



**UNIVERSIDADE PRESBITERIANA MACKENZIE**



**PATRICIA FUKUDA DE SIQUEIRA BAPTISTA**

**AVALIAÇÃO DOS SINTOMAS GASTROINTESTINAIS NOS TRANSTORNOS DO  
ESPECTRO DO AUTISMO: RELAÇÃO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE  
SEROTONINA, DIETA ALIMENTAR E USO DE MEDICAMENTOS**

São Paulo

2012

B222a Baptista, Patricia Fukuda de Siqueira

Avaliação do sintomas gastrointestinais nos transtornos do espectro do autismo: relação com os níveis séricos de serotonina, dieta alimentar e uso de medicamentos / Patricia Fukuda de Siqueira Baptista. 2013.

67 f. : il. ; 30 cm

Dissertado (Mestrado em Distúrbio do Desenvolvimento) -  
Universidade Presbiteriana Mackenzie, 2013.

Referências bibliográficas: f. 43-48.

PATRICIA FUKUDA DE SIQUEIRA BAPTISTA

**AVALIAÇÃO DOS SINTOMAS GASTROINTESTINAIS NOS TRANSTORNOS DO  
ESPECTRO DO AUTISMO: RELAÇÃO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE  
SEROTONINA, DIETA ALIMENTAR E USO DE MEDICAMENTOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Distúrbios do Desenvolvimento da Universidade Presbiteriana Mackenzie, para obtenção do título de Mestre em Distúrbios do Desenvolvimento.

**Orientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Roberta Monerazzo Cysneiros

**Co-Orientador:** Prof. Dr. Décio Brunoni

São Paulo

2012

Nome: BAPTISTA, Patricia Fukuda de Siqueira

Título: Avaliação dos sintomas gastrointestinais nos transtornos do espectro do autismo: relação com os níveis séricos de serotonina, dieta alimentar e uso de medicamentos.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Distúrbios do Desenvolvimento da Universidade Presbiteriana Mackenzie, para obtenção do título de Mestre em Distúrbios do Desenvolvimento.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

Banca Examinadora

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roberta Monterazzo Cysneiros (orientadora)  
Universidade Presbiteriana Mackenzie

---

Prof. Dr. José Salomão Schwartzman  
Universidade Presbiteriana Mackenzie

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria da Graça Naffah Mazzacoratti  
Universidade Federal de São Paulo

## DEDICATÓRIA

*A todos aqueles que me ajudaram direta ou indiretamente na conclusão deste trabalho. Especialmente ao meu esposo Ricardo e meus filhos Allan, Lucas e Giuliana, por sempre me apoiarem nessa jornada de lutas. E por fim, mas não menos importantes, às mães e seus filhos, pela doação de tempo e contribuição para o aumento de conhecimento na área dos Transtornos do Espectro do Autismo.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, razão da minha existência e supridor de todas as minhas necessidades.

A Universidade Presbiteriana Mackenzie, ao Programa de Pós Graduação em Distúrbios do Desenvolvimento e ao corpo docente pela excelência e compromisso com o conhecimento.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Colucci, pelo suporte no enfoque nutricional deste trabalho.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Graça Naffah-Mazacoratti e Prof. Dr. J.Salomão Schwartzman pelas valiosas críticas em todo o processo de elaboração desta dissertação.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Eloísa Famá D'antino pelo apoio nos momentos difíceis e por seu companheirismo.

Aos funcionários do Laboratório de Neurociências da UNIFESP, Eduardo e Paula pelo apoio no enfoque analítico deste trabalho.

A Secretaria Direitos da Pessoa com Deficiência, Secretaria da Saúde e Secretaria da Educação do município de Barueri, por nos receberem tão afetuosamente e nos disponibilizarem todos os espaços requeridos para a realização desta pesquisa.

A APAAG e funcionários pelo comprometimento e seriedade que conduzem seu trabalho com as crianças autistas.

A Edna Torres, enfermeira querida, que com sua habilidade e destreza não deixou de coletar uma única amostra de sangue de nossos pacientes.

Ao Grupo de Pesquisa em TEA pela seriedade que conduzem os trabalhos de pesquisa e de atendimento às crianças com necessidades especiais. E, especialmente à minha querida amiga Juliana, pela parceria, companheirismo em todos os momentos, principalmente nas infundáveis jornadas pelas ruas de Barueri.

Ao Prof. Décio Brunoni, meu co-orientador, por sua incansável disposição em conduzir toda a parte estratégica das pesquisas com TEA e por abrir muitas portas em todos os lugares que necessitei adentrar para minhas coletas. Meu sincero agradecimento.

E por fim, à minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Roberta Monterazzo Cysneiros, pela amizade, pela forma competente com que me ensinou e me conduziu nestes dois anos de orientação. Lembro-me da primeira semana de aula quando a procurei, pois era a única farmacêutica do programa. Sua acolhida e receptividade foram determinantes para que continuasse e finalizasse mais esta etapa da minha vida acadêmica. Minha sincera gratidão e carinho.

## RESUMO

### **AVALIAÇÃO DOS SINTOMAS GASTROINTESTINAIS NO TRANSTORNO DO ESPECTRO DO AUTISMO: RELAÇÃO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE SEROTONINA E DIETA ALIMENTAR**

Transtornos do Espectro do Autismo (TEA) são um conjunto heterogêneo de síndromes caracterizadas por prejuízos nas interações sociais, deficiência na comunicação e um padrão de comportamentos repetitivos ou estereotipados. Doenças gastrointestinais e sintomas associados são comumente relatados em indivíduos com TEA, mas questões centrais como prevalência e melhor tratamento destas condições não são totalmente compreendidas. O objetivo principal deste estudo foi investigar os sintomas gastrointestinais (SGI) em indivíduos com Transtornos do Espectro do Autismo, verificar a sua frequência e possível relação com os níveis séricos de serotonina, hábitos alimentares e uso de medicamentos. A casuística foi composta por 100 crianças/adolescentes diagnosticados com TEA com idade entre 3 e 21 anos. Para determinação dos sintomas gastrointestinais foi utilizado um questionário que avaliou a presença e a frequência dos distúrbios gastrointestinais. A dosagem de serotonina sérica foi determinada pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência e a dieta alimentar foi avaliada pelo questionário de frequência alimentar. Os resultados mostraram que 42% dos participantes apresentaram algum tipo de SGI, sendo a constipação o mais frequente (31% dos casos). Foi evidenciada uma correlação entre gravidade do TEA e sintomas gastrointestinais. Na análise de serotonina foi verificada a hiperserotonemia em 19% dos pacientes e não foram evidenciadas correlações entre dieta alimentar, uso de medicamentos e SGI.

**Palavras-chave:** Transtornos do espectro do autismo, sintomas gastrointestinais, serotonina, dieta alimentar.

## **ABSTRACT**

### **EVALUATION OF GASTROINTESTINAL SYMPTOMS IN AUTISM SPECTRUM DISORDER: RELATION WITH SEROTONIN SERUM LEVELS AND DIETARY.**

Autism Spectrum Disorder (ASD) are a heterogeneous group of syndromes characterized by impairment in social interaction, impairment in communication and a pattern of repetitive or stereotyped behaviors. Gastrointestinal disorders and associated symptoms are commonly reported in individuals with ASDs, but key issues such as the prevalence and best treatment of these conditions are not fully understood. The main objective of this study was to investigate gastrointestinal symptoms (GS) in individuals with Autism Spectrum Disorder, check its frequency and possible relation to serum levels of serotonin, eating habits and medication use. The sample consisted of 100 children / adolescents diagnosed with ASD aged 3 to 21 years old. For determination of gastrointestinal symptoms was used a questionnaire that assesses the presence and frequency of gastrointestinal disorders. The dosage of serotonin serum was determined by high performance liquid chromatography, dietary was assessed by food frequency questionnaire. The results showed that 42% of the participants had some type GS, being constipation the most often (31% of cases). It was found a correlation between severity of ASD and GS. In the analysis of serotonin hyperserotonemia was verified in 19% of patients and did not show correlations between dietary, use of medications and GS.

**Keywords:** autism spectrum disorders, gastrointestinal symptoms, serotonin, dietary.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Possíveis vias envolvidas nas interações neuroimunes nos TEA..... 15
- Figura 2** - Cromatograma da análise de serotonina sérica de uma criança com TEA. As condições cromatográficas utilizadas estão de acordo com a descrita no método. A concentração de serotonina obtida nesta amostra foi de 334,9 ng/mL. Os tempos de retenção do DHBA e Serotonina foram 12,2 min e 57,3 min. respectivamente..... 36

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Prevalência de Transtornos Gastrointestinais (TGI) em indivíduos com Transtorno do Espectro do Autismo (TEA).....	19
<b>Tabela 2.</b> Critérios de Diagnósticos Roma III.....	29
<b>Tabela 3.</b> Caracterização dos grupos caso e controle .....	34
<b>Tabela 4.</b> Serotonina sérica nos sujeitos com TEA com e sem sintomas gastrointestinais.....	37
<b>Tabela 5.</b> Estudos relevantes de serotonina no sangue total e soro em pacientes com TEA.....	37
<b>Tabela 6.</b> Características dos sujeitos com constipação e sem constipação.....	39

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Porcentagem do uso de medicamentos em ambos os grupos (caso e controle).....	36
<b>Gráfico 2.</b> Concentração de serotonina sérica de crianças/adolescentes TEA sem SGI e TEA com SGI.....	38
<b>Gráfico3.</b> Frequência de Sintomas Gastrointestinais.....	39
<b>Gráfico 4.</b> Dados do Questionário de Frequência Alimentar (QFA).....	40

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	JUSTIFICATIVA.....	24
3	OBJETIVOS.....	25
	3.1 Objetivo Geral.....	25
	3.2 Objetivos Específicos.....	25
4	MÉTODO.....	26
	4.1 Local da realização da pesquisa.....	26
	4.2 Amostra.....	27
	4.3 Critério Inclusão e Exclusão.....	27
	4.4 Instrumentos.....	27
	4.5 Procedimentos para coleta de dados.....	31
	4.6 Procedimentos de análise dos dados.....	32
	4.7 Aspectos Éticos.....	32
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
	5.1 Caracterização da amostra e sintomas gastrointestinais.....	34
	5.2 Hiperserotonemia.....	37
	5.3 Constipação.....	39
	5.4 Dieta Alimentar.....	40
6	Considerações Finais.....	42
	REFERÊNCIAS.....	43
	ANEXOS.....	49

## 1 INTRODUÇÃO

O Autismo Infantil foi descrito por Kanner, em 1943, inicialmente foi denominado Distúrbio Autístico do Contato Afetivo, como uma condição com características comportamentais bastante específicas, tais como: perturbações das relações afetivas com o meio, solidão autística extrema, inabilidade no uso da linguagem para comunicação, presença de boas potencialidades cognitivas, aspecto físico aparentemente normal, comportamentos ritualísticos, início precoce e incidência predominante no sexo masculino (FRITH, 2004).

O conceito de Autismo Infantil se alterou muito desde a sua descoberta inicial, deixando de ser uma doença exclusivamente de causas parentais, como descreveu Kanner, para ser agrupado em uma série de condições clínicas similares pertencentes ao grupo dos assim denominados Transtornos Globais do Desenvolvimento (TGD) (SCHWARTZMAN; ARAÚJO, 2011).

De acordo com DSM-IV-TR (APA, 2003), a categoria TGD é referente aos transtornos que se caracterizam por prejuízos severos e invasivos em diversas áreas do desenvolvimento, como habilidades de interação social recíproca, habilidades de comunicação e presença de comportamentos, interesses e atividades estereotipadas. Os prejuízos qualitativos que definem estas condições representam um desvio em relação ao nível de desenvolvimento do indivíduo, o que afeta sua adaptação social, educacional e de comunicação. Em geral, as alterações se manifestam nos primeiros anos de vida e podem aparecer associadas a alterações neurológicas ou quadros sindrômicos, variando em grau e intensidade de manifestações. Fazem parte desta categoria o Transtorno Autista, Transtorno de Rett, Transtorno de Asperger, Transtornos Desintegrativos da Infância e o Transtorno Global do Desenvolvimento Sem Outra Especificação.

Na décima revisão da Classificação Internacional de Doenças – CID 10 (OMS, 2000), os Transtornos Globais do Desenvolvimento foram classificados como um grupo de alterações, caracterizadas por alterações qualitativas da interação social e modalidades de comunicação, e por um repertório de interesses e atividades restrito e estereotipado. Essas anomalias qualitativas constituem uma característica global do funcionamento do indivíduo. Fazem parte desta classificação, o Autismo Infantil, o Autismo Atípico, a Síndrome de Rett, outros Transtornos Desintegrativos da Infância, Transtornos de Hiperatividade associado a Retardo Mental e Movimentos Esteriotipados, a Síndrome de Asperger, outros Transtornos Globais do Desenvolvimento e o Transtorno Global do Desenvolvimento Não Especificado.

O termo Transtornos do Espectro do Autismo (TEA) embora não mencionado em nenhuma classificação oficial, tem sido amplamente utilizado para se referir ao Autismo

Infantil, a Síndrome de Asperger e o Transtorno Global do Desenvolvimento Sem Outra Especificação (TGD-SOE) (SCHWARTZMAN; ARAÚJO, 2011).

Sintomas gastrointestinais têm sido descritos em crianças com autismo, embora não incluídos nos critérios de diagnóstico (HORVATH; PERMAN, 2002). Asperger em 1961 já sugeria uma possível ligação entre doença celíaca e autismo. Goodwin, Cowen e Goodwin (1971) observaram má absorção em crianças autistas. Walker-Smith e Andrews (1972) encontraram níveis baixos de alfa-1 antitripsina em crianças com autismo e possível doença celíaca. Panksepp (1979) descreveu uma teoria neuroquímica do autismo, propondo que a absorção excessiva de alguns alimentos (por exemplo, cevada, centeio, aveia e caseína) podem formar exorfinas (opióides) prejudiciais ao organismo. Reichelt et al. (1991), Shattock et al. (1991), sugeriram que estes alimentos e derivados podem atuar na formação de ligantes e levar à interrupção de uma neuroregulação no desenvolvimento do cérebro. Murch et al. (1993) sugeriram que a deficiência dos sistemas de fenil-transferase na parede do intestino, pode conduzir a um aumento da permeabilidade intestinal para alimentos com peptídeos, levando a uma inflamação intestinal e disfunção neuropsiquiátrica. Em 1999, uma mutação do gene MECP2 em Xq28 foi relatada como a causa da Síndrome de Rett, sugerindo uma etiologia de uma desordem nos TGD. Sabe-se atualmente que o modelo proposto é discutível, pois a Síndrome de Rett foi erroneamente classificada na CID-10 e no DSM-IV-TR como um transtorno dentro dos TEA. Mais tarde Motil et al. (1999) descreveram disfunção na deglutição e dismotilidade esofágica em meninas e mulheres com Síndrome de Rett. Em 2009, Campbell e colaboradores relataram que uma variação funcional do gene receptor tirosina quinase (MET) está associada com transtorno do espectro do autismo. Este foi o primeiro estudo a demonstrar uma possível causa genética para a associação de autismo e doenças gastrointestinais (GILGER, 2009).

