



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

LUÍZA MADUREIRA SILVA

**Perfil genético e desfechos do neurodesenvolvimento em crianças nascidas durante a
pandemiade covid-19 no nordeste brasileiro**

FORTALEZA/CE

2025

LUÍZA MADUREIRA SILVA

Perfil genético e desfechos do neurodesenvolvimento em crianças nascidas durante a
pandemiade covid-19 no nordeste brasileiro

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestra em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Danielle Macêdo Gaspar.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S581p Silva, Luíza Madureira.
Perfil genético e desfechos do neurodesenvolvimento em crianças nascidas durante a pandemia de covid-19 no nordeste brasileiro / Luíza Madureira Silva. – 2025.
96 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2025.
Orientação: Profa. Dra. Danielle Macêdo Gaspar.
Coorientação: Prof. Dr. Francisco Stefânio Barreto.
1. Autismo. 2. Neurodesenvolvimento. 3. Painel Genético. 4. Desenvolvimento Infantil. I. Título.
CDD 615.1
-

LUÍZA MADUREIRA SILVA

Perfil genético e desfechos do neurodesenvolvimento em crianças nascidas durante a
pandemiade covid-19 no nordeste brasileiro

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Farmacologia como
requisito para a obtenção do título de Mestra em Farmacologia.

Aprovada em: 30/07/2025

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Danielle Macêdo Gaspar (1º membro- Presidente)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. José Eduardo Ribeiro Honório Júnior (2º membro)
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

Prof. Dra. Camila Nayana Carvalho (3º membro)
Universidade Federal do Ceará

*“Em breve, escreverei para você com mais detalhes.
Não considerarei um infortúnio o fato de as coisas terem chegado a esse ponto; pelo contrário,
apesar de todos os tipos de emoções, sinto certa calma.
Há segurança em meio ao perigo.
O que seria da vida se não tivéssemos coragem para tentar alguma coisa?”*

Vincent van Gogh (1881)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser fonte de toda sabedoria e força, por me guiar durante esta jornada acadêmica desafiadora. Sua graça e orientação foram fontes de inspiração incessante.

Chegar até aqui foi um percurso de desafios, aprendizados e muitas mãos seguidas pelo caminho. Olhando para trás, percebo que cada conquista não foi só minha, mas também de todos aqueles que, de alguma forma, me apoiaram, incentivaram e acreditaram em mim, mesmo nos momentos em que duvidei da minha própria capacidade.

Às minhas irmãs e aos meus pais, que sempre foram meu porto seguro, meu alicerce e minha maior fonte de amor incondicional. Obrigado por cada palavra de incentivo, por cada abraço que me fortalece e por me lembrarem, nos dias difíceis, que sou capaz de ir além.

À minha orientadora, Danielle Macedo, por toda a dedicação, paciência e direcionamento. Seu olhar atento e seu compromisso com minha formação foram essenciais para que este trabalho tomasse forma.

Ao professor Eduardo Ribeiro, meu pai científico, que me guiou com sua sabedoria, generosidade e entusiasmo pelo conhecimento. Seu exemplo me inspira a ser uma pesquisadora melhor e a nunca perder a curiosidade intelectual.

À minha coorientadora, Cássia, por sua doçura, paciência e disponibilidade em cada etapa deste processo. Seu apoio fez toda a diferença para que este trabalho se concretizasse.

À Suellen, por todo suporte durante a seleção e ao longo do mestrado. Seu apoio foi fundamental para que eu seguisse firme nessa jornada.

Ao grupo da pesquisa covid e aos alunos de iniciação científica, e ao Hospital Maternidade Assis Chateaubriand e Nutep que ajudaram na realização desse projeto.

À Dara Mesquita, por me acolher com tanto carinho, pelos conselhos e por sempre lembrar que sou capaz, mesmo nos momentos em que a insegurança me tentava parar. Sua presença foi essencial nessa trajetória.

Aos meus amigos Valderi e Clayliane, pela amizade sincera, pelas conversas que aliviaram o peso da rotina e por ser refúgio nos momentos de cansaço.

Ao casal Pedro e Carla, por sempre me acompanharem e me fazerem rir, mesmo nos piores momentos. A leveza e a cumplicidade de vocês tornaram essa caminhada muito mais suportável e especial.

Ao meu grupo de pesquisa, o Neurocit, por todo apoio, incentivo e trocas valiosas que enriqueceram minha caminhada acadêmica.

Aos meus colegas de treino de jiu-jitsu, que, sem saber, me ajudaram a entender que a vida acadêmica também é feita de resistência, disciplina e superação. Cada treino foi um lembrete de que é preciso cair e levantar, sempre mais forte.

E a todos aqueles que, de alguma forma, fizeram parte dessa caminhada, meus sinceros agradecimentos. Esta conquista também é de vocês.

Aos demais colegas de laboratório pelo compartilhamento de ideias, discussões, suporte prático e colaborações enriquecedoras.

Expresso minha gratidão à UFC pelo suporte institucional.

À banca examinadora, pela disponibilidade e por todas as contribuições e correções acerca de enriquecer este trabalho.

A Capes, ao apoio financeiro fornecido durante este período de formação.

Que este trabalho possa contribuir de maneira positiva para o avanço do conhecimento e para o bem da humanidade.

