectro Autista

Dissertação, para obtenção do título de Mestre, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências e Tecnologias em Saúde da Faculdade de Ceilândia – Universidade de Brasília.

Área de concentração: Mecanismos Básicos e Tecnologias em Saúde.

Linha de pesquisa Mecanismos Moleculares e Funcionais da Saúde Humana.

Orientador: Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva.

Banca Examinadora

Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva (Presidente)
(Universidade de Brasília)

Prof. Dra. Mariana Fúrio Franco Bernardes

Prof. Dra. Ruth da Conceição Costa e Silva Sacco

Profa. Dra Daniela Castilho Orsi (suplente)

AGRADECIMENTOS

A Deus

Aos meus pais Augusto e Noédla, por todo o apoio ao longo dessa jornada de formação.

Ao meu esposo Elias pela amizade e parceria ao longo desses anos, obrigado por não me deixar desistir.

Aos meus filhos, Elias, Emanuel, Ana Luísa e Mariana, por sempre acreditarem na mamãe.

Aos técnicos de laboratório Elias e Lorena, pelo apoio na condução dos experimentos

A toda equipe do COMPP em especial ao Dr. André de Mattos Salles e os residentes da psiquiatria infantil, Dr. Bráulio e Dra. Iara, meu muito obrigado pela cooperação nessa pesquisa e por todo aprendizado sobre tema.

A minha orientadora Prof. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva, pelo suporte técnico científico e pelos bons conselhos.

Aos meus colegas de bancada, Caroline, Lígia, Ana, Sabrina, Jéssica e Gabriel e todos aqueles que contribuíram pela troca de conhecimentos.

Aos alunos de graduação Andreia, Iago e Ana Paula, obrigado pelo auxílio na coleta e processamento das amostras.

A todas as crianças e seus pais e responsáveis que participaram dessa pesquisa.

Ao PGCTS e a Faculdade de Ceilândia.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Dedico essa dissertação aos meus filhos amados, Elias, Ana Luísa e Mariana e em especial ao meu Emanuel, meu garotinho autista que foi minha fonte inspiração

“ O que vemos muda o que sabemos. O que sabemos muda o que vemos”

Jean Piaget

LISTA DE SIGLAS

ABA Applied Behavior Analysis

ABC Aberrant Behavior Checklist

ADI-R Autism Diagnostic Interview-Revised

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BHE Barreira hematoencefálica

CARS Childhood Autism Rating Scale

CDC Centers for Disease Control and Prevention

CNV Variação no número de cópias

COMPP Centro de Orientação Médico Psicopedagógica

DSM-5 Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition

DSM-IV Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition

FDA Food and Drug Administration

IL Interleucina

LCR Líquido cefalorraquidiano

PECS Picture Exchange Communication System

SUS Sistema Único de Saúde

SNC Sistema Nervoso Central

TEA Transtorno do Espectro Autista

TDHA Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Médias da idade e sexo do grupo caso e controle.

Tabela 2 - Dados demográficos da população TEA.

Tabela 3 - Uso de medicamentos entre os indivíduos com TEA

Tabela 4 - Distribuição das atividades terapêuticas em indivíduos com autismo

Tabela 5 - Distribuição das frequências genótípicas e alélicas em indivíduos com autismo e controles.

Tabela 6 - Distribuição das frequências genótípicas em indivíduos com autismo de acordo com a classificação da escala CARS

Tabela 7 - Distribuição das frequências genótípicas em indivíduos com autismo de acordo com as características clínicas

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	1
RESUMO.....	4
ABSTRACT	6
1. INTRODUÇÃO.....	8
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	10
2.1 DEFINIÇÃO DO TEA.....	10
2.2 SINAIS E SINTOMAS.....	10
2.2.1 Alterações Sensoriais	10
2.2.2 Linguagem	12
2.2.3 Comportamentos Restritos e Estereotipias.....	13
2.2.4 Funções Motoras	14
2.2.5 Alterações Neuroquímicas	15
2.2.6 Neuroinflamação.....	16
2.3 COMORBIDADES	17
2.3.1 Hiperatividade.....	17
2.3.2 Alterações no processo de Aprendizagem.....	18
2.3.3 Distúrbios do Sono.....	18
2.3.4 Distúrbios Gastrointestinais	19
2.3.5 Transtornos Alimentares	20
2.3.6 Epilepsia	20
2.4 DIAGNÓSTICO	21
2.4.1 Escalas de Apoio Diagnósticas.....	23
2.4.2 Investigação Genética	25
2.5 PREVALÊNCIA	25
2.6 ETIOLOGIA.....	27

2.6.1	Fatores Ambientais	27
2.6.2	Fatores Genéticos.....	28
2.6.3	Variantes Comuns.....	29
2.7	TRATAMENTOS	29
2.7.1	Farmacoterapia.....	32
2.7.2	Antipsicóticos.....	32
2.7.3	Antidepressivos.....	33
2.7.4	Anticonvulsivantes	33
2.7.5	Antagonistas do receptor de Glutamato.....	34
2.7.6	Outras abordagens farmacoterapêuticas	34
3.	OBJETIVOS.....	35
2.1	OBJETIVO GERAL	35
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1	PARTICIPANTES.....	36
4.1.1	Cálculo Amostral.....	36
4.1.2	Critérios de inclusão e exclusão	36
4.2	COLETA DE DADOS	36
4.2.1	Purificação de DNA e genotipagem.....	37
4.3	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	38
5.	RESULTADOS	38
6.	DISCUSSÃO.....	44
6.1	CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS	44
6.2	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	44
6.3	POLIMORFISMO	45
7.	CONCLUSÃO.....	47
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

ANEXO A – PARECER CONSUSBTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	62
ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (GRUPO CONTROLE)	72
ANEXO C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PAIS E RESPONSÁVEIS)	74
ANEXO D – TERMO DE ASSENTIMENTO (CRIANÇAS DE 3 A 12 ANOS)	77
ANEXO E – TERMO DE ASSENTIMENTO (CRIANÇAS DE 12 A 18 ANOS)	80
ANEXO F – QUESTIONÁRIO DE DADOS QUALITATIVOS.....	81
ANEXO G – ESCALA CARS.....	85
ANEXO H – INSTRUÇÃO DE USO SWAB ORAGENE	92
ANEXO I – INSTRUÇÃO DE USO DO REAGENTE PREPIPT	93
ANEXO J – NORMAS DA REVISTA	98
ANEXO L – AVALIAÇÃO DA REVISTA	105
ANEXO N – TRABALHO PUBLICADO (DOI: 10.29327/141967).....	106

RESUMO

O conjunto de sinais comportamentais que caracterizam o transtorno do espectro autista (TEA) foi descrito pela primeira vez em meados da década de 40, pelo psiquiatra austríaco Leo Kanner, que cunhou a um conjunto de comportamentos específicos o termo distúrbios autísticos do contato afetivo. O TEA é caracterizado por déficits marcantes na área comportamental e na linguagem, abrangendo todo um espectro de sinais e sintomas, que variam conforme a necessidade de suporte. Seu diagnóstico é essencialmente clínico, baseado em critérios definidos em manuais. A etiologia do TEA não é definida, mas sua apresentação variada reforça a hipótese de uma causa multifatorial com um forte componente genético, ligado principalmente a padrões de herança poligênicos, com diferentes tipos de alterações sendo responsáveis pela expressão de um fenótipo com características compatíveis com a descrição do TEA. Dentre as diversas alterações que indivíduos com autismo podem ser acometidos podemos citar os polimorfismos genéticos, que quando presentes podem ser associadas com a suscetibilidade à diversas condições. Além disso, apesar de evidências apontarem a existência de um processo neuro inflamatório no TEA, os estudos com polimorfismos de citocinas são escassos- as publicações existentes comumente abordam os genes IL1 e IL6 responsáveis por citocinas pró inflamatórias, todavia evidências apontam níveis alterados de citocinas anti-inflamatórias no Sistema Nervoso Central de pessoas com autismo, e entre essas citocinas podem destacar a interleucina 4. Um polimorfismo descrito no gene IL4 é uma repetição em tandem de número variável (VNTR), localizado no intron 3 (uma repetição de 70pb), e pode levar a um aumento da ativação transcricional de IL-4, o que poderia afetar a duração e magnitude da resposta imune. Neste contexto, esse estudo tem como objetivo analisar o polimorfismo genético do tipo VNTR no gene IL4 e sua associação com o TEA. Para isso, a genotipagem de 35 crianças diagnosticadas com autismo e de 40 controles saudáveis foi executada. As frequências alélicas foram determinadas usando PCR qualitativa, e análises de susceptibilidade ao TEA, quanto do prognóstico dos pacientes pediátricos conforme a presença do polimorfismo, estratificados conforme a escala Childhood Autism Rating Scale (CARS), foram executadas considerando-se um nível de significância de 5%. Não há associação estatística entre o desenvolvimento do TEA e o polimorfismo IL4 VNTR íntron 3 ($p=0.642$). A presença do polimorfismo também não foi associada com a gravidade do

TEA ($p= 0.897$) e nem com nenhuma característica clínica apresentada. Portanto, o polimorfismo IL4 VNTR Íntron 3 não está associado à suscetibilidade ao TEA nem ao prognóstico.

Palavras Chave: Polimorfismo Genético, Interleucina 4, Transtorno do Espectro Autista

ABSTRACT

The set of behavioral signs that characterize autism spectrum disorder (ASD) was first described in the mid-1940s by the Austrian psychiatrist Leo Kanner, who coined the term autistic affective contact disorders for a set of specific behaviors. ASD is characterized by marked deficits in the behavioral area and in language, covering a whole spectrum of signs and symptoms, which vary according to the need for support. Its diagnosis is essentially clinical, based on criteria defined in manuals. The etiology of ASD is not defined, but its varied presentation reinforces the hypothesis of a multifactorial cause with a strong genetic component, linked mainly to polygenic inheritance patterns, with different types of alterations being responsible for the expression of a phenotype with characteristics compatible with the ASD. description of the TEA. Among the various changes that individuals with autism can be affected, we can mention genetic polymorphisms, which when present can be associated with susceptibility to various conditions. In addition, despite evidence pointing to the existence of a neuroinflammatory process in ASD, studies with cytokine polymorphisms are scarce - existing publications commonly address the IL1 and IL6 genes responsible for pro-inflammatory cytokines, however evidence points to altered levels of anti-inflammatory cytokines. -inflammatory in the Central Nervous System of people with autism, and among these cytokines interleukin 4 can be highlighted. A polymorphism described in the IL4 gene is a variable number tandem repeat (VNTR), located in intron 3 (a 70bp repeat), and may lead to an increase in IL-4 transcriptional activation, which could affect the duration and magnitude of the immune response. In this context, this study aims to evaluate the VNTR-type genetic polymorphism in the IL4 gene and its association with ASD. For this, genotyping of 35 children diagnosed with autism from 40 healthy controls was performed. Allele frequencies were determined using qualitative PCR, and analyzes of susceptibility to ASD and the prognosis of pediatric patients according to the presence of the polymorphism, stratified according to the Childhood Autism Rating Scale (CARS), were performed considering a significance level of 5%. There is no statistical association between the development of ASD and the IL4 VNTR intron 3 polymorphism ($p=0.642$). The presence of the polymorphism was also not associated with the severity of ASD

($p=0.897$) nor with any clinical characteristics presented. Therefore, the IL4 VNTR Intron 3 polymorphism is not associated with ASD susceptibility or prognosis.

Keywords: Genetic Polymorphism, Interleukin 4, Autism Spectrum Disorder

1. INTRODUÇÃO

O termo autismo foi introduzido na literatura médica por Bleuler no início do século XX, o qual referia-se ao desligamento da realidade com predominância absoluta ou relativa da vida interior. A palavra autismo é a combinação de dois termos gregos *autós* e *ismos*, cujo ao prefixo tem como significado 'próprio' e o sufixo é uma palavra que constitui uma ação verbal, em linhas gerais, autismo significa indivíduo voltado para si mesmo. Em 1928 Heller, educador austríaco, publicou um breve relato da descrição de seis casos do que ele designou de 'demência precoce'. Tratava-se de um conjunto de comportamentos de início precoce manifestados após um breve período de desenvolvimento normal. Heller observou declínio significativo dos interesses habituais e perda ou ausência da linguagem (1).

Nos anos 40 o autismo foi descrito pela primeira vez, por Leo Kanner - psiquiatra austríaco radicado nos Estados Unidos, ao observar em crianças um conjunto de comportamentos, que quando combinados, caracterizavam um distúrbio de caráter comportamental, onde o contato afetivo e a linguagem eram gravemente afetados. Então em 1943, Kanner cunhou termo 'distúrbios autísticos do contato afetivo', também chamada de Síndrome de Kanner ou simplesmente autismo infantil (2).

Concomitante ao trabalho de Kanner, Hans Asperger descreveu um conjunto de comportamentos que culminavam em dificuldades sociais e comunicativas, todavia, diferente dos pacientes de Kanner, Asperger observou essa dificuldade em crianças que não possuam atrasos intelectuais, tendo inclusive a facilidade de discursar sobre alguns temas (3). Contudo, as observações de Asperger foram publicadas em alemão, o que dificultou a difusão do conhecimento na época, tornando trabalho de Kanner (publicado em inglês) mais conhecido.

Atualmente o Transtorno do Espectro Autista (TEA) é definido como um transtorno do desenvolvimento infantil caracterizado por uma complexa desordem neurobiológica de causa de multifatorial (4). As crianças com TEA são acometidas ainda no estágio fetal, acarretando prejuízos que serão manifestados ao longo de toda a vida (4). Os sinais do TEA incluem prejuízos na comunicação verbal e não-verbal, déficits na socialização e comportamentos restritos (4).

O diagnóstico do TEA é complexo, multidisciplinar, baseado em critérios clínicos estabelecidos em manuais, como o Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais 5.^a (DSM-V). Não existem parâmetros sorológicos ou de imagem que caracterizem o transtorno, o que pode retardar o diagnóstico, uma vez que requer uma equipe familiarizada com as características do TEA, para auxiliar esse diagnóstico os profissionais podem contar como auxílio de escalas, que podem ser aplicadas a partir dos 18 meses (6).

As causas envolvidas no TEA ainda não estão completamente elucidadas (3), todavia se trata de um transtorno multifatorial de fisiopatologia complexa, com componente genético importantes (7). Estudos já relataram alterações genéticas relacionadas ao TEA em praticamente todos os cromossomos, este fato suporta a hipótese de que o transtorno teria origem poligênica, ou seja, várias variantes genéticas atuando para expressar um fenótipo autista (8) Essa variabilidade genética também estaria relacionada com a heterogeneidade observadas nos indivíduos do espectro. E embora haja sólidas evidências da participação genética no TEA, a busca por genes candidatos é extremamente difícil e caminha junto com o desenvolvimento das técnicas de biologia molecular (9).

Com aumento da prevalência do TEA nos últimos anos (5) e a popularização das técnicas de biologia molecular, como CGH *array* (Hibridização Genômica Comparativa em microarranjo), os estudos de variantes genéticas e suas correlações com o transtorno tem ganhado destaque (10). Contudo, cabe pontuar que tais estudos não devem centrar apenas na identificação de genes associados à predisposição ao TEA, mas sim buscar compreender as vias envolvidas na expressão do fenótipo.

Inserido no contexto exposta acima, o presente trabalho dedica-se a aprofundar-se no estudo da associação de polimorfismos genéticos de interleucinas com o TEA, em especial do gene IL4, responsável pela codificação na interleucina 4, que foi genotipada em pacientes diagnosticados com TEA acompanhados no Centro de Orientação Médico Psicopedagógico de Brasília (COMPP).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DEFINIÇÃO DO TEA

O TEA é um distúrbio do desenvolvimento infantil conhecido por manifestar déficits importantes na área do comportamento, linguagem e interação social. De acordo com o DSM-5, o TEA pode ser definido como a existência de prejuízos persistentes na interação social com a existência de padrões restritos e repetitivos de comportamentos, interesses e atividades (6).

O termo autismo tem sido utilizado de modo heterogêneo ao longo do tempo, geralmente aplicando-se tanto a uma definição ampla do tema, bem como definindo um diagnóstico restrito. Nos anos 80 o Manual Estatístico de Transtornos Mentais, terceira edição (DSM-III), incluía o termo autismo como um subgrupo dos transtornos invasivos do desenvolvimento, com tudo tal classificação não abordava limites claros. O Código Internacional de Doenças, décima primeira edição e o DSM- 5 trazem a definição “guarda-chuva” de Transtorno do Espectro Autista, estratificando os indivíduos de acordo com modificadores clínicos ligados aos prejuízos na comunicação e interação social, alterações sensoriais e comportamentos repetitivos (11).

Os primeiros sinais costumam ser notados entre o segundo e terceiro ano de vida e incluem: ausência ou atraso na linguagem; ausência de reciprocidade social; ecolalia; uso de linguagem não verbal, mesmo após o desenvolvimento da linguagem; estereotípias e comportamentos repetitivos; inflexibilidade na mudança de rotina; aparência típica. Em casos mais onde o autismo é mais acentuado ou a equipe é bem treinada, é possível observar sinais antes do segundo ano de vida (12).

2.2 SINAIS E SINTOMAS

2.2.1 Alterações Sensoriais

A integração da informação entre os diferentes sentidos é um processo fundamental na construção de uma percepção saudável, contribuindo para construção das habilidades e de todo processo cognitivo (13). O processamento sensorial consiste em um processo neurofisiológico de organização, interpretação e registro nas informações captadas pelos nossos sistemas sensoriais (visão, olfato, audição, tato e paladar). No TEA as alterações sensoriais podem afetar os múltiplos sistemas

sensoriais, como visão, audição, tato, paladar e propriocepção sendo e podem ser divididos conforme sua sensibilidade, levando a situações de hiperatividade a hipoatividade(13), dessa forma é possível observar déficits importantes nos padrões de regulação à estímulos sensoriais, que podem manifestar-se como uma resposta exagerada frente a estímulos, ou presença de interesses incomuns em aspectos do ambiente, todavia, nota-se um importante comprometimento das funções sensório-regulatórias. O grau de alteração de resposta pode estar correlacionado com a gravidade dos sintomas (10,12,13).

Jean Ayres formulou a Teoria da Integração Sensorial (IS), no qual apontou uma relação entre o processamento sensorial e os aspectos do desenvolvimento, comportamento e aprendizagem (15). De acordo com a IS, um sistema sensorial prejudicado leva a dificuldades de regulação das emoções e sentidos, no caso das crianças com TEA pode estar atrelado a autoestimulação (stims/estereotípias) como forma de autorregulação na informação sensorial processada (16).

Além da integração da informação sensorial, outro fator crítico é a janela de tempo dentro o qual os o estímulo sensorial é recebido e integrado, a chamada Janela de Ligação Sensorial (JLS). Estímulos sensoriais apresentados em proximidade temporal são mais prováveis de estarem associados a um determinado acontecimento (16–18). Estudos sugerem que JLS também está alterado nos pacientes com TEA, culminando em percepções sensoriais fragmentadas (16,19).

Um estudo conduzido por Stevenson e col. (2016), mediram a JLS em crianças com TEA utilizando três níveis de complexidade, usando como estímulos flashes visuais simples, bipes auditivos, ferramentas complexas (por exemplo, martelo batendo em um prego), e um indivíduo pronunciando fonemas. Eles observaram que indivíduos com TEA possuíam JLS mais amplos em comparação com o grupo controle, quando avaliados para estímulos complexos, no entanto essa diferença de JLS não foi observada quando expostos a estímulos menos complexos. Essa discrepância relatada leva a crer que diferenças na JLS presentes no TEA quando combinada aos déficits de IS resultam em um efeito cascata comprometendo aspectos como linguagem e interação social (16,17,19).

Alterações sensoriais no TEA também podem estar relacionadas com alterações nos padrões de sono e vigília (20). Estudos apontam que há uma

prevalência importante de insônia entre os pacientes com autismo (21). A insônia em crianças é definida como uma latência do sono de mais 30 minutos por noite ou vigília prolongada com prejuízo nas atividades diurnas (22). As dificuldades em adormecer e permanecer dormindo possuem forte associação com o comportamento diurno (18).

2.2.2 Linguagem

A linguagem é um aspecto essencial para a vida cotidiana, é por meio das nossas habilidades comunicativas que somos capazes de entender e seguir as regras da vida em comunidade. O atraso ou ausência da linguagem é, na maioria das vezes, um dos primeiros sinais observados, tanto por profissionais da saúde, quanto por pais e cuidadores de crianças com TEA. O desenvolvimento da linguagem nos primeiros cinco anos constitui um importante fator prognóstico. Quanto maior o prejuízo na comunicação maior costuma ser o grau de dependência (6,23–25).

As alterações na linguagem em crianças autistas permeiam desde a dificuldade na manutenção do discurso, prejuízos em cumprimentos e despedidas, alterações no timbre, ritmo, entonação, prosódia e velocidade, até ausência completa da fala funcional (6,26,27). Crianças com TEA, também podem apresentar ecolalia, que consiste em uma imitação imediata ou tardia da linguagem que foi escutada, de outras pessoas ou de mídias digitais, como desenhos animados (28). Tais dificuldades estariam associadas a déficits na tomada de perspectiva e teoria da mente (29).

A Teoria da Mente (ToM), não consiste em uma ‘teoria’ propriamente dita, e sim a capacidade sociocognitiva (automática) de atribuir estados mentais a si e aos outros de modo que tal habilidade é essencial para compreensão do mundo a sua volta permitindo o processamento rápido das informações e compreensão das regras do jogo social(30–32). Estudos sugerem que os prejuízos relacionados a ToM teriam estreita relação com os déficits observados na linguagem pragmática, no entanto a natureza dessa correlação ainda não foi elucidada (33).

Ao estudarmos a linguagem podemos dividi-la em várias formas, uma delas é a divisão entre em componentes semântico, sintático e pragmático. Ao utilizarmos a linguagem em nosso cotidiano, esses três componentes são fundidos de tal forma que estruturam nossa comunicação. Desse modo o estudo da linguagem pode ser categorizado em duas diferentes áreas, funciona e estrutural. No âmbito estrutural, a análise da linguagem remete a estrutura básica dos códigos linguísticos de

determinada língua, mantendo uma ordem lógica na disposição das palavras e significado coerente em uma frase (sintaxe e semântica). Na parte funcional, analisa-se o modo como o indivíduo usa o repertório linguístico dentro de determinado contexto, definindo assim sua habilidade pragmática (28,29). Portanto podemos definir a linguagem pragmática com a capacidade de utilizar a linguagem como ferramenta de comunicação eficaz (34).

Crianças com TEA apresentam déficits marcantes na linguagem pragmática, sendo uma área amplamente estudada. Contudo também é possível observar prejuízos variáveis na semântica e sintaxe (29).

Os déficits observados no TEA em relação a linguagem não se limitam apenas a comunicação verbal. A relação gesto-linguagem também se apresenta de forma atípica no autismo. Em comparação com crianças de desenvolvimento típico, a linguagem gestual costuma aparecer mais tardiamente em crianças com TEA. Contudo as evidências apontam que a relação gesto-linguagem está preservada no TEA, porém com variações tanto qualitativas como quantitativas(35).

2.2.3 Comportamentos Restritos e Estereotipias

Padrões de comportamentos restritos e repetitivos e estereotipias. São caracterizados como conjunto de movimentos repetitivos semivoluntários não direcionados a um objetivo, que possuem ritmo e padrão. Tais comportamentos compartilham características comuns como, alta frequência de repetição, forma invariável e movimentação inadequada ou estranha (36).

No autismo esse tipo de comportamento é caracterizado pela presença de padrões comportamentais repetitivos que podem incluir uso de objetos ou fala, insistência na mesmice, adesão inflexível a rotinas, rituais e padrões e interesses restritos e fixos que possuem intensidade de foco anormal (37).

Tais padrões costumam ser observados ainda na primeira infância e tendem diminuir a frequência conforme os anos. As estereotipias constituem fonte considerável de stress para rede familiar da pessoa com TEA, podendo inclusive ser responsável por prejuízos sociais e educacionais (37,38).

Estudo observacionais indicam que as estereotipias aumentam após a presença de um gatilho estressante (39). Alguns autistas relatam que esses

comportamentos tendem ser reconfortantes, relaxantes e prazerosos, levando a questionar se de fato tais comportamentos deveriam ser eliminados/reduzidos com medicação ou terapia (36).

As estereotipias também podem variar sua apresentação conforme o gênero. Quando comparados ao sexo feminino, os indivíduos do sexo masculino apresentam estereotipias em maior grau e frequência. Os comportamentos e interesses restritos estão mais relacionados a meninos, enquanto comportamentos do tipo compulsivo estaria mais relacionado a meninas (40).

Martínez-González et al (2021) conseguiram estabelecer uma relação positiva entre a presença dos déficits na comunicação e regulação emocional com a presença de comportamentos repetitivos, principalmente os automutilantes e estereotipados.

2.2.4 Funções Motoras

Evidências apontam uma variedade de prejuízos motores presentes em todo o espectro de crianças com autismo, independentemente do nível de suporte. Estudos apontam que os déficits motores (desempenho motor fino e grosso) estariam relacionados com o QI, mas não com a gravidade do TEA. Contudo, falhas de práxis costumam estar mais correlacionadas com a gravidade e não com o QI (41).

As deficiências motoras no TEA constituem um dos primeiros sinais clínicos identificados. Pacientes com autismo costumam apresentar prejuízos nas funções motoras finas e grossas, além de falta de coordenação e instabilidade postural. (42).

Os déficits observados podem ter relação com alterações histológicas no cerebelo, observadas em estudos post mortem de pacientes diagnosticados com TEA. Entre as alterações destacam-se a diminuição das células de Purkinje, que são neurônios importantes no processo de informação cerebelar(43). Mutações no gene CHD8, responsável pela codificação da proteína de ligação ao DNA da helicase do cromodomínio remodelador da cromatina 8 estão relacionados com a hipoplasia cerebelar levando a prejuízos na coordenação motora. Alterações genéticas no CHD8 apresentam associação positiva com a suscetibilidade ao autismo (44).

2.2.5 Alterações Neuroquímicas

Vários neurotransmissores (NT) centrais estão associados com o autismo. Alterações na neurotransmissão cerebral no início da fase do desenvolvimento do Sistema Nervoso Central (SNC) podem estar relacionadas com os achados no TEA. Alterações genéticas parecem ter correlação com as alterações neuroquímicas apresentadas no TEA (45).

A Serotonina (5-HT) está envolvida com vários processos cerebrais, incluindo neurogênese, migração celular, sinaptogênese e plasticidade sináptica. Níveis elevados de 5-HT foram relatados no sangue de pessoas com autismo. Em indivíduos com TEA os níveis de 5-HT elevados reduziu significativamente a interação social podendo estar associado com prejuízos sociais (46–48). Estudos genéticos apontam que a região 17q11.2 com alterações polimórficas do gene transportador da serotonina (SLC6A4) parecem estar associadas ao TEA (49).

Outro NT que desempenha papel fundamental no funcionamento do SNC é a dopamina (DA). Ademais, o papel fisiopatológico dos déficits DA no autismo é amplamente documentado, e suportado pelo uso clínico de antipsicóticos (45). A mutação do gene do transportador de DA (SLC6A3) está fortemente associado ao autismo. Outro gene regulador crucial é o DAT, onde variações genéticas parecem contribuir com alteração da homeostase dos níveis de DA no cérebro (50–52).

Alterações no sistema gabaérgico e glutamatérgico também levariam a neurotransmissões defeituosas nas sinapses excitatórias e inibitórias, levando a alterações no eixo excitatório-inibitório em neurônios pós sinápticos, Alterações no locus 15q11-13 (onde estão localizados genes responsáveis pela codificação de subunidades do receptores GABA) estariam presentes em parte dos indivíduos autistas(45).

Alterações na transmissão colinérgica e histaminérgica também foram relatadas. A acetilcolina (ACh) é essencial na regulação de sintomas do autismo, como por exemplo interação social e comportamentos repetitivos (53,54). Já o sistema histaminérgico com seus heterorreceptores de histamina H3 é um dos mecanismos responsáveis pela regulação de NT cerebrais como a ACh. DA, 5-HT e GABA cujo a disfunção possui relevância na expressão do fenótipo autista (45,55).

2.2.6 Neuroinflamação

As alterações imunológicas presentes no autismo tem sido alvo de estudos nas últimas décadas. Autistas provavelmente sofrem de uma resposta imune individual disfuncional, e essa hipótese é sustentada pelos vários relatos de manifestações alérgicas, respostas exacerbadas a vacinas, alergias alimentares, rash cutâneos, dermatites, disfunções intestinais etc., em indivíduos com a presença do transtorno (56).

A inflamação nos tecidos cerebrais envolve as células da neuroglia, as micróglia são responsáveis pelos mecanismos de defesa presentes no SNC (57). Estudos pós morte apoiam a hipótese de que uma neuroinflamação em várias regiões cerebrais estaria presente no TEA (58) . Estudos com roedores induzidos ao autismo reforçam a ideia de que anormalidades no sistema neuroimune, como aquelas relacionadas a respostas inflamatórias, estariam ligadas com a etiologia do transtorno. Os roedores do grupo caso quando comparados ao grupo controle apresentam um número maior de células da micróglia um aumento maior da expressão de citocinas próinflamatórias no cerebelo (59), reforçando a hipótese do papel da neuroinflamação na etiologia do transtorno. Além disso evidências indicam que o processo de inflamação crônica de diferentes regiões do cérebro está presente de maneira sistemática no TEA, com possível envolvimento de ativação da micróglia (60)

O aumento da atividade da micróglia, bem como também o aumento da sua densidade observada no autismo estaria relacionado com aumento da atividade de citocinas pró inflamatórias em diversas regiões do cerebelo. Níveis aumentados no plasma de citocinas como por exemplo, *IL-1 β* , *IL-6*, *IL-17*, *IL-12p40*, e *TNF- α* , observados em pacientes autistas, podem estar envolvidas nesse processo (61).