O levantamento de pesquisas relacionando “*autism and gastrointestinal*” no PUBMED (1973 - Junho 2012) identificou um total de 179 artigos. O relato a seguir dos referidos artigos, tem como objetivo descrever os estudos mais relevantes publicados neste período. Foram identificados 20 artigos envolvendo a secretina. A secretina é um polipeptídeo endógeno que contribui no processo digestivo aumentando a secreção pancreática, biliar e gástrica. Estes estudos tentam demonstrar a eficácia da utilização da secretina sintética e/ou suína no tratamento dos sintomas nos TEA. A revisão de 17 estudos, com aproximadamente 600 crianças com TEA, mostram que 12 dos 13 estudos controlados com placebos não

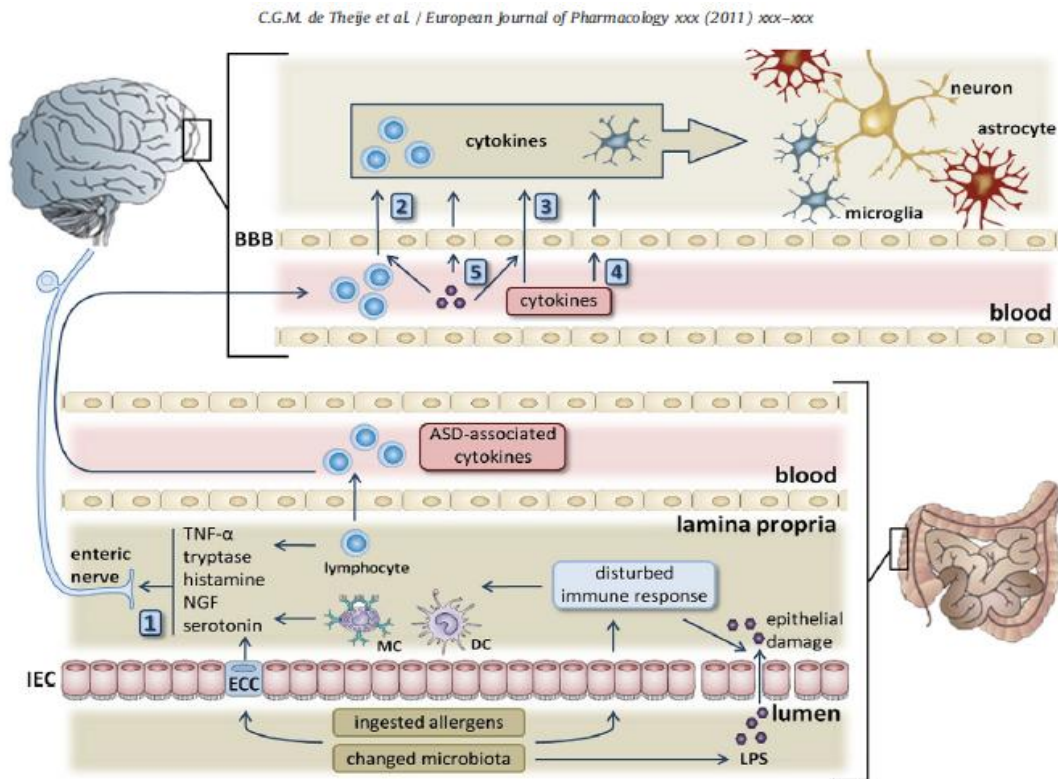
conseguiram demonstrar a eficácia da secretina no tratamento do TEA e dos transtornos gastrointestinais (ESCH; CARR, 2004).

Um total de 16 estudos genéticos relacionados ao TEA e sintomas gastrointestinais são descritos nos anos de 2001-2011. Três destes estudos elaborados por Campbell et al., 2009 mencionam o MET (gene receptor que codifica a tirosina quinase). Uma interrupção da sinalização do MET pode contribuir para aumento do risco de TEA e disfunção gastrointestinal. Um total de 11 artigos nos anos de 2005-2011 apresentaram uma relação entre doenças imunológicas e TEA. Um grande número de doenças auto-imunes apresentam algum tipo de disfunção gastrointestinal (GI), que pode ocorrer por interação com componentes genéticos, hormonais, ambientais e / ou fatores de estresse. Brown e Mehl-Madrona (2011) fizeram uma revisão que investiga possíveis ligações entre o autismo, anormalidades do sistema imunológico e sintomas gastrointestinais em um subgrupo de crianças com autismo. A pesquisa bibliográfica no Medline (1950 a Setembro de 2010) identificou 71 publicações relacionando autismo e sintomas gastrointestinais e 237 publicações relacionando autismo e imunidade. Efetuando o cruzamento destas referências foi possível evidenciar que um subgrupo de crianças com autismo pode sofrer concomitantemente de problemas no sistema imunológico e sintomas gastrointestinais.

O mais recente estudo sobre a ligação do sistema nervoso entérico, sistema nervoso central e fatores imunológicos, foi descrito por Theije et al. (2011). Os dados sobre os distúrbios gastrointestinais tais como alteração da flora e infiltração de células T, indicam fortemente uma resposta imune alterada em indivíduos com TEA. Desconhece-se se a associação entre o comportamento autístico e distúrbios gastrointestinais é uma relação de causa e efeito ou um fator intrínseco. A figura 1 tenta explicar como os fatores imunológicos de origem gastrointestinal podem influenciar no funcionamento neuronal e conseqüentemente a alteração de comportamento dentro dos TEA.

Após perturbação imune no trato gastrointestinal, as células epiteliais do intestino (IEC) tornam-se mais permeáveis. As células enterocromafins (ECC), linfócitos, mastócitos (MC) e células dendríticas (DC) secretam todos os tipos de fatores neuroimunes que podem estimular o nervo entérico (1). Em adição citocinas e linfócitos estão na circulação e atravessam a barreira hematoencefálica (BB) (2). Citocinas séricas podem atravessar a barreira sangue cérebro (BB) (3) e citocinas podem se ligar a células neurogliais do cérebro, induzindo a uma resposta imune (neuroinflamação) (4). LPS (lipossacarídeo) promovem o aumento da permeabilidade da barreira sangue-cérebro, aumentando liberação de citocinas

que se ligam a células do cérebro, acarretando a resposta imune (5) e alteração da homeostase neuronal.



**Figura 1.** Possíveis vias envolvidas nas interações neuroimunes nos TEA (THEIJE et al., 2011).

Antígenos alimentares, bactérias e alguns produtos podem levar a uma inflamação intestinal e conseqüentemente a um aumento da permeabilidade. Recentemente, Magistris et al. (2010) demonstraram que indivíduos com TEA apresentaram um aumento da permeabilidade intestinal de 36,7% em comparação com os controles.

Outro dado interessante no estudo de Theije e et al. (2011) é com relação à hiperserotonemia observada em 1/3 de indivíduos com TEA. A hipótese para este fato é que durante a resposta inflamatória no intestino, a serotonina (5HT) é produzida e liberada pelas células enterocromafins (ECC), acarretando uma dismotilidade e conseqüente alteração da consistência das fezes. É observada também uma infiltração de leucócitos na parede intestinal.

De acordo com Theije et al. (2011) com uma maior utilização do triptofano (precursor da 5HT) pelo intestino através da dieta, teremos menos triptofano disponível para passagem pela barreira sangue cérebro e, portanto diminuição de 5HT cérebro, acarretando disfunções cognitivas nos indivíduos com TEA. Desta forma, justifica-se em alguns casos uma intervenção medicamentosa com ISRR (inibidores seletivos de recaptção de serotonina) e dieta com triptofano.



Após o que foi exposto, sugere-se que a inflamação gastrointestinal em pacientes com TEA podem influenciar a homeostase cerebral, bem como o comportamento observado em indivíduos com TEA. Vale ressaltar que de acordo com Sargent (1993), somente durante a gestação, o feto estaria susceptível a passagem de substâncias, como as citocinas, através da barreira hematoencefálica ocasionando uma alteração no desenvolvimento cerebral do mesmo. Não existe até o momento estudos que comprovem um aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica em pacientes autistas.

Outro estudo de Castellani et al. (2009) discute o número elevado de mastócitos em crianças com TEA e de concentrações elevadas de serotonina na urina. Além disso, uma disfunção das condições clínicas, tais como sintomas gastrointestinais e imunológicos, é frequentemente observado em crianças com autismo, no entanto, a IgE não parece ser predominante nestas crianças, mas provavelmente um aumento de citocinas/quimiocinas produzidas pelos mastócitos, que numa fase precoce de idade pode desempenhar um papel importante. Portanto, uma hipótese imunológica, envolvendo também a autoimunidade, é um mecanismo patogénico possível no autismo. Em conclusão, a ativação de mastócitos pode contribuir para anormalidades imunológicas e neuroinflamatória que são evidentes em pacientes com TEA.

Valicenti-McDermott et al. (2006) realizaram um estudo transversal que compara prevalência dos sintomas gastrointestinais (SGI) em crianças TEA e crianças com desenvolvimento típico e outras deficiências de desenvolvimento (DD) e examina a associação de sintomas gastrointestinais, com a história familiar de doença autoimune. A entrevista estruturada foi realizada em 50 crianças com TEA e 2 grupos controle pareados por idade, sexo e etnia -50 com desenvolvimento típico e 50 com outras DD. 74% eram do sexo masculino, com idade média de 7,6 anos ( $DP \pm 3,6$ ). Sintomas gastrointestinais foram relatados em 70% das crianças com TEA em comparação com 28% das crianças com desenvolvimento típico ( $p < 0,001$ ) e 42% das crianças com DD ( $p = 0,03$ ). Padrão de fezes anormais foi mais comum em crianças com TEA (18%) do que nos controles (desenvolvimento típico: 4%,  $p = 0,039$ ; DD: 2%,  $p = 0,021$ ). Seletividade alimentar também foi maior em crianças com TEA (60%) em comparação com aqueles com desenvolvimento típico (22%,  $p = 0,001$ ) e DD (36%,  $p = 0,023$ ). A história familiar de doença autoimune foi relatada em 38% do grupo de TEA e 34% dos controles e não foi associada a uma taxa diferencial de sintomas gastrointestinais. Na análise multivariada, o autismo (*odds ratio* ajustado (OR) 3,8; intervalo de confiança de 95% (CI) 1,7-11,2) e alimentos seletividade (OR ajustado 4,1; 95% CI 1,8-9,1) foram associadas com sintomas gastrointestinais. As crianças

com TEA têm uma maior taxa de sintomas gastrointestinais que as crianças com desenvolvimento típico ou outra DD. Neste estudo, não houve associação entre história familiar de doença autoimune e sintomas gastrointestinais em crianças com TEA.

Outros nove estudos publicados entre 2002 e 2012 relacionam os problemas gastrointestinais devido a alterações da flora intestinal. Os estudos demonstraram diferenças desta microbiota entre pacientes com TEA e os controles. As alterações observadas foram em espécies compostas por várias estirpes de *Clostridium*, *Ruminococcus* e *Bacteroidetes*, *Firmicutes* e *Desulfovibrio* (FINEGOLD et al., 2002; FINEGOLD et al., 2010; PARRACHO et al., 2005). Um artigo recente demonstrou baixos níveis de *Bifidobacterium* e maiores níveis de *Lactobacillus* (todas as cepas) nos TEA, ambos considerados como bactérias benéficas (ADAMS et al., 2011). Curiosamente o tratamento com antibióticos em crianças com TEA não só levou a uma melhora dos problemas gastrointestinais como também na melhoria das habilidades cognitivas (THEIJE et al., 2011).

O estudo mais recente realizado por Williams et al. (2012) demonstrou que a espécie *Sutterella* é um componente importante da microbiota em mais da metade das crianças com autismo com disfunção gastrointestinal e está ausente em crianças com apenas disfunção gastrointestinal. O estudo foi conduzido com 32 pacientes, 23 diagnosticados com autismo e nove crianças controle. Doze das 23 amostras de tecido extraídas do intestino das crianças autistas apresentaram uma quantidade relativamente grande da bactéria *Sutterella*. Em contrapartida, este tipo de bactéria não foi encontrada em crianças sem diagnóstico para autismo. A *Sutterella* tem sido associada a distúrbios gastrointestinais, mas não é uma bactéria muito conhecida. Os resultados são muito significativos, pois estudos anteriores utilizavam amostras de fezes para pesquisar as bactérias presentes no intestino, e este utilizou amostras de tecido do intestino, refletindo melhor as bactérias existentes na parede intestinal das crianças estudadas.

Cerca de 57 estudos demonstram a prevalência dos SGI nos TEA. Buie et al. (2010) revisaram a literatura e relataram que a prevalência de sintomas gastrointestinais (constipação, diarreia, flatulência, dor abdominal, refluxo e vômito) em crianças com TEA variam amplamente de 9 a 91%. Uma dispersão imensa é parcialmente devido a diferentes interpretações dos problemas gastrointestinais (THEIJE et al., 2011).

Outro estudo realizado com 100 crianças (1 a 18 anos) no TEA relatou 68% das crianças com sintomas gastrointestinais incluindo padrão de fezes anormais, constipação frequente, vômitos e dor abdominal não associada à constipação intestinal. Neste estudo foi aplicado um questionário aos pais, que incluía dados do desenvolvimento da criança, uso de

medicamentos, informação dietética e vários questionamentos sobre os sintomas gastrointestinais. Os participantes relataram se o sintoma era atual ou se existiu no passado, a sua frequência em uma escala de 1 a 4 (de raramente a muito frequente) e o número de vezes que isso ocorreu por dia, semana ou mês (VALICENTI-MCDERMOTT et al., 2008).

Wang, Tancredi e Thomas (2011) realizaram um dos maiores estudos sobre transtornos gastrointestinais no TEA. O estudo foi realizado com 589 crianças dentro do espectro autista diagnosticadas pelo ADOS e ADI-R e seus 163 irmãos (grupo controle). Os indivíduos com TEA foram subdivididos em três grupos de severidade do autismo. Nos dados obtidos, os pais relataram significativamente mais problemas gastrointestinais em crianças com TEA (249/589; 42%) em comparação com os seus irmãos não afetados (20/163; 12%) ( $P < 0,001$ ). Os dois problemas gastrointestinais mais comuns em crianças com TEA foram constipação (116/589; 20%) e diarreia crônica (111/589; 19%). Os pais relatam problemas gastrointestinais significativamente maiores em crianças com TEA, especialmente aqueles com autismo típico, que em filhos não afetados pelo transtorno.

De acordo com Adams (2011) os distúrbios gastrointestinais estão fortemente relacionados com a gravidade do comportamento autístico.

Estudo recente realizado por Gorrindo et al. (2012) teve como objetivo caracterizar os sintomas gastrointestinais (SGI) em crianças com TEA, comparando o relato dos pais através de um questionário validado com os resultados das avaliações clínicas de um gastroenterologista. Foram avaliados também os hábitos alimentares e o uso de medicamentos em relação aos sintomas gastrointestinais. Fizeram parte do estudo 121 sujeitos entre 5,1 e 17,9 anos de idade, divididos em três grupos (TEA com SGI = 40; TEA-somente = 45; SGI somente=36). O gastroenterologista avaliou os dois grupos com SGI e os pais de todos os três grupos responderam a questionários sobre o comportamento do seu filho, sintomas gastrointestinais e um diário alimentar. Os medicamentos foram consultados e classificados de acordo com seus efeitos adversos em relação aos SGI como: dor abdominal, constipação, indigestão, náuseas, vômitos ou diarreia. A constipação foi o tipo mais comum de SGI em crianças com TEA (85,0%). O relato dos pais em relação aos SGI foi altamente concordante com o diagnóstico clínico para SGI (92,1%). Presença de SGI em crianças com TEA não foi associada com diferentes hábitos alimentares e uso de medicação. Maiores chances de constipação foram associados com a menor idade, menor sociabilidade e falta de linguagem expressiva (*odds ratio* ajustada em crianças não verbais: 11,98, intervalo de confiança de 95% 2,54-56,57). Este estudo confirmou as preocupações dos pais em relação aos SGI em crianças com TEA e de como os pais foram sensíveis à existência, embora não necessariamente a

natureza dos SGI. A forte associação entre constipação e comprometimento linguagem destaca a necessidade de vigilância por profissionais de saúde para detectar e tratar SGI em crianças com TEA. Medicamentos e dieta, geralmente associados na contribuição dos SGI em pacientes com TEA, não foram associados neste estudo.