2.2.6.1 Micróglia e Interleucina 4

A micróglia é derivada de células progenitoras mieloides, e representa de 10 a 15 % da população total de células do parênquima cerebral (57). No SNC a micróglia atua semelhante a um fagócito, estando envolvida em processos regulatórios críticos, relacionados a remodelação e reparo cerebral, por meio da resposta imune a patógenos e monitoramento de alterações teciduais. A capacidade da micróglia em

assumir uma diversidade de fenótipos é essencial para manutenção da homeostase dos tecidos (62).

O interferon gama é capaz de induzir ao fenótipo M1 da micróglia, esse fenótipo induz a expressão de citocinas pró inflamatórias. Em contraponto a IL-4 é capaz de polarizar a micróglia para o seu fenótipo M2, relacionado com a resolução da inflamação e reparo tecidual (62).

A interleucina 4 é uma glicoproteína produzida pelas células T CD4+, ativadas por linfócitos Th2. Seu peso molecular varia entre 15 a 19 kDa A *IL-4* é uma interleucina de perfil anti-inflamatória. O gene IL4 é o responsável por codificar a *IL-4* e está localizado no braço longo do cromossomo 5 (5q31.1). Um polimorfismo do tipo VNTR composto por uma repetição de 70pb, é capaz de influenciar a expressão de IL-4 (63,64). Essa VNTR localizada no intron 3 do gene IL4, estaria associada com alterações na produção de IL-4 (65–67), a presença do alelo RP1 levaria a um aumento da ativação transcricional e conseqüentemente a uma superexpressão de IL-4, o que poderia afetar a duração e magnitude da resposta imune(68).

Os efeitos biológicos da *IL-4* são mediados por meio da formação de complexos de sinalização com outras interleucinas (*IL-13*). Estes complexos aglomeram-se densamente ao longo da membrana celular, participando assim dos processos fagocíticos em diversos sítios, como por exemplo nos hepatócitos, SNC e epitélio, influenciando a atuação de neutrófilos, macrófagos e basófilos e eosinófilos (69) .

Níveis aumentados de *IL-4* foram observados no sangue periférico de pessoas diagnosticadas com TEA quando comparados com controles saudáveis (70). A presença em níveis alterados dessa citocina poderia configurar um biomarcador para o TEA (71). Todavia, há uma escassez latente de estudos que abordem o papel da específico da IL-4 no autismo.

2.3 COMORBIDADES

2.3.1 Hiperatividade

O autismo de o transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) estão entre os distúrbios psiquiátricos de maior prevalência em crianças e adolescentes. Enquanto o TDAH é caracterizado por níveis prejudiciais e persistentes de desatenção, hiperatividade e impulsividade, o TEA tem como principal características

os déficits na comunicação e interação social e presença de comportamentos repetitivos (72).

Apesar das diferenças, pesquisas sugerem que existe uma importante sobreposição fenotípica entre o TDAH e o TEA. Frequentemente é possível observar em pacientes com TEA sintomas relacionados a impulsividade, hiperatividade e desatenção (73). Tais sobreposições suscitam a hipótese de que ambos os transtornos compartilhariam os mesmos padrões de herdabilidade genética (74). Pesquisas que buscam analisar alterações em variações no número de cópias (CNVs) no genoma humano, observaram aumento na frequência de CNVs raras em loci semelhantes para TDAH, TEA, esquizofrenia e Deficiência Intelectual (DI), aventando a hipótese de que a sobreposição de características fenotípicas, como hiperatividade e desatenção, estaria relacionada com a sobreposição de alterações de ordem genética (75).

2.3.2 Alterações no processo de Aprendizagem

Estudos sugerem que cerca de 33% de pessoas diagnosticadas com TEA possuem como comorbidade a DI (76). Crianças com autismo costumam ter déficits marcantes no processo de aprendizagem, principalmente no contexto escolar. É provável que tais déficits estejam relacionados com as dificuldades nos processos cognitivos e comportamentais (77).

A aprendizagem pode ser definida como o processo de aquisição, conservação e de conhecimento. A aquisição e consolidação de determinado conhecimento trata-se de um evento sináptico que envolve modificações bioquímicas e moleculares nos potenciais sinápticos, em pacientes com TEA sugere-se que há alterações que contribuam para comprometer essas vias de sinalização (78).

2.3.3 Distúrbios do Sono

Crianças com TEA costumam ter dificuldades para dormir e permanecer dormindo, muitas vezes a qualidade ruim do sono noturno tem repercussões comportamentais importante durante o dia. Segundo estudos a prevalência de insônia do TEA pode várias de 60 a 80%, cerca de 3 vezes maior do que o relatado em crianças típicas (20). Os mecanismos envolvidos na alta prevalência de distúrbios do sono no autismo são multifatoriais, e incluem desde alterações em genes

responsáveis pela regulação do ciclo circadiano, até produção anormal de melatonina e desorganização sensorial. Tais alterações tornam a população TEA mais vulnerável a ter problemas relacionados ao sono do que crianças típicas (20,79–81).

Além disso distúrbios gastrointestinais observados em pacientes autistas (dor abdominal, refluxo, constipação etc.) são causas de desconforto abdominal que podem estar relacionadas com uma boa higiene do sono (82).

2.3.4 Distúrbios Gastrointestinais

Os distúrbios gastrointestinais configuram uma das comorbidades mais comuns do TEA (82). Nos últimos anos o número de estudos que buscam estabelecer uma relação entre a microbiota intestinal e os distúrbios de comportamento apresentados no TEA aumentou exponencialmente (83). O eixo cérebro-intestino é uma rede bidirecional fisiológica de comunicação entre o intestino e o cérebro. A sinalização do SNC com o intestino parece sofrer influências da microbiota intestinal e seus metabólitos. A interrupção desses mecanismos neurais parece estar relacionada com o TEA (84–86).

Pesquisadores observaram uma alta prevalência de distúrbios gastrointestinal (GI), como alterações na motilidade intestinal, dor abdominal crônica, diarreia, constipação, vômitos, refluxos etc. (87,88). Alguns estudos sugerem que há uma correlação entre os sintomas GI e a gravidade do autismo (89). De fato, os sintomas GI podem ser uma manifestação de um processo inflamatório que pode estar associado com mudanças significativas na microbiota intestinal, levando a disbiose (84,88,90,91). A disbiose está associada alterações na permeabilidade da membrana intestinal, aumentando a absorção de peptídeos neurotóxicos de origem bacteriana (por exemplo lipopolissacarídeos) contribuindo para o aumento da produção de citocinas pró inflamatórias (85).

Dietas tem sido sugerida como capazes de influenciar a sintomatologia do TEA pela melhora nos sintomas GI. O tema é controverso, estudos apontam que dietas restritivas poderiam diminuir a presença de comportamentos estereotipados e melhorar a cognição de crianças com o transtorno (92). Algumas evidências empíricas apontam benefícios das dietas restritivas sem componentes como lactose, glúten ou caseína nos sintomas GI e comportamentais do TEA, todavia, ensaios duplo-cegos controlados por placebo não foram capazes de confirmar tal evidência (82,93–95).

Uma dieta restritiva pode agravar os transtornos alimentares observados no TEA, além disso pode levar a deficiências nutricionais importantes, portanto a adoção de tais dietas não são recomendadas (82).

2.3.5 Transtornos Alimentares

Crianças diagnosticadas com TEA representam maior seletividade alimentar, o que pode levar a deficiências nutricionais (96). O comportamento alimentar aberrante é frequentemente relatado por pais e cuidadores de crianças autistas. O conceito de seletividade alimentar carece de consenso, mas o termo tem sido frequentemente associado ao hábito de uma alimentação exigente, recusa alimentar frequente, aceitação limitada de alimentos e ingestão excessiva ou seletiva de alimentos ou categorias de alimentos específicas como carboidratos por exemplo. Dificuldades sensoriais podem estar relacionadas com a seletividade alimentar (97).

2.3.6 Epilepsia

A prevalência de epilepsia na população com autismo gira em torno de 11,2% (98). Todavia, alguns autores sugerem que crianças com autismo que apresentam convulsões, muitas vezes não satisfazem os critérios eletroclínicos para o diagnóstico de síndromes epiléticas. Contudo sabe-se que síndromes epiléticas específicas constituem fatores de risco para posterior diagnóstico de autismo, como o caso da síndrome de Landau-Kleffner e síndrome de Lennox-Gastaut (98,99). A prevalência de autismo em paciente com epilepsia é de 9%(98).

Alterações metabólicas e mutações genéticas são fatores que podem predispor a população TEA a epilepsia (98,100,101). As alterações genotípicas compartilhadas entre o TEA e o epilepsia contribuem para elucidar os mecanismos biológicos envolvidos na expressão de ambos os fenótipos. Os genes mais frequentemente envolvidos são aqueles que possuem papel no crescimento celular, regulação transcricional, estrutura e canais sinápticos, como o CASK, SHANK3, SCN2A, MECP2, PTEN dentre outros (101).

2.4 DIAGNÓSTICO

Os critérios diagnósticos para o autismo têm sofrido mudanças ao longo dos anos, contudo, de acordo com o DSM-5 o diagnóstico ainda é essencialmente clínico, não dependendo de parâmetros laboratoriais ou de imagem (6).

Segundo o DMS-5 os critérios diagnósticos centram-se em dois domínios, comunicação e comportamental (6).

A) Déficits persistentes na comunicação social e na interação social em múltiplos contextos, conforme manifestado pelo que segue, atualmente ou por história prévia

1. Déficits na reciprocidade socioemocional, variando, por exemplo, de abordagem social anormal e dificuldade para estabelecer uma conversa normal a compartilhamento reduzido de interesses, emoções ou afeto, a dificuldade para iniciar ou responder a interações sociais.
2. Déficits nos comportamentos comunicativos não verbais usados para interação social, variando, por exemplo, de comunicação verbal e não verbal pouco integrada a anormalidade no contato visual e linguagem corporal ou déficits na compreensão e uso gestos, a ausência total de expressões faciais e comunicação não verbal.
3. Déficits para desenvolver, manter e compreender relacionamentos, variando, por exemplo, de dificuldade em ajustar o comportamento para se adequar a contextos sociais diversos a dificuldade em compartilhar brincadeiras imaginativas ou em fazer amigos, a ausência de interesse por pares.

B) Padrões restritos e repetitivos de comportamento, interesses ou atividades, conforme manifestado por pelo menos dois dos seguintes, atualmente ou por história prévia

1. Movimentos motores, uso de objetos ou fala estereotipados ou repetitivos.
2. Insistência nas mesmas coisas, adesão inflexível a rotinas ou padrões ritualizados de comportamento verbal ou não verbal.
3. Interesses fixos e altamente restritos que são anormais em intensidade ou foco.
4. Hiper ou hiporreatividade a estímulos sensoriais ou interesse incomum por aspectos sensoriais do ambiente.

Além disso, para o diagnóstico é importante que os sintomas apresentados estejam presentes precocemente no período do desenvolvimento e que causem prejuízos clinicamente significativos no funcionamento social, profissional ou em outras áreas importantes da vida do indivíduo no presente. Por fim, essas perturbações não são mais bem explicadas por deficiência intelectual (transtorno do desenvolvimento intelectual) ou por atraso global do desenvolvimento. Os critérios aqui descritos costumam ser observados entre o primeiro e terceiro ano de vida, todavia sinais precoces (antes do primeiro ano de vida) podem ser observados por profissionais treinados em casos mais graves (6).

Tomando como base os critérios definidos pelo DSM-5 o Ministério da Saúde definiu uma série de características que devem ser observados para diagnóstico do TEA são elas (25):

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

Quanto a gravidade do TEA a mesma pode ser categorizada segundo três níveis de gravidade conforme os dois domínios (interesses restritos e comportamentos repetitivos e comunicação social) (6).

O nível de gravidade 3 são aqueles que exigem suporte substancial. No domínio da comunicação estes indivíduos possuem déficits severos nas habilidades comunicativas verbais e não verbais e culminam em graves prejuízos no funcionamento mesmo na presença de suporte. Além disso esses pacientes

costumam ter uma limitada iniciativa de interação social acompanhada de uma mínima resposta a estímulos sociais. No quesito interesses restritos e comportamentos repetitivos, é observado nesses indivíduos uma preocupação exagerada em rituais fixos e comportamentos repetitivos, que interferem significativamente nas atividades diárias, podendo levar a sofrimento significativo quando estes rituais e rotinas são interrompidos (6).

O nível de gravidade 2 diz respeito a autistas que exigem apoio substancial. Com relação à comunicação é observável prejuízos acentuados tanto na comunicação verbal como na não verbal. Mesmo com suporte os prejuízos sociais são visíveis. Esses autistas possuem iniciativa limitada de interação social e resposta anormal/reduzida a tentativas de socialização de terceiros. Em relação ao aspecto comportamental há a presença de comportamento inflexível e dificuldade de lidar com mudanças. Também é observado sofrimento/dificuldade de mudar o foco ou as ações (6).

O Nível 1 “exige apoio” é caracterizado por aqueles pacientes com TEA que na ausência de apoio possuem déficits na notáveis na comunicação, como por exemplo dificuldade de iniciar interação social e respostas atípicas a aberturas sociais de terceiros. Esses autistas podem apresentar interesse reduzido em interações sociais. Além disso é observado inflexibilidade de comportamento que causa interferência em um ou mais contextos. Há também dificuldade em trocar de atividade, problemas em organizar e planejar atividades que culminam em obstáculos à independência (6).

2.4.1 Escalas de Apoio Diagnósticas

As escalas de apoio diagnósticas são instrumentos capazes de detectar sinais sugestivos compatíveis com os critérios diagnósticos descritos na literatura. De forma isolada não definem o diagnóstico, mas apoiam a observação. Essas ferramentas normalmente estão dispostas em forma de listas, inventários ou questionários. Podemos citar como exemplo as seguintes escalas.

2.4.1.1 Escala de Avaliação de Traços Autísticos (ATA)

A escala ATA é um instrumento acessível e de fácil aplicação. É constituída por 23 subescalas que são divididas em itens distintos que levam em consideração os

critérios de diagnóstico descritos no DSM-III, DSM-IV e CID-10. Seus critérios levam em consideração a observação da sintomatologia presente no TEA, suas subescalas são pontuadas de 0-2 e a pontuação total é dada pela soma aritmética das subescalas (102).

2.4.1.2 Childhood Autism Rating Scale (CARS)

A escala CARS é um instrumento útil na estratificação dos pacientes conforme o nível de suporte, permitindo a diferenciação entre os sujeitos diagnosticados dentro do espectro, sendo aplicada em crianças a partir dos 2 anos. Ela leva em consideração os critérios descritos por Kanner e dos critérios descritos no DSM-III. É dividida em 15 itens que distinguem as crianças com prejuízo no desenvolvimento das crianças sem autismo. Os 15 itens incluem, relações pessoais, resposta emocional, imitação, uso do corpo, uso de objetos, tolerância a mudanças, resposta aos sentidos, medo e ansiedade, comunicação verbal e não verbal, nível de atividade, resposta intelectual e impressão global. A pontuação de cada item varia de 1 a 4 conforme a gravidade dos sintomas, e a pontuação varia de 15 a 60, sendo que 30 é a pontuação mínima de corte (102). A escala CARS foi traduzida, adaptada e validada para a língua português no ano de 2008

2.4.1.3 Autism Behaviour Checklist (ABC)

O instrumento ABC consiste em uma lista com 57 itens que sumariza uma série de comportamentos neurodivergentes que se relacionam com as características apresentadas no TEA, permitindo assim a triagem de crianças suspeitas de autismo. É um instrumento validado em diversos países, de baixo custo e fácil aplicação, alguns estudos apontam que apesar da baixa sensibilidade a escala possui uma alta especificidade para o TEA (103).

2.4.1.4 Autism Diagnostic Interview - Revised (ADI-R)

A ADI-R é uma entrevista diagnóstica semiestruturada que avalia qualitativamente os déficits na interação social recíproca, comunicação, padrões restritos, estereotipados de comportamento e desenvolvimento. Determinando um ponto de corte em cada um dos parâmetros citados. A escala possui 93 perguntas, devendo ser aplicada por profissional da saúde treinado. Quando três dos parâmetros

avaliados estão acima da nota de corte o paciente investigado é considerado autista (104).

2.4.1.5 M-CHAT

A M-CHAT é uma escala de triagem de uso gratuito. Sua aplicação é obrigatória em consultas de rotina em crianças entre 18 a 24 meses atendidas pelo Sistema Único de Saúde (Lei 13.438/2017). A escala é composta por 23 perguntas direcionadas a pais e cuidadores e estão relacionadas com sinais precoces de comportamentos típicos do espectro autista. Conforme a pontuação obtida a criança é classificada conforme o risco de diagnóstico de autismo (105).

2.4.2 Investigação Genética

Cada vez mais famílias tem procurado o aconselhamento genético após o diagnóstico clínico de autismo. O aconselhamento genético tem como objetivo elucidar aos cuidadores os aspectos genéticos envolvidos no transtorno, avaliar o histórico familiar, interpretar os resultados dos testes genéticos, discutir tratamentos e prognósticos baseados nos resultados dos testes e por fim avaliar o índice de recorrência aos pais e ao paciente (7). Devido as características poligênicas e multifatoriais do transtorno, as técnicas moleculares disponíveis atualmente não serão capazes de fornecer um diagnóstico assertivo para maioria dos casos. Todavia em pequena parte da população, a presença de características que levam ao diagnóstico clínico do TEA pode na realidade fazer parte da sintomática de doenças monogênicas como por exemplo, síndrome de Rett, síndrome X-Frágil, Neurofibromatose, síndrome de Angelman etc (106).

2.5 PREVALÊNCIA

O primeiro estudo epidemiológico sobre a prevalência do TEA é datado de 1966, conduzido no Reino Unido, os achados observaram uma razão de prevalência de 4,5 a cada 10.000 diagnósticos no público infantil entre 8 e 10 anos.

O *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) monitora a prevalência do transtorno na população desde 1996. Em 2000 o CDC estruturou uma Rede de Monitoramento de Autismo e Deficiências do Desenvolvimento (ADDM) e passou a reportar relatórios bienais a respeito da prevalência do TEA em crianças até 8 anos

residentes nos Estados Unidos (4). Com a vigilância bienal observa-se um aumento expressivo da prevalência do transtorno, que foi de 1 a cada 150 crianças nos anos 2000, para 1 a cada 44 de acordo com o último relatório publicado em 2021(5).

Diversas hipóteses são suscitadas para corroborar o vertiginoso aumento nos índices de prevalência, como mudanças recentes nos critérios diagnósticos, ampliação do acesso aos serviços médicos, maior disponibilidade de serviços especializados e conscientização (107).

A revisão sistemática mais recente (2022) acerca da prevalência global do autismo, que reuniu 77 estudos (aproximadamente 50 milhões de indivíduos) de 34 países, observou uma prevalência de 1/100 e uma proporção de 4,2 média entre homens e mulheres (76).

No Brasil não há uma rede estruturada para monitorar a prevalência do TEA, todavia, no ano de 2019 foi promulgada a Lei 13.861/19 que insere o autismo no próximo Censo. Tal medida tem como objetivo quantificar os indivíduos autistas residentes em nosso país e dimensionar com se dá a distribuição territoriais das pessoas com TEA (108). Contudo, em virtude da pandemia de COVID19 o Censo de 2020 foi adiado, de tal modo que até a conclusão do presente trabalho não havia dados disponíveis. Todavia, com base na prevalência global de 1% descrita no DSM-IV, podemos estimar que o Brasil possui cerca de 2 milhões de indivíduos com TEA.

Em relação as pesquisas epidemiológicas, o Brasil conta apenas com um único estudo piloto conduzido na cidade de São Paulo (2011), que observou uma prevalência de 0,3% entre crianças de 7 a 12 anos (109). Todavia limitações no tamanho da amostra e divergências no diagnóstico podem ter contribuído para divergência dos valores relatados por outros pesquisadores.

O Censo Escolar da Educação Básica (2021) do Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira (Inep) também constitui ferramenta útil para monitorar a prevalência do transtorno no Brasil. De acordo com o último Censo, 294.394 crianças diagnosticadas com autismo foram matriculadas na educação (110).

A inexistência de estatísticas oficiais é um importante entrave no delineamento de políticas públicas e direcionamento racional de recursos públicos, contribuindo também para o enfraquecimento das redes de atenção a pessoa com autismo (111).

As diferenças na prevalência do TEA em relação ao sexo é uma característica marcante. Rachel L, e col. (2017), conduziram uma revisão sistemática com metanálise que incluiu 53.712 pacientes diagnosticados com autismo, e observou uma proporção entre o sexo masculino e feminino de 3:1 (112).

2.6 ETIOLOGIA

O TEA é um transtorno do desenvolvimento de etiologia multifatorial, resultado da combinação de fatores de risco genéticos e ambientais. Diversos estudos apoiam a evidência de que o autismo tenha um forte componente genético (45). Estudos genéticos sugerem que as mudanças nas vias de desenvolvimento das estruturas neuronais e axonais podem estar relacionadas com mutações genéticas (7,113). A hipótese genética é reforçada por estudos familiares que observam aumento da incidência de TEA em irmãos nascidos em famílias com membros diagnosticados com autismo (114). Um grande estudo de coorte multinacional observou que a herdabilidade mediana do TEA foi superior a 80%, sendo que o efeito materno variou de 0,4 a 1.6%, os resultados da coorte indicam fortes influências de fatores genéticos hereditários sem suporte para contribuição materna (115). Contudo análises com gêmeos estimam uma herdabilidade genética de 37% (IC 95%, 8%-84%) e um componente de variação ambiental compartilhado de 55% (IC 95%, 9%-81%), sugerindo assim a influência de fatores perinatais e pós-natais na etiologia do autismo (116).

2.6.1 Fatores Ambientais

Embora a maioria dos casos de autismo tenha como etiologia de base alterações genéticas, evidências apontam indícios que a expressão gênica seja modulada por fatores ambientais. O uso de medicamentos psicotrópicos no período gestacional parece estar associado com o aumento da suscetibilidade ao TEA, mas os resultados ainda são conflitantes. Uma metanálise conduzida por Leshem et al (2021) avaliou a exposição pré-natal a Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina (ISRS) e Inibidores da Recaptação da Serotonina e Norepinefrina (IRSN) como a suscetibilidade ao TEA e ao TDAH, encontrando associação positiva, todavia o mesmo estudo também encontrou associação positiva entre as mulheres que foram expostas a esses medicamentos no período pré-gestacional e a suscetibilidade ao TEA e TDAH. Outros estudos também encontraram resultados semelhantes em

relação ao risco de desenvolvimento do TEA, o que suscita a hipótese de que na verdade um diagnóstico prévio materno de transtorno mental estaria relacionado com a suscetibilidade ao TEA. Contudo estudos genéticos apontam para uma baixa contribuição materna nos padrões de herdabilidade genética, o que torna a questão ainda não completamente elucidada (6)

Medicamentos como o Valproato de Sódio também parecem estar relacionados ao aumento de suscetibilidade ao TEA. Estudos observacionais indicam que a exposição materna a esse anticonvulsivante está relacionada com atrasos cognitivos, de linguagem e psicomotores na primeira infância (117,118). Alguns medicamentos usados usualmente na gestação também tem sido alvo de estudos. A exposição pré-natal ao paracetamol, analgésico comumente indicado para gestantes, foi associado a um risco maior de desenvolvimento de TEA e TDAH, inclusive com uma possível associação dose-resposta (119,120). A exposição materna a ácido fólico e suplementação vitamínica parece ter um efeito protetor na prole em relação ao risco de desenvolvimento de autismo (121,122).

A lista de fatores ambientais que podem estar relacionados ao TEA permanece em investigação, além do uso de medicamentos durante a gestação, outros fatores como, diabetes gestacional, função tireoidiana materna, exposição a agrotóxicos, exposição a poluição, violência doméstica, parecem estar relacionados com o risco de desenvolvimento do TEA (123–127).

2.6.2 Fatores Genéticos

Diversas evidências apoiam a ideia de que alterações genéticas não especificadas fariam parte da etiologia do TEA, atualmente é possível observar alterações genéticas em diversos cromossomos (8). Ao contrário das patologias de causas a ideia da existência de um componente de herança poligênica, ou seja, várias variantes genéticas que, ao serem combinadas ao mesmo tempo, são capazes de gerar um fenótipo compatível com as características do TEA, ganha cada vez mais espaço (7).

A variação genotípica pode ser definida por sua frequência populacional ou pelo tipo de variação que envolve a estrutura ou sequência no DNA (128). Nas últimas décadas foi possível observar os surgimentos de múltiplos estudos que se dedicaram a buscar associações de todo o genoma (GWAS) por meio de comparação em grupos

caso e controle da frequência de centenas de milhares de variantes de genes comuns, como os polimorfismos genéticos (frequência > 5%) (129). Outra linha de estudo são o que se dedicam a buscar associação de variantes genéticas raras em estudos familiares bem como coortes e caso-controle. A variante rara mais documentada é a variação no número de cópias (CNV)(128). As regiões CNV mais comumente relacionadas ao TEA incluem 1q21.1, 3q29, 7q11.23, 16p11.2, 15q11.2-13 e 22q11.2 (130). É possível que as CNVs e a mutações de novo tenham uma alta probabilidade de serem causais, todavia, as CNVs associadas ao TEA são altamente pleiotrópicas (131–133).

Atualmente 102 genes de risco já foram identificados. A maioria afeta as sinapses ou são genes que regulam o funcionamento de outros genes, sendo que alguns dos genes identificados alteram amplamente o desenvolvimento inicial (134).

2.6.3 Variantes Comuns

A combinação de variantes comuns e raras parece contribuir para arquitetura genética do autismo. As variantes comuns parecem ter forte correlação com o QI e nível educacional. Estudos indicam que herdabilidade de um Polimorfismo de Nucleotídeo Único (SNP) é três vezes maior para o autismo sem deficiência intelectual em comparação com aqueles que possuem déficits intelectuais. Os estudos recentes de GWAS parecem ser capazes de gerar medidas compostas de variantes comuns de genes de risco, dando origem a escores de risco poligênico (128,135).

2.7 TRATAMENTOS

Levando em consideração a natureza complexa e heterogênea no qual os sinais e sintomas do TEA se apresentam, não podemos considerar que exista uma única abordagem padrão ouro (136). É consenso que a intervenção terapêutica deve ser ofertada a criança de modo mais precoce possível, com objetivo de melhorar o prognóstico (137). A abordagem adotada deve ser individualizada levando em consideração as singularidades de cada caso, como por exemplo idade de criança, nível de comprometimento, comorbidades psiquiátricas e objetivos (136,137). Os modelos de intervenções aplicados ao TEA podem ser categorizados em duas grandes classes distintas. São elas as Intervenções Abrangentes e as Intervenções Focadas (138).

As Intervenções Abrangentes constituem um conjunto de práticas destinadas a alcançar um objetivo amplo com impacto no desenvolvimento e nas características do TEA. Esses modelos são caracterizados pela organização, operacionalização, intensidade, longevidade e amplitude de resultados. São exemplos dessa classe a abordagem TEACCH e o modelo Denver (138).

TEACCH é a sigla para Tratamento e Educação para Crianças Autistas e com Distúrbios Correlatos da Comunicação. Esse método é baseado na adoção de rotinas organizadas e adaptadas à criança e suas necessidades, facilitando dessa forma o processo de aprendizagem e promovendo a independência da criança (139). Já o modelo Denver ou Early Start Denver Model (ESDM) é focado na intervenção precoce de crianças pequenas diagnosticadas com TEA, e é baseado nos princípios da psicologia do desenvolvimento, com a adoção de rotinas que tem como base brincadeiras lúdicas com foco na comunicação e aprendizagem (140).

Já as Intervenções Focadas são aqueles modelos baseados na abordagem direcionada em apenas uma única habilidade ou objetivo, de tal maneira que o alcance de um resultado específico se dá em um período mais curto de tempo em comparação a Intervenção Abrangente (138). São exemplos de Intervenções Focadas o método ABA e o sistema PECS.

A Análise Aplicada do Comportamento, ou simplesmente ABA, é um método focado no ensino de habilidades específicas, feito em etapas conforme esquema individualizado, baseada em reforços positivos e negativos (141). Trata-se de uma metodologia primária que serve como base para outras intervenções focadas (138).

O sistema PECS - *Picture Exchange Communication System*. É um sistema alternativo de linguagem baseada em figuras e foi pensando com o objetivo de auxiliar crianças autistas (principalmente não verbais) a adquirirem habilidades comunicativas (142).

Além dos exemplos aqui citados, para ambas as classes de intervenções, há uma outra infinidade de estratégias aplicadas na reabilitação de pessoas com o autismo. A responsividade ao tratamento tem preditores importantes. Estudos sugerem que fatores como intensidade do tratamento, duração e envolvimento dos pais e cuidadores (inclusive estratégias terapêuticas que incluem o treinamento de pais) são preditores importantes para o sucesso terapêutico(136).