A seguir uma tabela com o resumo dos estudos sobre sintomas gastrointestinais em TEA e os resultados de prevalência destes sintomas:

**Tabela 1.** Prevalência de Transtornos Gastrointestinais (TGI) em indivíduos com Transtorno do Espectro do Autismo (TEA)

FONTE	PREVALÊNCIA GLOBAL	PREVALÊNCIA ESPECÍFICA DO DISTÚRBO GI	TAMANHO AMOSTRA	CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA	CONTROLE	COMENTÁRIOS
D'Eufemia P et al. (1996)		43% com alteração da permeabilidade intestinal (vs 0%)	21	Crianças com TEA	40	Foi determinada a ocorrência de dano intestinal da mucosa através do teste de permeabilidade intestinal
Horvath K et al. (2000)		69,5% com esofagite de refluxo; 42% gastrite crônica; 67% duodenite crônica.	36	Crianças com TEA e SGI		crianças submetido a endoscopia digestiva alta com biópsia, análises de enzimas intestinais e pancreáticas e culturas bacterianas e fúngicas
Fombonne and Chakrabarti (2001)	18.8% com SGI	9.4% constipação; 5.2% dores abdominais; 5.2% sangue fezes; 3.1% diarreia	96	26 crianças TEA; 56 autismo atípico; 1 com Asperger		questionário pais e/ou avaliação pediatra
Lightdale et al. (2001)		36% moderada ou grave constipação (vs 10% ); 54.4% moderado ou grave dilatação retossigmóide (vs 24.1%)	103	Crianças com TEA em torno de 18 anos de idade	29 crianças sem TEA apresentando dores abdominais	estudo retrospectivo com radiografias abdominais
Horvath and Perman (2002)	84.1% com $\geq 1$ TGI (vs 31.2% ); 41.1% com $\geq 4$ SGI (vs 5%)	44% desconforto abdominal (vs 9%); 54% gases (vs 19%); 34% inchaço (vs 5%); 24% asia (vs 9%); 16% refluxo (vs 5%)	412	Crianças com TEA	43 irmãos saudáveis	entrevistas com pais
Black et al. (2002)	9% apresentaram SGI		96	crianças com TEA	449 crianças pareadas idade sexo	
Taylor et al (2002)	17% com doenças crônicas intestinais	8.9% constipação crônica; 4.0% diarreia; 1.5% constipação e diarreia	473	278 crianças TEA infância e 195 autismo atípico		
Molloy and Manning-Courtney (2003)	24% com $\geq 1$ SGI crônico	12% diarreia crônica; 9% constipação crônica; 7% refluxo/vômitos crônicos; 2% dores abdominais; 2% gases	137	população geral de crianças com TEA		
Parracho et al. (2005)	91.4% (vs 25% dos irmãos e 0% crianças saudáveis)	75.6% diarreia; 55.2% gases; 46.6% dores abdominais; 44.8% constipação e 43.0% fezes anormais.	58	crianças com TEA com idades de 3- 16 anos	2 grupos controles: 12 irmãos sem TEA e 10 crianças saudáveis	Dados obtidos através de questionário

FONTE	PREVALÊNCIA GLOBAL	PREVALÊNCIA ESPECÍFICA DO DISTÚRBO GI	TAMANHO AMOSTRA	CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA	CONTROLE	COMENTÁRIOS
Valicenti-McDermott et al. (2006)	70% com $\geq$ 1 SGI (vs 28% sujeitos com desenvolvimento típico)	44% constipação crônica (vs 16% e 38%); 28% escape fecal (vs 2% e 12%); 18% vômitos frequentes	50	crianças com TEA faixa idade 1-18 anos	2 grupos de controle pareados sexo, idade, etnia: 50 crianças com	estudo transversal onde as taxas de prevalência foram determinadas através entrevistas estruturadas
Ming et al. (2008)	59% com TGI	De 94 (59%) com TGI; 38% diarreia ou fezes anormais; 28% constipação; 19% refluxo gastroesofágico	160	crianças com TEA		Prevalência baseada na história clínica retrospectiva e formulário preenchido pelos cuidadores
Nikolov et al (2009)	23% com moderado ou grave problemas gastrointestinais (diarreia e constipação)	2% com > 1 moderado ou grave problemas gastrointestinais	172	(88% TEA, 8% TID-SOE, 4% Asperger)		presença do TGI através história clínica e questionário cuidadores
Ibrahim SH, Voigt RG, Katusic SK, Weaver AL, Barbaresi WJ. (2009)		33,9% constipação ( vs 17,6%); 24,5% alimentação / seletividade alimentar ( vs 16,1).	124	crianças com TEA avaliadas até 18 anos idade	2 indivíduos base populacional controle pareados para cada caso	Diagnósticos gastrointestinais antes dos 21 anos de idade foram agrupados em 5 categorias: (1) prisão de ventre; (2) diarreia, (3) inchaço abdominal, desconforto ou irritabilidade; (4) refluxo gastroesofágico ou vômitos, e questões (5) de alimentação ou de alimentos seletividade.
Mouridsen SE, Rich B, Isager T. (2010)	30,5% TGI (vs 30,7%)	20,3% doenças cavidade oral (vs 1,2%)	118	crianças com autismo infantil e SI	336 população geral	Média de observação foi até 43 anos de idade. Avaliou-se a % indivíduos TEA vs controle que visitaram ambulatório médico neste período ( 82% vs 93%) e também % TGI.
Wang LW, Tancredi DJ, Thomas DW (2011)	42% crianças apresentaram TGI em comparação com 12% controle.	20% constipação; 5% diarreia crônica	589	crianças com TEA	163 irmãos	Entrevista com pais com neuropediatra: ADOS para diagnóstico TEA
Gorrindo P et al. (2012)		85% constipação em crianças com TEA e SGI	121	40 TEA e SGI 45 TEA somente 36 SGI somente		Entrevista com pais questionários validado sobre SGI e avaliação gastroenterologista; avaliação da dieta alimentar - diário alimentar

A serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT) é uma indolamina, produto da transformação do aminoácido L-Triptofano. O triptofano é um aminoácido que ao sofrer ação da triptofano-hidroxilase, transforma-se em 5-HTP (5-hidroxitriptofano), que é um nutriente encontrado em alimentos ricos em proteínas e considerado o precursor direto da serotonina. Elevação dos níveis plasmáticos de serotonina (hiperserotonemia) em sujeitos com autismo foi primeiramente descrita por Schain e Freedman em 1961. Posteriormente Launay et al. (1988) e Naffah-Mazzacoratti et al. (1993) também demonstraram este aumento de 5HT no sangue e plaquetas em cerca de 30-40% dos casos de autismo. Os prováveis mecanismos para a hiperserotonemia no autismo inclui o aumento da síntese de serotonina (5HT) pelo triptofano hidroxilase (TPH), aumento da captação através de plaquetas pela 5HT transportador (5HTT), a liberação diminuída de plaquetas através de 5HT<sub>2A</sub> receptor

(5HT2Ar) e diminuição do metabolismo de monoamina oxidase (MAO) (HRANILOVIC et al., 2008).

Considerando a ocorrência de hiperserotonemia em sujeitos com autismo bem como a utilização de inibidores de recaptação de serotonina para tratamento dos comportamentos repetitivos, o sistema serotoninérgico parece estar envolvido na etiologia e na fisiopatologia do autismo (ANDERSON, 2002). No entanto, os estudos publicados até o momento comparando os níveis de serotonina no sangue com sintomas comportamentais do autismo falharam em demonstrar qualquer padrão consistente (KUPERMAN et al, 1987; MULDER et al, 2004; HRANILOVIC et al, 2007). O estudo de Kuperman et al. (1987) avaliou 25 meninos com autismo infantil e apesar de não haver correlação significativa entre concentração de serotonina e notas na escala do ABC (*Autism Behavior Checklist*), quatro itens individuais no ABC que refletem sintomatologia comportamental foram significativamente associados com a concentração de serotonina. A relação entre os níveis de serotonina e os sintomas comportamentais no autismo é de particular interesse porque este domínio concentra-se em sintomas (por exemplo, comportamentos repetitivos e interesses restritos, compulsões e estereotípias motoras), que podem responder às medicações serotoninérgicas. Tem havido relativamente poucos estudos controlados com medicamentos serotoninérgicos até hoje, demonstrando que uma relação entre o domínio de comportamento e nível de serotonina pode incentivar ensaios adicionais no futuro (KOLEVZON et al., 2010).

A serotonina presente no sangue em grande parte tem sua origem no intestino, onde é sintetizada pelas células enterocromafins da mucosa intestinal. Parte desta serotonina é utilizada localmente pelo sistema nervoso entérico e a outra se difunde pela circulação sanguínea, onde é rapidamente eliminada pelo fígado e pulmões (GERSHON, 2004). Considerando que a barreira hemato encefálica é praticamente impermeável à serotonina, é muito improvável que a serotonina livre no plasma chegue ao cérebro. Assim, a serotonina encontrada no SNC, e que exerce importante efeito no desenvolvimento cerebral, deve ser produzida localmente (JANUSONIS, 2008).

A serotonina é um neurotransmissor derivado do triptofano, sintetizada e liberada pelas células enterocromafins por aumento da pressão intraluminal do intestino e estímulos químicos. Ela atua nos receptores (5-HT 1p; 5 – HT3; 5-H4) existentes nos neurônios aferentes intrínsecos primários mediando reflexos entéricos capazes de alterar a secreção intestinal, a contração muscular (SCHWERTZ; BRADESI; MAYER, 2003) e a absorção de água através da parede intestinal (BERNE; LEVY, 2009). Aumento dos níveis de serotonina observados em pacientes com TEA, proporcionam o aumento da motilidade intestinal,

aumento da secreção, vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, acarretando uma dismotilidade e consequente alteração da consistência das fezes (diarreia ou constipação) (THEIJE, 2011).

A primeira infância é um período em que as crianças experimentam novos alimentos, sabores e texturas. Os pais muitas vezes descrevem seus filhos como crianças que se recusam a comer uma variedade de alimentos. Especificamente pais de crianças com TEA relatam muitos desafios com as atividades diárias das crianças em relação ao comportamento, comunicação e também frequentemente expressam uma preocupação relacionada à hora das refeições, pois relatam que seus filhos são altamente seletivos, com repertório muito restrito de aceitação de alimentos, que pode ser limitada a um mínimo de cinco alimentos. Estas questões são as principais razões para o encaminhamento de crianças para serviços de nutrição (CERMAK; BANDINI, 2010).

Estudos sugerem que a seletividade alimentar é mais comum em crianças com TEA do que em crianças com desenvolvimento típico, e que um repertório limitado de alimentos podem estar associado a uma nutrição inadequada. Estas crianças são muitas vezes descritas como excessivamente seletivas, com aversão a texturas específicas, cores, cheiros, temperaturas e rigidez com relação a marcas específicas de alimentos (RAITEN; MASSARO, 1986; SCHRECK; WILLIAMS; SMITH, 2004).

No estudo de Bandini et al. (2010) a seletividade alimentar foi investigada em três domínios: 1) recusa alimentar; 2) repertório limitado de alimentos; e 3) alta frequência de consumo alimentar individual. A hipótese era de que crianças com TEA exibem uma seletividade maior a alimentos do que as crianças com desenvolvimento típico. Também foi avaliado se a seletividade alimentar foi associada com ingestão inadequada de nutrientes, uma vez que isso teria implicações importantes para uma dieta adequada. A seletividade alimentar foi comparada entre 53 crianças com TEA e 58 com desenvolvimento típico com idades entre 3-11 anos. Os resultados mostram que crianças com TEA apresentaram uma recusa maior ao alimento do que as crianças com desenvolvimento típico (41,7% vs 18,9% dos alimentos oferecidos,  $p < 0,0001$ ). Um repertório de alimentos mais restrito foi relatado para crianças com TEA do que crianças com desenvolvimento típico (19,0 vs 22,5 alimentos,  $p < 0,001$ ). Em ambos os grupos todas as crianças tinham uma ingestão inadequada de fibra. Além de fibras, a inadequação de nutrientes era comum para a vitamina D, vitamina E e cálcio. Ingestão inadequada de vitamina D e cálcio foi mais frequente para as crianças com TEA em comparação com crianças com desenvolvimento típico.

Em relação à dieta alimentar de crianças com TEA, Lightdale, Siegel e Heyman (2001) realizaram um estudo com 500 pais de crianças autistas e praticamente metade deles relataram que seus filhos tinham fezes soltas ou diarreia frequentes. Intolerância alimentar foi observada principalmente para o trigo e leite de vaca.

Neste contexto de desequilíbrios bioquímicos e metabólicos que afetam múltiplos sistemas orgânicos, a alimentação parece desempenhar um papel bastante positivo, auxiliando no equilíbrio do indivíduo como um todo. Alguns estudos, relatos empíricos e inquéritos familiares mostram evidências de que as intervenções dietéticas têm alcançado algum sucesso na melhora dos sintomas do autismo. Existe à disposição de pais, cuidadores e profissionais uma gama de opções de dietas especiais que podem ser direcionadas ao tratamento de indivíduos com autismo (RODRIGUES, 2010). Neste momento, é necessária uma investigação mais detalhada para determinar eficácia das abordagens de terapia dietética, pois nenhuma investigação até o momento comprova cientificamente a eficácia destas dietas.

Várias terapias alternativas têm sido disseminadas aos pais de crianças com autismo. Diferentes estratégias nutricionais têm sido sugeridas, incluindo restrição de alérgenos alimentares, probióticos, dieta livre de glúten e caseína e suplementos alimentares, tais como as vitaminas A, C, B-6, e B-12, de magnésio e ácido fólico. Uma das intervenções mais populares no TEA é a dieta livre de glúten e caseína. A hipótese é que alguns sintomas podem ser o resultado de peptídeos opióides formados a partir da decomposição incompleta de alimentos contendo glúten e caseína. Aumento da permeabilidade intestinal, também referida como a "síndrome do intestino solto", permite que estes peptídeos atravessem a membrana intestinal, entrem na corrente sanguínea e atravessem a barreira hematoencefálica, afetando o sistema nervoso. O excesso destes opióides levaria a comportamentos observados no TEA, e a remoção destas substâncias da dieta se assemelha a uma mudança positiva de comportamentos nos autistas (ELDER, 2008). Dos diferentes tipos de intervenções mencionadas, até o momento, não existem bases científicas e evidências para apoiá-las.

À medida que a comunidade médica aguarda evidências adicionais de estudos clínicos, os profissionais de alimentação e nutrição têm um papel importante a desempenhar para garantir a saúde e a segurança de crianças autistas, cujas famílias optaram por prosseguir abordagens dietéticas para o tratamento. Além disso, é importante exortar as famílias a avaliar periodicamente os prós e contras de todas as abordagens dietéticas para o tratamento (PEREGRIN, 2007).



Este estudo não terá como objetivo estudar a dieta mais adequada para crianças no TEA, mas sim fazer uma verificação da possível interferência desta dieta nos sintomas gastrointestinais.

## **2 JUSTIFICATIVA**

Destes pressupostos até agora discutidos, surgiu a justificativa desta dissertação no âmbito de um programa cujo foco seja os distúrbios do desenvolvimento. Primeiramente devido aos inúmeros sintomas frequentemente observados em pacientes com TEA, como, por exemplo, os transtornos gastrointestinais, os quais causam por vezes desconforto e acometimentos em outras áreas cognitivas da criança. Em segundo lugar, a tentativa de elucidação da etiologia destes sintomas gastrointestinais em função da dieta alimentar e/ou dos níveis de serotonina sérica e uso de medicamentos. Por fim, porque este estudo pode contribuir na compreensão destes quadros, proporcionando conhecimento útil ao subsídio e delineamento de um plano terapêutico ou programa de intervenção.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

- Investigar em indivíduos com TEA os sintomas gastrointestinais, níveis séricos de serotonina, hábitos alimentares e uso de medicamentos.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Verificar por meio de um questionário estruturado a frequência de transtornos gastrointestinais e os hábitos alimentares das crianças com TEA;
- Quantificar os níveis de serotonina sérica no sangue de pacientes no TEA pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência;
- Associar a serotonemia, os hábitos alimentares e o uso de medicamentos das crianças com TEA com os possíveis transtornos gastrointestinais.

## 4 MÉTODO

### 4.1 Local da Realização da Pesquisa

Na coleta de dados deste estudo, a casuística foi proveniente da rede municipal de ensino do município de Barueri, Estado de São Paulo, da Clínica de Transtornos Invasivos de Desenvolvimento da Universidade Presbiteriana Mackenzie (Clínica TID-Mack) e da Associação de Pais e Amigos dos Autistas de Guarujá (APAAG).

A opção pelo município de Barueri deu-se em função dos seguintes critérios: ter sua população concentrada em zona urbana e conseqüentemente ter facilidade de acesso às famílias dos alunos; apresentar 46.195 alunos matriculados no Ensino Fundamental e, dentre estes, cerca de 1700 com algum tipo de deficiência ou transtorno global de desenvolvimento, estar localizada na zona oeste da região metropolitana da grande São Paulo, portanto próxima a Universidade Presbiteriana Mackenzie, tanto do *Campus* São Paulo, como o *Campus* Tamboré, localizado na região de Barueri. As seguintes Secretarias dentro do município de Barueri desempenharam papel importante para a coleta de dados deste estudo. A primeira delas, a Secretaria Municipal de Educação que conta com uma rede municipal de ensino com 92 escolas, atende mais de 60 mil alunos e com 23 salas de atendimento educacional especializado. A Secretaria dos Direitos da Pessoa com Deficiência (SDPD), criada com o objetivo de melhorar a qualidade de vida das pessoas com algum tipo de deficiência (mental ou física) e de seus familiares, formulando e executando políticas públicas e propondo diretrizes ao atendimento deste cidadão visando a sua inclusão social. E por fim, a Secretaria de Saúde, onde o Centro de Atenção Psicossocial Infantil (Capsi) e Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) desempenham papel importante na saúde da população com necessidades especiais dentro do município. A Clínica de Transtornos Invasivos de Desenvolvimento da Universidade Presbiteriana Mackenzie (Clínica TID-Mack), foi criada por iniciativa de um grupo de professores do Programa de Pós-Graduação em Distúrbios do Desenvolvimento da UPM no ano de 2004. A equipe básica é composta por 4 profissionais: neuropsicóloga, fonoaudióloga, médico neuropediatra e médico geneticista. Cada avaliação é composta por: a) triagem: na qual através de uma consulta com a observação do sujeito e dos pais ou cuidadores é decidido se há suspeita de tratar-se de um caso de TID; b) sessões de avaliação neuropsicológica; c) sessões de avaliação fonoaudiológica; d) sessões de exame físico neurológico e genético-morfológico; e) sessões de testes adicionais. Quando a avaliação se completa a equipe se reúne e gera um relatório que consistirá na devolutiva para a família com: a) relato de todas as avaliações realizadas; b) diagnóstico de TID com provável sub-tipo;

c) diagnóstico de não TID com sugestão de diagnóstico alternativo; d) recomendações para intervenções. A Associação de Pais e Amigos dos Autistas de Guarujá – APAAG é uma entidade civil comunitária sem fins lucrativos, fundada em 30 de setembro de 2000, tem por finalidade, acolher, assistir e promover a inclusão dos autistas e seus familiares nos âmbitos biopsicossocial e educativo para o exercício da cidadania. Surgiu com o objetivo de atender os anseios de um grupo de pais que desejavam obter tratamento adequado para o desenvolvimento de seus filhos, uma vez que o município não oferece atendimento específico aos autistas.

#### **4.2 Amostra**

Participaram da pesquisa 100 sujeitos diagnosticados com os Transtornos do Espectro do Autismo com idades entre três e 21 anos, faixa etária que inclui a infância e adolescência. Da rede municipal de ensino de Barueri, dos 114 casos suspeitos de TEA fornecidos pela SDPD, 68 casos foram confirmados como TEA e 32 casos refutados. Um total de cinco pacientes com dúvidas no diagnóstico foram encaminhados para a Clínica TID-Mack para uma análise mais completa e estão em avaliação. Tivemos uma perda amostral de nove casos, sendo sete deles por motivos de evasão escolar e transferências para outros municípios e dois deles por faltarem nas triagens após várias convocações. Da Clínica TID-Mack foi possível realizar a coleta de nove pacientes com diagnóstico de TEA e da APAAG, dos 29 casos avaliados, 26 foram confirmados e três refutados.

O grupo controle foi formado por crianças/adolescentes diagnosticados com TEA, que não possuem os sintomas gastrointestinais.

#### **4.3 Critérios de Inclusão e Exclusão**

Os casos tiveram um diagnóstico prévio de TEA dado por um neurologista ou pediatra. Foi confirmada esta informação pela revisão dos prontuários e entrevista com a equipe de pesquisa. Os critérios diagnósticos estão de acordo com o DSM-IV-TR. Foram excluídas as crianças/adolescentes com síndromes genéticas conhecidas, como a trissomia 21, esclerose tuberosa e síndrome de Rett, por causa da conhecida associação destes estados com o aumento da sintomatologia gastrointestinal.

#### **4.4 Instrumentos**

##### *O ASQ ou Questionário de Rastreamento do Autismo*

É um instrumento de fácil aplicação, desenvolvido por Berument et al (1999) e traduzido para a língua portuguesa, adaptado à cultura brasileira e validado para sua utilização

no Brasil por Sato et al. (2009). O instrumento consiste de 40 perguntas respondidas pelo cuidador da criança a partir de 4 anos de idade. Seu objetivo é de auxiliar na triagem de crianças com suspeita de TEA, com diagnóstico baseado na pontuação de comportamentos organizados em três áreas de funcionamento: interação social, comunicação e padrões repetitivos e estereotipados. (ANEXO A)

#### *O ABC ou Lista de Checagem de Comportamento Autístico*

É um instrumento de fácil aplicação, foi traduzido para a língua portuguesa e validado para sua utilização no Brasil como Inventário de Comportamentos Autísticos (ICA) por Marteleto e Pedromônico (2005). O instrumento contém 57 perguntas que abarca comportamentos organizados em cinco áreas: sensoriais, relacionais, imagem corporal, linguagem, interação social e autocuidado. (ANEXO B)

#### *Questionário de Sintomas Gastrointestinais*

O questionário de sintomas gastrointestinais aplicado foi referenciado no estudo de Valicenti et al. (2008) e aborda os seguintes aspectos: vômitos, diagnóstico prévio de refluxo gastro-esofágico, dor abdominal, fezes anormais, constipação, diarreia uso de laxantes ou enemas, escape fecal, número de evacuações por dia, visitas anteriores ao gastroenterologista, histórico familiar de doença celíaca ou doenças inflamatórias intestinais.

Para a tradução e adaptação cultural, a fim de facilitar a compreensão dos entrevistados, o questionário foi apresentado e discutido com dois médicos. O questionário (ANEXO C) é constituído de 13 perguntas relacionadas aos sintomas gastrointestinais. Os responsáveis legais indicaram para cada sintoma, a frequência com que o mesmo ocorreu nos últimos 6 meses (nunca; 1 vez mês; 2 a 3 vezes mês; 1 vez por semana; 2 a 4 vezes semana; 1 vez dia; 2 ou mais vezes dia). Para facilitar a visualização e determinação desta frequência, foram preparados cartões para a entrevista. Inicialmente foram feitas algumas perguntas específicas com relação ao uso de medicamentos e histórico da criança/adolescente em relação aos transtornos gastrointestinais. A determinação da existência ou não dos sintomas gastrointestinais foram verificadas de acordo com os critérios do Questionário de Sintomas Gastrointestinais Roma III versão QPGS-RIII (Adaptado do *Questionnaire on Pediatric Gastrointestinal Symptoms*, (WALKER; CAPLAN-DOVER; RASQUIN-WEBER, 2000). Os critérios de Roma é um sistema desenvolvido para classificar os distúrbios gastrointestinais funcionais, distúrbios do sistema digestivo em que os sintomas não podem ser explicados pela presença de anormalidade estrutural ou de tecido, com base em sintomas clínicos. Alguns

exemplos destes distúrbios incluem síndrome do intestino irritável, dispepsia funcional, constipação e azia.

**Tabela 2.** Critérios de Diagnósticos Roma III

SGI	ROMA III
<b>CONSTIPAÇÃO</b>	<p>Critério Diagnóstico deve incluir dois ou mais dos seguintes itens:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>* Duas ou menos evacuações por semana;</li> <li>* Pelo menos um episódio de incontinência fecal por semana;</li> <li>* História de postura retentiva ou retenção excessiva de fezes;</li> <li>* História de movimentos intestinais dolorosos ou difíceis;</li> <li>* A presença de uma grande massa fecal no reto ;</li> <li>* História de fezes de grande diâmetro, fezes anormais;</li> </ul> <p>Critérios cumpridos na ocorrência de pelo menos uma vez por semana durante pelo menos 2 meses antes do diagnóstico.</p>
<b>DORES ABDOMINAS</b>	<p>Critério diagnóstico deve incluir os itens:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>* esporádica ou contínua dor abdominal;</li> <li>* sem evidências de um processo inflamatório, alteração anatômica, metabólica ou neoplásica que explica os sintomas do sujeito;</li> </ul> <p>Critérios cumpridos na ocorrência de pelo menos uma vez por semana durante pelo menos 2 meses antes do diagnóstico.</p>
<b>LAXANTES</b>	2X mês por período de 6 meses
<b>SELETIVIDADE ALIMENTAR</b>	Consumo limitado de alimentos e rejeição de novos alimentos, presentes pelo menos a 6 meses.
<b>VÔMITOS</b>	<p>Critério diagnóstico deve incluir todos os itens:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>* em média um ou mais episódios de vômitos por semana;</li> <li>* ausência de transtorno alimentar, ruminação ou doenças graves psiquiátricas de acordo com DSM-IV-TR;</li> <li>* ausência de auto-indução de vômitos e uso de canabíoides;</li> <li>* ausência de anomalias do SNC ou doença metabólica.</li> </ul>
<b>DIARRÉIA</b>	Fezes solta ou líquidas, sem dor por um período de 4 semanas ou mais.

### *Questionário de Frequência Alimentar (QFA)*

O QFA é muito utilizado para mensurar o consumo alimentar de crianças e adolescentes e possibilita a classificação de grupos populacionais de acordo com seu consumo alimentar habitual e avalia a relação da dieta com a ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis.

Para elaboração do QFA utilizado neste estudo, foram feitas adaptações a fim de incluir em um só questionário uma lista de alimentos que perfazem a dieta de crianças e de adolescentes. Para isso, foram utilizados os Questionários de Frequência Alimentar de Colucci et al (2004) e Slater (2001). (ANEXO D)

Na construção do questionário original, Colucci et al. (2004) avaliaram o consumo alimentar de crianças de 2 a 5 anos de idade residentes no município de São Paulo. Foram aplicados pelas nutricionistas treinadas inquérito recordatório de 24h (R24h) em 207 crianças de 2 a 5 anos de idade e de ambos os sexos. A partir dos dados de R24h foi elaborada uma lista de 389 alimentos, que foram agrupados em 88 itens de acordo com a característica e o perfil do nutriente. Em seguida foram elaboradas listas de alimentos que mais contribuíam

para ingestão de energia, carboidratos, lipídeos, proteínas, retinol, vitamina C, cálcio e ferro da dieta das crianças. Após estabelecimento do ponto de corte, chegou-se a uma lista final com 57 itens alimentares, divididos em 10 categorias.

No estudo de Slater (2001) a população estudada consistia em 106 adolescentes em uma escola pública na região metropolitana de São Paulo. Foram aplicados R24h e os grupos de alimentos foram organizados de acordo com as características físicas e valores nutricionais em 140 itens. A lista final incluía 76 itens alimentares.

O questionário contém uma lista de 84 itens alimentares divididos em 10 categorias. Os responsáveis legais deverão indicar para cada item a frequência com que a criança ingeriu aquele alimento nos últimos 6 meses (nunca; menos de 1 vez mês; 1 a 3 vezes mês; 1 vez semana; 2 a 4 vezes semana; 1 vez dia; 2 a 3 vezes dia; 4 ou mais vezes dia). Para facilitar a visualização e determinação desta frequência, foram apresentados os cartões durante a entrevista. Para cada item, a unidade de medida apresentada no questionário foi a caseira (p.ex. colher de sopa, 1 fatia, 1 pacote, etc.), e a mesma foi convertida posteriormente em gramas. Para se determinar o valor em gramas do alimento consumidos pelo sujeito de pesquisa, foi utilizada uma tabela de conversão. Com este valor foi possível agora se determinar a porção diária de cada item e posteriormente do grupo alimentar. Estes cálculos foram baseados nos valores de porções diárias apresentadas no guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável (BRASIL, MS/SAS, 2008).

Com os valores das porções diárias para cada grupo de alimento, foi possível avaliar e verificar no Manual de orientação: a alimentação do lactente, a alimentação do pré-escolar, a alimentação do escolar, a alimentação do adolescente, a alimentação na escola e se estas porções estão dentro dos parâmetros estabelecidos (SBP, 2012).

#### *Coleta de Sangue*

Todas as crianças/adolescentes com diagnóstico de TEA foram convidadas a participar da coleta. A coleta foi realizada em períodos diferentes do dia (manhã e tarde) e os pacientes não estavam em jejum. Foram coletados 5mL de sangue periférico em tubo seco, que após uma espera de 3 horas para retração do coágulo, foram centrifugados por 8 minutos a 3000 rpm. O soro foi transportado em gelo seco e posteriormente armazenado a -80°C. A Secretaria de Saúde de Barueri disponibilizou o laboratório da prefeitura para a realização das coletas de sangue. Por se localizar na região central da cidade, facilitou o deslocamento dos sujeitos e de seus cuidadores.

### *Dosagem de Serotonina Sérica*

A dosagem de serotonina sérica foi realizada no Laboratório de Neurologia Experimental da UNIFESP. A quantificação foi realizada por meio da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência utilizando-se o método do padrão interno, conforme metodologia descrita por Anderson et al. (1987), e modificada por Naffah-Mazzacoratti et al. (1993). O sistema de cromatografia consiste de uma bomba LC-10AD, forno para coluna 2155 com um "loop" injetor com capacidade para 20 µl e coluna OD-224, Spheri-5 RP-18, 5-um (220 X 4,6mm) da Brownlee, e fase móvel contendo tampão e metanol 90/10 (V/V). O tampão foi preparado com Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O (7,16g/L), ácido cítrico (4,2g/L), 0,12mM EDTA e 0,0556% (w/v) ácido heptanosulfônico (HSA). O pH da fase móvel foi ajustado para 2,9 com Ácido Fosfórico 6M ou Hidróxido de Sódio 50%. O fluxo utilizado foi de 1,2 ml/min.

### *Preparação do padrão*

O padrão de serotonina (5-HT) e o padrão interno de dihidroxibenzilamina (DHBA) foram preparados nas concentrações de 2,84mg/20ml e 2,92mg/20mL, ambos diluídos com ácido clorídrico (HCl 0,1N) e estocados a -80<sup>0</sup>C. O padrão trabalho consistiu em uma diluição de 50µl de 5HT e 10µl DHBA em 15mL de ácido perclórico (HClO<sub>4</sub> 0,1M), preparado no dia do uso.

### *Preparação da amostra*

O soro (250 ul) foi submetido à desproteinização com 50 µl de ácido perclórico 3.4 M gelado. A mistura foi agitada, congelada em nitrogênio líquido por 5 minutos e centrifugada por 40 minutos a 10000 rpm. Ao sobrenadante (100 ul) foram adicionados 834 µl de solução 0,02% de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 66 µl de DHBA (2,2 mg/ml). A amostra foi filtrada e injetada no cromatógrafo.