No Brasil o Sistema Único de Saúde (SUS) é responsável por prover o cuidado integral, longitudinal e coordenado a pessoa autista, tendo como foco o fortalecimento dos vínculos familiares, promoção do desenvolvimento e inclusão dos autistas na sociedade, por meio de intervenções baseadas em evidências (143). A rede de atenção integral a pessoa com TEA é normatizada por vários dispositivos legais.

Quadro 1. Normatizações de Referência

Legislação	Caput
Lei nº 8.069/1990: Estatuto da Criança e do Adolescente (ECA)	Dispõe sobre o Estatuto da Criança e do Adolescente e dá outras providências.
Lei nº 10.216/2001	Dispõe sobre a proteção e os direitos das pessoas portadoras de transtornos mentais e redireciona o modelo assistencial em saúde mental.
Lei nº 12.764/2012	Institui a Política Nacional de Proteção dos Direitos da Pessoa com Transtorno do Espectro do Autismo.
Decreto nº 6.949/2009	Promulga a Convenção Internacional sobre os Direitos das Pessoas com Deficiência e seu Protocolo Facultativo.
Decreto presidencial nº 7.508/2011	Regulamenta a Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990, para dispor sobre a organização do Sistema Único de Saúde (SUS), o planejamento da saúde, a assistência à saúde e a articulação interfederativa, e dá outras providências
Portaria MS/GM nº 336/2002	Normatiza os Centros de Atenção Psicossocial (CAPS).
Portaria MS/GM nº 4.279/2010	Estabelece diretrizes para a organização da Rede de Atenção à Saúde no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS).
Portaria MS/GM nº 3.088/2011	Institui a Rede de Atenção Psicossocial (RAPS) para pessoas com sofrimento ou transtorno

	mental e com necessidades decorrentes do uso de álcool e outras drogas no âmbito do SUS.
Portaria MS nº 793/2012	Institui a Rede de Cuidados à Pessoa com Deficiência no âmbito do SUS.
Portaria MS/SAS nº 854/2012	Altera os procedimentos a serem realizados nos Centros de Atenção Psicossocial.

2.7.1 Farmacoterapia

Evidências sustentam que o uso rotineiro de agentes farmacológicos com objetivo de tratar sintomas centrais do TEA não é recomendado (144). No Reino Unido, estima-se que cerca de 29% dos pacientes autistas fazem o uso de medicamentos psicotrópicos, sendo que a polifarmácia é observada em 34% destes (145).

O tratamento medicamentoso em pessoas autistas tem como objetivo o manejo de sintomas clínicos como ansiedade, depressão, epilepsia, distúrbios do sono, irritabilidades, déficits de atenção e hiperatividade (144).

Considerando o envolvimento do sistema GABAérgico, serotoninérgico e glutamatérgico na etiologia do TEA, os fármacos mais utilizados são justamente os neurolépticos que possuem como alvo terapêutico tais sistemas cerebrais (144).

2.7.2 Antipsicóticos

Os antipsicóticos, em especial a risperidona e o aripiprazol, são os únicos fármacos aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) para os tratamentos de sintomas do autismo. Existem um bom nível de evidência a respeito do potencial benefício do uso desses agentes nos comportamentos repetitivos do TEA, apresentando melhora significativa nos comportamentos estereotipados (144,146,147).

Todavia os ensaios clínicos não foram suficientes longos os suficientes para determinar se os benefícios são mantidos ao longo prazo. E não foram avaliaram se houve melhora clínica do quadro geral após a redução dos comportamentos estereotipados, uma vez que não houve diferenciação entre estereotipias e compulsões. Por fim a diferença entre o placebo foram modestas, ressaltando que o

emprego desses fármacos deve ser avaliado de forma cuidadosa, avaliando-se os riscos e benefícios periodicamente(144).

A risperidona é um antagonista do subtipo do receptor de dopamina D2. Entre os efeitos colaterais mais comuns encontra-se o ganho de peso, sedação (diminuído após 8 semanas de uso) e aumento dos níveis de prolactina (144,146). O aripiprazol, assim como a risperidona, também é um antagonista do subtipo do receptor de dopamina D2 no entanto esse fármaco também possui propriedades agonistas parciais. Os efeitos colaterais mais comuns são a sedação e sonolência (147).

2.7.3 Antidepressivos

Os antidepressivos mais empregados no tratamento do TEA são os inibidores da recaptação de serotonina (ISRS), como por exemplo a fluoxetina, sertralina e escitalopram, inibidores da recaptação da serotonina e noradrenalina (IRSN), por exemplo a venlafaxina e os antidepressivos tricíclicos (ADTs), como por exemplo a nortriptilina, imipramina e clomipramina (148).

Os objetivos da farmacoterapia com antidepressivos no contexto do autismo é reduzir os comportamentos compulsivos e repetitivos, melhorando a agressividade e impulsividade, melhorando também os interesses restritos, déficits sociais, hiperatividade e problemas de comunicação. Contudo efeitos adversos como sedação tem sido relatado (144,148).

Com relação as evidências, uma revisão sistemática Cochrane conclui que não há evidências dos benefícios do uso de agentes serotoninérgicos em crianças autistas, todavia, o uso em adultos com TEA parece ser benéfico principalmente no manejo de comportamentos repetitivos, sendo que a fluoxetina apresenta boa tolerância (149). Já as evidências do uso dos antidepressivos tricíclicos são controversas, alguns estudos apontam que o uso desses fármacos não é bem tolerado por crianças, induzindo a piora de comportamentos como agressividade, irritabilidade e hiperatividade (45).

2.7.4 Anticonvulsivantes

Os fármacos dessa classe são empregados no tratamento de crises convulsivas não epiléptiformes e nos ataques epilépticos em indivíduos autistas. Alguns

medicamentos como valproato também apresentam bons resultados em outros sintomas do TEA como ecolalia e agressividade(148).

2.7.5 Antagonistas do receptor de Glutamato

Estudos em modelos animais indicam que alterações na via glutamatérgica estão relacionadas com os sintomas análogos ao TEA. Além disso estudos post mortem em cérebros de autistas evidenciaram níveis elevados de glutamato. Tais evidências sugeriram um possível efeito terapêutico em sintomas como hiperatividade, memória e linguagem de fármacos que agem nessa via (148). Todavia os dados disponíveis de ensaios clínicos não suportam o uso rotineiro de medicamentos como memantina (antagonista não competitivo de NMDA) e da d-cicloserina (agonista parcial da glicina no receptor NMDA) (144).

2.7.6 Outras abordagens farmacoterapêuticas

Estudos sugerem que o uso do Metilfenidato tem efeitos positivos em crianças autistas com sintomas de pronunciados de TDAH (150), contudo esses benefícios não devem ser generalizados para crianças com ausência de sintomas de TDAH. O mecanismo de ação do metilfenidato é a inibição da captura catecolaminas produzindo uma elevação sustentada dos neurotransmissores na fenda sináptica (148).

Conforme abordado anteriormente a prevalência de distúrbios do sono é expressiva na população autista (20). Evidências sugerem funcionamento ineficiente da glândula pineal em autista, o que resulta em níveis diminuídos de melatonina. A melatonina tem como função a manutenção do ciclo circadiano e sua disfunção está relacionada com problemas no ciclo de sono e vigília (151). Com base em tais achados uso terapêutico da melatonina no TEA tem sido explorado. Dados indicam potenciais efeitos benéficos no tratamento de distúrbios do sono na população pediátrica, incluindo os autistas, contudo estudos grandes e de longo prazo são necessários para afirmar a segurança e eficácia desse tipo de tratamento. Por fim, como todo tratamento medicamentoso em crianças, precisa ser monitorado cuidadosamente quanto aos efeitos colaterais (152).

O canabidiol surgiu na última década como alternativa terapêutica para diversos distúrbios. Estudos pré-clínicos sugerem potencial benéfico na redução de sintomas centrais do TEA como melhora na interação social e comunicação e

diminuição de comportamentos restritos e repetitivos (153). Um estudo retrospectivo buscou avaliar a tolerabilidade e eficácia da cannabis rica em canabidiol e 60 crianças autistas e com distúrbios comportamentais graves, os resultados apontaram uma melhora comportamental em 61% dos pacientes, contudo efeitos colaterais como sono, irritabilidade, perda de apetite e surto psicótico foram relatados (154). Um ensaio clínico randomizado recente (2021), registrado no *clinical trials*, concluiu que embora os extratos a base canabinóides sejam bem tolerados (não foram observados efeitos colaterais graves) as evidências coletadas são insuficientes para determinar a eficácia do tratamento em autistas (155).

3. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a associação dos polimorfismos genéticos da IL4 com a predisposição ao TEA, em pacientes pediátricos atendidos em serviço de saúde localizado no Distrito Federal (Brasil)

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Obter a prevalência do polimorfismo do gene IL4 na população pediátrica com diagnóstico de autismo e em uma população de adultos saudáveis.
- b) Realizar a coleta de dados socioeconômicos (idade, sexo e renda), uso de medicamentos e estratégias terapêuticas utilizadas para caracterizar a população de estudo (pacientes pediátricos diagnosticados com autismo atendidos no COMPP)

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi um estudo transversal, conduzido pela equipe de psiquiatria infantil do Centro de Orientação Médico Psicopedagógica (COMPP), Brasília, Distrito Federal (Brasil) em parceria com a Universidade de Brasília, campus Ceilândia. O protocolo deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ceilândia (Universidade de Brasília), CEP da Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde (FEPECS) e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, sob número de CAAE 16695419.1.3003.5553 e número do último parecer 4.017.515. O estudo foi conduzido entre janeiro de 2020 e dezembro de 2021.

4.1 PARTICIPANTES

4.1.1 Cálculo Amostral

O cálculo amostral levou em consideração a prevalência mundial de 1% estimada por Zeidan et al (2022). E foi calculada com auxílio do software G*power versão 3.1.9.2. O tamanho do efeito foi de 0,5, nível de significância α foi de 0,05 e o poder do teste $1 - \beta$ considerado foi de 0,95, resultando em um número amostral de 34 participantes por grupo. Ao total nosso estudo coletou informações de 40 crianças diagnosticadas com autismo e 40 adultos.

As crianças pertencentes ao grupo caso foram recrutadas no COMPP, serviço de atenção à saúde que presta assistência a crianças com transtornos mentais moderados e severos. Os adultos que constituíram o grupo controle foram recrutados nas dependências do Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade e Ceilândia, unidade de ensino e pesquisa pertencente à Universidade de Brasília.

4.1.2 Critérios de inclusão e exclusão

Para o grupo em investigação foram incluídas neste estudo crianças e adolescentes de 3 a 18 anos diagnosticadas com autismo segundo os critérios estabelecidos no DSM-5. Os indivíduos em investigação diagnóstica ou diagnóstico de síndrome genética específica cujo sinais e sintomas do TEA se manifestem de forma secundária e com presença de históricos de exposição intraútero ao ácido valpróico foram excluídos da seleção. Já o grupo controle foi composto por adultos sem histórico de TDAH e esquizofrenia.

4.2 COLETA DE DADOS

Os participantes selecionados para o grupo caso foram submetidos a aplicação da escala diagnóstica Childhood Autism Rating Scale (CARS), conduzida por médicos residentes do serviço de psiquiatria infantil do COMPP e supervisionado pelo médico psiquiatra infantil Dr. André de Mattos Salles.

A escala CARS é dividida em 15 itens conforme os critérios definidos por Kanner e pelo DSM-III, onde cada item possui uma pontuação que varia de 1 a 4 de acordo com nível de severidade dos sintomas relatados/observados. A pontuação varia de 15 a 60, sendo 30 a pontuação de corte. A escala foi traduzida para o

português e validada em 2008, e até hoje constitui uma das principais ferramentas de auxílio diagnóstico e estratificação de pacientes (156).

Os responsáveis legais pela criança também foram convidados a preencher um questionário semiestruturado com questões pertinentes a sintomatologia percebida, uso de medicações, contexto terapêutico e características socioeconômicas como idade e sexo. Dos adultos participantes do grupo controle foram coletados apenas os dados referentes a idade e sexo.

4.2.1 Purificação de DNA e genotipagem

A saliva das crianças selecionadas foi coletada com auxílio do kit ORACollect•DNA modelo OCR-100 (DNA Genotek inc.) e foi realizada de maneira indolor e não invasiva. O DNA foi purificado utilizando o reagente prepIT•L2P (DNA Genotek inc.), de acordo com o protocolo de purificação manual de DNA de amostra integral, descrito na instrução de uso do reagente. As concentrações do DNA obtido foram determinadas com espectrofotometria utilizando o equipamento NanoDrop® (Thermo Fisher Scientific Inc.). O rendimento médio alcançado foi de 171 ng/μl.

Foi coletado aproximadamente 5 mL de sangue periférico em tubos para coleta contendo EDTA. A extração de do DNA do grupo controle foi realizada com o auxílio do Mini Kit PureLink® Genomic DNA, da empresa Invitrogen (catálogo#K1820-02, lote #19339891). As concentrações do DNA obtido foram determinadas com espectrofotometria utilizando o equipamento NanoDrop® (Thermo Fisher Scientific Inc.). O rendimento médio alcançado foi de 20 ng/μl.

A genotipagem foi realizada com Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) O DNA extraído dos participantes foi submetido a técnica de PCR qualitativa. Para cada reação de PCR foi utilizado 8,0 μL de DNA genômico na concentração final de 2,5 ng/μL; 12,5 μL de tampão 10x (10mM de Tris e 50mM de KCl); 6,25 μL de MgCl₂ 50 mM (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil), 10 μL de desoxirribonucleotídeo trifostato (dNTPs); 2,5 mM; (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil); 2 μL de Taq-Polimerase, (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil), 10 U/μL; 1,5 μL de cada oligonucleotídeo (10μM, IDT technologies); completando com água Milli-Q para um volume final de 25 μL por reação. Para genotipagem da VNTR do íntron 3 do gene IL4 foram utilizadas as seguintes sequências de oligonucleotídeos: F: 5'AGGCTGAAAGGGGGAAAGC-3', R:

5´CTGTTACCTCAACTGCTCC-3´. As condições de termociclagem foram: desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguida de 30 ciclos de desnaturação à 94°C por 50 segundos, anelamento à 62°C por 30 segundos, extensão à 72°C por 30 segundos e uma extensão final a 72°C por 5 minutos. O equipamento utilizado foi termociclador Techne modelo TC-512. Os produtos da PCR foram submetidos a corrida eletroforética em gel de agarose 3% com brometo de etídio por 1 hora 100W. Os produtos da PCR foram visualizados em um transluminador (L-PIX Touch) com fonte ultravioleta, e a frequência genotípica deu-se após contagem direta dos amplicons, o tamanho dos fragmentos visualizados foram de 183pb (alelo RP1) e 253pb (alelo RP2).

4.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A análise estatística dos dados foi realizada com auxílio do programa estatístico SPSS versão 25.0 (IBM). O equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) foi avaliado usando o teste qui-quadrado ($p=0,123$). A comparação entre os genótipos também foi realizada utilizando o mesmo teste. Para comparação entre os diferentes grupos de genótipos e as características clínicas e os cruzamentos entre a classificação na escala CARS e demais características foi empregado o teste Exato de Fischer. Para todas as análises foi considerado nível de significância de 5 % ($p<0,05$).

5. RESULTADOS

Os dados demográficos dos pacientes com TEA e do grupo controle (idade e sexo) estão apresentados na tabela 1 e 2. Não houve diferença estatística significativa em relação ao sexo. Foi observada uma maior prevalência do sexo masculino na amostra do grupo TEA. Houve diferença estatística significativa, já esperada, com relação a idade dos grupos (o que não influencia nos resultados uma vez que a presença/ausência das alterações genéticas do tipo polimórficas é conservada ao longo de toda vida). Já a tabela 3 apresenta dados que buscam relacionar o uso de medicações específicas com a severidade dos sintomas de acordo com a escala CARS. Podemos observar uma relação estatística significativa em relação ao uso de Periciazina.

Tabela 1. Médias da idade e sexo do grupo caso e controle.

	TEA (n=40)	Controle (n=40)	P valor
Idade (anos)			
Range	5,0-13,0	-	-
Média ± DP	9,5 ±2,1	52,3 ± 5,7	<0,001
Gênero			
Feminino	2(5)	6(15)	0,179
Masculino	38(95)	34(85)	

Fonte: Elaboração própria; Teste Exato de Fischer.

Tabela 2. Dados demográficos da população TEA.

	Grupo TEA (n=40)
Childhood Autism Rating Scale (CARS)	
Range	30,0-49,0
Média ± DP	33,8±5,7
Severo (≥37)	11(27,5)
Leve/Moderado (≤36.5)	29 (72,5)
Uso de Medicação	35(87,5)
Atividade Terapêutica	20(50)
Renda Familiar (SM)	
até 1	8(20)
1 a 3	24(60)
3 a 6	3(7,5)
6 a 9	2(5)
9 a 12	2(5)
12 a 15	1(2,5)

Fonte: Elaboração própria. SM: Salário Mínimo; Teste Exato de Fisher

Tabela 3. Uso de medicamentos entre os indivíduos com TEA.

	CARS				
	Grave	Leve-Moderado	P valor	OR	IC (OR)
	n(%)	n(%)			
Uso de Medicamento	11(100)	24(82,8)	0,29	N/A	N/A
Risperidona	6(54,5)	15(51,7)	0,999	1,12	0,27-4,51
Ácido Valpróico	2(18,2)	2(6,9)	0,56	3,01	0,36-24,52
Periciazina	4(36,4)	1(3,4)	0,0152*	16,00	1,53-166,54
Aripripazol	3(27,3)	5(17,2)	0,66	1,81	0,34-9,27
Metilfenidato	2(18,2)	3(10,3)	0,602	1,91	0,27-13,44

Fonte: Elaboração própria. *Valor estatisticamente significante; OR: Odds Ratio; IC(OR): Intervalo de Confiança do Odds Ratio; Teste Exato de Fisher.

Na tabela 4 podemos observar a distribuição das atividades terapêuticas de acordo com a severidade dos sintomas.

O genótipo e as frequências alélicas do polimorfismo IL4 VNTR estão dispostos na Tabela 5. Houve uma perda de amostra de cinco pacientes no grupo caso, resultando na genotipagem de apenas 35. Não houve diferença estatísticas significantes das frequências genotípicas e alélicas entre os dois grupos. As frequências genotípicas do polimorfismo IL4 VNTR também não diferiram entre os autistas grave e leve/moderado, conforme evidenciado na Tabela 6. Por fim não houve diferenças nos genótipos do polimorfismo estudado e as características clínicas de acordo com os resultados apresentados na tabela 7.

Tabela 4. Distribuição das atividades terapêuticas em indivíduos com autismo

		CARS (INTERPRETAÇÃO)		Total	P valor	OR	IC(OR)
		Grave	Leve Moderado				
		N(%)	N(%)				
Atividade	Sim	6(54,5)	14(48,3)	20	0,499	1,28	0,31-5,17
Terapêutica	Não	5(45,5)	15(51,7)	20			
Educação	Sim	1(9,1)	12(41,4)	13	0,067	0,14	0,01-1,25
Física	Não	10(90,9)	17(58,6)	27			
Fonoaudiólogo	Sim	3(27,3)	5(17,2)	8	0,661	1,80	0,34-9,27
	Não	8(72,7)	24(82,8)	32			
Psicoterapia	Sim	4(36,4)	3(10,3)	7	0,075	4,95	0,89-27,48
	Não	7(63,6)	26(89,7)	33			
Terapia	Sim	3(27,3)	1(3,4)	4	0,055	10,50	0,95-115,25
Ocupacional	Não	8(72,2)	28(96,6)	36			

Fonte: Elaboração própria ; OR: Odds Ratio; IC(OR): Intervalo de Confiança do Odds Ratio. Teste Exato de Fisher.

Tabela 5. Distribuição das frequências genotípicas e alélicas em indivíduos com autismo e controles.

VNTR IL4	Grupos				P	OR (IC 95%)
	TEA		Controle			
	N	%	N	%		
RP1/RP1	11	31,4	6	15,0	0,229	
RP1/RP2	10	28,6	13	32,5		
RP2/RP2	14	40,0	21	52,5		
Total	35	100,0	40	100,0		
RP2/RP2	14	40,0	21	52,5	0,642	0,73 (0,30-1,85)
RP1/RP2+RP1/RP1	21	60,0	19	47,5		
Total	35	100,0	40	100,0		
RP1	32	45,7	25	31,3	0,0915	1,85 (0,95-3,61)
RP2	38	54,3	55	68,8		
Total	70	100,0	80	100,0		

Fonte: Elaboração própria. OR: Odds Ratio; IC(OR): Intervalo de Confiança do Odds Ratio

Tabela 6. Distribuição das frequências genótípicas em indivíduos com autismo de acordo com a classificação da escala CARS

		Polimorfismo IL4			P valor
		RP2/RP2	RP1/RP2	RP1/RP1	
		n(%)	n(%)	n(%)	
CARS	Grave	5(35,7)	3(30)	3(27,3)	0,897
	Leve-Moderado	9(64,3)	7(70)	8(72,7)	

Fonte: Elaboração própria. Teste Exato de Fisher

Tabela 7. Distribuição das frequências genotípicas em indivíduos com autismo de acordo com as características clínicas

		Polimorfismos IL 4				
		RP1/RP1 + RP2/RP2 RP1/RP2		P valor	OR	IC (OR)
		n(%)	n(%)			
Epilepsia	Sim	0(0)	4(19)	0,133	0	NA
	Não	14(100)	17(81)			
Hiperatividade	Sim	10(71,4)	10(47,6)	0,164	2,75	0,65-11,62
	Não	4(28,6)	11(52,4)			
Déficit Visual	Sim	2(14,3)	1(4,8)	0,551	3,33	0,72-0,80
	Não	12(85,7)	20(95,2)			
Distúrbios do sono	Sim	2(14,3)	6(28,6)	0,431	0,42	0,07-2,44
	Não	12(85,7)	15(71,4)			
Alergias	Sim	3(21,4)	5(23,8)	0,999	0,87	0,17-4,42
	Não	11(78,6)	16(76,2)			
Alterações Endócrinas	Sim	1(7,1)	1(4,8)	0,999	1,54	0,08-26,82
	Não	13(92,9)	20(95,2)			
Transtornos intestinais	Sim	3(21,4)	8(38,1)	0,461	0,44	0,09-2,09
	Não	11(78,6)	13(61,9)			
Déficits na Fala	Sim	10(71,4)	10(47,6)	0,295	2,75	0,65-11,62
	Não	4(28,6)	11(52,4)			
Movimentos Estereotipados	Sim	8(57,1)	16(76,2)	0,283	0,42	0,09-1,79
	Não	6(42,9)	5(23,8)			
Transtorno do Processamento Sensorial	Sim	0(0)	1(4,8)	0,999	0	N/A
	Não	14(100)	20(95,2)			
Apraxia	Sim	0(0)	2(9,5)	0,505	0	N/A
	Não	14(100)	19(90,5)			
Hiperlexia	Sim	1(7,1)	0(0)	0,399	0	N/A
	Não	13(92,9)	21(100)			
Asma	Sim	1(7,1)	3(14,3)	0,635	0,46	0,04-4,95
	Não	13(92,9)	18(85,7)			
Alterações Cardíacas	Sim	0(0)	2(9,5)	0,505	0	N/A
	Não	14(100)	19(90,5)			
Distúrbio Alimentar	Sim	3(21,4)	5(23,8)	0,999	0,87	0,17-4,42
	Não	11(78,6)	16(76,2)			
Transtorno na Aprendizagem	Sim	9(64,3)	12(57,1)	0,736	1,35	0,33-5,43
	Não	5(35,7)	9(42,9)			

Fonte: Elaboração própria. N/A: não se aplica; OR: Odds Ratio; IC(OR):Intervalo de Confiança do Odds Ratio. Teste Exato de Fisher.

6. DISCUSSÃO

6.1 CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS

As diferenças na prevalência do TEA em relação ao sexo é uma característica marcante, uma revisão sistemática com metanálise que incluiu 53.712 pacientes diagnosticados com autismo, e observou uma proporção entre o sexo masculino e feminino de 3:1 (30). A média da pontuação CARS em nossa amostra ficou em 33,8 sendo que a maioria das crianças selecionadas para o estudo faziam parte do grupo leve/moderado. Houve uma alta frequência no uso de medicações e apenas metade estavam inseridas em alguma atividade terapêutica. 80% das famílias sobreviviam com uma renda familiar de até 3 salários-mínimos mensais.

6.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

A pandemia impactou diretamente a rotina dessas famílias, o agravamento dos sintomas foi observado por diversos pesquisadores (158,159), o que justificaria a grande quantidade de crianças em uso de medicações nesse estudo. Além disso o isolamento social acabou por impactar a frequência das terapias presenciais (159,160), principalmente nos autistas que necessitam de maior suporte, uma vez que estes demonstraram dificuldade em aderir aos protocolos de distanciamento social e uso da máscara, o que poderia justificar em parte o fato de apenas metade estarem inseridas em alguma estratégia terapêutica que não envolva apenas medicação (158–161).

Neste estudo o uso da periciazina parece estar associada com a gravidade dos sintomas. Esse fármaco é um antipsicótico neuroléptico fenotiazínico (162). No Brasil possui liberação junto a ANVISA para o tratamento dos sinais do TEA, no entanto essa substância não possui uso aprovado pelo FDA (163). Em comparação a fármacos como risperidona e aripipazol, a periciazina possui maior efeito sedativo, todavia a incidência de efeitos extrapiramidais também parece ser maior (162). Com relação ao custo, a periciazina sai entorno de R\$ 0,47 por dose (10 mg/dia), valor bem inferior se comparados com outros antipsicóticos como a risperidona (entre R\$ 0,89 e 2,68 (2mg/dia) e o aripiprazol (entre R\$ 6,91 e 7,29 15mg/dia) (164). As propriedades sedativas mais pronunciadas e seu baixo custo podem estar associados com o uso mais frequente em autistas com maior gravidade de sintomas.

6.3 POLIMORFISMO

Embora existam outros estudos que abordam o polimorfismo genético de interleucinas e sua associação com o TEA (165–167), este foi o primeiro estudo que buscou verificar a presença de uma associação entre o polimorfismo genético do gene codificador da interleucina-4 com o autismo de pacientes atendidos em um serviço de referência do Sistema Único de Saúde localizado no Distrito Federal, Brasil.

Atualmente a maioria dos estudos genéticos em TEA concentra-se em genes expressos no SNC, apesar do fato o autismo ser um transtorno complexo e multissistêmico. No entanto, é digno de nota que estudos observaram o papel dos mediadores inflamatórios em modificações cerebrais durante o seu desenvolvimento, principalmente no estágio intraútero, onde ele encontra-se mais vulnerável. No TEA, a neuroinflamação crônica estaria relacionada com a ativação e aumento de citocinas pró-inflamatórias(168).

As citocinas são responsáveis por coordenar a resposta imune do hospedeiro modulando a sistema imune por meio da sua capacidade de influenciar a ativação, diferenciação e proliferação de células-alvo, principalmente linfócitos T e B, sendo reguladores da atividade inflamatórias. Também medeiam a sinalização de autoimunidade. No SNC, as citocinas utilizam sinalização autócrina e parácrina atuando como moduladores imunológicos dos processos relacionados ao desenvolvimento(168) Os genes que codificam as citocinas são extremamente polimórficos, essas variantes comuns estão frequentemente associadas com diversos distúrbios (169).

Em um estudo observacional prospectivo, conduzido em Bangladesh, os pesquisadores observaram concentrações elevadas de IL-1 β e IL-6 no plasma de bebês aos 6 meses, essas concentrações elevadas foram associadas com resultados negativos no desenvolvimento aos 1 e 2 anos de idade (independente de fatores socioeconômicos) (170). Em autistas a presença do polimorfismo IL6-572C/G pode estar associada com o dano a mielina, nesse mesmo estudo os autores observaram que níveis séricos aumentados de (IL)-1b, IL-2R, IL-6 também foram observados no TEA, com correlação positiva com a pontuação na escala CARS (166). Um outro estudo observou níveis significativamente mais altos de IL-1 β e IL-1RA em crianças TEA quando comparado a crianças saudáveis, além disso foi evidenciado uma

associação positiva entre o polimorfismo genéticos IL-1 β -511 e IL-1RA com a suscetibilidade, gravidade do autismo e características clínicas (167). Esses achados reforçam a hipótese que a presença de variantes comuns de genes codificadores de citocinas estariam relacionados com a patogênese do transtorno.

A interleucina 4 é produzida por células T CD4+ ativadas por linfócitos Th2. A IL-4 é conhecida por seu perfil anti-inflamatório. No SNC desempenha papel essencial na neuroinflamação por meio dos seus mecanismos de indução ao fenótipo M2 das micróglia (62). O polimorfismo VNTR no intron 3 do gene IL4, composto por uma repetição de 70pb, está associado com alterações na expressão de IL-4 (63,64), de tal modo que a presença do alelo RP1 levaria a um aumento da ativação transcricional e conseqüentemente a uma superexpressão de IL-4, o que poderia afetar a duração e magnitude da resposta imune (68).