## **4.5 Procedimentos de Coleta de Dados**

### *Triagem dos casos*

No município de Barueri, a triagem dos casos de TEA teve como ponto inicial o banco de dados elaborado pela equipe da UPM com base nas informações disponibilizadas pela SDPD. No banco de dados constavam informações detalhadas sobre cada sujeito: nome, número, nome da escola, data de nascimento, contato do responsável legal, valores de ASQ e ABC e o diagnóstico. A equipe da UPM após várias reuniões com os gestores das Secretarias Municipais dos Direitos das Pessoas com Deficiência, Educação e da Saúde de Barueri, obtiveram aprovação para a realização das pesquisas do projeto PROESP/CAPES dentre as



quais fez parte a presente pesquisa. A partir daí, a equipe da UPM identificou as regiões de cada escola onde se encontravam os casos de TEA, dividiu o mapa da cidade considerando os pólos com maior número de casos e determinou os locais dos mutirões. A equipe da UPM foi responsável em convidar os cuidadores e respectivos sujeitos de pesquisa a participar dos mutirões de triagem e aplicação dos questionários. O diagnóstico clínico foi realizado por dois especialistas em TEA da UPM, um geneticista e um neurologista infantil, seguindo os critérios estabelecidos pelo DSM-IV-TR. Paralelamente ao diagnóstico clínico, foram aplicados pelos pesquisadores psicólogos da equipe da UPM dois instrumentos para o rastreamento de TEA, *Autism Screening Questionnaire (ASQ)* e o *Autism Behavior Checklist (ABC)*. Na Clínica TID-Mack, alguns casos já triados foram selecionados para aplicação dos questionários de SGI e QFA. Na APAAG, a triagem foi efetuada a partir de uma lista de alunos fornecida pela instituição seguindo o mesmo método utilizado no município de Barueri.

#### **4.6 Procedimentos de Análise de Dados**

##### *Análise Estatística*

Foram realizadas as análises descritivas dos parâmetros investigados. As variáveis contínuas foram submetidas ao teste de Kolmogorov-Smirnov para análise de normalidade, a fim de definir a utilização de teste paramétrico (teste *t-student*) ou não paramétrico (Mann Whitney) para amostras independentes. As variáveis categóricas foram analisadas por meio do Teste Exato de Fisher (F) e Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para comparação das proporções. As variáveis contínuas com distribuição normal foram apresentadas como média (desvio padrão), as variáveis contínuas com distribuição não normal como mediana (intervalo) e as variáveis categóricas como frequência. O nível de significância considerado foi de  $p \leq 0,05$  (teste bicaudal). As análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico SPSS versão 19 para Windows.

#### **4.7 Aspectos Éticos**

Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Presbiteriana Mackenzie (Processo CEO/UPM 1381/08/2011 e CAAE 0076.0.272.000-11). Na coleta de dados, o pesquisador explicou aos responsáveis legais dos sujeitos de pesquisa os objetivos do estudo, os procedimentos realizados e recolheu o termo de consentimento livre e esclarecido assinado (ANEXO E). Todas as informações obtidas foram analisadas dentro dos princípios éticos, não sendo divulgada a identificação de nenhum participante. Após as triagens realizadas pela equipe da UPM, um relatório individual

contendo o diagnóstico, código da Classificação Internacional de Doenças e problemas relacionados à saúde - CID-10 (OMS, 2000) e comorbidades relacionadas, foi encaminhado à Secretaria de Educação e a Secretaria dos Direitos das Pessoas com Deficiência, que disponibilizaram posteriormente aos responsáveis legais. Ao final do processo, ou seja, após a defesa da dissertação de mestrado, haverá uma devolutiva sobre os resultados obtidos aos responsáveis legais dos sujeitos de pesquisa e gestores da Secretaria Municipal dos Direitos das Pessoas com Deficiência (SDPD), Secretaria da Educação do município de Barueri, da Clínica TID-Mack e da APAAG.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização da amostra e Sintomas Gastrointestinais

Cem (100) crianças/adolescentes foram divididos em dois grupos: TEA com sintomas gastrointestinais e TEA sem os sintomas gastrointestinais. A tabela 3 sumariza as principais características dos dois grupos (caso e controle).

**Tabela 3.** Caracterização dos grupos caso e controle

Características	TEA com SGI	TEA sem SGI	Teste de independência	Significância
Tamanho da amostra n (%)	42 (42)	58 (58)	-	-
Idade, média (SD) anos	10,2 (4,3)	10,2 (4,3)	t=0,000	0,999
Gênero, masculino / feminino	31 / 11	45 / 13	$\chi^2=0,19$	0,66
Comorbidades n (%)	6 (14,3%)	5 (8,6%)	$\chi^2=0,79$	0,37
Escore ABC, mediana (intervalo)	79,5 (43-136)	75,0 (27-114)	U=1067, z=-1,05	0,293
Escore ASQ, mediana (intervalo)	24,5 (6-34)	23,5 (9-31)	U=930, z=-2,02	0,043
Utiliza medicamento (s) n (%)	24 (57%)	28 (48%)	$\chi^2=0,769$	0,381
Antidepressivo n (%)	5 (21)	6 (21)	-	-
Antihipertensivos n (%)	1 (4)	1 (4)	-	-
Reposição hormonal n (%)	2 (8)	0 (0)	-	-
Antiepiléptico n (%)	9 (38)	5 (18)	-	-
Estimulante SNC n (%)	2 (8)	0 (0)	-	-
Antihistamínico n (%)	0 (0)	1 (4)	-	-
Antipsicótico n (%)	16 (67)	21 (75)	-	-

$\chi^2$ =chi square SD=desvio padrão

Quarenta e dois sujeitos, correspondente a 42% da amostra apresentaram sintomas gastrointestinais (SGI). Esses resultados são corroborados por Wang, Tancredid e Thomas, (2011), que relataram uma frequência significativamente maior de sintomas gastrointestinais em crianças com TEA (249/589; 42%) em comparação com seus irmãos não afetados (20/163; 12%), e por Magistris et al. (2010) que observaram uma frequência de 36,7% de SGI em crianças com TEA. Contudo, a prevalência dos sintomas gastrointestinais nesta população apresenta uma ampla variação (9 a 91%), conforme relatam Buie et al. (2010). A grande variabilidade fenotípica e comportamental dentro dos TEA, podem em parte justificar essa grande variação na prevalência de SGI. De fato, alguns estudos têm correlacionado o grau de severidade dos sintomas de autismo com a frequência de SGI, e que serão comentados a

seguir. Além disso, Buie et al. (2010) observaram em 11 estudos que foram analisados, limitações metodológicas em graus variáveis que predominantemente inclui a falta de instrumentos validados para a avaliação dos sintomas gastrointestinais e de grupos controle apropriados. Outro aspecto importante diz respeito à dificuldade de comunicação dos indivíduos afetados e da limitação dos pais/cuidadores em discriminar os subtipos de SGI. No entanto, apesar das limitações dos estudos a preponderância de dados é consistente com a probabilidade de uma alta prevalência de sintomas gastrointestinais em indivíduos com TEA.

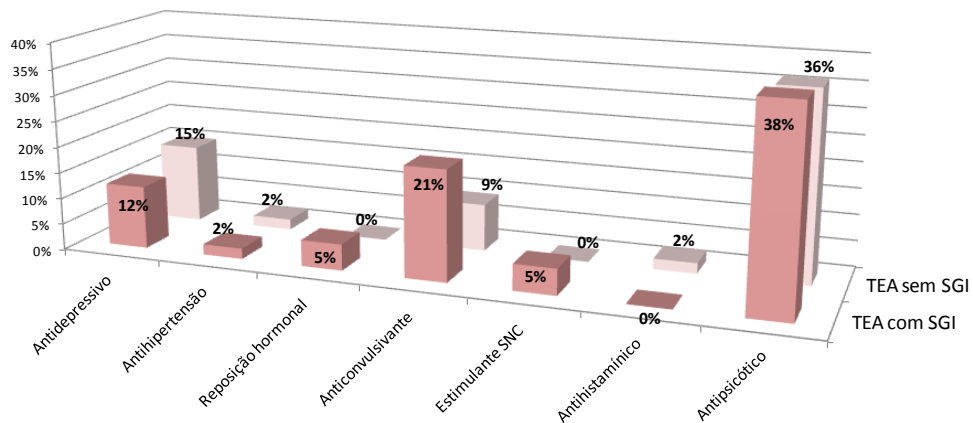
Em nosso estudo, os participantes foram predominantemente do sexo masculino (3,1/1), mas a frequência de indivíduos com ou sem sintomas gastrointestinais não diferiu significativamente entre os gêneros. A idade média dos participantes e a frequência de comorbidades também não diferiram significativamente entre os grupos. No entanto, os resultados mostram que os escores do ASQ foram significativamente maiores nos sujeitos com TEA com sintomas gastrointestinais. Nossos resultados são corroborados por Wang, Tancredid e Thomas, (2011) e Adams et al. (2011). Utilizando a regressão logística, Wang, Tancredid e Thomas, (2011) relataram que indivíduos com TEA que obtiveram maiores escores na ADI-R (*Autism Diagnostic Interview- Revised*) apresentaram maiores chances para experimentar problemas gastrointestinais. Similarmente, Adams et al. (2011) observaram que a severidade dos sintomas gastrointestinais, avaliados pelo Índice de severidade dos sintomas gastrintestinais (6-GSI), foi fortemente correlacionada com o grau de severidade dos sintomas de autismo, mensurados por meio do *Autism Treatment Evaluation Checklist* (ATEC). Esses resultados sugerem que o grau de severidade dos sintomas está associado com uma chance aumentada para ocorrência de problemas gastrointestinais.

A seguir, investigamos se a utilização de medicamentos poderia ter contribuído para a ocorrência dos sintomas gastrointestinais. Cinquenta e dois sujeitos faziam uso de pelo menos uma classe de medicamento. Destes 52 sujeitos, vinte e quatro deles apresentavam os SGI e 28 não apresentavam SGI. O gráfico 1 sumariza as diferentes categorias de medicamentos e a porcentagem de uso pelos grupos TEA com SGI (caso) e TEA sem SGI (controle). Dos sujeitos que faziam uso de medicamentos, 31 deles utilizavam medicamentos que podem apresentar efeitos adversos gastrointestinais. Os mais frequentemente utilizados foram Tegretol, Imipramina, Haloperidol, Neuleptil, Ácido valpróico, Ziprazidona, Fluoxetina e Purana. Apesar do possível efeito do medicamento, não observamos diferença significativa na frequência de uso de medicamentos entre os grupos com SGIs e sem SGIs ( $p=0,671$ ),

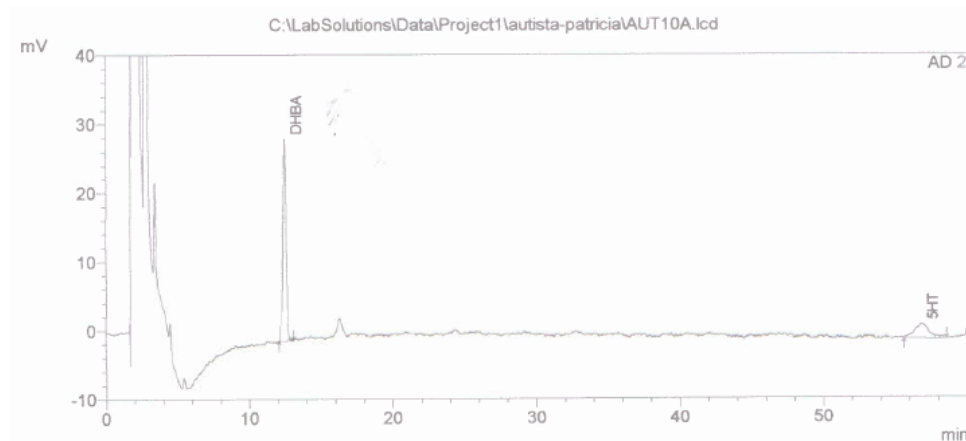
corroborando com o estudo de Gorrindo et al. (2012) que não encontraram associação entre a frequência de SGI com o uso de medicamentos em crianças com TEA.

Contudo, realçamos a necessidade de uma análise mais detalhada, a fim de se averiguar se determinada classe de medicamento ou o uso associado poderia ter contribuído para o aparecimento dos efeitos adversos gastrointestinais.

**Gráfico 1.** Porcentagem do uso de medicamentos em ambos os grupos (caso e controle)



Em seguida, avaliamos o possível papel da serotonina com os SGIs. O sangue de 83 sujeitos foi coletado para quantificação da serotonina sérica. Dezesete sujeitos (n=17) não compareceram ao laboratório para a coleta. A quantificação da serotonina foi efetuada em 83 amostras e houve uma perda de 20 amostras por problemas analíticos e ou coleta, perfazendo uma total de 63 análises satisfatórias. Um cromatograma típico pode ser visualizado na Figura 2. O tempo de retenção médio da serotonina foi de 57 min.



**Figura2.** Cromatograma da análise de serotonina sérica de uma criança com TEA. As condições cromatográficas utilizadas estão de acordo com a descrita no método. A concentração de serotonina obtida nesta amostra foi de 334,9 ng/mL. Os tempos de retenção do DHBA e Serotonina foram 12,2 min e 57,3 min. respectivamente.

Conforme apresentado na tabela 4 os níveis de serotonina sérica não diferiram significativamente entre os grupos. Apesar do papel bem estabelecido da serotonina sobre a motilidade do trato gastrointestinal, não encontramos evidências que sugiram envolvimento da serotonina com os sintomas gastrointestinais em sujeitos com TEA.

**Tabela 4.** Serotonina sérica nos sujeitos com TEA com e sem SGIs

Características	Total	TEA com SGI	TEA sem SGI	Teste de independência	Significância
Tamanho da amostra n (%)	63 (100)	25 (40)	38 (60)	-	-
Dosagem de serotonina , média (SD)	160 ng/mL (126)	152ng/mL (109)	166 ng/mL (138)	t=0,429	0,669
Dosagem de serotonina , mín-máx	37 - 585 ng/mL	55 - 484 ng/mL	37 - 585 ng/mL	-	-

## 5.2 Hiperserotonemia

A seguir avaliamos a presença de hiperserotonemia nos sujeitos que foram investigados. Para uma melhor compreensão apresentamos na tabela 5 quinze estudos nos quais foram avaliados os níveis de serotonina em amostra de sangue de crianças/adolescentes/adultos com TEA e de indivíduos com desenvolvimento típico.

**Tabela 5.** Estudos relevantes de serotonina no sangue total e soro em pacientes com TEA

Estudo	Grupo TEA/Típicas	Idade (anos)	Tipo amostra	TEA média±SD	Típicas média±SD	% Aumento serotonina
Schain and Freedman (1961)	23/4	6-18	ST	141 ± 78 ng/mL	65 ± 17 ng/mL	117*
Ritvo et al. (1970)	24/-	2-8	ST	263 ± 63 ng/mL	216 ± 61 ng/mL	22*
Yuwiler et al. (1971)	7/4	4-9	ST	272 ± 53 ng/mL	183 ± 23 ng/mL	NS
Yuwiler et al. (1975)	12/12	3-6	ST	273 ± 30 ng/mL	205 ± 17 ng/mL	33*
Hanley et al. (1977)	27/23	8-22	ST	134 ± 56.9 ng/mL	96.5 ± 38.0 ng/mL	39*
Hoshino et al. (1979)	42/20	5-7	S	218 ± 79 ng/mL	175 ± 60 ng/mL	25*
Hoshino et al. (1984)	37/12	3-11	ST	173 ± 62 ng/mL	124 ± 44 ng/mL	40*
Anderson et al. (1984)	11/10	10-24	ST	176 ± 97.1 ng/mL	123 ± 43.5 ng/mL	43*
Anderson et al. (1987)	21/27	21-27	ST	205 ± 15.7 ng/mL	136 ± 5.4 ng/mL	51*
Minderaa et al. (1987)	14-28	14-28	ST	163 ± 86.3 ng/mL	113 ± 24.6 ng/mL	44*
Abramson et al. (1989)	57/17	13,9±5	ST	399 ± 210 ng/mL	184 ± 97 ng/mL	117*
Minderaa et al. (1989)	17/20	19,4±4,9	ST	163 ± 81.7 ng/mL	116 ± 35.0 ng/mL	41*
Naffah-Mazzacoratti et al. (1993)	19/46	1-12	S	303 ± 92 ng/mL	215 ± 67 ng/mL	42*
McBride et al. (1998)	58/38	2-37	ST	245 ± 78 ng/mL	187 ± 50 ng/mL	25*
Croonenberghs et al. (2000)	13/13	12-18	ST	223 ± 39 ng/mL	206 ± 68 ng/ml	NS

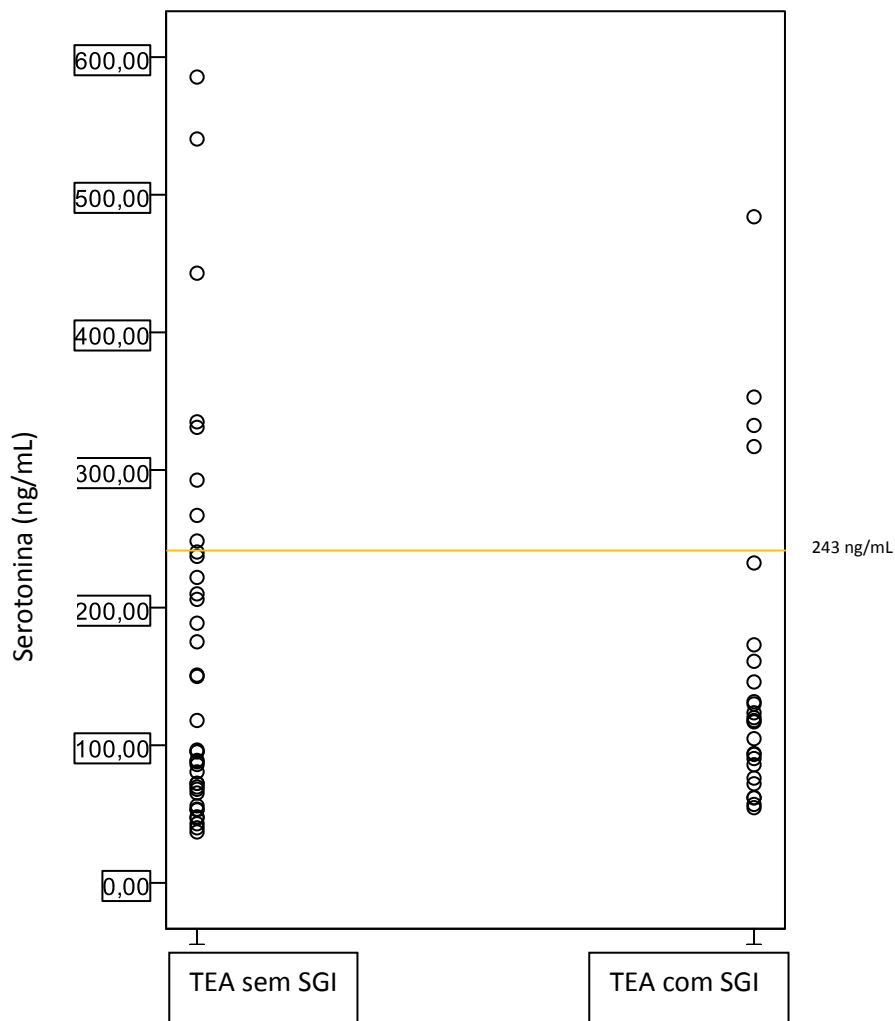
Fonte: Mulder, E.J.(2006) , modificada.

\*diferença significante NS= não significante ST=sangue total S=soro

Em dois estudos não foram observadas diferenças significantes entre os grupos, e nos demais, a magnitude da elevação variou entre 22 e 117%.

O gráfico 2 apresenta os resultados individuais da serotonina sérica. Uma linha de corte de 243 ng/mL foi determinada a partir da média dos resultados de estudos que definiram o valor normal de serotonina sérica em crianças típicas acrescidos de 2 desvios padrões. Desta forma é possível verificar que 4 (16%) das crianças/adolescentes com TEA com SGI e 8 (21%) com TEA sem SGI, apresentaram níveis elevados de serotonina, porém essa diferença não foi estatisticamente significativa pelo Teste de Fisher ( $p=0,74$ ). Estes resultados realçam que a hiperserotonemia não parece contribuir para o aparecimento dos SGIs. Dos 63 sujeitos avaliados no nosso estudo 19% apresentaram hiperserotonemia.

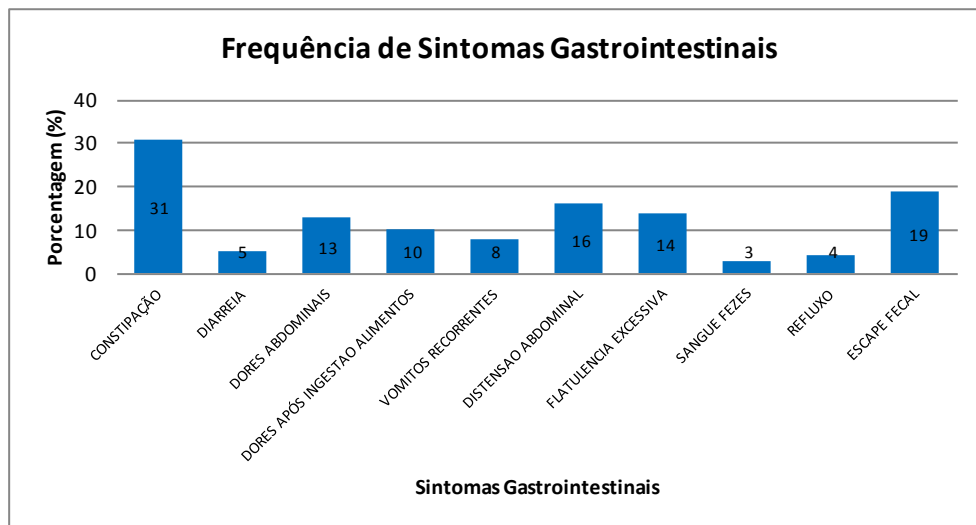
**Gráfico 2.** Concentração de serotonina sérica de crianças/adolescentes TEA sem SGI e TEA com SGI.



### 5.3 Constipação

Dos sintomas investigados, a constipação foi o sintoma que apresentou maior frequência, afetando 31% dos sujeitos (gráfico 3). Nossos resultados vão ao encontro dos relatados por Fombonne e Chakrabarti (2001), Taylor et al. (2002), Valicenti-McDermott et al. (2006), Ibrahim et al. (2009), Wang, Tancredid e Thomas, (2011), Magistris et al. (2011) e Gorrindo et al., (2012). Nos estudos acima, a frequência de constipação variou 9 a 85 %.

**Gráfico 3.** Frequência dos Sintomas Gastrointestinais



**Tabela 6.** Características dos sujeitos com constipação e sem constipação

Características	TEA com Constipação	TEA sem Constipação	Teste de independência	Significância
Tamanho da amostra n (%)	31 (31)	69 (69)	-	-
Idade, média (SD) anos	9,4 (3,8)	10,5 (3,8)	t=0,000	0,999
Gênero, masculino / feminino	27/4	55/14	$\chi^2=0,19$	0,66
Comorbidades n (%)	4 (12,9)	6 (8,7)	$\chi^2=0,79$	0,37
Escore ABC, mediana (intervalo)	79,5 (43-114)	73,6 (27-136)	U=1026, z=-1,7	0,225
Escore ASQ, mediana (intervalo)	24,5 (6-34)	22,9 (9-32)	U=957, z=-1,2	0,089
Medicamentos, uso (%)	16 (51,6)	36 (51,6)	F= 0,758	0,386

$\chi^2$ =chi square SD=desvio padrão

Os sujeitos afetados foram predominantemente do sexo masculino (2/1), contudo a frequência de indivíduos com TEA com constipação não diferiu significativamente entre os gêneros. A idade média dos participantes, a frequência de comorbidades, escores do ABC,

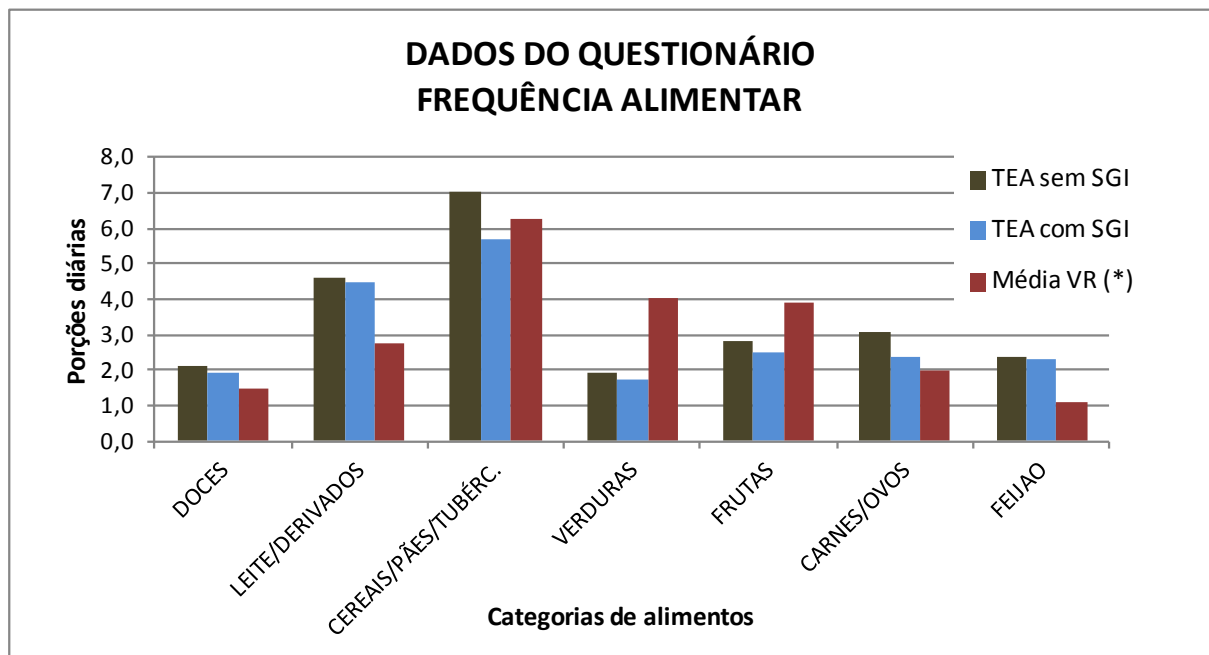


ASQ e percentagem de sujeitos que utilizam medicamentos não diferiram significativamente entre os grupos. A percentagem de sujeitos com constipação entre aqueles que apresentaram SGI foi de 73%. Gorrindo et al. (2012) ao estudarem 121 crianças divididas em três diferentes grupos, TEA com SGI, TEA sem SGI e indivíduos somente com SGI, verificou que 85% dos casos de TEA com SGI apresentaram a constipação.

#### 5.4 Dieta Alimentar

O gráfico 4 sumariza os resultados do questionário de frequência alimentar. Foram consideradas as médias obtidas em cada categoria de alimento e comparadas com o valor de referência (VR) do Manual de Orientação do Departamento de Nutrologia da Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP, 2012). Os dados revelam que crianças com TEA com e sem SGI apresentam seus índices próximos às faixas de referência, com exceção nas categorias de verduras e frutas.

**Gráfico 4.** Dados do Questionário de Frequência Alimentar (QFA)



\*VR= média dos valores de referência para as diferentes categorias de alimentos e diferentes faixas etárias

Análises estatísticas foram efetuadas para correlacionar o aparecimento dos SGI em função da alimentação e nenhuma significância foi encontrada.

Muitos pais e prestadores de cuidados de crianças/adolescentes com TEA têm observado e relatado melhorias em problemas de comportamento, com intervenções nutricionais. Algumas destas terapias são baseadas em relatórios puramente observacionais,

outros baseados em estudos que podem chegar a conclusões errôneas por causa do viés de recrutamento, da falta de resultados validados ou padronizados e/ou controles inadequados. Gorrindo e cols (2012) relatam em seus estudos a surpresa por não encontrarem nenhuma diferença na dieta e hábitos entre os três grupos estudados. Estudos anteriores demonstraram uma maior seletividade alimentar em crianças mais jovens com TEA (BANDINI et al., 2010; EMOND et al., 2010). Os dados do estudo de Gorrindo e cols (2012) e o nosso sugerem que é pouco provável que os hábitos dietéticos desempenham um papel muito significativo para a ocorrência de SGI em indivíduos com TEA.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho rastreou os sintomas gastrointestinais em pacientes com transtornos do espectro do autismo e averiguou se a severidade dos sintomas de autismo, níveis séricos de serotonina, uso de medicamentos e dieta alimentar poderiam contribuir para os sintomas gastrointestinais. Cem crianças/adolescentes, 76 do sexo masculino e 24 do sexo feminino, foram divididos em 2 grupos: sujeitos com TEA e com SGI e TEA sem SGI. Quarenta e dois sujeitos (42%) apresentaram SGI, sendo a constipação (31%) o sintoma mais frequentemente observado. Os escores do ASQ foram significativamente maiores nos sujeitos com SGI, sugerindo que o grau de severidade dos sintomas pode estar associado com uma chance aumentada para ocorrência de problemas gastrointestinais. Os níveis séricos de serotonina e a frequência de hiperserotonemia, não diferiram entre grupos, sugerindo que a serotonina não está relacionada com os sintomas gastrointestinais. A frequência na utilização de medicamentos e as porções diárias do diversos grupos de alimentos não diferiam entre os grupos, sugerindo que ambos os fatores não contribuíram para a manifestação dos sintomas gastrintestinais. Estudos posteriores com a inclusão de sujeitos com desenvolvimento típico e ou irmãos de sujeitos acometidos são requeridos. Apesar das limitações deste estudo, os resultados sugerem haver probabilidade de uma alta prevalência de sintomas gastrointestinais em indivíduos com TEA e que estes podem estar relacionados com a gravidade dos sintomas de autismo.

## 7 REFERÊNCIAS

- ADAMS, J. B. et al. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism - comparisons to neurotypical children and correlation with autism severity. **BMC Gastroenterology**, London, v. 11, n. 22, p. 1-13, 2011.
- APA - American Psychiatric Association. **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-IV**. 4. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 2003.
- ANDERSON, G. M. et al. Whole blood serotonin in autistic and normal subjects. **Journal of Child Psychology Psychiatry and allied disciplines**, New Jersey, v. 28, n. 6, p. 885-900, 1987.
- ANDERSON, G. M. et al. The hyperserotonemia of autism. **Annals of the New York Academy of Sciences**, United States, v. 600, p. 331-340, 1990.
- ANDERSON, G. M. Genetics of childhood disorders: XLV. Autism, part 4: serotonin in autism. **Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry**, Canadá, v. 41, n. 12, p. 1513-1516, 2002.
- ASPERGER, H. Psychopathology of children with celiac disease. *Annales Paediatrici. International Review of Pediatrics*, New York, v. 197, n. 5, p. 346– 351, 1961.
- BANDINI, L. G. et al. Food selectivity in children with autism spectrum disorders and typically developing children. *The Journal of Pediatrics*, Canadá, v. 157, n. 2, p. 259-264. 2010
- BERNE, R.M., LEVY, M.N. *Fisiologia*. , Editora Elsevier, 6ª Ed, 2009, 495p.
- BERUMENT, S. et al. The autism screening questionnaire: diagnostic validity. **The British Journal of Psychiatry**, United Kingdom, v. 175, p. 444-451, 1999.
- BOHMER, C. J. et al. The prevalence of constipation in institutionalized people with intellectual disability. **Journal Intellectual Disability Research**, England, v. 45, (Pt 3), p. 212-218, 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. Ministério da Saúde, Secretariade Atenção à Saúde. Brasília, DF, Ministério da Saúde, 2008. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_alimentar\\_populacao\\_brasileira.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira.pdf) Acesso em: 4 mai. 2012.
- BROWN, A. C.; MEHL-MADRONA, L. Autoimmune and gastrointestinal dysfunctions: does a subset of children with autism reveal a broader connection? **Expert Review of Gastroenterology & Hepatology**, London, v. 5, n. 4, p. 465-477, 2011.
- BUIE, T. et al. Evaluation, diagnosis, and treatment of gastrointestinal disorders in individuals with ASDs: a consensus report. **Pediatrics**, Vermont, v. 125, p. S1-S18, 2010. Suplement 1.