Neste sentido, concentrações elevadas de IL-4 foram associadas a melhores resultados cognitivos em um estudo de coorte com crianças nepalesas (171,172). Em um estudo que contou com 42 crianças com autismo observou níveis aumentados dessa e outras interleucinas, sugerindo que o IL-4 e em conjunto com outras poderiam configurar biomarcadores do TEA (71). Uma revisão sistemática abrangente que incluiu ao menos 9 estudos que avaliaram o perfil da IL-4 no TEA observou que os níveis sanguíneos periféricos de TNF- α , IL-17 e IL-4 estavam significativamente aumentados em relação aos controles, os autores concluíram que o IL-4 e outras 10 citocinas poderiam ser biomarcadores potenciais para o TEA, o que reforça que autistas possuem uma resposta inflamatória anormal (70).

Apesar das evidências clínicas sugerirem que há um possível papel dessa citocina na etiologia do TEA, os mecanismos ainda não estão completamente elucidados. Os estudos aqui mencionados avaliaram as concentrações da IL-4 no sangue periférico, e não há evidências de que a IL-4 esteja em níveis alterados no SNC. Nossos achados não evidenciaram qualquer relação com o genótipo RP2/RP2 (IL-4 VNTR) com o autismo e suas características clínicas.

Contudo, os resultados precisam ser interpretados com cautela. O impacto da pandemia de COVID 19 pode ter resultado em um viés na amostragem, já que mesma é composta majoritariamente por autistas leve/moderado, o que pode gerar impactos na avaliação do efeito desse polimorfismo no TEA e nas características clínicas. Além

disso, não dosamos as concentrações periféricas de IL-4. Estudos futuros devem concentrar-se em recrutar uma população mais homogêneas, no que diz respeito a classificação CARS, e seria interessante buscar avaliar a associação entre os níveis séricos de IL-4 com as frequências alélicas e as características clínicas do autismo, assim seria possível avaliar de modo mais amplo a participação dessa variação genética na etiologia do transtorno.

7. CONCLUSÃO

Nossas análises não evidenciaram associação significativa entre o polimorfismo IL4 VNTR intron 3 e o autismo e suas características clínicas, contudo mais estudos clínicos abordando outros aspectos, como por exemplo, outras regiões polimórficas do gene IL4 e/ou associação com níveis séricos ou teciduais da interleucina-4, são necessários para demonstrar esse resultado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adriana Mazzili Suplicy. Autismo Infantil: Revisão Conceitual. *Rev Neuropsiq da Infancia e Adolescência*. 1993;1(1):21–8.
2. Leo Kanner. Autistic disturbances of affective contact. *The nervous child*; 2nd ed. 1943. 217–250 p.
3. Hans Asperger. Die “Autistischen Psychopathen” im Kindesalter. Vol. 117. *Psychiatrie und Nervenkrankheiten* ; 1944. 76–136 p.
4. Bhat S, Acharya UR, Adeli H, Bairy GM, Adeli A. Autism: cause factors, early diagnosis and therapies. *Reviews in the Neurosciences*. 2014 Jan 1;25(6).
5. Maenner MJ, Shaw KA, Bakian A v., Bilder DA, Durkin MS, Esler A, et al. Prevalence and Characteristics of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2018. *MMWR Surveillance Summaries*. 2021 Dec 3;70(11):1–16.
6. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-V)*. Arlington, VA: American Psychiatric Association; 2013.
7. Griesi-Oliveira K, Sertié AL. Autism spectrum disorders: an updated guide for genetic counseling. *Einstein (São Paulo)*. 2017 Jun;15(2):233–8.
8. Fleischer S. Autismo: um mundo obscuro e conturbado. *Mana*. 2012 Apr;18(1):231–5.
9. Sandin S, Lichtenstein P, Kuja-Halkola R, Larsson H, Hultman CM, Reichenberg A. The Familial Risk of Autism. *JAMA*. 2014 May 7;311(17):1770.
10. Jaime Lin;, fernanda coan antunes;, lalucha mazzucchetti;, maiara de aguiar da-costa;, cinara ludvig gonçaves. *Investigação citogenética e molecular de casos de autismo atendidos em um ambulatório universitário no sul do Brasil. Residência em Psiquiatria*. 2020;0.
11. Lord C, Brugha TS, Charman T, Cusack J, Dumas G, Frazier T, et al. Autism spectrum disorder. *Nature Reviews Disease Primers*. 2020 Jan 16;6(1):5.
12. Ministério da Saúde Secretaria de Atenção à Saúde Departamento de Ações Programáticas Estratégicas B. *Diretrizes de Atenção à Reabilitação da Pessoa com Transtornos do Espectro do Autismo (TEA)* [Internet]. Available from: www.saude.gov.br
13. Baum SH, Stevenson RA, Wallace MT. Behavioral, perceptual, and neural alterations in sensory and multisensory function in autism spectrum disorder. *Progress in Neurobiology*. 2015 Nov;134:140–60.

14. Cardoso NR, Blanco MB. TERAPIA DE INTEGRAÇÃO SENSORIAL E O TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DE LITERATURA. *Revista Conhecimento Online*. 2019 Jan 11;1:108.
15. Cardoso NR, Blanco MB. Sensory integration therapy and autistic spectrum disorder: A systematic review of literature. Vol. 1, *Revista Conhecimento Online*. UNIVERSIDADE FEEVALE ; 2019. p. 108–25.
16. Siemann JK, Veenstra-VanderWeele J, Wallace MT. Approaches to Understanding Multisensory Dysfunction in Autism Spectrum Disorder. *Autism Research*. 2020 Sep;13(9):1430–49.
17. Stevenson RA, Ghose D, Fister JK, Sarko DK, Altieri NA, Nidiffer AR, et al. Identifying and Quantifying Multisensory Integration: A Tutorial Review. *Brain Topography*. 2014 Nov 11;27(6):707–30.
18. Hillock AR, Powers AR, Wallace MT. Binding of sights and sounds: Age-related changes in multisensory temporal processing. *Neuropsychologia*. 2011 Feb;49(3):461–7.
19. Stevenson RA, Segers M, Ferber S, Barense MD, Camarata S, Wallace MT. Keeping time in the brain: Autism spectrum disorder and audiovisual temporal processing. *Autism Research*. 2016 Jul;9(7):720–38.
20. Souders MC, Zavodny S, Eriksen W, Sinko R, Connell J, Kerns C, et al. Sleep in Children with Autism Spectrum Disorder. *Current Psychiatry Reports*. 2017 Jun 13;19(6):34.
21. Mazurek MO, Sohl K. Sleep and Behavioral Problems in Children with Autism Spectrum Disorder. *Journal of Autism and Developmental Disorders*. 2016 Jun 28;46(6):1906–15.
22. Owens JA, Mindell JA. Pediatric Insomnia. *Pediatric Clinics of North America*. 2011 Jun;58(3):555–69.
23. Friedman L, Sterling A. A Review of Language, Executive Function, and Intervention in Autism Spectrum Disorder. *Seminars in Speech and Language*. 2019 Aug 16;40(04):291–304.
24. Ministério da Saúde Secretaria de Atenção à Saúde Departamento de Ações Programáticas Estratégicas B. Diretrizes de Atenção à Reabilitação da Pessoa com Transtornos do Espectro do Autismo (TEA) [Internet]. 2014. Available from: www.saude.gov.br
25. Ministério da Saúde - Coordenação de Gestão de Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas do Comportamento Agressivo no Transtorno do Espectro do Autismo [Internet]. 2021. Available from: <http://conitec.gov.br/>
26. Adams C, Green J, Gilchrist A, Cox A. Conversational behaviour of children with Asperger syndrome and conduct disorder. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*. 2002 Jul;43(5):679–90.
27. Eigsti IM, de Marchena AB, Schuh JM, Kelley E. Language acquisition in autism spectrum disorders: A developmental review. *Research in Autism Spectrum Disorders*. 2011 Apr;5(2):681–91.

28. Eigsti IM, de Marchena AB, Schuh JM, Kelley E. Language acquisition in autism spectrum disorders: A developmental review. *Research in Autism Spectrum Disorders*. 2011 Apr;5(2):681–91.
29. Friedman L, Sterling A. A Review of Language, Executive Function, and Intervention in Autism Spectrum Disorder. *Seminars in Speech and Language*. 2019 Aug 16;40(04):291–304.
30. Alvarez De Toledo J, Rodrigues MC. Teoria da mente em adultos: uma revisão narrativa da literatura Theory of mind in adults: a narrative review of the literature Teoría de la mente en adultos: una revisión narrativa de la literatura.
31. Ghiasi H, Mohammadi A, Zarrinfar P. An Investigation into the Roles of Theory of Mind, Emotion Regulation, and Attachment Styles in Predicting the Traits of Borderline Personality Disorder. *Iran J Psychiatry*. 2016 Oct;11(4):206–13.
32. Tonelli H. Autismo, teoria da mente e o papel da cegueira mental na compreensão de transtornos psiquiátricos. *Psicologia: Reflexão e Crítica*. 2011;24(1):126–34.
33. Hale CM, Tager-Flusberg H. Social communication in children with autism. *Autism*. 2005 May 30;9(2):157–78.
34. Cardillo R, Mammarella IC, Demurie E, Giofrè D, Roeyers H. Pragmatic Language in Children and Adolescents With Autism Spectrum Disorder: Do Theory of Mind and Executive Functions Have a Mediating Role? *Autism Research*. 2021 May 27;14(5):932–45.
35. Ramos-Cabo S, Vulchanov V, Vulchanova M. Gesture and Language Trajectories in Early Development: An Overview From the Autism Spectrum Disorder Perspective. *Frontiers in Psychology*. 2019 May 28;10.
36. McCarty MJ, Brumback AC. Rethinking Stereotypes in Autism. *Seminars in Pediatric Neurology*. 2021 Jul;38:100897.
37. Keller R, Costa T, Imperiale D, Bianco A, Rondini E, Hassiotis A, et al. Stereotypes in the Autism Spectrum Disorder: Can We Rely on an Ethological Model? *Brain Sciences*. 2021 Jun 8;11(6):762.
38. Lord C, Jones RM. Annual Research Review: Re-thinking the classification of autism spectrum disorders. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*. 2012 May;53(5):490–509.
39. Gritti A, Bove D, Maria A, Sarno D, Antonia D'addio A, Chiapparò S, et al. Stereotyped movements in a group of autistic children.
40. Antezana L, Factor RS, Condy EE, Strega M v., Scarpa A, Richey JA. Gender differences in restricted and repetitive behaviors and interests in youth with autism. *Autism Research*. 2019 Feb;12(2):274–83.
41. Kaur M, M. Srinivasan S, N. Bhat A. Comparing motor performance, praxis, coordination, and interpersonal synchrony between children with and without Autism Spectrum Disorder (ASD). *Research in Developmental Disabilities*. 2018 Jan;72:79–95.

42. Becker EBE, Stoodley CJ. Autism Spectrum Disorder and the Cerebellum. In 2013. p. 1–34.
43. Bruchhage MMK, Bucci MP, Becker EBE. Cerebellar involvement in autism and ADHD. In 2018. p. 61–72.
44. Kawamura A, Katayama Y, Kakegawa W, Ino D, Nishiyama M, Yuzaki M, et al. The autism-associated protein CHD8 is required for cerebellar development and motor function. *Cell Reports*. 2021 Apr;35(1):108932.
45. Eissa N, Al-Houqani M, Sadeq A, Ojha SK, Sasse A, Sadek B. Current Enlightenment About Etiology and Pharmacological Treatment of Autism Spectrum Disorder. *Frontiers in Neuroscience*. 2018 May 16;12.
46. Chen JA, Peñagarikano O, Belgard TG, Swarup V, Geschwind DH. The Emerging Picture of Autism Spectrum Disorder: Genetics and Pathology. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2015 Jan 24;10(1):111–44.
47. Nakai N, Nagano M, Saitow F, Watanabe Y, Kawamura Y, Kawamoto A, et al. Serotonin rebalances cortical tuning and behavior linked to autism symptoms in 15q11-13 CNV mice. *Science Advances*. 2017 Jun 2;3(6).
48. Ellenbroek BA, August C, Youn J. Does Prenatal Valproate Interact with a Genetic Reduction in the Serotonin Transporter? A Rat Study on Anxiety and Cognition. *Frontiers in Neuroscience*. 2016 Sep 21;10.
49. Veenstra-VanderWeele J, Muller CL, Iwamoto H, Sauer JE, Owens WA, Shah CR, et al. Autism gene variant causes hyperserotonemia, serotonin receptor hypersensitivity, social impairment and repetitive behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012 Apr 3;109(14):5469–74.
50. Pavál D. A Dopamine Hypothesis of Autism Spectrum Disorder. *Developmental Neuroscience*. 2017;39(5):355–60.
51. Hellings JA, Arnold LE, Han JC. Dopamine antagonists for treatment resistance in autism spectrum disorders: review and focus on BDNF stimulators loxapine and amitriptyline. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 2017 Apr 13;18(6):581–8.
52. Hamilton PJ, Campbell NG, Sharma S, Erreger K, Herborg Hansen F, Saunders C, et al. De novo mutation in the dopamine transporter gene associates dopamine dysfunction with autism spectrum disorder. *Molecular Psychiatry*. 2013 Dec 27;18(12):1315–23.
53. Avale ME, Chabout J, Pons S, Serreau P, de Chaumont F, Olivo-Marin J, et al. Prefrontal nicotinic receptors control novel social interaction between mice. *The FASEB Journal*. 2011 Jul 14;25(7):2145–55.
54. Hellmer K, Nyström P. Infant acetylcholine, dopamine, and melatonin dysregulation: Neonatal biomarkers and causal factors for ASD and ADHD phenotypes. *Medical Hypotheses*. 2017 Mar;100:64–6.
55. Sadek B, Saad A, Sadeq A, Jalal F, Stark H. Histamine H3 receptor as a potential target for cognitive symptoms in neuropsychiatric diseases. *Behavioural Brain Research*. 2016 Oct;312:415–30.

56. Bjørklund G, Saad K, Chirumbolo S, Kern J, A. Geier D, R. Geier M, et al. Immune dysfunction and neuroinflammation in autism spectrum disorder. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*. 2016;76(4):257–68.
57. Carson MJ, Doose JM, Melchior B, Schmid CD, Ploix CC. CNS immune privilege: hiding in plain sight. *Immunological Reviews*. 2006 Oct;213(1):48–65.
58. Vargas DL, Nascimbene C, Krishnan C, Zimmerman AW, Pardo CA. Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Annals of Neurology*. 2005 Jan;57(1):67–81.
59. Lucchina L, Depino AM. Altered Peripheral and Central Inflammatory Responses in a Mouse Model of Autism. *Autism Research*. 2014 Apr;7(2):273–89.
60. Eissa N, Sadeq A, Sasse A, Sadek B. Role of Neuroinflammation in Autism Spectrum Disorder and the Emergence of Brain Histaminergic System. Lessons Also for BPSD? *Frontiers in Pharmacology*. 2020 Jun 16;11.
61. Toscano CVA, Barros L, Lima AB, Nunes T, Carvalho HM, Gaspar JM. Neuroinflammation in autism spectrum disorders: Exercise as a “pharmacological” tool. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2021 Oct;129:63–74.
62. Orihuela R, McPherson CA, Harry GJ. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. *British Journal of Pharmacology*. 2016 Feb;173(4):649–65.
63. AL-Eitan LN, Rababa'h DM, Alghamdi MA, Khasawneh RH. The influence of an IL-4 variable number tandem repeat (VNTR) polymorphism on breast cancer susceptibility. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine [Internet]*. 2019 Aug;Volume 12:201–7. Available from: <https://www.dovepress.com/the-influence-of-an-il-4-variable-number-tandem-repeat-vntr-polymorphi-peer-reviewed-article-PGPM>
64. Duan Y, Pan C, Shi J, Chen H, Zhang S. Association between interleukin-4 gene intron 3 VNTR polymorphism and cancer risk. *Cancer Cell International [Internet]*. 2014 Dec 30;14(1):131. Available from: <http://cancer-ci.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12935-014-0131-7>
65. Salimi S, Mohammadoo-Khorasani M, Yaghmaei M, Mokhtari M, Moossavi M. Possible Association of IL-4 VNTR Polymorphism with Susceptibility to Preeclampsia. *BioMed Research International*. 2014;2014:1–5.
66. Cabantous S, Poudiougou B, Oumar AA, Traore A, Barry A, Vitte J, et al. Genetic Evidence for the Aggravation of *Plasmodium falciparum* Malaria by Interleukin 4. *The Journal of Infectious Diseases*. 2009 Nov 15;200(10):1530–9.
67. Inanir A, Tural S, Yigit S, Kalkan G, Pancar GS, Demir HD, et al. Association of IL-4 gene VNTR variant with deep venous thrombosis in Behçet’s disease and its effect on ocular involvement. *Mol Vis*. 2013;19:675–83.
68. Makhlof MM, Elhamid SMA. Expression of IL4 (VNTR intron 3) and IL10 (-627) Genes Polymorphisms in Childhood Immune Thrombocytopenic Purpura. *Laboratory Medicine*. 2014 Aug 1;45(3):211–9.

69. May RD, Fung M. Strategies targeting the IL-4/IL-13 axes in disease. *Cytokine*. 2015 Sep;75(1):89–116.
70. Zhao H, Zhang H, Liu S, Luo W, Jiang Y, Gao J. Association of Peripheral Blood Levels of Cytokines With Autism Spectrum Disorder: A Meta-Analysis. *Frontiers in Psychiatry*. 2021 Jul 2;12.
71. Kordulewska NK, Kostyra E, Piskorz-Ogórek K, Moszyńska M, Cieślińska A, Fiedorowicz E, et al. Serum cytokine levels in children with spectrum autism disorder: Differences in pro- and anti-inflammatory balance. *Journal of Neuroimmunology*. 2019 Dec;337:577066.
72. Hoogman M, Rooij D, Klein M, Boedhoe P, Ilioska I, Li T, et al. Consortium neuroscience of attention deficit/hyperactivity disorder and autism spectrum disorder: The <sc>ENIGMA</sc> adventure. *Human Brain Mapping*. 2022 Jan 18;43(1):37–55.
73. Ghirardi L, Pettersson E, Taylor MJ, Freitag CM, Franke B, Asherson P, et al. Genetic and environmental contribution to the overlap between ADHD and ASD trait dimensions in young adults: a twin study. *Psychological Medicine*. 2019 Jul 7;49(10):1713–21.
74. Antshel KM, Russo N. Autism Spectrum Disorders and ADHD: Overlapping Phenomenology, Diagnostic Issues, and Treatment Considerations. *Current Psychiatry Reports*. 2019 May 22;21(5):34.
75. Elia J, Gai X, Xie HM, Perin JC, Geiger E, Glessner JT, et al. Rare structural variants found in attention-deficit hyperactivity disorder are preferentially associated with neurodevelopmental genes. *Molecular Psychiatry*. 2010 Jun 23;15(6):637–46.
76. Zeidan J, Fombonne E, Scora J, Ibrahim A, Durkin MS, Saxena S, et al. Global prevalence of autism: A systematic review update. *Autism Research*. 2022 Mar 3;
77. Ferreira MMM, França AP de. O Autismo e as Dificuldades no Processo de Aprendizagem Escolar. *Id on Line REVISTA DE PSICOLOGIA*. 2017 Nov 30;11(38):507–19.
78. Newra Rotta; Lygia Ohlweiler; Rudimar Riesgo. *Transtornos da Aprendizagem: Abordagem Neurobiológica e Multidisciplinar*. 2nd ed. Artmed Editora; 2015.
79. Tordjman S, Najjar I, Bellissant E, Anderson G, Barbuoth M, Cohen D, et al. Advances in the Research of Melatonin in Autism Spectrum Disorders: Literature Review and New Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013 Oct 14;14(10):20508–42.
80. Souders MC, Mason TBA, Valladares O, Bucan M, Levy SE, Mandell DS, et al. Sleep Behaviors and Sleep Quality in Children with Autism Spectrum Disorders. *Sleep*. 2009 Dec;32(12):1566–78.
81. Yang Z, Matsumoto A, Nakayama K, Jimbo EF, Kojima K, Nagata K ichi, et al. Circadian-relevant genes are highly polymorphic in autism spectrum disorder patients. *Brain and Development*. 2016 Jan;38(1):91–9.

82. Madra M, Ringel R, Margolis KG. Gastrointestinal Issues and Autism Spectrum Disorder. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America*. 2020 Jul;29(3):501–13.
83. Fattorusso A, di Genova L, Dell'Isola G, Mencaroni E, Esposito S. Autism Spectrum Disorders and the Gut Microbiota. *Nutrients*. 2019 Feb 28;11(3):521.
84. Collins SM, Bercik P. The Relationship Between Intestinal Microbiota and the Central Nervous System in Normal Gastrointestinal Function and Disease. *Gastroenterology*. 2009 May;136(6):2003–14.
85. de Angelis M, Francavilla R, Piccolo M, de Giacomo A, Gobbetti M. Autism spectrum disorders and intestinal microbiota. *Gut Microbes*. 2015 May 4;6(3):207–13.
86. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*. 2012 Oct 12;13(10):701–12.
87. Horvath K, Perman JA. Autistic disorder and gastrointestinal disease. *Current Opinion in Pediatrics*. 2002 Oct;14(5):583–7.
88. Navarro F, Liu Y, Rhoads JM. Can probiotics benefit children with autism spectrum disorders? *World Journal of Gastroenterology*. 2016;22(46):10093.
89. Adams JB, Audhya T, McDonough-Means S, Rubin RA, Quig D, Geis E, et al. Nutritional and metabolic status of children with autism vs. neurotypical children, and the association with autism severity. *Nutrition & Metabolism*. 2011;8(1):34.
90. de Angelis M, Piccolo M, Vannini L, Siragusa S, de Giacomo A, Serrazanetti DI, et al. Fecal Microbiota and Metabolome of Children with Autism and Pervasive Developmental Disorder Not Otherwise Specified. *PLoS ONE*. 2013 Oct 9;8(10):e76993.
91. Finegold SM, Dowd SE, Gontcharova V, Liu C, Henley KE, Wolcott RD, et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe*. 2010 Aug;16(4):444–53.
92. Quan L, Xu X, Cui Y, Han H, Hendren RL, Zhao L, et al. A systematic review and meta-analysis of the benefits of a gluten-free diet and/or casein-free diet for children with autism spectrum disorder. *Nutrition Reviews*. 2022 Apr 8;80(5):1237–46.
93. Hyman SL, Stewart PA, Foley J, Cain U, Peck R, Morris DD, et al. The Gluten-Free/Casein-Free Diet: A Double-Blind Challenge Trial in Children with Autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*. 2016 Jan 5;46(1):205–20.
94. Bandini LG, Anderson SE, Curtin C, Cermak S, Evans EW, Scampini R, et al. Food Selectivity in Children with Autism Spectrum Disorders and Typically Developing Children. *The Journal of Pediatrics*. 2010 Aug;157(2):259–64.
95. Buie T. The Relationship of Autism and Gluten. *Clinical Therapeutics*. 2013 May;35(5):578–83.

96. Esteban-Figuerola P, Canals J, Fernández-Cao JC, Arija Val V. Differences in food consumption and nutritional intake between children with autism spectrum disorders and typically developing children: A meta-analysis. *Autism*. 2019 Jul 21;23(5):1079–95.
97. Cermak SA, Curtin C, Bandini LG. Food Selectivity and Sensory Sensitivity in Children with Autism Spectrum Disorders. *J Am Diet Assoc*. 2010 Feb;110(2):238–46.
98. Lukmanji S, Manji SA, Kadhim S, Sauro KM, Wirrell EC, Kwon CS, et al. The co-occurrence of epilepsy and autism: A systematic review. *Epilepsy & Behavior*. 2019 Sep;98:238–48.
99. Zappella M. Reversible autism and intellectual disability in children. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*. 2012 May 15;160C(2):111–7.
100. Betancur C. Etiological heterogeneity in autism spectrum disorders: More than 100 genetic and genomic disorders and still counting. *Brain Research*. 2011 Mar;1380:42–77.
101. Lee BH, Smith T, Paciorkowski AR. Autism spectrum disorder and epilepsy: Disorders with a shared biology. *Epilepsy & Behavior*. 2015 Jun;47:191–201.
102. Simone Cucolicchio, Julianna Di Matteo, Roseli Paicheco, Cláudio Gomes, Marcio Falcão Simone, Francisco Baptista Assumpção. Correlação entre as escalas CARS e ATA no diagnóstico de Autismo. *Med Reab*. 2010;29(1):6–8.
103. Marteleto MRF, Pedromônico MRM. Validity of Autism Behavior Checklist (ABC): preliminary study. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2005 Dec;27(4):295–301.
104. MICHELE MICHELIN BECKER. Tradução e validação da entrevista Autism diagnostic interview-revised (ADI-R) para diagnóstico de autismo no Brasil. [Porto Alegre]: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. ; 2009.
105. Losapio MF, Pondé MP. Tradução para o português da escala M-CHAT para rastreamento precoce de autismo. *Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul*. 2008 Dec;30(3):221–9.
106. Betancur C. Etiological heterogeneity in autism spectrum disorders: More than 100 genetic and genomic disorders and still counting. *Brain Research*. 2011 Mar;1380:42–77.
107. Fombonne E. Epidemiology of Pervasive Developmental Disorders. *Pediatric Research*. 2009 Jun;65(6):591–8.
108. BRASIL. LEI Nº 13.861. Altera a Lei nº 7.853, de 24 de outubro de 1989, para incluir as especificidades inerentes ao transtorno do espectro autista nos censos demográficos. 2019.
109. Paula CS, Ribeiro SH, Fombonne E, Mercadante MT. Brief Report: Prevalence of Pervasive Developmental Disorder in Brazil: A Pilot Study. *Journal of Autism and Developmental Disorders*. 2011 Dec 21;41(12):1738–42.

110. Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira (Inep). Censo Escolar da Educação Básica (2021). Brasil, Ministério Da Educação. 2022;
111. Defense-Netrval DA, Fernandes FDM. A oferta da terapia fonoaudiológica em locais de assistência a indivíduos com Transtornos do Espectro do Autista (TEA). *Codas*. 2016 Aug 4;28(4):459–62.
112. Loomes R, Hull L, Mandy WPL. What Is the Male-to-Female Ratio in Autism Spectrum Disorder? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*. 2017 Jun;56(6):466–74.
113. Scott-Van Zeeland AA, Abrahams BS, Alvarez-Retuerto AI, Sonnenblick LI, Rudie JD, Ghahremani D, et al. Altered Functional Connectivity in Frontal Lobe Circuits Is Associated with Variation in the Autism Risk Gene *CNTNAP2*. *Science Translational Medicine*. 2010 Nov 3;2(56).
114. Sandin S, Lichtenstein P, Kuja-Halkola R, Hultman C, Larsson H, Reichenberg A. The Heritability of Autism Spectrum Disorder. *JAMA*. 2017 Sep 26;318(12):1182.
115. Bai D, Yip BHK, Windham GC, Sourander A, Francis R, Yoffe R, et al. Association of Genetic and Environmental Factors With Autism in a 5-Country Cohort. *JAMA Psychiatry*. 2019 Oct 1;76(10):1035.
116. Hallmayer J. Genetic Heritability and Shared Environmental Factors Among Twin Pairs With Autism. *Archives of General Psychiatry*. 2011 Nov 1;68(11):1095.
117. Veroniki AA, Rios P, Cogo E, Straus SE, Finkelstein Y, Kealey R, et al. Comparative safety of antiepileptic drugs for neurological development in children exposed during pregnancy and breast feeding: a systematic review and network meta-analysis. *BMJ Open*. 2017 Jul;7(7):e017248.
118. Andrade C. Valproate in Pregnancy. *The Journal of Clinical Psychiatry*. 2018 Jun 27;79(3).
119. Ji Y, Azuine RE, Zhang Y, Hou W, Hong X, Wang G, et al. Association of Cord Plasma Biomarkers of In Utero Acetaminophen Exposure With Risk of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and Autism Spectrum Disorder in Childhood. *JAMA Psychiatry*. 2020;77(2):180–9.
120. Alemany S, Avella-García C, Liew Z, García-Esteban R, Inoue K, Cadman T, et al. Prenatal and postnatal exposure to acetaminophen in relation to autism spectrum and attention-deficit and hyperactivity symptoms in childhood: Meta-analysis in six European population-based cohorts. *European Journal of Epidemiology*. 2021 Oct 28;36(10):993–1004.
121. Levine SZ, Kodesh A, Viktorin A, Smith L, Uher R, Reichenberg A, et al. Association of Maternal Use of Folic Acid and Multivitamin Supplements in the Periods Before and During Pregnancy With the Risk of Autism Spectrum Disorder in Offspring. *JAMA Psychiatry*. 2018 Feb 1;75(2):176.