- CAMPBELL, D. B. et al. Distinct genetic risk based on association of MET in families with co-occurring autism and gastrointestinal conditions. **Pediatrics**, Vermont, v. 123, n. 4, p. 1018-1024, 2009.
- CASTELLANI, M. L. et al. Autism and immunity: revisited study. **International journal of immunopathology and pharmacology**, Italy, v. 22, n. 1, p.15-9, 2009.
- CERMAK, S. A.; CURTIN, C.; BANDINI, L. G. Food selectivity and sensory sensitivity in children with autism spectrum disorders. **Journal of the American Dietetic Association**, Canadá, v. 110, n. 2, p. 238-246, 2010.
- COLUCCI, A. C. A.; PHILIPPI, S. T.; SLATER, B. Desenvolvimento de um questionário de frequência alimentar para avaliação do consumo alimentar de crianças de 2 a 5 anos de idade. **Revista Brasileira Epidemiologia**, São Paulo, v.7, n.4, p.393-401,2004.
- CHRISTOFI, F. L. et al. Endogenous adenosine differentially modulates 5-hydroxytryptamine release from a human enterochromaffin cell model. **Gastroenterology**, United States, v. 127, n. 1, p. 188-202, 2004
- COURY, D. L. et al. Use of psychotropic medication in children and adolescents with autism spectrum disorders. **Pediatrics**, Vermont, v. 130, p. S69-76, 2012. Supplement 2
- ELDER, J. H. The gluten-free, casein-free diet in autism: An overview with clinical implications. **Nutrition in Clinical Practice**, Baltimore, v. 23, n. 6, p. 583-588, 2008.
- EMOND, A., et al. Feeding symptoms, dietary patterns, and growth in young children with autism spectrum disorders. **Pediatrics**, Vermont, v. 126, n. 2, e337-e342, 2010.
- ESCH, B. E.; CARR, J. E. Secretin as a treatment for autism: a review of the evidence. **Journal of Autism and Development Disorders**, New York, v. 34, n. 5, p. 543-56, 2004.
- FINEGOLD, S. M. et al. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. **Clinical Infectious Diseases**, Oxford, v. 5, p. S6-S16, 2002. Supplement 1.
- FINEGOLD, S. M. et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. **Anaerobe**, Los Angeles, v. 16, n. 4, p. 444-453, 2010.
- FOMBONNE, E.; CHAKRABARTI, S. No evidence for a new variant of measles-mumps-rubella-induced autism. **Pediatrics**, Vermont, v. 108, n. 4, p.1-8, 2001.
- FRITH, U. **Autism. Hacia una explicación del enigma**. 2. Ed. Tradução María Núñez Bernardos, Angel Rivière Gómez. Madrid: Alianza Editorial, 2004. 296p.
- GERSHON, M. D. Review article: Serotonin receptors and transporters – roles in normal and abnormal gastrointestinal motility. **Alimentary Pharmacology Therapeutics**, New York, v. 20, p. 3-14, 2004. Supplement 7.
- GILGER, M. A. REDEL, C. A. Autism and the gut. **Pediatrics**, Vermont, v.124, n. 2, p. 796-798, 2009.
- GOODWIN, M. S.; COWEN, M. A.; GOODWIN, T. C. Malabsorption and cerebral function: a multivariate and comparative study of autistic children. **Journal of Autism and Childhood Schizophrenia**, New York, v. 1, n. 1, p. 48-62, 1971.

GORRINDO, P. et al. Gastrointestinal dysfunction in autism: parental report, clinical evaluation, and associated factors. **Autism Research**, New York, v. 5, n. 2, p. 101-108, 2012.

HORVATH, K.; PERMAN, J. A. Autistic disorder and gastrointestinal disease. **Current Opinion in Pediatrics**, London, v.14, n.5, p. 583-587, 2002.

HRANILOVIC, D. et al. Hyperserotonemia in adults with autistic disorder. **Journal of Autism and Development Disorders**, New York, v. 37, n. 10, p. 1934-1940, 2007.

HRANILOVIĆ, D. et al. Hyperserotonemia in autism: the potential role of 5HT-related gene variants. **Collegium Antropologicum**, Croatia, v.32, p. S75-S80, 2008. Supplement 1.

IBRAHIM, S. H. et al. Incidence of gastrointestinal symptoms in children with autism: a population-based study. **Pediatrics**, Vermont, v. 24, n. 2, p. 680-686, 2009.

JANUSONIS, S. Statistical distribution of blood serotonin as a predictor of early autistic brain abnormalities. **Theoretical Biology and Medical Modelling**, Santa Bárbara, v. 2, n. 27, p. 1-16, 2005.

JANUSONIS, S. Origin of the blood hyperserotonemia of autism. **Theoretical Biology and Medical Modelling**, Santa Bárbara, v. 5, n. 10, p. 1-16, 2008.

KOLEVZON, A. et al. The relationship between whole blood serotonin and repetitive behaviors in autism. **Psychiatry Research**, Los Angeles, v. 175, n. 3, p. 1-8, 2010.

KUPERMAN, S. et al. Association of serotonin concentration to behavior and IQ in autistic children. **Journal of Autism and Development Disorders**, New York, v. 17, n. 1, p. 133-140, 1987.

LAUNAY, J. M. et al. Serotonin metabolism and other biochemical parameters in infantile autism. **Neuropsychobiology**, Switzerland, v. 20, n. 1, p.1-11,1988.

LEVENTHAL, B. L. et al. Relationships of whole blood serotonin and plasma norepinephrine within families. **Journal of Autism and Development Disorders**, New York, v. 20, n. 4, p. 499-511, 1990.

LIGHTDALE, J. R.; SIEGEL, B.; HEYMAN, M. B. Gastrointestinal symptoms in autistic children. **Clinical Perspectives in Gastroenterology**, Los Angeles, v. 1, p. 56-58, 2001.

MAGISTRIS, L. et al. Alterations of the intestinal barrier in patients with autism spectrum disorders and in their first-degree relatives. **Journal of Pediatric Gastroenterology Nutrition**, New York, v. 51, n. 4, p. 418-424, 2010.

MARTELETO, M. R. F.; PEDROMONICO, M. R. M. Validade do Inventário de Comportamentos Autísticos (ICA): estudo preliminar. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 295-301, 2005.

MOSTAFA, G. A. et al. Hyperserotonemia in Egyptian autistic children: relation to allergic manifestations. **Journal Pediatric Neurology**, United States, v. 6, n. 3, p. 227-236, 2008.

MOTIL, K. J. et al. Oropharyngeal dysfunction and gastroesophageal dysmotility are present in girls and women with Rett syndrome. **Journal of Pediatric Gastroenterology Nutrition**, New York, v. 29, n. 1, p. 31- 37, 1999.

MULDER, E. J. et al. Platelet serotonin levels in pervasive developmental disorders and mental retardation: diagnostic group differences, within-group distribution, and behavioral correlates. **Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry**, Canadá, v. 43, n. 4, p. 491-499, 2004.

MURCH, S. H. et al. Disruption of sulphated glycosaminoglycans in intestinal inflammation. **Lancet**, London, v. 341, n. 8847, p. 711-741, 1993.

NAFFAH-MAZZACORATTI, M. G. et al. Serum serotonin levels of normal and autistic children. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 26; n. 3, p. 309-317, 1993.

OMS. Organização Mundial da Saúde. **CID-10: Classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados à saúde**. 8. ed. São Paulo: Edusp, 2000.

PANKSEPP, J. A. Neurochemical theory of autism. **Trends Neurociences**, New York, v. 2, p. 174-177, 1979.

PARRACHO, H. M. R. T. et al. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. **Journal of Medical Microbiology**, New Haw, v. 54, n. 10, p. 987-99, 2005.

PEREGRIN, T. Registered dietitians' insights in treating autistic children. **Journal of the American Dietetic Association**, Canadá, v. 107, n. 5, p. 727-730, 2007.

RACKE, K.; SCHWORER, H. Nicotinic and muscarinic modulation of 5-hydroxytryptamine (5-HT) release from porcine and canine small intestine. **The Clinical Investigator**, Germany, v.70, n. 3-4, p. 190-200, 1992.

RAITEN, D. J.; MASSARO, T. Perspectives on the nutritional ecology of autistic children. **Journal of Autism and Developmental Disorders**, New York, v. 16, n. 2, p. 133-143, 1986.

REICHEL, K. L. et al. Probable etiology and possible treatment of childhood autism. **Brain Dysfunction**, Rome, v. 4, p. 308-319, 1991.

RODRIGUES, M. R. E. C. **Implicações biológicas do autismo: a nutrição como base do tratamento**, 2010. 86f. Monografia (Especialização em Nutrição Clínica Funcional) Programa de Pós Graduação Lato Sensu em Nutrição Clínica Funcional, Universidade Cruzeiro do Sul, Curitiba, 2010.

SAFAI-KUTTI, S.; KUTTI, J.; GILBERT, C. Impaired in vivo platelet reactivity in infantile autism. **Acta Paediatr Scand**, Scandinava, v.74, n. 5, p. 799-800, 1985.

SARGENT, I.L. Maternal and fetal immune responses during pregnancy. **Experimental and Clinical Immunogenetics**, Switzerland, v. 10, n. 2, p. 85-102, 1993.

SATO, F. P. et al. Instrument to screen cases of pervasive developmental disorder: a preliminary indication of validity. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, São Paulo, v. 31, n.1, p. 30-33, 2009.

SBP - Sociedade Brasileira de Pediatria. **Manual de orientação para a alimentação do lactente, do pré-escolar, do escolar, do adolescente e na escola/Sociedade Brasileira de Pediatria**. Departamento de Nutrologia, 3. ed. Rio de Janeiro, RJ: SBP, 2012. 148p.

SCHAIN, R. J.; FREEDMAN, D. X. Studies on 5-hydroxyindole metabolism in autistic and other mentally retarded children. **The Journal of Pediatric**, Los Angeles, v. 58, p. 315-320, 1961.

SCHRECK, K. A.; WILLIAMS, K.; SMITH, A. F. A comparison of eating behaviors between children with and without autism. **Journal of Autism and Developmental Disorders**, New York, v. 34, n. 4, p. 433-438, 2004.

SCHWERTZ, I.; BRADESI, S.; MAYER, E. A. Current insights into pathophysiology of irritable bowel syndrome. **Current Gastroenterology Reports**, Los Angeles, v. 5, n. 4, p. 331-336, 2003.

SCHWARTZMAN, F. et al. Eating practices, nutritional status and constipation in patients with Rett syndrome. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 45, n. 4, p. 284-289, 2008.

SCHWARTZMAN, J. S.; ARAÚJO, C. A. **Transtornos do espectro do autismo**. São Paulo: Memnon, 2011, 327p.

SHATTOCK, P. et al. Role of neuropeptides in autism and their relationships with classical neurotransmitters. **Brain Dysfunction**, Rome, v. 3, n. 2, p. 328-345, 1991.

SLATER, B. **Desenvolvimento e validação de um questionário semi-quantitativo de frequência alimentar para adolescentes**. 2001. Tese. (Doutorado em Nutrição) Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

TAYLOR, B. et al. Measles, mumps, and rubella vaccination and bowel problems or developmental regression in children with autism: population-based study. **BMJ**, England, v. 324, n. 7334, p. 393-396, 2002.

THEIJE, C. G. et al. Pathways underlying the gut-to-brain connection in autism spectrum disorders as future targets for disease management. **European Journal of Pharmacology**, Netherlands, v. 668, p. S70-S80, 2011. Supplement 1.

VALICENTI-MCDERMOTT, M. et al. Frequency of gastrointestinal symptoms in children with autistic spectrum disorders and association with family history of autoimmune disease. **Journal of Developmental and Behavioral Pediatrics**, Baltimore, v. 27, p. S128-S136, 2006. Supplement 2.

VALICENTI-MCDERMOTT, M. D. et al. Gastrointestinal symptoms in children with autism spectrum disorder and language regression. **Pediatric Neurology**, New York, v. 39, n. 6, p. 392-398, 2008.



WALKER, L. S.; CAPLAN-DOVER, A.; RASQUIN-WEBER, A. **Manual for the Questionnaire on Pediatric Gastrointestinal Symptoms**. Nashville, TN: Department of Pediatrics, Vanderbilt University Medical Center, 2000.

WALKER-SMITH, J.; ANDREWS, J. Alpha-1-antitrypsin, autism, and coeliac disease. **Lancet**, London, v. 2, n. 7782, p. 883-884, 1972.

WANG, L. W.; TANCREDID, J.; THOMAS, D. W. The Prevalence of Gastrointestinal Problems in Children Across the United States with Autism Spectrum Disorders from Families with Multiple Affected Members. **Journal of Developmental and Behavioral Pediatrics**, Baltimore, v. 32, n. 5, p. 351-360, 2011.

WILLIAMS, B. L. et al. Application of novel PCR-based methods for detection, quantitation, and phylogenetic characterization of sutterella species in intestinal biopsy samples from children with autism and gastrointestinal disturbances. **MBio**, Washington, v. 3, n. 1, p. 1-11, 2012 .

## ANEXO A – Modelo do ASQ

## ASQ Questionário de Comportamento e Comunicação Social

		Sim	Não
1	Ele é capaz de conversar usando frases curtas ou sentenças?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<b><u>Se não, prossiga para questão 9.</u></b>		
2	Ele fala com você só para ser simpático (mais do que para obter algo)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3	Você pode ter um diálogo (por exemplo, ter uma conversa com ele que envolva alternância, isto é, um de cada vez) a partir do que você disse?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4	Ele usa frases estranhas ou diz algumas coisas repetidamente da mesma maneira? Isto é, ele copia ou repete qualquer frase que ele ouve outra pessoa dizer, ou ainda, ele constrói frases estranhas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5	Ele costuma usar socialmente perguntas inapropriadas ou declarações? Por exemplo, ele costuma fazer perguntas pessoais ou comentários em momentos inadequados?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6	Ele costuma usar os pronomes de forma invertida, dizendo você ou ele quando deveria usar eu?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7	Ele costuma usar palavras que parece ter inventado ou criado sozinho, ou usa maneiras estranhas, indiretas, ou metafóricas para dizer coisas? Por exemplo, diz “chuva quente” ao invés de vapor.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8	Ele costuma dizer a mesma coisa repetidamente, exatamente da mesma maneira, ou insiste para você dizer as mesmas coisas muitas vezes?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9	Existem coisas que são feitas por ele de maneira muito particular ou em determinada ordem, ou seguindo rituais que ele te obriga fazer?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10	Até onde você percebe, a expressão facial dele geralmente parece apropriada à situação particular?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11	Ele alguma vez usou a tua mão como uma ferramenta, ou como se fosse parte do próprio corpo dele (por exemplo, apontando com seu dedo, pondo a sua mão numa maçaneta para abrir a porta)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

		Sim	Não
<b>12</b>	Ele costuma ter interesses especiais que parecem esquisitos a outras pessoas (e.g., semáforos, ralos de pia, ou itinerários de ônibus)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>13</b>	Ele costuma se interessar mais por partes de um objeto ou brinquedo (e.g., girar as rodas de um carro), mais do que usá-lo com sua função original?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>14</b>	Ele costuma ter interesses específicos, apropriados para sua idade e para seu grupo de colegas, porém estranhos pela intensidade do interesse (por exemplo, conhecer todos os tipos de trens, conhecer muitos detalhes sobre dinossauros)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>15</b>	Ele costuma de maneira estranha olhar, sentir/examinar, escutar, provar ou cheirar coisas ou pessoas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>16</b>	Ele costuma ter maneirismos ou jeitos estranhos de mover suas mãos ou dedos, tal como “um bater de asas” ( <i>flapping</i> ), ou mover seus dedos na frente dos seus olhos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>17</b>	Ele costuma fazer movimentos complexos (e esquisitos) com o corpo inteiro, tal como girar, pular ou balançar repetidamente para frente e para trás?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>18</b>	Ele costuma machucar-se de propósito, por exemplo, mordendo o braço ou batendo a cabeça?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>19</b>	Ele tem algum objeto (que não um brinquedo macio ou cobertor) que ele carrega por toda parte?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>20</b>	Ele tem algum amigo em particular ou um melhor amigo?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>21</b>	Quando ele tinha 4-5 anos ele repetia ou imitava espontaneamente o que você fazia (ou a outras pessoas) (tal como passar o aspirador no chão, cuidar da casa, lavar pratos, jardinagem, consertar coisas)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>22</b>	Quando ele tinha 4-5 anos ele apontava as coisas ao redor espontaneamente apenas para mostrar coisas a você (e não porque ele as desejava)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>23</b>	Quando ele tinha 4-5 anos ele costumava usar gestos para mostrar o que ele queria (não considere se ele usava tua mão para apontar o que queria)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<b>24</b>	Quando ele tinha 4-5 anos usava a cabeça pra dizer sim?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>25</b>	Quando ele tinha 4-5 anos sacudia a sua cabeça para dizer 'não'?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>26</b>	Quando ele tinha 4-5 anos ele habitualmente olhava você diretamente no rosto quando fazia coisas com você ou conversava com você?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>27</b>	Quando ele tinha 4-5 anos sorria de volta se alguém sorrisse para ele?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>28</b>	Quando ele tinha 4-5 anos ele costumava mostrar coisas de seu interesse para chamar a sua atenção?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

		Sim	Não
<b>29</b>	Quando ele tinha 4-5 anos ele costumava dividir coisas com você, além de alimentos?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>30</b>	Quando ele tinha 4-5 anos ele costumava querer que você participasse de algo que o estava divertindo?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>31</b>	Quando ele tinha 4-5 anos ele costumava tentar confortá-lo se você ficasse triste ou magoado?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>32</b>	Entre as idades de 4 a 5 anos, quando queria algo ou alguma ajuda, costumava olhar para você e fazia uso de sons ou palavras para receber sua atenção?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>33</b>	Entre as idades de 4 a 5 anos tinha expressões faciais normais, isto é, demonstrava suas emoções por expressões faciais?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>34</b>	Quando ele estava com 4 ou 5 anos ele costumava participar espontaneamente e/ou tentava imitar ações em jogos sociais – tais como “Polícia e Ladrão” ou “Pega-Pega”?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>35</b>	Quando ele estava com 4 ou 5 anos jogava jogos imaginários ou brincava de “faz de conta”?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>36</b>	Quando ele estava com 4 ou 5 anos parecia interessado em outras crianças da mesma idade que ele não conhecia?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<b>37</b>	Quando ele estava com 4 ou 5 anos reagia positivamente quando outra criança aproximava-se dele?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>38</b>	Quando ele estava com 4 ou 5 anos, se você entrasse no quarto e iniciasse uma conversa com ele sem chamar seu nome, ele habitualmente te olhava e prestava atenção em você?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>39</b>	Quando ele estava com 4 ou 5 anos ele costumava brincar de “faz de conta” com outra criança, de forma que você percebia que eles estavam entendendo ser uma brincadeira?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>40</b>	Quando ele estava com 4 ou 5 anos ele brincava cooperativamente em jogos de grupo, tal como esconde-esconde e jogos com bola?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

# 14 in order to make sense in Portuguese we decide to explain using more detailed examples.

# 21 in order to make clear we include Brazilian habits

# 33 in order to make clear we include a more detailed example.

## ANEXO B – Modelo do ABC

### ABC

Quadro I: Protocolo de registro do Inventário de Comportamentos Autísticos (ICA)

***Inventário de Comportamento da Criança Autista/Autism Behavior Checklist - Record Form*** (Krug,D/Tradução Pedromonico, MRM, Marteletto,MRF, 2001)

Nome da criança \_\_\_\_\_ Data da aplicação \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Idade da criança \_\_\_\_\_ Data de nascimento \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

		ES	RE	CO	LG	PS
01	Gira em torno de si por longo período de tempo			4		
02	Aprende uma tarefa, mas esquece rapidamente					2
03	É raro atender estímulo não-verbal social/ambiente (expressões,gestos,situações)		4			
04	Ausência de resposta para solicitações verbais - venha cá;sente-se				1	
05	Usa brinquedos inapropriadamente			2		
06	Pobre uso da discriminação visual (fixa uma característica objeto)	2				
07	Ausência do sorriso social		2			
08	Uso inadequado de pronomes ( eu por ele)				3	
09	Insiste em manter certos objetos consigo			3		
10	Parece não escutar ( suspeita-se de perda de audição)	3				
11	Fala monótona e sem ritmo				4	
12	Balança-se por longos períodos de tempo			4		
13	Não estende o braço para ser pego (nem o fez quando bebê)		2			
14	Fortes reações frente a mudanças no ambiente					3
15	Ausência de atenção ao seu nome quando entre 2 outras crianças				2	
16	Corre interrompendo com giros em torno de si, balanceio de mãos			4		
17	Ausência de resposta para expressão facial/sentimento de outros		3			
18	Raramente usa "sim" ou "eu"				2	
19	Possui habilidade numa área do desenvolvimento					4
20	Ausência de respostas a solicitações verbal envolvendo o uso de referenciais de espaço				1	
21	Reação de sobressalto a som intenso (suspeita de surdez)	3				
22	Balança as mãos			4		
23	Intensos acessos de raiva e/ou frequentes "chiliques"					3
24	Evita ativamente o contato visual		4			
25	Resiste ao toque / ao ser pego / ao carinho		4			

26	Não reage a estímulos dolorosos	3				
27	Difícil e rígido no colo (ou foi quando bebê)		3			
28	Flácido quando no colo		2			
29	Aponta para indicar objeto desejado				2	
30	Anda nas pontas dos pés			2		
31	Machuca outros mordendo, batendo, etc					2
32	Repete a mesma frase muitas vezes				3	
33	Ausência de imitação de brincadeiras de outras crianças		3			
34	Ausência de reação do piscar quando luz forte incide em seus olhos	1				
35	Machuca-se mordendo, batendo a cabeça, etc			2		
36	Não espera para ser atendido (quer as coisas imediatamente)					2
37	Não aponta para mais que cinco objetos				1	
38	Dificuldade de fazer amigos		4			
39	Tapa as orelhas para vários sons	4				
40	Gira, bate objetos muitas vezes			4		
41	Dificuldade para o treino de toailete					1
42	Usa de 0 a 5 palavras/dia para indicar necessidades e o que quer				2	
43	Frequentemente muito ansioso ou medroso		3			
44	Franze, cobre ou virar os olhos quando em presença de luz natural	3				
45	Não se veste sem ajuda					1
46	Repete constantemente as mesmas palavras e/ou sons				3	
47	"Olha através" das pessoas		4			
48	Repete perguntas e frases ditas por outras pessoas				4	
49	Frequentemente inconsciente dos perigos de situações e do ambiente					2
50	Prefere manipular e ocupar-se com objetos inanimados					4
51	Toca, cheira ou lambe objetos do ambiente			3		
52	Frequentemente não reage visualmente à presença de novas pessoas	3				
53	Repete seqüências de comportamentos complicados (cobrir coisas, por ex.)			4		
54	Destrutivo com seus brinquedos e coisas da família			2		
55	O atraso no desenvolvimento identificado antes dos 30 meses					1
56	Usa mais que 15 e menos que 30 frases diárias para comunicar-se				3	
57	Olha fixamente o ambiente por longos períodos de tempo	4				

Total: \_\_\_ + \_\_\_ + \_\_\_ + \_\_\_ + \_\_\_ = \_\_\_\_\_

**Interpretação:**

Menor q 47= criança normal

47-53= leve probabilidade para autismo

54-67= moderada probabilidade para autismo

Maior 68= autismo

<p><b>ES= estímulo sensorial</b></p> <p><b>RE= relacionamento</b></p> <p><b>CO= uso corpo e objeto</b></p> <p><b>LG= linguagem</b></p>
--

**Comentários:**

---

---

---

---

---



### ANEXO C – Modelo do Questionário de Sintomas Gastrointestinais

<b>Questionário de Sintomas Gastrointestinais</b>
<p><b>Identificação:</b>  Nome do Responsável: _____  Nome da criança: _____  Idade: _____ N° Protocolo: _____</p>
<p><b>Orientações Gerais:</b>  O questionário sobre os Sintomas Gastrointestinais (GI) deve ser aplicado aos responsáveis ou cuidadores das crianças com transtorno do espectro autista (TEA). O entrevistador deve estar devidamente treinado e serão considerados os sintomas GI nos últimos 6 meses. O questionário é constituído de 14 perguntas relacionadas aos sintomas GI que a criança pode ou não apresentar. Os responsáveis são indagados com relação à existência do sintoma (SIM ou NÃO), e frequência que cada sintoma GI foi observado em uma escala de 1 a 6 (frequência diária a frequência mensal) . Inicialmente serão feitas algumas perguntas específicas com relação ao uso de medicamentos e histórico da criança em relação aos transtornos gastrointestinais.</p>
<p>I) A criança faz uso de algum medicamento? Quais? A quanto tempo? Quantas vezes ao dia e em que dosagem?</p>
<p>II) A criança já fez alguma visita a um especialista , por exemplo do estômago ou intestino? Quando? Ele solicitou algum tipo de exame? Qual? Foi encontrado algo anormal?</p>
<p>III) A criança já foi anteriormente diagnosticada com alguma doença gastrointestinal? Qual?</p>
<p>IV) Na família da criança existe alguém que já apresentou problemas ou doenças relacionados ao estômago e intestino (por exemplo, diarreias constantes, perda de peso, problemas com ingestão de glúten, sangue nas fezes, cólicas constantes, etc)?</p>
<p>V) A criança está tratando algum tipo de doença atualmente? Qual?</p>
<p>VI) A criança tomou leite materno? Até que idade?</p>
<p>VII) Em que idade a criança iniciou a alimentação sólida?</p>
<p>VIII) Em que idade a criança passou a apresentar fezes mais sólidas?</p>

1.) A criança apresenta constipação (prisão de ventre) ou alguma dificuldade na passagem das fezes na defecação?	NÃO ( )	SIM ( )					
	0	1	2	3	4	5	6
	Nunca	1 vez por mês	2 a 3 vezes por mês	1 vez por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez ao dia	2 ou mais vezes ao dia
2.) A criança apresenta fezes anormais?	NÃO ( )	SIM ( )					
	0	1	2	3	4	5	6
	Nunca	1 vez por mês	2 a 3 vezes por mês	1 vez por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez ao dia	2 ou mais vezes ao dia
3.) A criança utiliza laxantes ou enemas?	NÃO ( )	SIM ( )					
	0	1	2	3	4	5	6
	Nunca	1 vez por mês	2 a 3 vezes por mês	1 vez por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez ao dia	2 ou mais vezes ao dia
4.) A criança apresenta diarreia?	NÃO ( )	SIM ( )					
	0	1	2	3	4	5	6
	Nunca	1 vez por mês	2 a 3 vezes por mês	1 vez por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez ao dia	2 ou mais vezes ao dia
5.) A criança se queixa de dores abdominais?	NÃO ( )	SIM ( )					
	0	1	2	3	4	5	6
	Nunca	1 vez por mês	2 a 3 vezes por mês	1 vez por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez ao dia	2 ou mais vezes ao dia
6.) Essas dores são manifestas após ingestão de alimento?	NÃO ( )	SIM ( )					
	0	1	2	3	4	5	6
	Nunca	1 vez por mês	2 a 3 vezes por mês	1 vez por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez ao dia	2 ou mais vezes ao dia
7.) A criança apresenta vômitos recorrentes?	NÃO ( )	SIM ( )					
	0	1	2	3	4	5	6
	Nunca	1 vez por mês	2 a 3 vezes por mês	1 vez por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez ao dia	2 ou mais vezes ao dia
8.) A criança se queixa de distensão abdominal?	NÃO ( )	SIM ( )					
	0	1	2	3	4	5	6
	Nunca	1 vez por mês	2 a 3 vezes por mês	1 vez por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez ao dia	2 ou mais vezes ao dia
9.) A criança apresenta flatulência excessiva (gases)?	NÃO ( )	SIM ( )					
	0	1	2	3	4	5	6
	Nunca	1 vez por mês	2 a 3 vezes por mês	1 vez por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez ao dia	2 ou mais vezes ao dia
10.) A criança apresenta sangue nas fezes?	NÃO ( )	SIM ( )					
	0	1	2	3	4	5	6
	Nunca	1 vez por mês	2 a 3 vezes por mês	1 vez por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez ao dia	2 ou mais vezes ao dia
11.) A criança apresenta seletividade a algum tipo de alimento?	NÃO ( )	SIM ( )					
	0	1	2	3	4	5	6
	Nunca	1 vez por mês	2 a 3 vezes por mês	1 vez por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez ao dia	2 ou mais vezes ao dia
12.) A criança apresenta refluxo gastroesofágico?	NÃO ( )	SIM ( )					
	0	1	2	3	4	5	6
	Nunca	1 vez por mês	2 a 3 vezes por mês	1 vez por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez ao dia	2 ou mais vezes ao dia
13.) A criança apresenta escape fecal?	NÃO ( )	SIM ( )					
	0	1	2	3	4	5	6
	Nunca	1 vez por mês	2 a 3 vezes por mês	1 vez por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez ao dia	2 ou mais vezes ao dia





















## ANEXO E – Modelo do Termo de Consentimento Livre Esclarecido

### Sujeito da Pesquisa

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PAIS ou RESPONSÁVEIS pelo Sujeito de Pesquisa

Gostaríamos de convidá-lo a participar do projeto de pesquisa “**Avaliação dos transtornos gastrointestinais no transtorno do espectro autista: relação com os níveis plasmáticos de serotonina.**”, cujo objetivo é avaliar os transtornos gastrointestinais em crianças no transtorno do espectro autista e relacionar estes dados aos níveis de serotonina plasmática e dieta alimentar destas mesmas crianças. Para isso foram elaborados 2 questionários, um sobre frequência alimentar e outro sobre sintomas gastrointestinais. Participarão desta parte da pesquisa os pais ou cuidadores das crianças, que nos passarão as informações contidas nos 2 questionários. A outra parte consiste na coleta de sangue das crianças para posterior dosagem de serotonina plasmática. Somente participarão da pesquisa as crianças cujos responsáveis voluntariamente autorizarem e se disponibilizarem em responder aos questionários. Os dados pessoais das crianças e de seus responsáveis serão mantidos em sigilo e os resultados gerais obtidos através da pesquisa serão utilizados apenas para alcançar os objetivos do trabalho e incluída a sua publicação na literatura científica especializada.

Em qualquer etapa do estudo você terá acesso ao Pesquisador Responsável para o esclarecimento de eventuais dúvidas (no endereço abaixo), e terá o direito de retirar a permissão para participar do estudo a qualquer momento, sem qualquer penalidade ou prejuízo. As informações coletadas serão analisadas em conjunto com a de outros participantes e será garantido o sigilo, a privacidade e a confidencialidade das questões respondidas, sendo resguardado o nome dos participantes (apenas o Pesquisador Responsável terá acesso a essa informação), bem como a identificação do local da coleta de dados. Caso você tenha alguma consideração ou dúvida sobre os aspectos éticos da pesquisa, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Presbiteriana Mackenzie - Rua da Consolação, 896 - Ed. João Calvino - Mezanino.

Desde já agradecemos a sua colaboração.

Declaro que li e entendi os objetivos deste estudo, e que as dúvidas que tive foram esclarecidas pelo Pesquisador Responsável. Estou ciente que a participação é voluntária, e que, a qualquer momento tenho o direito de obter outros esclarecimentos sobre a pesquisa e de retirar a permissão para participar da mesma, sem qualquer penalidade ou prejuízo.

Nome do Responsável pelo Sujeito de Pesquisa: \_\_\_\_\_

Assinatura do Responsável pelo Sujeito de Pesquisa: \_\_\_\_\_

Declaro que expliquei ao Responsável pelo Sujeito de Pesquisa os procedimentos a serem realizados neste estudo, seus eventuais riscos/desconfortos, possibilidade de retirar-se da pesquisa sem qualquer penalidade ou prejuízo, assim como esclareci as dúvidas apresentadas.

São Paulo, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ .

\_\_\_\_\_  
Patrícia Fukuda S. Baptista  
Pesquisador responsável

\_\_\_\_\_  
Roberta M. Cysneiros  
Orientador responsável  
Fone: (11) 2114-8247

e-mail: roberta.cysneiros@mackenzie.br