122. Hoxha B, Hoxha M, Domi E, Gervasoni J, Persichilli S, Malaj V, et al. Folic Acid and Autism: A Systematic Review of the Current State of Knowledge. *Cells*. 2021 Aug 3;10(8):1976.
123. Dababnah S, Rizo CF, Campion K, Downton KD, Nichols HM. The Relationship Between Children's Exposure to Intimate Partner Violence and Intellectual and Developmental Disabilities: A Systematic Review of the Literature. *American Journal on Intellectual and Developmental Disabilities*. 2018 Nov 1;123(6):529–44.
124. von Ehrenstein OS, Ling C, Cui X, Cockburn M, Park AS, Yu F, et al. Prenatal and infant exposure to ambient pesticides and autism spectrum disorder in children: population based case-control study. *BMJ*. 2019 Mar 20;1962.
125. Levie D, Korevaar TIM, Bath SC, Dalmau-Bueno A, Murcia M, Espada M, et al. Thyroid Function in Early Pregnancy, Child IQ, and Autistic Traits: A Meta-Analysis of Individual Participant Data. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2018 Aug 1;103(8):2967–79.
126. Jo H, Eckel SP, Chen JC, Cockburn M, Martinez MP, Chow T, et al. Gestational diabetes mellitus, prenatal air pollution exposure, and autism spectrum disorder. *Environment International*. 2019 Dec;133:105110.
127. Chun H, Leung C, Wen SW, McDonald J, Shin HH. Maternal exposure to air pollution and risk of autism in children: A systematic review and meta-analysis. *Environmental Pollution*. 2020 Jan;256:113307.
128. Thapar A, Rutter M. Genetic Advances in Autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*. 2021 Dec 17;51(12):4321–32.
129. Sullivan PF, Agrawal A, Bulik CM, Andreassen OA, Børglum AD, Breen G, et al. Psychiatric Genomics: An Update and an Agenda. *American Journal of Psychiatry*. 2018 Jan;175(1):15–27.
130. Sanders SJ, He X, Willsey AJ, Ercan-Sencicek AG, Samocha KE, Cicek AE, et al. Insights into Autism Spectrum Disorder Genomic Architecture and Biology from 71 Risk Loci. *Neuron*. 2015 Sep;87(6):1215–33.
131. Williams NM, Zaharieva I, Martin A, Langley K, Mantripragada K, Fossdal R, et al. Rare chromosomal deletions and duplications in attention-deficit hyperactivity disorder: a genome-wide analysis. *The Lancet*. 2010 Oct;376(9750):1401–8.
132. Marshall CR, Howrigan DP, Merico D, Thiruvahindrapuram B, Wu W, Greer DS, et al. Contribution of copy number variants to schizophrenia from a genome-wide study of 41,321 subjects. *Nature Genetics*. 2017 Jan 21;49(1):27–35.
133. Chawner SJRA, Owen MJ, Holmans P, Raymond FL, Skuse D, Hall J, et al. Genotype–phenotype associations in children with copy number variants associated with high neuropsychiatric risk in the UK (IMAGINE-ID): a case-control cohort study. *The Lancet Psychiatry*. 2019 Jun;6(6):493–505.
134. Satterstrom FK, Kosmicki JA, Wang J, Breen MS, de Rubeis S, An JY, et al. Large-Scale Exome Sequencing Study Implicates Both Developmental and

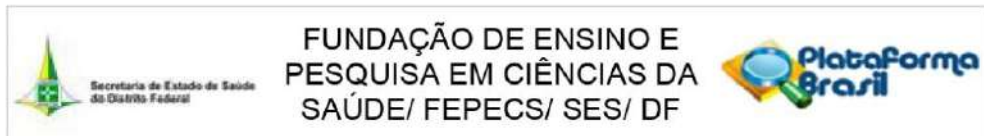
- Functional Changes in the Neurobiology of Autism. *Cell*. 2020 Feb;180(3):568-584.e23.
135. Weiner DJ, Wigdor EM, Ripke S, Walters RK, Kosmicki JA, Grove J, et al. Polygenic transmission disequilibrium confirms that common and rare variation act additively to create risk for autism spectrum disorders. *Nature Genetics*. 2017 Jul 15;49(7):978–85.
 136. Klinger LG, Cook ML, Dudley KM. Predictors and Moderators of Treatment Efficacy in Children and Adolescents with Autism Spectrum Disorder. *Journal of Clinical Child & Adolescent Psychology*. 2021 Jul 4;50(4):517–24.
 137. Dawson G. Early behavioral intervention, brain plasticity, and the prevention of autism spectrum disorder. *Development and Psychopathology*. 2008 Jul 7;20(3):775–803.
 138. Steinbrenner JR, Hume K, Odom SL, Morin KL, Nowell SW, Tomaszewski B, et al. Evidence-Based Practices for Children, Youth, and Young Adults with Autism Children, Youth, and Young Adults with Autism Evidence-Based Practices for National Clearinghouse on Autism Evidence and Practice Review Team 2 Evidence-Based Practices for Children, Youth, and Young Adults with Autism Evidence-Based Practices for Children, Youth, and Young Adults with Autism Spectrum Disorder ©2020 Evidence-Based Practices for Children, Youth, and Young Adults with Autism. 2020.
 139. Virues-Ortega J, Julio FM, Pastor-Barriuso R. The TEACCH program for children and adults with autism: A meta-analysis of intervention studies. *Clinical Psychology Review*. 2013 Dec;33(8):940–53.
 140. Fuller EA, Oliver K, Vejnaska SF, Rogers SJ. The Effects of the Early Start Denver Model for Children with Autism Spectrum Disorder: A Meta-Analysis. *Brain Sciences*. 2020 Jun 12;10(6):368.
 141. Foxx RM. Applied Behavior Analysis Treatment of Autism: The State of the Art. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America*. 2008 Oct;17(4):821–34.
 142. Ferreira C, Caetano SC, Perissinoto J, Tamanaha AC. Repercussão da implementação do Picture Exchange Communication System – PECS no índice de sobrecarga de mães de crianças com Transtorno do Espectro do Autismo. *Codas*. 2022;34(3).
 143. Gomes PTM, Lima LHL, Bueno MKG, Araújo LA, Souza NM. Autism in Brazil: a systematic review of family challenges and coping strategies. *Jornal de Pediatria*. 2015 Mar;91(2):111–21.
 144. Howes OD, Rogdaki M, Findon JL, Wichers RH, Charman T, King BH, et al. Autism spectrum disorder: Consensus guidelines on assessment, treatment and research from the British Association for Psychopharmacology. *Journal of Psychopharmacology*. 2018 Jan 14;32(1):3–29.
 145. Murray ML, Hsia Y, Glaser K, Simonoff E, Murphy DGM, Asherson PJ, et al. Pharmacological treatments prescribed to people with autism spectrum disorder (ASD) in primary health care. *Psychopharmacology (Berl)*. 2014 Mar 17;231(6):1011–21.

146. Aman MG, Arnold MD, LE, McDougle CJ, Vitiello B, Scahill L, Davies M, et al. Acute and Long-Term Safety and Tolerability of Risperidone in Children with Autism. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*. 2005 Dec;15(6):869–84.
147. Kim E, Howes OD, Turkheimer FE, Kim BH, Jeong JM, Kim JW, et al. The relationship between antipsychotic D2 occupancy and change in frontal metabolism and working memory. *Psychopharmacology (Berl)*. 2013 May 28;227(2):221–9.
148. Barros Neto SG de, Brunoni D, Cysneiros RM. Abordagem psicofarmacológica no transtorno do espectro autista: uma revisão narrativa. *Cadernos de Pós-Graduação em Distúrbios do Desenvolvimento*. 2019;19(2).
149. Williams K, Brignell A, Randall M, Silove N, Hazell P. Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) for autism spectrum disorders (ASD). *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2013 Aug 20;
150. Jahromi LB, Kasari CL, McCracken JT, Lee LSY, Aman MG, McDougle CJ, et al. Positive Effects of Methylphenidate on Social Communication and Self-Regulation in Children with Pervasive Developmental Disorders and Hyperactivity. *Journal of Autism and Developmental Disorders*. 2009 Mar 28;39(3):395–404.
151. Shomrat T, Neshet N. Updated View on the Relation of the Pineal Gland to Autism Spectrum Disorders. *Frontiers in Endocrinology*. 2019 Feb 5;10.
152. Rzepka-Migut B, Paprocka J. Efficacy and Safety of Melatonin Treatment in Children with Autism Spectrum Disorder and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder—A Review of the Literature. *Brain Sciences*. 2020 Apr 7;10(4):219.
153. Mostafavi M, Gaitanis J. Autism Spectrum Disorder and Medical Cannabis: Review and Clinical Experience. *Seminars in Pediatric Neurology*. 2020 Oct;35:100833.
154. Aran A, Cassuto H, Lubotzky A, Wattad N, Hazan E. Brief Report: Cannabidiol-Rich Cannabis in Children with Autism Spectrum Disorder and Severe Behavioral Problems—A Retrospective Feasibility Study. *Journal of Autism and Developmental Disorders*. 2019 Mar 31;49(3):1284–8.
155. Aran A, Harel M, Cassuto H, Polyansky L, Schnapp A, Wattad N, et al. Cannabinoid treatment for autism: a proof-of-concept randomized trial. *Molecular Autism*. 2021 Dec 3;12(1):6.
156. Pereira A, Riesgo RS, Wagner MB. Autismo infantil: tradução e validação da Childhood Autism Rating Scale para uso no Brasil. *Jornal de Pediatria*. 2008 Dec;84(6):487–94.
157. Loomes R, Hull L, Mandy WPL. What Is the Male-to-Female Ratio in Autism Spectrum Disorder? A Systematic Review and Meta-Analysis. Vol. 56, *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*. Elsevier Inc.; 2017. p. 466–74.
158. Panda PK, Gupta J, Chowdhury SR, Kumar R, Meena AK, Madaan P, et al. Psychological and Behavioral Impact of Lockdown and Quarantine Measures

- for COVID-19 Pandemic on Children, Adolescents and Caregivers: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Tropical Pediatrics*. 2021 Jan 29;67(1).
159. Amorim R, Catarino S, Miragaia P, Ferreras C, Viana V, Guardiano M. Impacto de la COVID-19 en niños con trastorno del espectro autista. *Revista de Neurología*. 2020;71(08):285.
 160. Sergi L, Mingione E, Ricci M, Cavallaro A, Russo F, Corrivetti G, et al. Autism, Therapy and COVID-19. *Pediatric Reports*. 2021 Jan 5;13(1):35–44.
 161. Barbosa AM, Figueiredo AV de, Viegas MAS, Batista RLNFF. Os Impactos da Pandemia de COVID-19 na Vida Das Pessoas com Transtorno do Espectro Autista. *Revista da Seção Judiciária do Rio de Janeiro*. 2020 Jul 1;24(48):91.
 162. Matar HE, Almerie MQ, Makhoul S, Xia J, Humphreys P. Pericyazine for schizophrenia. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2014 May 13;
 163. Barros Neto SG de, Brunoni D, Cysneiros RM. Abordagem psicofarmacológica no transtorno do espectro autista: uma revisão narrativa. *Cadernos de Pós-Graduação em Distúrbios do Desenvolvimento*. 2019;19(2).
 164. Eserian JK, Aparecida Kalleian E. Estimativa de custo do tratamento com medicamentos antipsicóticos. *JMPHC | Journal of Management & Primary Health Care | ISSN 2179-6750*. 2021 Mar 18;12(spec):1–2.
 165. Pekkoc Uyanik KC, Kalayci Yigin A, Dogangun B, Seven M. Evaluation of IL1B rs1143634 and IL6 rs1800796 Polymorphisms with Autism Spectrum Disorder in the Turkish Children. *Immunological Investigations*. 2021;
 166. Han Y, Xiong W, Liu J, Dai W, Su Y, Gao L, et al. Associations of Serum Cytokine Levels and Interleukin-6-572C/G Polymorphism with Myelin Damage in Chinese Children with Autism Spectrum Disorder. *Neuroscience*. 2021 Jun 15;465:95–104.
 167. Saad K, Abdallah AEM, Abdel-Rahman AA, Al-Atram AA, Abdel-Raheem YF, Gad EF, et al. Polymorphism of interleukin-1 β and interleukin-1 receptor antagonist genes in children with autism spectrum disorders. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2020 Dec 20;103.
 168. Jiang NM, Cowan M, Moonah SN, Petri WA. The Impact of Systemic Inflammation on Neurodevelopment. *Trends in Molecular Medicine*. 2018 Sep;24(9):794–804.
 169. Lumachi F, Basso SMM, Orlando R. Cytokines, thyroid diseases and thyroid cancer. *Cytokine [Internet]*. 2010 Jun;50(3):229–33. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043466610000669>
 170. Jiang NM, Tofail F, Moonah SN, Scharf RJ, Taniuchi M, Ma JZ, et al. Febrile illness and pro-inflammatory cytokines are associated with lower neurodevelopmental scores in Bangladeshi infants living in poverty. *BMC Pediatrics*. 2014 Dec 18;14(1):50.
 171. Derecki NC, Cardani AN, Yang CH, Quinnes KM, Cuihfield A, Lynch KR, et al. Regulation of learning and memory by meningeal immunity: a key role for IL-4. *Journal of Experimental Medicine*. 2010 May 10;207(5):1067–80.

172. Lee SE, West KP, Cole RN, Schulze KJ, Wu LSF, Yager JD, et al. General intelligence is associated with subclinical inflammation in Nepalese children: A population-based plasma proteomics study. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2016 Aug;56:253–63.

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Polimorfismos Genéticos Associados ao Transtorno do Espectro Autista

Pesquisador: ALINE RIBEIRO BARROS

Área Temática: Genética Humana:
(Trata-se de pesquisa em genética do comportamento.);

Versão: 2

CAAE: 16695419.1.3003.5553

Instituição Proponente: Centro de Orientação Médico Psicopedagógica

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.017.515

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa "PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1508504.pdf" e postado na Plataforma Brasil em 22/02/2020.

Resumo:

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é um transtorno do desenvolvimento grave que afeta os indivíduos pré-escolares e permanece ao longo de toda a vida. É caracterizado pelo isolamento social e/ou falha na socialização com seus pares, déficits na fala e comportamentos repetitivos. Segundo dados do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) a prevalência do transtorno em 2018 é 1 para cada 59 crianças, estima-se que no ano de 2012 o Reino Unido gastou cerca de 3 bilhões de euros com o tratamento de indivíduos no espectro. No Brasil os dados epidemiológicos a respeito do transtorno são escassos. O diagnóstico do transtorno é essencialmente clínico, e baseado no Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM) e no Classificação Internacional de Doenças (CID), outros materiais

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS

Bairro: ASA NORTE

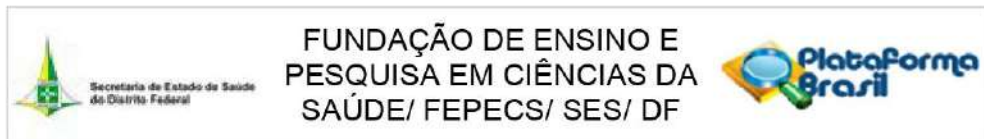
CEP: 70.710-904

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)2017-2127

E-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com



Continuação do Parecer: 4.017.515

podem dar suporte ao diagnóstico, mas não há exames laboratoriais ou de imagem que identifiquem o autismo. A fisiopatologia do autismo é complexa, sua causa é multifatorial e envolve fatores genéticos e ambientais. Dentre os fatores genéticos já foram relatadas mutações em genes de praticamente todos os cromossomos, entre essas mutações o polimorfismo tem se destacado, principalmente no tocante a investigação sobre os mecanismos envolvidos para expressão dos fenótipos. A presente pesquisa tem como objetivo por meio de um estudo prospectivo de caso-controle analisar os polimorfismos genéticos dos genes AUTS, SLC6A4, SHANK1, SHANK2, SHANK3, CLEC7A, MTHFR, DRD3, CNTNAP2, BDNF, GABRB3, HLA-G, IL, IFNG, TNFA, CTLA-4, APOE, APOB, NOS3, CYP, CHGA, MeCP2, PTEN, P53, NRAS, KRAS, VDR, MnSOD, BRAF, MTNR1A, MTNR1B, BCL2, RORA, SNAP25, GRM7, RIT2, CACNA1C e FOXP3 e suas implicações na suscetibilidade e manifestações clínicas em pacientes pediátricos com TEA atendidos no ambulatório de saúde mental do Hospital Universitário de Brasília. Os resultados esperados são os dados a respeito da prevalência dos polimorfismos supracitados nas populações caso e controle. Palavras chaves: polimorfismo e autismo Observação: Esse projeto faz parte do mestrado em ciências e tecnologias na saúde da pesquisadora Aline Ribeiro Barros, sob orientação da Prof. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva.

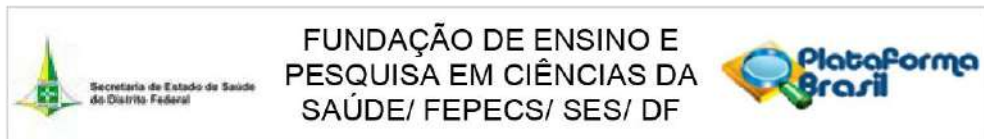
Hipótese:

Polimorfismo dos genes AUTS, SLC6A4, SHANK1, SHANK2, SHANK3, CLEC7A, MTHFR, DRD3, CNTNAP2, BDNF, GABRB3, HLA-G, IL, IFNG, TNFA, CTLA-4, APOE, APOB, NOS3, CYP, CHGA, MeCP2, PTEN, P53, NRAS, KRAS, VDR, MnSOD, BRAF, MTNR1A, MTNR1B, BCL2, RORA, SNAP25, GRM7, RIT2, CACNA1C e FOXP3, possuem relação com os aspectos clínicos apresentados no autismo e com a suscetibilidade ao transtorno.

Metodologia Proposta:

A coleta do material biológica do grupo caso será realizada através de swab oral, próprio para este fim. Para o grupo controle será realizada a extração de cerca de 5ml de sangue periférico em tubo contendo EDTA. O DNA será extraído a partir da amostra de saliva coletada do paciente no momento da consulta com o clínico. O material biológico (saliva), dos participantes serão estocados na Universidade de Brasília (UnB), no campus da Faculdade de Ceilândia (FCE) no laboratório de Análises Clínicas, sob a guarda da pesquisadora Izabel Cristina Rodrigues da Silva e da pesquisadora Aline Ribeiro Barros na extração do DNA das amostras e exames para verificação dos polimorfismos genéticos. A saliva do participante será coletada em recipientes estéril. Quando

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS
Bairro: ASA NORTE **CEP:** 70.710-904
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)2017-2127 **E-mail:** comitedeetica.secretaria@gmail.com



Continuação do Parecer: 4.017.515

o material biológico for estocado no laboratório da FCE, será destinado ao procedimento de extração de DNA. O DNA genômico será extraído da saliva utilizando o método Salting Out (MILLER et al, 1988) através de Kit comercial (Illustra™ Blood genomicPrep Mini Spin, GE Healthcare, Buckinghamshire, UK) seguindo as recomendações do fabricante. A quantidade de DNA genômico será determinada através do equipamento Nanovue Plus (GE Healthcare, UK) por meio de leitura espectrofotométrica nas densidades óticas (DO) 260 e 280nm. A pureza do material genômico será considerada adequada quando a razão destas densidades óticas (A260/A280) for maior ou igual a 1,8. O DNA genômico de cada paciente será armazenado em microtubo de 1,5 mL estéril e congelado à -20°C. Realizado o procedimento acima, o DNA extraído será descongelado para se proceder com os exames de polimorfismo genético, que será realizado pelo método PCR (Reação em cadeia da Polimerase) Qualitativo. Em seguida, a análise de polimorfismo se dará com uso de enzimas de restrição, a depender da região gênica a ser

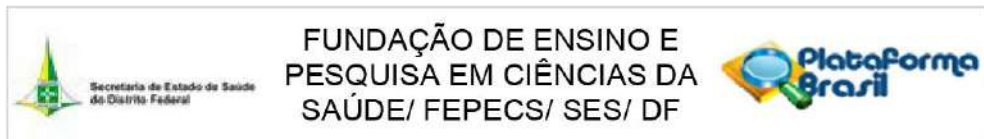
analisada. A amostra foi calculada estimando-se uma distribuição de resposta de 50% de autismo, um erro amostral de 5% e um intervalo de confiança de 95%, chegou-se ao número de participantes da pesquisa de 28

O TEA tem ganhado evidência nos últimos anos pelo aumento significativo da sua prevalência ao redor do mundo (ROSSI et al., 2018). No ano de 2012 a prevalência estimada nos Estados Unidos foi 14,6% a cada mil crianças até 8 anos (XU et al., 2018).

Enquanto isso no Brasil os dados acerca da incidência e prevalência do transtorno são escassos (TEIXEIRA et al., 2010). A falta de inclusão do TEA em instrumentos como o CENSO ou em um sistema de notificação próprio, dificulta o dimensionamento do número de autistas em âmbito nacional, estadual e regional, constituindo um grande entrave no delineamento de políticas públicas específicas para essa população (CANO, 2016).

No ano anterior o Center for Diseases Control and Prevention (CDC) dos Estados Unidos divulgou uma estimativa que 1 a cada 59 crianças americanas seriam portadores do TEA, número superior ao anterior de 2012 como mostra a figura 2 (BAIO et al., 2018). Os Transtornos Globais do Desenvolvimento (TGDs) podem ser divididos em 5 grupos; Síndrome de Rett, Transtorno Desintegrativo da Infância, Transtorno do Espectro Autista (TEA), Síndrome de Asperger e

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS
Bairro: ASA NORTE **CEP:** 70.710-904
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)2017-2127 **E-mail:** comitedeetica.secretaria@gmail.com



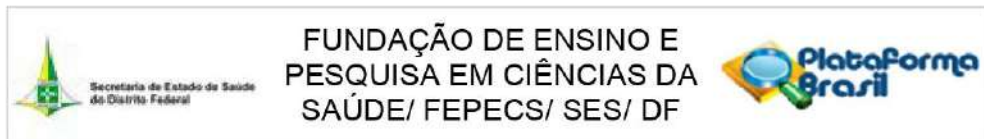
Continuação do Parecer: 4.017.515

Transtorno Global do Desenvolvimento sem outra especificação (FURTADO; BRAYNER; SILVA, 2014). O diagnóstico das TGDs norteia-se pelos critérios estabelecidos no DSM e pelo CID-10. Não existem exames da ordem laboratorial ou de imagem que comprovem a presença do transtorno, portanto o diagnóstico e seu grau de comprometimento é baseado nos indícios clínicos apresentados pelo paciente. Embora o diagnóstico não dependa de exames, o forte componente genético associado as TGDs tem aumentado o uso de recursos diagnósticos relacionados a genética, como microarray e exoma, técnicas que se tornaram mais populares nos últimos anos (SCHERER; DAWSON, 2011). O TEA cursa como uma patologia complexa e multifatorial, já que foram relatados na literatura alterações genéticas em quase todos os cromossomos (FLEISCHER, 2012), sendo assim ao contrário das patologias de causas monogênicas, que são raras, a prevalência do autismo reforça a ideia de um componente de herança poligênica, ou seja, várias variantes genéticas que ao combinadas ao mesmo tempo são capazes de gerar um fenótipo compatível com as características do autismo (GRIESI-OLIVEIRA; SERTIÉ, 2017). Apesar da importância das pesquisas que buscam a identificação de genes candidatos e que prometem ajudar a elucidar as causas do TEA, é importante que os estudos na área de genética não centrem apenas nesses aspectos, e sim busque meios de não apenas isolar genes relevantes, mas buscar compreender a relação das suas alterações com os diversos aspectos apresentados no autismo (MORAES, 2014). É nesse contexto que se apresenta o presente trabalho, cujo o objetivo é o estudo dos polimorfismos genéticos dos genes: AUTS, SLC6A4, SHANK1, SHANK2, SHANK3, CLEC7A, MTHFR, DRD3, CNTNAP2, BDNF, GABRB3, HLA-G, IL, IFNG, TNFA, CTLA-4, APOE, APOB, NOS3, CYP, CHGA, MeCP2, PTEN, P53, NRAS, KRAS, VDR, MnSOD, BRAF, MTNR1A, MTNR1B, BCL2, RORA, SNAP25, GRM7, RIT2, CACNA1C e FOXP3 e suas relações com o transtorno do espectro autista apresentado por pacientes pediátricos atendidos em uma unidade de referência no Distrito Federal.

Metodologia de Análise de Dados:

As frequências alélicas e genótípicas serão estimadas, usando-se o programa SPSS versão 25.0, por contagem direta, sendo essas expressas como porcentagem do número de alelos. Além disso, será aplicado o teste do qui-quadrado e o Odds Ratio (OR), de forma a comparar as distribuições das frequências e também fazer possíveis associações com os alelos, genótipos e haplótipos entre os 2 grupos avaliados (caso e controle). Serão consideradas associações com probabilidades menores que 5% ($P < 0,05$). O equilíbrio de

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS
Bairro: ASA NORTE **CEP:** 70.710-904
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)2017-2127 **E-mail:** comitedeetica.secretaria@gmail.com



Continuação do Parecer: 4.017.515

Hardy-Weinberg nada mais é que a constância das frequências relativas dos genótipos entre gerações, para qualquer loco gênico e em populações de cruzamento ao acaso (panmíticas), desde que certos fatores não perturbem este equilíbrio. Esses são os chamados fatores evolutivos: mutação, seleção, deriva genética e migração (ou fluxo gênico). A verificação se as frequências genotípicas estudadas aderem às proporções teóricas de Hardy-Weinberg será dado pelo teste do qui-quadrado a um grau de liberdade

Desfecho Primário:

Prevalência dos polimorfismos genéticos dos genes AUTS, SLC6A4, SHANK1, SHANK2, SHANK3, CLEC7A, MTHFR, DRD3, CNTNAP2, BDNF, GABRB3, HLA-G, IL, IFNG, TNFA, CTLA-4, APOE, APOB, NOS3, CYP, CHGA, MeCP2, PTEN, P53, NRAS, KRAS, VDR, MnSOD, BRAF, MTNR1A, MTNR1B, BCL2, RORA, SNAP25, GRM7, RIT2, CACNA1C e FOXP3, em pacientes com transtorno do espectro autista atendidos pelo ambulatório de saúde mental do Hospital Universitário de Brasília (HUB) e COMPP.

Desfecho Secundário:

Relações estatísticas significantes ou não dos polimorfismos dos genes AUTS, SLC6A4, SHANK1, SHANK2, SHANK3, CLEC7A, MTHFR, DRD3, CNTNAP2, BDNF, GABRB3, HLA-G, IL, IFNG, TNFA, CTLA-4, APOE, APOB, NOS3, CYP, CHGA, MeCP2, PTEN, P53, NRAS, KRAS, VDR, MnSOD, BRAF, MTNR1A, MTNR1B, BCL2, RORA, SNAP25, GRM7, RIT2, CACNA1C e FOXP3, com o espectro autista, suas manifestações clínicas, prognóstico e grau do autismo.

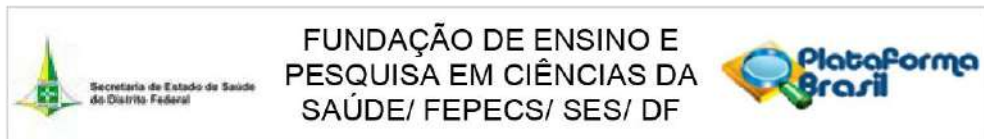
Tamanho da amostra: 70

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Estudar a prevalência dos polimorfismos genéticos dos genes AUTS, SLC6A4, SHANK1, SHANK2, SHANK3, CLEC7A, MTHFR, DRD3, CNTNAP2, BDNF, GABRB3, HLA-G, IL, IFNG, TNFA, CTLA-4, APOE, APOB, NOS3, CYP, CHGA, MeCP2, PTEN, P53, NRAS, KRAS, VDR, MnSOD, BRAF, MTNR1A, MTNR1B, BCL2, RORA, SNAP25, GRM7, RIT2, CACNA1C e FOXP3, em pacientes com transtorno do espectro autista atendidos pelo ambulatório de saúde mental do Hospital Universitário de Brasília (HUB).

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS
Bairro: ASA NORTE **CEP:** 70.710-904
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)2017-2127 **E-mail:** comitedeetica.secretaria@gmail.com



Continuação do Parecer: 4.017.515

Objetivo Secundário:

Avaliar a influência do background genética no TEA em pacientes atendidos no ambulatório de saúde mental do HUB. Cruzar os dados qualitativos e quantitativos com os dados obtidos através da análise dos polimorfismos genéticos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

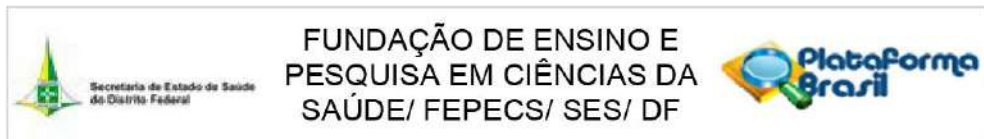
Riscos:

Durante a coleta da saliva o participante podera engasgar-se com a própria saliva, para minimizar esse risco toda a coleta sera acompanhada por um profissional da saude com conhecimento na manobra de Heimlich (manobra de resgate aplicada em casos de engasgos). Algumas perguntas do questionário poderao causar desconfortos, para isso minimizar o dano o participante tera a opcao de nao responder essas questoes se assim preferir. No momento da coleta de sangue pode haver dor e desconforto, apos a coleta podem surgir hematomas e lesoes no local da puncao. Para minimizar tais riscos a coleta sera conduzida por profissional dotado de experiencia em coleta de sangue, alem disso sera oferecido quando necessario gelo para amenizar a formacao de hematomas. Os esclarecimentos a respeito dos riscos inerentes as coletas serao fornecidas a todos os participantes.

Benefícios:

A coleta da saliva e um procedimento nao invasivo, indolor e de facil obtencao, sendo bem aceito pela populacao pediatrica. O anonimato dos pacientes sera assegurado, pois a pesquisa tem enfoque nos dados e nao nos pacientes individualmente. Os resultados geneticos resultantes somente serao acessiveis aos pesquisadores do presente estudo e nao serao dissociados dos individuos. Os beneficios do uso de dados geneticos humanos coletados no ambito da pesquisa serao compartilhados entre a comunidade envolvida sob a forma de publicacao de artigos cientificos. Sera oferecida a possibilidade de contato eletronic (e-mail) e telefonico a todos os participantes que desejarem, para que as possiveis descobertas de informacoes sejam repassadas, em forma de artigos cientificos (modo como serao divulgados os resultados da presente pesquisa). Esse estudo tem como principal beneficio a producao de maior conhecimento sobre os aspectos fisiopatologicos do Transtorno do Espectro Autista. Sera oferecida a possibilidade de retorno das informacoes obtidas, bem como a descricao dos achados referentes aos polimorfismos geneticos de cada individuo analisado. Os participantes ou os representantes legais terao acesso aos resultados mediante a

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS
Bairro: ASA NORTE **CEP:** 70.710-904
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)2017-2127 **E-mail:** comitedeetica.secretaria@gmail.com



Continuação do Parecer: 4.017.515

sua solicitação a pesquisadora responsável, a qualquer momento, desde que as amostras já tenham sido processadas e analisadas. Esta solicitação poderá ser feita durante a assinatura do TCLE, por e-mail ou telefone, presentes no TCLE, e a pesquisadora agendará uma reunião para a entrega do resultado.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto apresentado por farmacêutica da UnB sobre a análise de "Polimorfismos Genéticos Associados ao Transtorno do Espectro Autista" como projeto de Mestrado na UnB.

A pesquisadora em Emenda, solicitou a inclusão do COMPP, serviço desta SES como centro coparticipante.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A pesquisadora anexou:

- Carta de resposta a pendências
- Nova versão do projeto detalhado "Projeto_detalhado7.docx"
- Novo cronograma "CRONOGRAMA_2.docx"
- Nova versão do questionário "CARS2.docx"

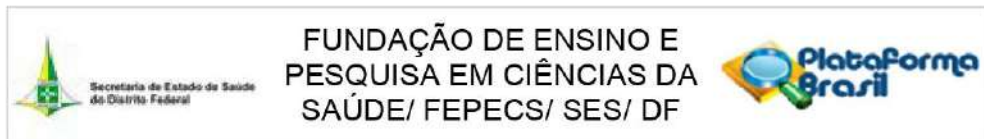
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto Aprovado

As pendências foram atendidas:

- A coleta de dados no COMPP está prevista para julho/2020.
- No projeto detalhado à página 20 está informado que a saliva dos participantes do estudo será coletada no COMPP. Também consta a informação de que o sangue do grupo controle será coletado no laboratório da UnB-FCE.
- os dados de identificação foram retirados da página 8/8 no questionário CARS2.docx.

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS
Bairro: ASA NORTE **CEP:** 70.710-904
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)2017-2127 **E-mail:** comitedeetica.secretaria@gmail.com



Continuação do Parecer: 4.017.515

*O pesquisador assume o compromisso de garantir o sigilo que assegure o anonimato e a privacidade dos participantes da pesquisa e a confidencialidade dos dados coletados. Os dados obtidos na pesquisa deverão ser utilizados exclusivamente para a finalidade prevista no seu protocolo.

O pesquisador deverá encaminhar relatório parcial e final de acordo com o desenvolvimento do projeto da pesquisa, conforme Resolução CNS/MS nº 466 de 2012.

*Considerando a pandemia (COVID-19), reiteramos que sejam obedecidas as orientações vigentes do Governo do Distrito Federal (quanto à limitação de acessos, isolamentos sociais e circulações desnecessárias em ambientes que possam gerar riscos ao pesquisador e aos participantes da pesquisa).

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1508504.pdf	28/04/2020 11:49:08		Aceito
Outros	Resposta_pendencia_FEPECS.pdf	28/04/2020 11:46:26	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado7.docx	28/04/2020 11:43:15	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_2.docx	28/04/2020 11:40:17	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
Outros	CARS2.docx	28/04/2020 11:39:31	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_grupocontrole7.doc	22/02/2020 09:04:51	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_GRUPOCASO7.doc	22/02/2020 09:04:36	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
Outros	CARTA_ECAMINHAMENTO_FEPECS.pdf	22/02/2020 09:01:48	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_Compromisso_Pesquisador.pdf	22/02/2020 09:01:09	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS

Bairro: ASA NORTE

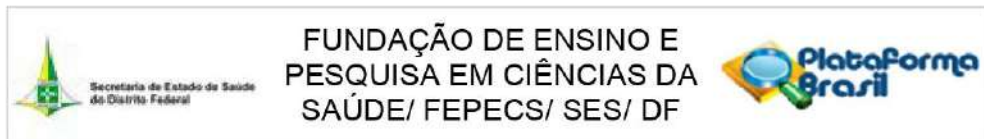
CEP: 70.710-904

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)2017-2127

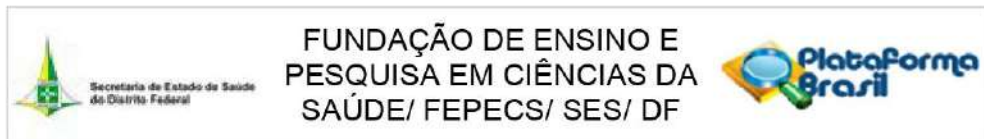
E-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com



Continuação do Parecer: 4.017.515

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	termo_assentimento_criancaspequenas6.docx	20/01/2020 18:02:07	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_ASSENTIMENTO_13A186.docx	20/01/2020 18:01:52	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_grupocontrole6.doc	20/01/2020 18:01:36	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado6.docx	20/01/2020 17:57:43	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
Outros	Carta_em_resposta_a_pendencias_do_CONEP.pdf	10/10/2019 18:02:58	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
Outros	QUESTIONARIO.docx	01/10/2019 07:04:27	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
Outros	CARS.docx	01/10/2019 07:02:54	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_ASSENTIMENTO_13A18.docx	01/10/2019 07:02:31	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_grupocontrole_vermelho.doc	01/10/2019 07:02:23	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_grupocontrole.doc	01/10/2019 07:02:06	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_GRUPOCASO.doc	01/10/2019 07:01:50	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
Outros	carta_para_encaminhamento_de_pendencias.doc	10/09/2019 10:42:33	FLAVIA PEREIRA ROCHA	Aceito
Outros	carta2_cep.pdf	10/09/2019 00:39:41	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	termo_assentimento_versao3.docx	10/09/2019 00:37:53	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura	Projeto_detalhado.docx	26/08/2019 08:26:23	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS
 Bairro: ASA NORTE CEP: 70.710-904
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)2017-2127 E-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com



Continuação do Parecer: 4.017.515

Investigador	Projeto_detalhado.docx	26/08/2019 08:26:23	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	JUSTIFICATIVA_TCLE.pdf	26/08/2019 08:25:36	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
Outros	Untitled_23082019_160411.pdf	26/08/2019 08:04:10	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
Outros	lattesaline.pdf	03/07/2019 10:37:14	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
Outros	lattesandre.pdf	03/07/2019 10:20:52	ALINE RIBEIRO BARROS	Aceito
Outros	lattesizabel.pdf	16/06/2019 10:19:33	Aline Ribeiro Rabelo	Aceito
Outros	carta_cep.pdf	05/06/2019 16:50:50	Aline Ribeiro Rabelo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BRASILIA, 09 de Maio de 2020

Assinado por:
Marcondes Siqueira Carneiro
(Coordenador(a))

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS
Bairro: ASA NORTE **CEP:** 70.710-904
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)2017-2127 **E-mail:** comitedeetica.secretaria@gmail.com

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (GRUPO CONTROLE)



UnB | HUB



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (grupo controle)

Convidamos o(a) senhor(a) participar do projeto de pesquisa chamado: Polimorfismos Genéticos Associados ao Transtorno do Espectro Autista, sob a responsabilidade da pesquisadora Aline Ribeiro Barros. O projeto estuda mudanças no DNA em pessoas com autismo através de técnicas de laboratório.

O objetivo desta pesquisa é estudar a existência de algumas mudanças no DNA (polimorfismos) na população com o autismo e analisar se essas mudanças possuem relações com alguns sinais e sintomas do autismo. Serão estudados genes relacionados a inflamação, ao desenvolvimento e função do cérebro, aparecimento do câncer, resposta a medicamentos e a absorção de nutrientes e vitaminas.

O projeto trata-se de uma pesquisa do tipo caso-controle, onde os participantes são divididos em 2 grupos, o senhor(a) está sendo convidado para constituir o grupo controle, composto por adultos sem histórico de Transtorno do Espectro Autista ou outros transtornos relacionados (TDAH, dislexia, dificuldade de aprendizado, esquizofrenia e etc).

O (a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não aparecerá sendo mantido o mais rigoroso sigilo pela omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

A sua participação se dará somente por meio da coleta da sua saliva. A amostra de saliva coletada será armazenada no Laboratório de Análises Clínicas da UnB, *Campus Ceilândia*, sob responsabilidade da pesquisadora Aline Ribeiro Barros por um período de até cinco anos, e serão utilizadas única e exclusivamente com o objetivo de pesquisa, após o término da pesquisa as amostras serão incineradas. O senhor poderá solicitar o acesso aos resultados das suas análises genéticas.

O risco decorrente de sua participação na pesquisa é de engasgo com a própria saliva no momento da coleta, o procedimento de coleta de saliva será acompanhado por uma profissional de saúde com conhecimento em manobras de desengasgo.

Se você aceitar participar, estará contribuindo para uma pesquisa que busca compreender como as causas genéticas estão envolvidas no TEA e nos seus sinais e sintomas clínicos. O (a) Senhor (a) pode desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor (a). O senhor(a) também poderá solicitar a retirada da sua amostra de saliva do banco de amostras a qualquer momento, sem nenhum prejuízo. A retirada do consentimento de guarda da saliva deverá ser solicitada por escrito e assinada, e será válido a partir da data da comunicação da sua decisão.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo nos testes genéticos. Também não há compensação financeira relacionada a sua participação, que será voluntária. Se existir qualquer despesa adicional relacionada diretamente à pesquisa (tais como, passagem para o local da pesquisa, alimentação no local da pesquisa ou exames para realização da pesquisa) a mesma será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente de sua participação nessa pesquisa, você receberá assistência integral e gratuita, pelo tempo que for necessário, obedecendo os dispositivos legais vigentes no Brasil.



UnB | HUB



Os resultados da pesquisa serão divulgados em eventos e revistas científicas da área da saúde, podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de até cinco anos, após o término da pesquisa serão destruídos. Os pesquisadores se comprometem a divulgar de forma individual os achados genéticos e fornecer o acompanhamento clínico dos achados de forma gratuita, sem ônus.

Este TCLE é composto por 2 páginas numeradas no rodapé, solicita-se por gentileza a rubrica do participante e do pesquisador em todas as páginas deste termo.

Se o (a) Senhor (a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor entrar em contato com a pesquisadora Aline Ribeiro no telefone (61)30831093 ou (61)982637466, disponível inclusive para ligação a cobrar ou no e-mail alineribeior@hotmail.com.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ceilândia (CEP/FCE) da Universidade de Brasília e pelo Conselho Nacional de Ética em Pesquisa. O sistema CEP/CONEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidas pelo telefone (61) 3107-8434 ou do e-mail cep.fce@gmail.com, horário de atendimento das 14h:00 às 18h:00, de segunda a sexta-feira. O CEP/FCE se localiza na Faculdade de Ceilândia, Sala AT07/66 – Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED) – Universidade de Brasília - Centro Metropolitano, conjunto A lote 01, Brasília - DF. CEP: 72220-900, ou no CONEP, que se localiza no SRTV 701, SRTVN, Edifício PO 700 - Brasília, DF - Asa Norte, Brasília - DF, 70723-040.

Aceito participar do projeto intitulado Polimorfismos genéticos Associados ao Transtorno do Espectro Autista através da coleta de saliva.

Autorizo o depósito e armazenamento da minha saliva por um período de até cinco anos (duração da pesquisa) para fins de pesquisa do projeto intitulado Polimorfismos genéticos Associados ao Transtorno do Espectro Autista (as amostras serão incineradas ao fim da pesquisa). A amostra poderá ser utilizada em projetos futuros, sendo que este uso estará sujeito a uma nova aprovação pelo sistema CEP/CONEP, o senhor(a) será avisado caso isso ocorra e esse uso estará condicionado a assinatura de um novo termo de consentimento.

Nome / assinatura

Pesquisador Responsável

Brasília, ____ de _____ de _____.

ANEXO C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PAIS E RESPONSÁVEIS)



UnB | HUB



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Convidamos o(a) senhor(a) e a criança pelo qual é responsável a participar do projeto de pesquisa chamado: Polimorfismos Genéticos Associados ao Transtorno do Espectro Autista, sob a responsabilidade da pesquisadora Aline Ribeiro Barros. O projeto estuda mudanças no DNA em pessoas com autismo através de técnicas de laboratório.

O objetivo desta pesquisa é estudar a existência de algumas mudanças no DNA (polimorfismos) na população com o autismo e analisar se essas mudanças possuem relações com alguns sinais e sintomas do autismo. Serão estudados genes relacionados a inflamação, ao desenvolvimento e função do cérebro, aparecimento do câncer, resposta a medicamentos e a absorção de nutrientes e vitaminas.

Também serão preenchidos um questionário sobre os principais sintomas que a criança apresenta os remédios que ela usa, e as suas condições sociais e econômicas, e aplicada uma Escala de Pontuação de Autismo na Infância, essa escala é utilizada para nos ajudar a determinar o grau de autismo que a criança se encontra no momento. Essas informações serão combinadas com as informações genéticas para que possamos analisar se há alguma associação dessas mudanças genéticas com o grau do autismo e seus sintomas.

O (a) senhor (a) e a criança pelo qual é responsável receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome e o do menor pelo qual é responsável não aparecerá, sendo mantido o mais rigoroso sigilo pela omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo (a).

A participação do senhor(a) será através do preenchimento de um questionário sobre algumas características individuais e socioeconômicas da criança sob sua responsabilidade além do consentimento para utilização de dados do prontuário da criança e aplicação de uma Escala de Pontuação de Autismo na Infância. A participação da criança pelo qual o (a) senhor(a) é responsável será através da coleta de saliva, durante a consulta clínica no HUB.

Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa são desconforto ao responder algumas perguntas do questionário, você pode escolher não responder esse questionário ou responde-lo parcialmente. Os riscos decorrentes a coleta de saliva são engasgo e desconforto, para minimizar esse risco a coleta de saliva será feita na presença de um profissional da saúde que conheça manobras de desengasgo.

Se você aceitar participar, estará contribuindo para uma pesquisa que busca compreender como as causas genéticas estão envolvidas no desenvolvimento do Autismo e nos seus sintomas clínicos.

A amostra de saliva coletada da criança será armazenada no Laboratório de Análises Clínicas da UnB, Campus Ceilândia, sob responsabilidade da pesquisadora Aline Ribeiro Barros e da Prof. Dra. Izabel



UnB | HUB



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Convidamos o(a) senhor(a) e a criança pelo qual é responsável a participar do projeto de pesquisa chamado: Polimorfismos Genéticos Associados ao Transtorno do Espectro Autista, sob a responsabilidade da pesquisadora Aline Ribeiro Barros. O projeto estuda mudanças no DNA em pessoas com autismo através de técnicas de laboratório.

O objetivo desta pesquisa é estudar a existência de algumas mudanças no DNA (polimorfismos) na população com o autismo e analisar se essas mudanças possuem relações com alguns sinais e sintomas do autismo. Serão estudados genes relacionados a inflamação, ao desenvolvimento e função do cérebro, aparecimento do câncer, resposta a medicamentos e a absorção de nutrientes e vitaminas.

Também serão preenchidos um questionário sobre os principais sintomas que a criança apresenta os remédios que ela usa, e as suas condições sociais e econômicas, e aplicada uma Escala de Pontuação de Autismo na Infância, essa escala é utilizada para nos ajudar a determinar o grau de autismo que a criança se encontra no momento. Essas informações serão combinadas com as informações genéticas para que possamos analisar se há alguma associação dessas mudanças genéticas com o grau do autismo e seus sintomas.

O (a) senhor (a) e a criança pelo qual é responsável receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome e o do menor pelo qual é responsável não aparecerá, sendo mantido o mais rigoroso sigilo pela omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo (a).

A participação do senhor(a) será através do preenchimento de um questionário sobre algumas características individuais e socioeconômicas da criança sob sua responsabilidade além do consentimento para utilização de dados do prontuário da criança e aplicação de uma Escala de Pontuação de Autismo na Infância. A participação da criança pelo qual o (a) senhor(a) é responsável será através da coleta de saliva, durante a consulta clínica no HUB.

Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa são desconforto ao responder algumas perguntas do questionário, você pode escolher não responder esse questionário ou responde-lo parcialmente. Os riscos decorrentes a coleta de saliva são engasgo e desconforto, para minimizar esse risco a coleta de saliva será feita na presença de um profissional da saúde que conheça manobras de desengasgo.

Se você aceitar participar, estará contribuindo para uma pesquisa que busca compreender como as causas genéticas estão envolvidas no desenvolvimento do Autismo e nos seus sintomas clínicos.

A amostra de saliva coletada da criança será armazenada no Laboratório de Análises Clínicas da UnB, *Campus Ceilândia*, sob responsabilidade da pesquisadora Aline Ribeiro Barros e da Prof. Dra. Izabel

Página 1 de 3

Assinatura Pesquisador: _____

Assinatura Participante: _____



UnB | HUB



14h:00 às 18h:00, de segunda a sexta-feira. O CEP/FCE se localiza na Faculdade de Ceilândia, Sala AT07/66 – Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED) – Universidade de Brasília - Centro Metropolitano, conjunto A lote 01, Brasília - DF. CEP: 72220-900, ou no CONEP, que se localiza no SRTV 701, SRTVN, Edifício PO 700 - Brasília, DF - Asa Norte, Brasília - DF, 70723-040.

Aceito participar do projeto intitulado Polimorfismos genéticos Associados ao Transtorno do Espectro Autista através do preenchimento de questionário.

Autorizo o acesso ao prontuário da criança sob minha responsabilidade, com objetivo único e exclusivo de coleta de dados clínicos relacionados ao Transtorno do Espectro Autista.

Autorizo a aplicação na criança sob minha responsabilidade da Escala de Pontuação de Autismo na Infância.

Autorizo a coleta de saliva do menor sob minha responsabilidade

Autorizo o depósito e armazenamento da saliva da criança sob minha responsabilidade em biobanco por um período de até cinco anos (duração da pesquisa) para fins de pesquisa do projeto intitulado Polimorfismos genéticos Associados ao Transtorno do Espectro Autista (as amostras serão incineradas ao fim da pesquisa). A amostra poderá ser utilizada em projetos futuros, sendo que este uso estará sujeito a uma nova aprovação pelo sistema CEP/CONEP, o senhor(a) será avisado caso isso ocorra e esse uso estará condicionado a assinatura de um novo termo de consentimento,

Nome / assinatura

Pesquisador Responsável

Brasília, ___ de _____ de _____.

ANEXO D – TERMO DE ASSENTIMENTO (CRIANÇAS DE 3 A 12 ANOS)

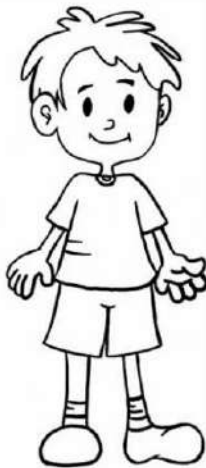


UnB | HUB



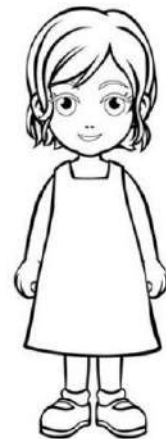
TERMO DE ASSENTIMENTO

LIVRE E ESCLARECIDO

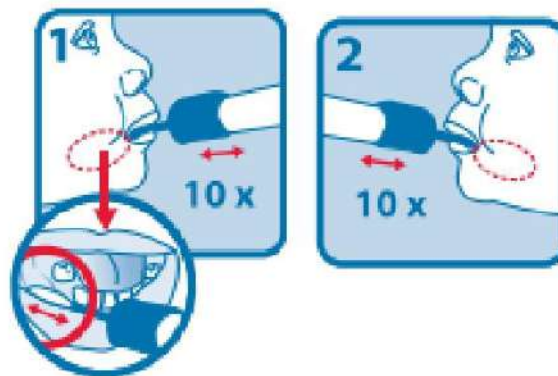


Olá, você está sendo convidado a participar de um trabalho sobre DNA.

O DNA é algo que está dentro de você e é responsável por coisas como a cor do seu cabelo, sua altura etc.



Para participar você terá que passar um cotonete nas bochechas (na parte de dentro) como nas imagens abaixo.



As dúvidas com relação à assinatura do TALE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidas pelo telefone (61) 3107-8434 ou do e-mail cep.fce@gmail.com, horário de atendimento das 14h:00 as 18h:00, de segunda a sexta-feira. O CEP/FCE se localiza na Faculdade de Ceilândia, Sala AT07/66 – Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED) – Universidade de Brasília - Centro Metropolitano, conjunto A lote 01, Brasília - DF. CEP: 72220-900 ou no CONEP, que se localiza no SRTV 701, SRTVN, Edifício PO 700 - Brasília, DF - Asa Norte, Brasília - DF, 70723-040.



UnB | HUB

EBSERH
 HOSPITAIS UNIVERSITÁRIOS FEDERAIS

Nós já falamos com seus pais/responsáveis, e eles já deixaram você participar, mas você não precisa cuspir no copo se não quiser.

Marque um X no círculo de acordo com o que você decidiu,

SIM, QUERO PARTICIPAR DA PESQUISA.

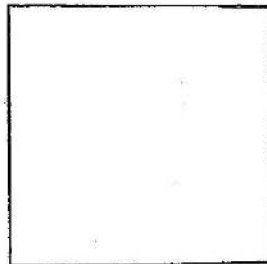


NÃO QUERO PARTICIPAR DA PESQUISA.



Meu nome é:

Minha assinatura, ou digital (polegar direito):



Assinatura do pesquisador: _____

As dúvidas com relação à assinatura do TALE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidas pelo telefone (61) 3107-8434 ou do e-mail cep.fce@gmail.com, horário de atendimento das 14h:00 às 18h:00, de segunda a sexta-feira. O CEP/FCE se localiza na Faculdade de Ceilândia, Sala AT07/66 – Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED) – Universidade de Brasília – Centro Metropolitano, conjunto A lote 01, Brasília – DF. CEP: 72220-900 ou no CONEP, que se localiza no SRTV 701, SRTVN, Edifício PO 700 – Brasília, DF – Asa Norte, Brasília – DF, 70723-040.



Data: / / , Brasília -DF

As dúvidas com relação à assinatura do TALE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidas pelo telefone (61) 3107-8434 ou do e-mail cep.fce@gmail.com, horário de atendimento das 14h:00 às 18h:00, de segunda a sexta-feira. O CEP/FCE se localiza na Faculdade de Ceilândia, Sala AT07/66 – Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED) – Universidade de Brasília - Centro Metropolitano, conjunto A lote 01, Brasília - DF. CEP: 72220-900 ou no CONEP, que se localiza no SRTV 701, SRTVN, Edifício PO 700 - Brasília, DF - Asa Norte, Brasília - DF, 70723-040.

ANEXO E – TERMO DE ASSENTIMENTO (CRIANÇAS DE 12 A 18 ANOS)



UnB | HUB



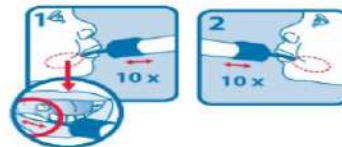
TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Olá, você está sendo convidado para participar da pesquisa " Polimorfismos Genéticos Associados ao Transtorno do Espectro Autista". As pessoas responsáveis por você já permitiram que você participasse dessa pesquisa, mas ainda precisamos saber se você também deseja participar.

As crianças que irão participar dessa pesquisa têm entre 3 e 18 anos, todas elas possuem Autismo (TEA). O TEA é uma palavra usada pelos adultos para identificar pessoas que possuem algumas características em comum.

Nós queremos, com essa pesquisa tentar entender se algumas mudanças no seu DNA explicam alguns sintomas do TEA. O DNA é algo que está dentro de você e é responsável por definir algumas características, como a cor do seu cabelo, sua altura e etc.

Para participar da pesquisa você só precisará passar um cotonete no interior das bochechas como nas imagens abaixo.



Ninguém irá saber que você está participando dessa pesquisa, nós não falaremos com outras pessoas, nem daremos para estranhos as informações que você nos der. Se você tiver alguma dúvida pode perguntar para mim ou para a pesquisadora Aline Ribeiro Barros, eu escrevi os telefones na página anterior.

Marque um X no círculo de acordo com o que você decidiu, se lembre que mesmo que você marque SIM, você poderá desistir e dizer NÃO a qualquer momento, sem que ninguém ficar chateado ou bravo com isso.

- SIM, ACEITO PARTICIPAR DA PESQUISA.
- NÃO ACEITO PARTICIPAR DA PESQUISA.

Minha Assinatura

Assinatura do pesquisador Data: / / , Brasília -DF

ANEXO F – QUESTIONÁRIO DE DADOS QUALITATIVOS



UnB | HUB



Questionário dos dados Qualitativos

Observação: Questionário elaborado pelos próprios autores.

A) IDENTIFICAÇÃO DA CRIANÇA

1. Número de identificação da criança: _____

2. Data da entrevista: _____

3. Pessoa que respondeu a entrevista: Mãe () pai () outro ()

4. Diagnóstico principal da criança: _____

5. Data de nascimento: _____

6. Possui Irmão (a) (os/as) (especificar idade)? _____

7. Alguns dos irmão também é autista ou possui algum transtorno? _____

8. Sexo: Feminino () Masculino ()

9. Outros diagnósticos ou condições associadas: _____

10. Possui algumas condições listadas abaixo?

() Epilepsia

() Déficit de atenção

() Hiperatividade

() Dificuldade de aprendizagem

() Paralisia Cerebral

() Deficiência Auditiva

() Deficiência Visual

() Transtorno alimentar; Especificar:

() Intolerância a lactose

() Problemas cardíacos

() Problemas relacionados ao sono

() Alergia (s): () ovos () leite () peixe () amendoim () glúten () frutas () outros:

() Problemas pulmonares

() Distúrbio endócrino

() Distúrbio metabólico

() Refluxo gastroesofágico

() Constipação

() Diarréia

() Impactação fecal

() Asma

() Transtorno do processamento sensorial (TPS)

() Apraxia de fala

() Distúrbio do processamento auditivo central (DPAC)

() Dificuldades na fala

() Hiperlexia

() Estereotipias

() Outros especificar:

Outros:

B) Medicamentos:

1) A criança faz uso de alguma medicação? () Sim (Preencher Sessão B.1) () Não

B.1) Questionário Farmacoterápico



UnB | HUB



Questionário dos dados Qualitativos

Observação: Questionário elaborado pelos próprios autores.

A) IDENTIFICAÇÃO DA CRIANÇA

1. Número de identificação da criança: _____

2. Data da entrevista: _____

3. Pessoa que respondeu a entrevista: Mãe () pai () outro ()

4. Diagnóstico principal da criança: _____

5. Data de nascimento: _____

6. Possui irmão (a) (os/as) (especificar idade)? _____

7. Alguns dos irmão também é autista ou possui algum transtorno? _____

8. Sexo: Feminino () Masculino ()

9. Outros diagnósticos ou condições associadas: _____

10. Possui algumas condições listadas abaixo?

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Epilepsia | <input type="checkbox"/> Déficit de atenção |
| <input type="checkbox"/> Hiperatividade | <input type="checkbox"/> Dificuldade de aprendizagem |
| <input type="checkbox"/> Paralisia Cerebral | <input type="checkbox"/> Deficiência Auditiva |
| <input type="checkbox"/> Deficiência Visual | <input type="checkbox"/> Transtorno alimentar; Especificar: |
| <input type="checkbox"/> Intolerância a lactose | <input type="checkbox"/> Problemas cardíacos |
| <input type="checkbox"/> Problemas relacionados ao sono | |
| <input type="checkbox"/> Alergia (s): () ovos () leite () peixe () amendoim () glúten () frutas () outros: | |
| <input type="checkbox"/> Problemas pulmonares | <input type="checkbox"/> Distúrbio endócrino |
| <input type="checkbox"/> Distúrbio metabólico | <input type="checkbox"/> Refluxo gastroesofágico |
| <input type="checkbox"/> Constipação | <input type="checkbox"/> Diarréia |
| <input type="checkbox"/> Impactação fecal | <input type="checkbox"/> Asma |
| <input type="checkbox"/> Transtorno do processamento sensorial (TPS) | |
| <input type="checkbox"/> Apraxia de fala | <input type="checkbox"/> Distúrbio do processamento auditivo central (DPAC) |
| <input type="checkbox"/> Dificuldades na fala | <input type="checkbox"/> Hiperlexia |
| <input type="checkbox"/> Estereotípias | |
| <input type="checkbox"/> Outros especificar: | |

Outros:

B) Medicções:

1) A criança faz uso de alguma medicação? () Sim (Preencher Sessão B.1) () Não

B.1) Questionário Farmacoterápico



UnB | HUB



QUAIS DESSES SINTOMAS ABAIXO A CRIANÇA APRESENTOU, NOS ÚLTIMOS MESES? Não Sim

- | | | |
|--|--|---|
| <input type="checkbox"/> Dor de cabeça | <input type="checkbox"/> Tontura / Desequilíbrio | <input type="checkbox"/> Dor muscular |
| <input type="checkbox"/> Coceira / Urticária | <input type="checkbox"/> Incontinência / Problema urinário | <input type="checkbox"/> Fadiga / Cansaço |
| <input type="checkbox"/> Problemas de sono | <input type="checkbox"/> Problema sexual | <input type="checkbox"/> Mudança no humor |
| <input type="checkbox"/> Problema gastrointestinal | | |

C) ESTRATÉGIAS UTILIZADAS PARA RESOLVER AS DIFICULDADES ENCONTRADAS.

- 1) Atividade Física: _____
 Frequência Semanal: () 1x () 2x () 3x outro: _____
- 2) Fonoaudiólogo (especificar metodologia se possível): _____
 Frequência Semanal: () 1x () 2x () 3x outro: _____
- 3) Psicoterapia (especificar metodologia se possível): _____
 Frequência Semanal: () 1x () 2x () 3x outro: _____
- 4) Terapia Ocupacional (especificar se possível): _____
 Frequência Semanal: () 1x () 2x () 3x outro: _____
- 5) Outra (Musicoterapia, Equoterapia, Aromaterapia, Homeopatia, Atividades Religiosas, Sabedoria popular e etc...): _____
 Frequência Semanal: () 1x () 2x () 3x outro: _____

E) Avaliação Socioeconômica

- 1-Quantas pessoas moram com a criança?
 Uma a três Quatro a sete Oito a dez Mais de dez
- 2- A casa onde criança mora é?
 Própria Alugada Cedida
- 3- A casa onde a criança mora está localizada em?
 Zona rural Zona urbana Comunidade indígena. Comunidade quilombola.
4. Qual é o nível de escolaridade do principal mantenedor?
 Da 1ª à 4ª série do Ensino Fundamental (antigo primário)
 Da 5ª à 8ª série do Ensino Fundamental (antigo ginásio)



UnB | HUB

EBSERH
HOSPITAIS UNIVERSITÁRIOS FEDERAIS

Ensino Médio (antigo 2º grau)

Ensino Superior

Pós Graduação

Não teve acesso à educação formal

5. Qual a profissão do principal mantenedor: _____

6. Qual é aproximadamente, a renda familiar mensal das pessoas que moram com a criança?

Nenhuma renda.

Até 1 salário mínimo (até R\$ 678,00).

De 1 a 3 salários mínimos (de R\$ 678,01 até R\$ 2.034,00).

De 3 a 6 salários mínimos (de R\$ 2.034,01 até R\$ 4.068,00).

De 6 a 9 salários mínimos (de R\$ 4.068,01 até R\$ 6.102,00).

De 9 a 12 salários mínimos (de R\$ 6.102,01 até R\$ 8.136,00).

De 12 a 15 salários mínimos (de R\$ 8.136,01 até R\$ 10.170,00).

Mais de 15 salários mínimos (mais de R\$ 10.170,01)

ANEXO G – ESCALA CARS



UnB | HUB



CARS-Childhood Autism Rating Scale VERSÃO EM PORTUGUÊS

Traduzido e validado pela Dra. Alessandra Marques Pereira.

Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/12936/000634977.pdf>

Este instrumento será aplicado por profissionais da saúde as crianças participantes do estudo, o objetivo é estimar o grau do autismo que a criança se encontra no momento.

QUESTIONÁRIO DO AVALIADOR

I. RELAÇÕES PESSOAIS	
1	Nenhuma evidência de dificuldade ou anormalidade nas relações pessoais: O comportamento da criança é adequado à sua idade. Alguma timidez, nervosismo ou aborrecimento podem ser observados quando é dito à criança o que fazer, mas não em grau atípico.
1.5	
2	Relações levemente anormais: A criança pode evitar olhar o adulto nos olhos, evitar o adulto ou ter uma reação exagerada se a interação é forçada, ser excessivamente tímido, não responder ao adulto como esperado ou agarrar-se ao pai um pouco mais que a maioria das crianças da mesma idade
2.5	
3	Relações moderadamente anormais: Às vezes, a criança demonstra indiferença (parece ignorar o adulto). Outras vezes, tentativas persistentes e vigorosas são necessárias para se conseguir a atenção da criança. O contato iniciado pela criança é mínimo.
3.5	
4	Relações gravemente anormais: A criança está constantemente indiferente ou inconsciente ao que o adulto está fazendo. Ela quase nunca responde ou inicia contato com o adulto. Somente a tentativa mais persistente para atrair a atenção tem algum efeito.
	Observações:
II. IMITAÇÃO	
1	Imitação adequada: A criança pode imitar sons, palavras e movimentos, os quais são adequados para o seu nível de habilidade.
1.5	
2	Imitação levemente anormal: Na maior parte do tempo, a criança imita comportamentos simples como bater palmas ou sons verbais isolados; ocasionalmente imita somente após estimulação ou com atraso.
2.5	
3	Imitação moderadamente anormal: A criança imita apenas parte do tempo e requer uma grande dose de persistência ou ajuda do adulto; frequentemente imita apenas após um tempo (com atraso).
3.5	
4	Imitação gravemente anormal: A criança raramente ou nunca imita sons, palavras ou movimentos mesmo com estímulo e assistência.
	Observações:



III. RESPOSTA EMOCIONAL	
1	Resposta emocional adequada à situação e à idade: A criança demonstra tipo e grau adequados de resposta emocional, indicada por uma mudança na expressão facial, postura e conduta.
1.5	
2	Resposta emocional levemente anormal: A criança ocasionalmente apresenta um tipo ou grau inadequados de resposta emocional. As vezes, suas reações não estão relacionadas a objetos ou a eventos ao seu redor.
2.5	
3	Resposta emocional moderadamente anormal: A criança demonstra sinais claros de resposta emocional inadequada (tipo ou grau). As reações podem ser bastante inibidas ou excessivas e sem relação com a situação; pode fazer caretas, rir ou tornar-se rígida até mesmo quando não estejam presentes objetos ou eventos produtores de emoção.
3.5	
4	Resposta emocional gravemente anormal: As respostas são raramente adequadas a situação. Uma vez que a criança atinja um determinado humor, é muito difícil alterá-lo. Por outro lado, a criança pode demonstrar emoções diferentes quando nada mudou.
	Observações:
IV. USO CORPORAL	
1	Uso corporal adequado à idade: A criança move-se com a mesma facilidade, agilidade e coordenação de uma criança normal da mesma idade.
1.5	
2	Uso corporal levemente anormal: Algumas peculiaridades podem estar presentes, tais como falta de jeito, movimentos repetitivos, pouca coordenação ou a presença rara de movimentos incomuns
2.5	
3	Uso corporal moderadamente anormal: Comportamentos que são claramente estranhos ou incomuns para uma criança desta idade podem incluir movimentos estranhos com os dedos, postura peculiar dos dedos ou corpo, olhar fixo, beliscar o corpo, auto-agressão, balanceio, girar ou caminhar nas pontas dos pés.
3.5	
4	Uso corporal gravemente anormal: Movimentos intensos ou freqüentes do tipo listado acima são sinais de uso corporal gravemente anormal. Estes comportamentos podem persistir apesar das tentativas de desencorajar as crianças a fazê-los ou de envolver a criança em outras atividades.
	Observações:
V. USO DE OBJETOS	
1	Uso e interesse adequados por brinquedos e outros objetos: A criança demonstra interesse normal por brinquedos e outros objetos adequados para o seu nível de habilidade e os utiliza de maneira adequada.
1.5	
2	Uso e interesse levemente inadequados por brinquedos e outros objetos: A criança pode demonstrar um interesse atípico por um brinquedo ou brincar com ele de forma inadequada, de um modo pueril (exemplo: batendo ou sugando o brinquedo)
2.5	
3	Uso e interesse moderadamente inadequados por brinquedos e outros objetos: A criança pode demonstrar pouco interesse por brinquedos ou outros objetos, ou pode estar preocupada em usá-los de maneira estranha. Ela pode concentrar-se em alguma parte insignificante do



3.5	brinquedo, tornar-se fascinada com a luz que reflete do mesmo, repetitivamente mover alguma parte do objeto ou exclusivamente brincar com ele.
4	<p>Uso e interesse gravemente inadequados por brinquedos e outros objetos: A criança pode engajar-se nos mesmos comportamentos citados acima, porém com maior frequência e intensidade. É difícil distrair a criança quando ela está engajada nestas atividades inadequadas.</p> <p>Observações:</p>
VI. RESPOSTA A MUDANÇAS	
1	Respostas à mudança adequadas à idade: Embora a criança possa perceber ou comentar as mudanças na rotina, ela é capaz de aceitar estas mudanças sem angústia excessiva.
1.5	
2	Respostas à mudança adequadas à idade levemente anormal: Quando um adulto tenta mudar tarefas, a criança pode continuar na mesma atividade ou usar os mesmos materiais.
2.5	
3	Respostas à mudança adequadas à idade moderadamente anormal: A criança resiste ativamente a mudanças na rotina, tenta continuar sua antiga atividade e é difícil de distraí-la. Ela pode tornar-se infeliz e zangada quando uma rotina estabelecida é alterada.
3.5	
4	<p>Respostas à mudança adequadas à idade gravemente anormal: A criança demonstra reações graves às mudanças. Se uma mudança é forçada, ela pode tornar-se extremamente zangada ou não disposta a ajudar e responder com acessos de raiva.</p> <p>Observações:</p>
VII. RESPOSTA VISUAL	
1	Resposta visual adequada: O comportamento visual da criança é normal e adequado para sua idade. A visão é utilizada em conjunto com outros sentidos como forma de explorar um objeto novo.
1.5	
2	Resposta visual levemente anormal: A criança precisa, ocasionalmente, ser lembrada de olhar para os objetos. A criança pode estar mais interessada em olhar espelhos ou luzes do que o fazem seus pares, pode ocasionalmente olhar fixamente para o espaço, ou pode evitar olhar as pessoas nos olhos.
2.5	
3	Resposta visual moderadamente anormal: A criança deve ser lembrada freqüentemente de olhar para o que está fazendo, ela pode olhar fixamente para o espaço, evitar olhar as pessoas nos olhos, olhar objetos de um ângulo incomum ou segurar os objetos muito próximos aos olhos.
3.5	
4	<p>Resposta visual gravemente anormal: A criança evita constantemente olhar para as pessoas ou para certos objetos e pode demonstrar formas extremas de outras peculiaridades visuais descritas acima.</p> <p>Observações:</p>



VIII. RESPOSTA AUDITIVA	
1	Respostas auditivas adequadas para a idade: O comportamento auditivo da criança é normal e adequado para idade. A audição é utilizada junto com outros sentidos.
1.5	
2	Respostas auditivas levemente anormal: Pode haver ausência de resposta ou uma resposta levemente exagerada a certos sons. Respostas a sons podem ser atrasadas e os sons podem necessitar de repetição para prender a atenção da criança. A criança pode ser distraída por sons externos.
2.5	
3	Respostas auditivas moderadamente anormal: As repostas da criança aos sons variam. Frequentemente ignora o som nas primeiros vezes em que é feito. Pode assustar-se ou cobrir as orelhas ao ouvir alguns sons do cotidiano.
3.5	
4	Respostas auditivas gravemente anormal: A criança reage exageradamente e/ou ou despreza sons num grau extremamente significativo, independente do tipo de som.
	Observações:
IX. RESPOSTA E USO DO PALADAR, OLFATO E TATO	
1	Uso e resposta normais do paladar, olfato e tato: A criança explora novos objetos de um modo adequado a sua idade, geralmente sentindo ou olhando. Paladar ou olfato podem ser usados quando adequados. Ao reagir a pequenas dores do dia-a-dia, a criança expressa desconforto mas não reage exageradamente.
1.5	
2	Uso e resposta levemente anormais do paladar, olfato e tato: A criança pode persistir em colocar objetos na boca; pode cheirar ou provar/experimentar objetos não comestíveis. Pode ignorar ou ter reação levemente exagerada à uma dor mínima, para a qual uma criança normal expressaria somente desconforto.
2.5	
3	Uso e resposta moderadamente anormais do paladar, olfato e tato: A criança pode estar moderadamente preocupada em tocar, cheirar ou provar objetos ou pessoas. A criança pode reagir demais ou muito pouco.
3.5	
4	Uso e resposta gravemente anormais do paladar, olfato e tato: A criança está preocupada em cheirar, provar e sentir objetos, mais pela sensação do que pela exploração ou uso normal dos objetos. A criança pode ignorar completamente a dor ou reagir muito fortemente a desconfortos leves.
	Observações:
X. MEDO OU NERVOSISMO	
1	Medo ou nervosismo normais: O comportamento da criança é adequado tanto à situação quanto à idade
1.5	
2	Medo ou nervosismo levemente anormais: A criança ocasionalmente demonstra muito ou pouco medo ou nervosismo quando comparada às reações de uma criança normal da mesma idade e em situação semelhante.
2.5	



3	Medo ou nervosismo moderadamente anormais: A criança demonstra bastante mais ou bastante menos medo do que seria típico para uma criança mais nova ou mais velha em uma situação similar.
3.5	
4	Medo ou nervosismo gravemente anormais: Medos persistem mesmo após experiências repetidas com eventos ou objetos inofensivos. É extremamente difícil acalmar ou confortar a criança. A criança pode, por outro lado, falhar em demonstrar consideração adequada aos riscos que outras crianças da mesma idade evitam.
	Observações:
	XI. COMUNICAÇÃO VERBAL
1	Comunicação verbal normal, adequada a idade e à situação.
1.5	
2	Comunicação verbal levemente anormal: A fala demonstra um atraso global. A maior parte do discurso tem significado; porém, alguma ecolalia ou inversão pronominal podem ocorrer. Algumas palavras peculiares ou jargões podem ser usados ocasionalmente.
2.5	
3	Comunicação verbal moderadamente anormal: A fala pode estar ausente. Quando presente, a comunicação verbal pode ser uma mistura de alguma fala significativa e alguma linguagem peculiar, tais como jargão, ecolalia ou inversão pronominal. As peculiaridades na fala significativa podem incluir questionamentos excessivos ou preocupação com algum tópico em particular.
3.5	
4	Comunicação verbal gravemente anormal: Fala significativa não é utilizada. A criança pode emitir gritos estridentes e infantis, sons animais ou bizarros, barulhos complexos semelhantes à fala, ou pode apresentar o uso bizarro e persistente de algumas palavras reconhecíveis ou frases.
	Observações:
	XII. COMUNICAÇÃO NÃO-VERBAL
1	Uso normal da comunicação não-verbal adequado à idade e situação
1.5	
2	Uso da comunicação não-verbal levemente anormal: Uso imaturo da comunicação não-verbal; a criança pode somente apontar vagamente ou esticar-se para alcançar o que quer, nas mesmas situações nas quais uma criança da mesma idade pode apontar ou gesticular mais especificamente para indicar o que deseja.
2.5	
3	Uso da comunicação não-verbal moderadamente anormal: A criança geralmente é incapaz de expressar suas necessidades ou desejos de forma não verbal, e não consegue compreender a comunicação não-verbal dos outros.
3.5	
4	Uso da comunicação não-verbal gravemente anormal: A criança utiliza somente gestos bizarros ou peculiares, sem significado aparente, e não demonstra nenhum conhecimento do significados associados aos gestos ou expressões faciais dos outros.
	Observações:



XIII. NÍVEL DE ATIVIDADE

- | | |
|----------|---|
| 1 | Nível de atividade normal para idade e circunstâncias: A criança não é nem mais nem menos ativa que uma criança normal da mesma idade em uma situação semelhante. |
| 1.5 | |
| 2 | Nível de atividade levemente anormal: A criança pode tanto ser um pouco irrequieta quanto um pouco –preguiçosa, apresentando, algumas vezes, movimentos lentos. O nível de atividade da criança interfere apenas levemente no seu desempenho. |
| 2.5 | |
| 3 | Nível de atividade moderadamente anormal: A criança pode ser bastante ativa e difícil de conter. Ela pode ter uma energia ilimitada ou pode não ir prontamente para a cama à noite. Por outro lado, a criança pode ser bastante letárgica e necessitar de um grande estímulo para mover-se. |
| 3.5 | |
| 4 | Nível de atividade gravemente anormal: A criança exibe extremos de atividade ou inatividade e pode até mesmo mudar de um extremo ao outro. |

Observações:

XIV. NÍVEL E CONSISTÊNCIA DA RESPOSTA INTELLECTUAL

- | | |
|----------|--|
| 1 | A inteligência é normal e razoavelmente consistente em várias áreas: A criança é tão inteligente quanto crianças típicas da mesma idade e não tem qualquer habilidade intelectual ou problemas incomuns. |
| 1.5 | |
| 2 | Funcionamento intelectual levemente anormal: A criança não é tão inteligente quanto crianças típicas da mesma idade; as habilidades apresentam-se razoavelmente regulares através de todas as áreas. |
| 2.5 | |
| 3 | Funcionamento intelectual moderadamente anormal: Em geral, a criança não é tão inteligente quanto uma típica criança da mesma idade, porém, a criança pode funcionar próximo do normal em uma ou mais áreas intelectuais. |
| 3.5 | |
| 4 | Funcionamento intelectual gravemente anormal: Embora a criança geralmente não seja tão inteligente quanto uma criança típica da mesma idade, ela pode funcionar até mesmo melhor que uma criança normal da mesma idade em uma ou mais áreas. |

Observações:



UnB | HUB



XV. IMPRESSÕES GERAIS	
1	Sem autismo: a criança não apresenta nenhum dos sintomas característicos do autismo.
1.5	
2	Autismo leve: A criança apresenta somente um pequeno número de sintomas ou somente um grau leve de autismo.
2.5	
3	Autismo moderado: A criança apresenta muitos sintomas ou um grau moderado de autismo.
3.5	
4	Autismo grave: a criança apresenta inúmeros sintomas ou um grau extremo de autismo
Observações:	

Escore por categoria

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	Total

Resultado:

15-30: sem autismo

30-36: autismo leve-moderado

36-60 : autismo grave



UnB | HUB



FICHA DO PACIENTE

Data: ___ / ___ / ___

Nº do prontuário HUB:

Nº de identificação:

Telefone para contato:

ANEXO H – INSTRUÇÃO DE USO SWAB ORAGENE



Precauções durante a coleta:

Certifique-se de que a ponta da esponja NÃO entre em contato com qualquer superfície antes da coleta.

O doador NÃO deve comer, beber, fumar ou mastigar chiclete por 30 minutos antes de coletar a amostra oral.

Aplicação: Este produto foi projetado para a coleta e estabilização de amostras orais de DNA humano.

Conteúdo: Contém 1 dispositivo de coleta. O kit contém 1 mL de líquido estabilizante.

Avisos e precauções: Perigo de asfixia. Cuidado ao inserir a esponja na boca do doador.

Lave com água caso o líquido entre em contato com os olhos ou a pele. Não ingerir. Veja MSDS em www.dnagenotek.com.

Armazenamento: 15°C/25°C

Prazo de estocagem antes da coleta: 24 meses

Estabilidade da amostra após a coleta: 60 dias

Resumo e explicação do kit:

O ORACollect-DNA é um kit de autocoleta que proporciona os materiais e as instruções para a coleta de amostras orais humanas.

Legenda de embalagem:

	Número de catálogo
	Dispositivo médico de diagnóstico in-vitro
	Marcação CE
	Fabricante
	Representante autorizado
	Instruções de armazenamento
	Coletar a amostra até (usar até)
	Número de lote



Para uso de diagnóstico in-vitro

DNA genotek



DNA Genotek Inc.
3000 - 500 Palladium Drive
Ottawa ON, Canada K2V 1K2

*Amostras superiores
Desempenho comprovado*

Tel: +1.613.723.5757
Fax: +1.613.723.5057
info@dnagenotek.com
www.dnagenotek.com

Instruções para coleta de amostras:

<p>1</p> <p>10x</p>	<p>Abra a embalagem e remova o coletor sem tocar na ponta da esponja. Coloque a esponja o mais fundo possível na boca e esfregue ao longo da parte inferior da gengiva (veja a figura) em um movimento para frente e para trás. Esfregue a gengiva suavemente por 10 minutos. Se possível, evite esfregar os dentes.</p>
<p>2</p> <p>10x</p>	<p>Repita esse movimento suavemente no lado oposto da boca ao longo da parte inferior da gengiva por mais 10 vezes.</p>
<p>3</p>	<p>Segure o tubo na vertical para evitar que o líquido dentro do tubo derrame. Desencaixe a tampa azul do tubo coletor sem tocar na esponja.</p>
<p>4</p>	<p>Vire a tampa de cabeça para baixo, insira a esponja dentro do tubo e feche a tampa firmemente.</p>
<p>5</p> <p>15x</p>	<p>Inverta o tubo tampado e agite fortemente 15 vezes.</p>

Emrego Europe, Pijnsteeggracht 20, 2514 AP The Hague, The Netherlands

ANMSA Registro MS: 80117580124
Endereço: Avenida Francisco Matrazzo, 1.732, salas 502/503,
Água Branca, São Paulo, SP - CEP: 05001-200/CNPJ: 04.967.406/0001-88
Responsável Técnico: Luiz Levy Cruz Martins - CRF-SP-42415

ORACollect-DNA não está à venda nos Estados Unidos.
*ORACollect é uma marca comercial registrada da DNA Genotek Inc.
É possível que alguns produtos da DNA Genotek não estejam disponíveis em todas as regiões geográficas.
Para obter detalhes, entre em contato com o seu representante de vendas.
Todos os protocolos, artigos científicos e notas de aplicação da DNA Genotek estão disponíveis na seção de suporte em nosso site www.dnagenotek.com.

Patente (www.dnagenotek.com/legal/notices)
© 2019 DNA Genotek Inc., uma subsidiária da Orasure Technologies, Inc., todos os direitos reservados.
PD-PR-00396 (BZ - Portuguese) Issue 5/2019-10

ANEXO I – INSTRUÇÃO DE USO DO REAGENTE PREPIPT

prepiT[®]-L2P

Laboratory protocol for manual purification of DNA from 0.5 mL of sample

Ethanol precipitation protocol and prepiT[®]-L2P reagent for the purification of genomic DNA from Oragene[®] products and ORAcollect[®] formats OC-175, OCD-100 and OCR-100. Not for use with OCD-100A.

Visit our website at www.dnagenotek.com for any additional languages and protocols.

The following step-by-step protocol describes how to purify DNA from a 500 µL aliquot of sample.

Reagents included

- prepiT[®]-L2P (catalog #: PT-L2P)

Equipment and reagents

- Microcentrifuge capable of running at 15,000 × g
- 1.5 mL microtubes (e.g., Axygen #MCT-150-C)
- Air or water incubator at 50°C
- Ethanol (95% to 100%) at room temperature
- Ethanol (70%) at room temperature
- DNA storage buffer: TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) or similar solution

Procedure

Purification steps	Notes
1. Mix the sample in the DNA Genotek kit by inversion and gentle shaking for a few seconds.	<ul style="list-style-type: none"> • This is to ensure that viscous samples are properly mixed.
2. Incubate the sample at 50°C in a water incubator for a minimum of 1 hour or in an air incubator for a minimum of 2 hours. Note: The use of an air incubator may be preferable since the sample tubes may float in a water bath. If a water bath must be used, ensure the sample-containing portion of the tube remains immersed in water.	<ul style="list-style-type: none"> • This heat-treatment step is essential to ensure that DNA is adequately released and that nucleases are permanently inactivated. • This incubation step may be performed at any time after sample is collected and before it is purified. • The entire sample must be incubated in the original collection tube before aliquoting to ensure sample homogeneity. • The sample may be incubated at 50°C overnight if it is more convenient. • A longer time is required in an air incubator because temperature equilibration is slower than in a water incubator.
3. Transfer 500 µL of the mixed sample to a 1.5 mL microcentrifuge tube.	<ul style="list-style-type: none"> • The remainder of the sample can be stored at room temperature or frozen (-15°C to -20°C).
4. For 500 µL of sample, add 20 µL (1/25th volume) of PT-L2P to the microcentrifuge tube and mix by vortexing for a few seconds.	<ul style="list-style-type: none"> • The sample will become turbid as impurities and inhibitors are precipitated.



PD-FR-006 Issue 12/2018-10
© 2018 DNA Genotek Inc., a subsidiary of OraSure Technologies, Inc., all rights reserved.

DNAGENOTEK

www.dnagenotek.com • support@dnagenotek.com

Purification steps	Notes
5. Incubate on ice for 10 minutes.	<ul style="list-style-type: none"> Room temperature incubation can be substituted but will be slightly less effective in removing impurities.
6. Centrifuge at room temperature for 5 minutes at 15,000 × g.	<ul style="list-style-type: none"> A longer period of centrifugation (up to 15 minutes) may be beneficial in reducing the turbidity (high A₃₂₀) of the final DNA solution.
7. Carefully transfer the clear supernatant with a pipette tip into a fresh microcentrifuge tube. Discard the pellet containing impurities.	<ul style="list-style-type: none"> The pellet contains turbid impurities. If accidentally disturbed, the tube should be re-centrifuged.
8. To 500 µL of supernatant, add 600 µL of room temperature 95% to 100% ethanol. Mix gently by inversion 10 times.	<ul style="list-style-type: none"> During mixing with ethanol, the DNA will be precipitated. This may appear as a clot of DNA fibers or as a fine precipitate, depending upon the amount of DNA in the sample. Even if no clot is seen, DNA will be recovered by carefully following the next steps.
9. Allow the sample to stand at room temperature for 10 minutes to allow the DNA to fully precipitate.	<ul style="list-style-type: none"> Incubation at -20°C is not recommended because impurities may co-precipitate with the DNA.
10. Place the tube in the microcentrifuge in a known orientation. Centrifuge at room temperature for 2 minutes at 15,000 × g.	<ul style="list-style-type: none"> For example, place each tube in the microcentrifuge with the hinge portion of the cap pointing away from the centre of the rotor. After centrifugation, the position of the pellet can be located (even if too tiny to be easily visible), it will be at the tip of the tube below the hinge.
11. Carefully remove the supernatant with a pipette tip and discard it. Take care to avoid disturbing the DNA pellet.	<ul style="list-style-type: none"> This pellet contains DNA. Loss of the pellet will result in loss of the DNA. Rotating the tube such that the pellet is on the upper wall will allow you to safely move a pipette tip along the lower wall and remove all of the supernatant. The supernatant may contain impurities and should be removed as completely as possible. Excessive drying of the pellet can make the DNA more difficult to dissolve.
12. Ethanol wash: Carefully add 250 µL of 70% ethanol. Let stand at room temperature for 1 minute. Completely remove the ethanol without disturbing the pellet.	<ul style="list-style-type: none"> It is important to remove all ethanol from the sample. Carryover of ethanol may impact the performance of the assay. Take care not to disturb the DNA pellet. The DNA pellet may be small. Should the pellet detach, centrifuge the sample for 5 minutes at 15,000 × g. After removing the 70% ethanol the tube can be pulse-spun to allow removal of residual ethanol.

Purification steps	Notes
13. Add 100 μ L of TE solution (see Page 1) to dissolve the DNA pellet. Vortex for at least 5 seconds.	<ul style="list-style-type: none"> If a higher concentration of DNA is desired, 50 μL of TE should be used. Note: large amounts of high molecular weight DNA can be slow to hydrate (dissolve) completely. Incomplete hydration of the DNA is a cause of inaccuracy in estimating DNA concentration and of failure of downstream applications such as PCR.
14. To ensure complete rehydration of the DNA (pellet and smear) incubate at room temperature overnight followed by vortexing or at 50°C for 1 hour with occasional vortexing.	<ul style="list-style-type: none"> Incomplete rehydration of the DNA is a cause of inaccuracy in estimating DNA concentration and potential failure of downstream applications such as PCR.
15. Options for storage of the fully rehydrated DNA: <ol style="list-style-type: none"> Recommended in TE, in aliquots at -20°C for long-term storage, or In TE at 4°C for up to 2 months. 	<ul style="list-style-type: none"> Freezing of purified DNA in TE will cause DNA to precipitate. When thawing a sample of frozen purified DNA, pay careful attention to rehydration, as discussed in step 14.

Quantification of DNA

By fluorescence method

Assays that use fluorescent dyes are more specific than absorbance at 260 nm for quantifying the amount of double-stranded DNA (dsDNA) in a DNA sample. We recommend using fluorescent dyes such as PicoGreen[®] or SYBR[®] Green I to quantify dsDNA since there is less interference by contaminating RNA. An inexpensive protocol using SYBR Green I is described in PD-PR-075, *DNA quantification using SYBR Green I Dye and a micro-plate reader*¹. Alternatively, commercially available kits such as Invitrogen's Quant-iT[™] PicoGreen dsDNA Assay Kit (Cat. No. Q-33130) can be used. For either protocol, we recommend that the purified DNA be diluted 1:50 with TE solution and that 5 μ L be used in the quantification assay.

By absorbance method

If you choose to quantify DNA by absorbance, we recommend that you first treat the purified sample with RNase to digest contaminating RNA and then remove the RNA fragments by ethanol precipitation of the DNA. A detailed protocol is described in PD-PR-040, *RNA removal by double-RNase digestion*². Please note that DNA from an oral sample typically contains appreciably more RNA than found in blood samples. Ensure that alcohol-precipitated DNA is fully dissolved before reading the absorbance.

Conversion factor: An absorbance of 1.0 at 260 nm corresponds to a concentration of 50 ng/ μ L (50 μ g/mL) for pure dsDNA.

Ensure that absorbance values are within the linear range of the spectrophotometer. Re-dilute and re-measure samples that fall outside of the linear range. See your instrument documentation for more information.

Method:

1. Dilute a 10 μL aliquot of purified RNase-treated DNA with 90 μL of TE (1/10 dilution). Mix by gently pipetting up and down. Wait for bubbles to clear.
2. Use TE in the reference (blank) cell.
3. Measure absorbance at 320 nm, 280 nm and 260 nm.
4. Calculate corrected A_{280} and A_{260} values by subtracting the absorbance at 320 nm (A_{320}) from the A_{280} and A_{260} values.
5. DNA concentration in $\text{ng}/\mu\text{L}$ = corrected $A_{260} \times 10$ (dilution factor) $\times 50$ (conversion factor).
6. A_{260}/A_{280} ratio: Divide corrected A_{260} by corrected A_{280} .

Example

1. Assume the measured $A_{320} = 0.025$, $A_{280} = 0.175$ and $A_{260} = 0.295$
2. The DNA concentration of the undiluted sample will be:
 $(A_{260} - A_{320}) \times 10$ [dilution factor] $\times 50$ [conversion factor]
 $= (0.295 - 0.025) \times 10 \times 50$
 $= 0.270 \times 10 \times 50$
 $= 135 \text{ ng}/\mu\text{L}$ or $135 \mu\text{g}/\text{mL}$
3. The corrected A_{260}/A_{280} ratio will be:
 $(A_{260} - A_{320}) \div (A_{280} - A_{320})$
 $= (0.295 - 0.025) \div (0.175 - 0.025)$
 $= 0.270 \div 0.150$
 $= 1.80$

References

1. DNA quantification using the Fluorescence/DNase (F/D) assay. Replaced by DNA quantification using SYBR Green I dye and a micro-plate reader. DNA Genotek. PD-PR-075.
2. RNA removal by double-RNase digestion. DNA Genotek. PD-PR-040.

Technical support is available Monday to Friday (9h00 to 17h00 EST):

- Toll-free (North America): 1.866.813.6354, option 6
- All other countries: 613.723.5757, option 6
- Email: support@dnagenotek.com

Oragene[®]-DNA and ORACollect[®]-DNA are not available for sale in the United States.

Oragene[®]-DISCOVER is for research use only, not for use in diagnostic procedures.

Some DNA Genotek products may not be available in all geographic regions.

*Oragene, prepIT and ORACollect are registered trademarks of DNA Genotek Inc. All other brands and names contained herein are the property of their respective owners.

All DNA Genotek protocols, white papers and application notes, are available in the support section of our website at www.dnagenotek.com.

preIT[®]-L2P

Quick reference guide:

Laboratory protocol for manual purification of DNA from 0.5 mL of sample

Purification steps
1. Mix the sample in the DNA Genotek kit by inversion and gentle shaking for a few seconds.
2. Incubate the sample at 50°C in a water incubator for a minimum of 1 hour or in an air incubator for a minimum of 2 hours.
3. Transfer 500 µL of the sample to a microcentrifuge tube.
4. Add 20 µL of PT-L2P and mix by vortexing for a few seconds.
5. Incubate on ice for 10 minutes.
6. Centrifuge at room temperature (RT) for 5 minutes at 15,000 x g.
7. Carefully transfer the majority of the clear supernatant with a pipette to a fresh microcentrifuge tube. Discard the pellet.
8. Add 600 µL of RT 95% to 100% ethanol to the clear supernatant. Mix gently by inversion 10 times.
9. Let the sample stand at RT for 10 minutes to allow the DNA to fully precipitate.
10. Place the tube into the centrifuge with a known orientation. Centrifuge at RT for 2 minutes at 15,000 x g.
11. Carefully pipette off the supernatant and discard it. Take care to avoid disturbing the DNA pellet.
12. Add 250 µL of 70% ethanol and let stand at RT for 1 minute. Completely remove the ethanol, without disturbing the pellet.
13. Add 100 µL of TE solution and vortex the sample for at least 5 seconds.
14. Incubate overnight at RT or at 50°C for 1 hour vortexing occasionally.
15. Storage: In aliquots at -20°C for long-term storage (recommended) or at 4°C for up to 2 months.

ANEXO J – NORMAS DA REVISTA

05/07/22, 06:57

Submission checklist | Bioscience Reports | Portland Press

Submissions checklist

1. Cover letter
2. Title
3. Abstract
4. Keywords
5. Author list
 - a. Corresponding authors
6. Main text
 - a. Ethics
 - b. Data policy
7. Figures
8. Tables
9. Supplementary files
10. Author contributions
11. Funding
12. Acknowledgements
13. References
14. Revised papers
 - a. Response to reviewers
 - b. Tracked changes version
 - c. Changes to authorship
15. Review articles
16. PRISMA checklist (for meta-analysis papers only)



Cover letter

https://portlandpress.com/bioscirep/pages/submission_checklist

1/9

Cover letters are optional in *Bioscience Reports* but are encouraged. If included with your submission, the cover letter should highlight the findings of your study, the advance it brings and its relevance to the field. The cover letter should not include reviewer suggestions, these can be added during the submission process.

Title

The title should succinctly reflect the content of the paper and must not exceed 20 words in length.

Abstract

Abstracts must not exceed 250 words. Please ensure that there are no references included in the abstract. The Journal does not consider graphical abstracts.

Keywords

During the submission process you will be asked to provide a subject area and keywords that best represent your submission. Please select these carefully, as they will help to improve the discoverability of your paper should your paper be accepted for publication.

Author list

The Journal follows [ICMJE's recommendations on authorship](#), as detailed in our [Editorial Policy](#). Please ensure that the authorship is correct, and that author names are listed exactly as you would like them to appear on the published paper.

The Journal mandates that at the Corresponding Author must have an institutional email address as a requirement. If the author is unable to provide an institutional email address, the corresponding author's institution must provide a letter (on letterheaded paper) that includes the following:

- The full title of the paper
- The full author list
- The date of submission
- Confirmation that the institution is aware of the work being submitted to the Journal
- Confirmation of where the work was performed
- Confirmation of when the work was completed
- Confirmation of the corresponding author's employment at their affiliated institution
- Contact details of the corresponding author
- Contact details, signature and job title of the person who wrote the letter (This letter must be completed and signed by a research officer or department head, not an author of the paper)

Corresponding authors

The corresponding author is responsible for all communication with the Journal. The corresponding author must also ensure that all authors are aware of, and agree to, the submission and (if accepted) publication of the paper. The corresponding author is required to provide an **ORCID** during submission of a revised paper. The email address of the corresponding author will be published in the paper and the corresponding author must also act as the point of contact for queries regarding the paper after publication. The submission system only allows for one corresponding author to be added, if the paper has more than one corresponding author, please clearly indicate this in the manuscript file and cover letter.

Main text

The main text of the paper should include an Introduction, Methods, Results and Discussion section.

The Methods section must include enough detail for the study to be replicated, including (as appropriate):

- Catalogue number and supplier of critical reagents and kits, for example, drugs, hormones, inhibitors, substrates, and purification kit
- Antibody origin (company), catalogue number, and dilution used
- NCBI (or other accessible database) reference number for DNA/RNA sequences used, and nucleotide range for fragment
- UniProtKB (or other accessible database) reference number for protein sequences used, and residue range for fragment
- Sequences of every oligonucleotide used for PCR, RT-qPCR, cloning, siRNA, miR-RNA, mimics, etc. with 5'-3' orientation
- Origin and catalogue number of cell lines used
- Detail on culture conditions such as media, serum, and supplements for every cell line used and specific cell reagents, such as for gene transfer experiments and siRNA
- Number of cells seeded in wells or Petri dish for cellular assays, incubation time before treatment, drug concentration used, time of harvest after treatment
- Web address of databases with details on the parameters used to perform specific searches
- Number of independent repetitions, statistical tests used, including for multiple comparison

Ethics

For experiments with animals, please ensure that in your paper you state where the ethics

approval has been sought/obtained from, the site where the animal work has taken place and the approval number obtained from the appropriate institutional review board. Papers describing any experimental work with humans should include a statement that the research has been carried out in accordance with the World Medical Association Declaration of Helsinki, and that all subjects provided written informed consent.

Data Policy

Upon submission, Authors agree to make any materials, data, code and associated protocols available upon request. For more information, please see our full [Data Policy](#).

As of 5 October 2020, all research papers submitted to the Biochemical Society's research journals will require a Data Availability Statement to be included upon submission. Please ensure this statement is included within your main manuscript file. This section should be placed immediately after the Conclusions, within the main manuscript text. This Data Availability Statement should indicate to the reader where data associated with the paper are available and how to access (including links and a reference citation, where applicable, to the online dataset or software). If data sharing is not applicable to the paper, for any reason, please indicate this and explain why this is the case. Any restrictions on the availability of materials or information must be disclosed to the Journal at the time of submission. If your research/submission cannot comply with the data type specific deposit requirements, or if you require data to be deposited following an embargo period, please write to the [Editorial Office](#) in the first instance. For more information on Data Availability Statements, please visit our [Data Policy page](#). Please contact the [Editorial Office](#) if you have any questions.

Figures

Figures may be embedded into the main text or provided as separate files. Please ensure all Figures have a title and legend. All Figures must be referred to in the main text. Figures must be provided at high resolution and the formatting of the labels should be consistent throughout the Figures.

Images should not be enhanced or manipulated. Figures assembled from multiple images must be clearly indicated by white or black lines between each image.

S Any paper that includes Western blots must also include the full uncropped and unedited versions of the blots as a supplementary file. These must be clearly titled and labelled to indicate which Figure they represent from the main article, and clearly show which lanes have been used to build each Figure. The outer edges of the membranes should be

visible, and the blots should include the molecular mass markers.

For more information on preparing your Figures, please see our [Figure Preparation guide](#) and full [Data Policy](#).

Tables

All tables should include a title and ideally a legend. References included in tables must follow the Vancouver style.

Supplementary Files

All Supplementary Figures and Tables must include a title and legend (as appropriate for tables). Supplementary files should not include any methods, all methods must be included in the main article file.

Author contributions

Within your manuscript, please provide a paragraph detailing the contributions of all authors listed on the manuscript. Every author should be named in this statement.

Funding

Please provide details of any funding you received. This can be included in the Acknowledgements section or in a separate statement. If no funding has been received, this should be stated.

Acknowledgements

The acknowledgements should note assistance from contributors that do not meet the criteria for authorship.

References

Please use Vancouver style for your references, ensuring that they include the articles DOI. All references must be numbered consecutively within the text and listed in numerical order in the reference list.

Example:

1. Huili Li, Thomas Herrmann, Jessica Seeßle, Gerhard Liebisch, Uta Merle, Wolfgang Stremmel, Walee Chamulitrat; Role of fatty acid transport protein 4 in metabolic tissues:

insights into obesity and fatty liver disease. *Biosci Rep* 30 June 2022; 42 (6): BSR20211854. doi: <https://doi.org/10.1042/BSR20211854>

Revised Papers

Please ensure all files are uploaded with your revised paper, including any Figures, Tables or Supplementary files. These will not be brought forward with the revised submission automatically. During the submission process of your revised paper, you will be asked to agree to the payment of an Article Publishing Charge (APC). More information on the APC can be found on our [Open Access Policy](#) page.

Response to reviewers

You will be required to provide a response to the comments made by the Associate Editor, Reviewers and Editorial Office. Please ensure these are included within a single file and that every comment is responded to and/or address in the article file as appropriate.

Tracked changes version

Please provide a tracked changes version of your revised paper, a version with the changes highlighted, as a separate file from the main article.

Changes to authorship

If there are changes to the authorship of the paper during the revision, an [Authorship Change](#) form must be completed. Please include your fully completed form with your revised submission. All changes are subject to moderation by the Editorial Office. More information on changes to authorship can be found on our [Editorial Policy](#) page.

Review articles

Normally commissioned, although non-commissioned reviews will be considered for publication. Prospective authors should [complete our pre-submission enquiry form](#) or contact [Editorial Office](#) providing a draft of their article if available. Please note that meta-analyses, systematic and bibliographical reviews are considered as research papers by the Journal.

Guidelines on length/ article structure requirements:

As a guideline, review articles are typically approx. 6,000 words (please note review article length is flexible). Inclusion of figures is welcomed and colour for these is encouraged. There is no limit on the number of references included. Review articles should be of broad interest and provide a balanced overview of the field. The use of main headings and subheadings to guide readers is encouraged. As with research articles, reviews should include a cover letter, title, abstract, author information, and references should be in Vancouver style.

PRISMA checklist (for meta-analysis papers only)

For meta-analyses, the Journal endorses and follows the [PRISMA Guidelines](#) (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses). Authors are required to complete a [PRISMA checklist](#) as a condition of submission when reporting findings from a meta-analysis. Please ensure that your article adheres to the criteria addressed by each item of the checklist. Meeting these basic reporting requirements will greatly improve the value of your review.

Please note that the PRISMA checklist should be uploaded as a supplementary file during the submission process.

Online ISSN: 1573-4935 Print ISSN: 0144-8463

[Submit Your Work](#)

[Language-editing services](#)

[Recommend to Your Librarian](#)

[Request a free trial](#)

[Terms & Conditions for single-article or journal-issue online purchases](#)

CONNECT

[Skip to Main Content](#)

[Sign up for alerts](#)

[Sign up to our mailing list](#)

ANEXO L – AVALIAÇÃO DA REVISTA



Scopus Preview



Sources

Title

Enter title

Find sources

Title: Bioscience Reports x

i Improved Citescore

We have updated the CiteScore methodology to ensure a more robust, stable and comprehensive metric which provides an indication of research impact, earlier. The updated methodology will be applied to the calculation of CiteScore, as well as retroactively for all previous CiteScore years (ie. 2018, 2017, 2016...). The previous CiteScore values have been removed and are no longer available.

[View CiteScore methodology.](#)

Filter refine list

Apply Clear filters

Display options

 Display only Open Access journals

Counts for 4-year timeframe

 No minimum selected

 Minimum citations _____

 Minimum documents _____

Citescore highest quartile

 Show only titles in top 10 percent

 1st quartile

 2nd quartile

 3rd quartile

 4th quartile

Source type

 Journals

 Book Series

 Conference Proceedings

 Trade Publications

Apply Clear filters

1 result

[Download Scopus Source List](#) [Learn more about Scopus Source List](#)
 All

 Export to Excel

 Save to source list

View metrics for year: 2021

	Source title ↓	CiteScore ↓	Highest percentile ↓	Citations 2018-21 ↓	Documents 2018-21 ↓	% Cited ↓
<input type="checkbox"/> 1	Bioscience Reports <i>Open Access</i>	6.4	78% 30/137 Biophysics	15.863	2.478	84

[Top of page](#)

ANEXO M – TRABALHO PUBLICADO (DOI: 10.29327/141967)



II Congresso Nacional de
Práticas Inclusivas
UnB – Brasília/DF – 2020

EIXO TÊMÁTICO: Narrativas e Relatos de Experiência.

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DIRECIONADO À CRIANÇAS AUTISTAS: CONSTRUÇÃO E APLICAÇÃO.

Aline Ribeiro Barros ⁽¹⁾, **André de Mattos Salles** ⁽²⁾, **Izabel Cristina Rodrigues da Silva** ⁽³⁾

⁽¹⁾ *Farmacêutica, Mestranda do PPGCTS/UnB. (Bolsista CAPES), Brasília, Distrito Federal, alineribeior@hotmail.com*

⁽²⁾ *Médico/Pesquisador, Hospital Universitário de Brasília, Brasília, Distrito Federal.*

⁽³⁾ *Professora Adjunta, Universidade de Brasília/FCE, Brasília, Distrito Federal, belbiomedica@gmail.com*

RESUMO: O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é caracterizado por déficits na interação social e comunicação. Estima-se que o transtorno acometa 1 a cada 59 crianças nos Estados Unidos segundo dados do Centro de Controle de Doenças (CDC). Nas últimas décadas foi observado um crescimento na prevalência do TEA, o que impulsionou o aumento das pesquisas biomédicas na área. Segundo a resolução CNS 466/12, pessoas em vulnerabilidade devem passar pela etapa do esclarecimento e consentimento através dos seus representantes legais, no entanto precisam explicitar sua anuência em participar da pesquisa por meio do Termo de Assentimento Livre Esclarecido (TALE). O objetivo deste trabalho é apresentar um relato de experiência da construção e aplicação do TALE em crianças autistas. Para elaboração do TALE foram utilizados relatos de experiência disponíveis na literatura, resoluções e modelos disponibilizados nos sites dos Comitês de Ética (CEP), após aprovação ética o TALE foi aplicado em 10 crianças no período de dezembro 2019. Todas as 10 crianças conseguiram utilizar o TALE elaborado para explicitar sua anuência. Há no Brasil a inexistência de documentos que norteiam com critérios objetivos a elaboração do TALE, este fato também prejudica a adaptação do mesmo para a comunidade com deficiência. Alguns relatos de experiência exitosos não contemplam a população TEA, fazendo necessário adaptações que contemplem as especificidades do TEA. Concluímos que houve uma boa aceitação do TALE, no entanto cabe ressaltar que a inexistência de critérios objetivos para construção do TALE torna a avaliação subjetiva, o que contribui para tornar o processo de aprovação de projetos de pesquisa moroso e lento.

Palavras-Chave: Assentimento, Consentimento de crianças, Autismo, Resolução CNS 466/12.

INTRODUÇÃO

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é um distúrbio do desenvolvimento caracterizado por importantes déficits na comunicação e interação social (FURTADO; BRAYNER; SILVA, 2014). Não há dados estatísticos oficiais a respeito da prevalência e incidência do TEA na população Brasileira, no entanto dados do CDC estimam que o transtorno afete de 1 a cada 59 crianças até 8 anos (BAIO et al., 2018). Essa prevalência aumentou substancialmente no decorrer das décadas (ROSSI et al., 2018), o que impulsionou o surgimento de novos estudos envolvendo participantes



II Congresso Nacional de
Práticas Inclusivas
UnB – Brasília/DF – 2020
com TEA.

EIXO TÉMATICO: Narrativas e Relatos de Experiência.

Um dos aspectos éticos imprescindíveis de toda e qualquer pesquisa clínica que envolve seres humanos é a tomada do consentimento livre e esclarecido dos participantes convidados (BRASIL, 2013). As pesquisas clínicas que envolvem participantes em situação de vulnerabilidade como por exemplo crianças e pessoas com deficiência, demandam cuidados e reflexões éticas extras (MIRANDA *et al.*, 2017). Alguns cuidados éticos específicos são regulamentados pela resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. A mesma resolução indica que participantes convidados em situação de vulnerabilidade (crianças, adolescentes ou pessoas com transtorno ou doença mental, por exemplo) devem passar pela etapa de esclarecimento e consentimento por meio de seus representantes legais, resguardando o direito de acesso a informações respeitando a capacidade de entendimento.

Embora nos casos de pesquisas clínicas com crianças com TEA o consentimento e esclarecimento sejam feito por meio dos representantes legais. A criança deve assentir sua participação na pesquisa (BRASIL, 2013). Segundo a resolução supracitada o ato de assentir trata-se da anuência das participantes da pesquisa livre de vícios, subordinação, dependência ou intimidação (BRASIL, 2013). A explicitação do assentimento é feita no Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE), documento deve ser elaborado em linguagem acessível.

Não há na legislação vigente um modelo de TALE, tão pouco um modelo de TALE direcionado a crianças com transtornos mentais. Considerando o número crescente de pesquisas clínicas envolvendo populações vulneráveis, como por exemplo crianças com TEA, e levando em conta as especificidades inerentes a adaptação do documento TALE nosso estudo propõe relatar a experiência na construção e aplicação deste termo em uma pequena população de crianças com TEA.



II Congresso Nacional de
Práticas Inclusivas
UnB – Brasília/DF – 2020

METODOLOGIA

EIXO TÊMÁTICO: Narrativas e Relatos de Experiência.

Para elaboração do TALE adaptado para crianças com TEA foi realizada um levantamento bibliográfico prévio nas bases de dados Scielo e Google Scholar utilizando os seguintes descritores: Assentimento e Consentimento para Menores no período de janeiro a junho de 2019. Foram selecionados relatos de experiência na construção e aplicação do TALE em menores. Também foram levados em consideração os modelos de TALE disponíveis do site do Comitê de Ética Pesquisa da FEPECS e do Comitê de Ética e Pesquisa da FCE/UnB.

Após aprovação ética do projeto (CAAE: 16695419.1.0000.8093; parecer nº 3.825.230) o TALE foi aplicado a um grupo de 10 crianças diagnosticadas com TEA que faziam acompanhamento no ambulatório de saúde mental do Hospital Universitário de Brasília no período de dezembro de 2019.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após análise da literatura e legislação pertinente foram elaboradas duas versões do TALE, uma direcionada a crianças de 6 a 12 anos e outra direcionada a crianças de 13 a 18 anos. Ambos os documentos foram elaborados com linguagem acessível e adaptados com figuras que faziam alusão aos procedimentos a serem realizados na pesquisa (Figura 1). Para explicitação da anuência usou-se optou-se por usar “caixinhas” em frente aos dizeres SIM e NÃO acompanhadas de figuras comumente utilizadas na metodologia PECS (Sistema de Comunicação por Troca de Figuras), tal metodologia é frequentemente usada por autistas não verbais (Figura 2). Foi facultada ao participante assinar o nome completo ou a impressão digital em campo próprio indicado (Figura 2). Até a aprovação final dos termos pelo sistema CEP/CONEP foram elaboradas 4 versões.



II Congresso Nacional de
Práticas Inclusivas
UnB – Brasília/DF – 2020

EIXO TÊMÁTICO: Narrativas e Relatos de Experiência.

Figura 1: Detalhe do TALE versão para crianças de 6 a 12 anos.

Para participar você terá que cuspir (saliva/baba) em um copo limpo, como nas imagens abaixo.



Nós já falamos com seus pais/responsáveis, e eles já deixaram você participar, mas você não precisa cuspir no copo se não quiser.

As crianças com redução à capacidade do TALE no o domínio da participação da pesquisa podem ser orientadas por meio de (R) 2017-1114 em de e-mail: carla.fonseca@unb.br. Horário de atendimento das 14h às 18h, de segunda a sexta-feira. O CEP/CONEP se localiza no Prédio de Ciências Exatas 4717/66 - Faculdade de Educação e Tecnologia (FET) - Universidade de Brasília - Campus Manacápolis, conjuro A, Lote II, Brasília - DF CEP: 71224-900 em os CEP/CONEP que se localizam em: 711-20-113 (Brasília DF - 901) - Brasília, DF - Área Norte, Brasília - DF, 70111-900.

Fonte: Própria Autora (2019)

Figura 2: Detalhe das duas versões do TALE aprovado pelo CEP/CONEP

<p>UnB HUB EDSERH</p> <p>Marque um X no círculo de acordo com o que você decidiu.</p> <p><input type="radio"/> SIM, QUERO PARTICIPAR DA PESQUISA.</p> <p><input type="radio"/> NÃO QUERO PARTICIPAR DA PESQUISA.</p> <p>Meu nome é: _____</p> <p>Minha assinatura, ou digital (pelo seu celular): _____</p> <p>Assinatura do pesquisador: _____</p> <p>Data: / / Brasília -DF</p>	<p>Marque um X no círculo de acordo com o que você decidiu, se lembrar que mesmo que você marque SIM, você poderá desistir e dizer NÃO a qualquer momento, sem que ninguém fique chateado ou bravo com isso.</p> <p><input type="radio"/> SIM, ACEITO PARTICIPAR DA PESQUISA.</p> <p><input type="radio"/> NÃO ACEITO PARTICIPAR DA PESQUISA.</p> <p>Minha Assinatura: _____</p> <p>Assinatura do pesquisador: _____</p> <p>Data: / / Brasília -DF</p>
---	--

Fonte: Própria Autora (2019)

Das 10 crianças que explicitaram sua anuência em participar da pesquisa nove eram do sexo masculino e um do sexo feminino, todas tinham idade entre 6 e 16 anos. Apenas duas crianças tinham idade superior a 13 anos, no entanto apenas uma delas optou por preencher o TALE direcionado a essa faixa etária. Embora alguns tenham apresentado mais dificuldade que outros todos optaram pela assinatura do TALE (6 utilizaram apenas o primeiro nome de 4 escreveram o nome completo) em detrimento



II Congresso Nacional de
Práticas Inclusivas
UnB – Brasília/DF – 2020

EIXO TÊMÁTICO: Narrativas e Relatos de Experiência.

do depósito da digital do polegar direito. A principal dificuldade na aplicação do documento foi atrair a atenção compartilhada por tempo necessário para explicar os procedimentos, tal tarefa necessitou frequentemente do auxílio do representante legal. Outras questões a respeito da construção do documento também foram levantadas pelas crianças, como por exemplo a escolha da fonte (*Comic Sans*) utilizada na elaboração dos termos, diferentes cores para diferentes parágrafos (TALE direcionado a crianças de 6 a 12 anos). No entanto de uma forma geral nós avaliamos que os TALEs elaborados tiveram boa aceitação.

O TALE além de ter como objetivo explicitar a anuência da criança na participação na pesquisa clínica é um importante instrumento que respeita o desenvolvimento da criança a partir do momento que leva em consideração a perspectiva emocional nos processos de decisão (SUNAGA, 2015). Apesar da importância desse documento a resolução CNS 466/12 que o institui, não traz critérios claros e objetivos para sua elaboração, ficando a cargo dos Comitês de Ética a disponibilização de modelos, no entanto tais modelos divergem entre si conforme comitê, além disso frequentemente os modelos disponibilizados possuem informações que não são pertinentes ao entendimento da criança, como informações a respeito de indenizações por exemplo. A ausência de um documento norteador para elaboração do TALE foi um dos aspectos de maior relevância na dificuldade de elaboração do mesmo. Observamos que a inexistência desse documento torna a avaliação do TALE pelos pareceristas do sistema CEP/CONEP totalmente subjetiva, o que torna o processo de aprovação do projeto lento e moroso.

Miranda e colaboradores (2017) em seu relato de experiência expôs o êxito na elaboração e aplicação de um TALE no formato de cartilha, embora essa alternativa seja interessante e tenha alcançado resultados exitosos, este modelo de TALE não contemplaria as necessidades pertinentes ao grupo de crianças TEA, uma vez que frequentemente crianças com esse transtorno possuem tempo de atenção e atenção compartilhada diminuída. Dado isso optamos por elaborar um documento de até 2



II Congresso Nacional de
Práticas Inclusivas
UnB - Brasília/DF - 2020

EIXO TÊMÁTICO: Narrativas e Relatos de Experiência.

páginas, entretanto alguns elementos utilizados no trabalho de Miranda et al 2017 foram utilizados, como o uso de cores, figuras e espaços específicos a serem assinalados indicando SIM ou NÃO, o que contribui para o aumento da aceitabilidade.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora possuam um transtorno mental grave, a maioria das crianças com TEA possuem certa capacidade de discernimento, portanto devem ter seus desejos respeitados. De modo geral podemos observar que o TALE aplicado teve boa aceitabilidade dos participantes, e foi ferramenta útil para elucidar os procedimentos a serem realizados na pesquisa. A ausência de critérios objetivos para elaboração do mesmo e para sua adaptação ao público TEA foi um dos principais fatores que dificultou na elaboração do mesmo.

REFERÊNCIAS

BAIO, Jon et al. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2014. *Mmwr. Surveillance Summaries*, [s.l.], v. 67, n. 6, p.1-23, 27 abr. 2018. Centers for Disease Control MMWR Office

BRASIL, Conselho Nacional de Saúde (13 de junho de 2013): Resolução 466/12

FURTADO, Luis Achilles; BRAYNER, José Claubert; SILVA, Lucas Silveira da. Transtornos Globais do Desenvolvimento e Saúde Pública: Uma Revisão Integrativa. *Percurso Acadêmico*, Belo Horizonte, v. 8, n. 4, p.283-297, dez. 2014

MIRANDA, Juliana de Oliveira Freitas *et al.* CONSTRUÇÃO E APLICAÇÃO DE UM TERMO DE ASSENTIMENTO: RELATO DE EXPERIÊNCIA. *Texto & Contexto - Enfermagem*, v. 26, n. 3, 21 set. 2017.

ROSSI, Livia Peluso et al. Caminhos Virtuais e Autismo: acesso aos serviços de saúde na perspectiva da Análise de Redes Sociais. *Ciência & Saúde Coletiva*, [s.l.], v. 23, n. 10, p.3319-3326, out. 2018.

SUNAGA, Francis Bozolan. Sobre o uso e implicações do Termo de Assentimento para crianças em pesquisas biomédicas no Brasil. 2015. 26 f. Tese (Mestrado) - Curso de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.