RESUMO

A pandemia de COVID-19 trouxe preocupações sobre os impactos da infecção materna por *SARS-CoV-2* no neurodesenvolvimento infantil. Este estudo investigou a relação entre variantes genéticas e o desenvolvimento neuropsicomotor em uma coorte de crianças nascidas entre 2021 e 2022 na Maternidade Escola Assis Chateaubriand (MEAC), em Fortaleza, Ceará. Foram avaliadas 30 crianças por meio de um painel genético de 229 genes, e 22 destas completaram a avaliação de neurodesenvolvimento e autismo com as escalas Bayley-III e CARS, respectivamente. A análise genômica identificou variantes de significado incerto (VUS) e provavelmente patogênicas (PP) em 28 genes. Notavelmente, foram encontradas variantes PP nos genes *DHCR7*, *CNTNAP2* e *CHD7*, associadas a atrasos nos domínios de linguagem e motor na Bayley-III e classificações de TEA leve a grave na escala CARS. A análise estatística exploratória sugeriu uma correlação entre o aumento do número de VUS e a diminuição nos escores de desenvolvimento, especialmente nos domínios motor e cognitivo. Fatores ambientais de risco, como infecções gestacionais (47,06% ITU), hipertensão (11,76%) e diabetes gestacional (20,59%), também foram prevalentes na amostra. Estes achados reforçam a etiologia multifatorial dos transtornos do neurodesenvolvimento e destacam a importância de integrar a triagem genômica à vigilância do desenvolvimento infantil para possibilitar intervenções precoces e personalizadas, especialmente em populações vulneráveis.

Palavras-chave: Autismo. Neurodesenvolvimento. Painel Genético. Desenvolvimento Infantil.

Genetic profile and neurodevelopmental outcomes in children born during the COVID-19 pandemic in northeastern Brazil

ABSTRACT

The COVID-19 pandemic has raised concerns about the impacts of maternal SARS-CoV-2 infection on child neurodevelopment. This study investigated the relationship between genetic variants and neuropsychomotor development in a cohort of children born between 2021 and 2022 at the Maternidade Escola Assis Chateaubriand (MEAC) in Fortaleza, Ceará, Brazil. Thirty children were assessed using a genetic panel of 229 genes, and 22 of them completed neurodevelopmental and autism evaluations with the Bayley-III and CARS scales, respectively. Genomic analysis identified variants of uncertain significance (VUS) and likely pathogenic (LP) variants in 28 genes. Notably, LP variants were found in the DHCR7, CNTNAP2, and CHD7 genes, which were associated with delays in the language and motor domains on the Bayley-III and with mild to severe ASD classifications on the CARS scale. Exploratory statistical analysis suggested a correlation between a higher number of VUS and lower developmental scores, particularly in the motor and cognitive domains. Environmental risk factors, such as gestational infections (47.06% UTI), hypertension (11.76%), and gestational diabetes (20.59%), were also prevalent in the sample. These findings reinforce the multifactorial etiology of neurodevelopmental disorders and highlight the importance of integrating genomic screening into child development monitoring to enable early and personalized interventions, especially in vulnerable populations.

Keywords: Autism Spectrum Disorder. Neurodevelopmental Disorders. Genetic Testing. Child Development.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Domínios escala <i>BAYLEY III</i>	31
Tabela 2. Classificação do risco de atraso de desenvolvimento.....	31
Tabela 3. Domínios escala CARS	33
Tabela 4. Classificação de risco CARS	34
Tabela 5. Classificação SFARI Gene	36
Tabela 6. Classificação EAGLE escore.....	38
Tabela 7. Dados sociodemográficos das mães.	41
Tabela 8. Distribuição das características sociodemográficas, obstétricas e clínicas das participantes segundo a naturalidade	42
Tabela 9. Associações entre as avaliações das escalas Bayley-III e CARS e o painel genético de 30 recém-nascidos.....	39
Tabela 10. Classificação geral dos genes de acordo com os transtornos e síndromes associadas	42
Tabela 11. Genes e proteínas com potencial papel na neuroproteção	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Instrumentos de Avaliação do Desenvolvimento Infantil.....	18
Figura 2: Fluxograma de classificação das variantes genéticas ACMG	23
Figura 3: Fluxograma de recrutamento	27
Figura 4: Classificação genética das variantes	46
Figura 5: Padrão de herança das variantes.....	47
Figura 6: Tipo de mutação (PP e VUS).....	48

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACMG	American College of Medical Genetics and Genomics (Colégio Americano de Genética Médica e Genômica)
ADI-R	Autism Diagnostic Interview-Revised (Entrevista Diagnóstica para Autismo – Revisada)
ADOS	Autism Diagnostic Observation Schedule (Protocolo de Observação para Diagnóstico de Autismo)
APA	American Psychiatric Association (Associação Americana de Psiquiatria)
BPD	Bipolar Disorder (Transtorno Bipolar)
CARS	Childhood Autism Rating Scale (Escala de Avaliação do Autismo Infantil)
cDNA	DNA complementar
ClinGen	Clinical Genome Resource (Recurso Genômico Clínico)
DI	Deficiência Intelectual
DSM-5	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – Fifth Edition (Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – 5ª Edição)
HGVS	Human Genome Variation Society (Sociedade de Variações do Genoma Humano)
IL-6	Interleucina 6
IL-17A	Interleucina 17A
IST	Infecção Sexualmente Transmissível
ITU	Infecção do Trato Urinário
M-CHAT	Modified Checklist for Autism in Toddlers (Lista de Verificação Modificada para Autismo em Crianças Pequenas)
MEAC	Maternidade Escola Assis Chateaubriand
NGS	Next-Generation Sequencing (Sequenciamento de Nova Geração)
NUTEP-UFC	Núcleo de Tratamento e Estimulação Precoce da Universidade Federal do Ceará

OMIN	Online Mendelian Inheritance in Man (Herança Mendeliana Online no Homem)
PP	Probably Pathogenic (Provavelmente Patogênico)
SARS-CoV-2	Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2
SCZ	Esquizofrenia
SFARI Gene	Simons Foundation Autism Research Initiative – Gene (Iniciativa de Pesquisa em Autismo da Fundação Simons – Gene)
SNC	Sistema Nervoso Central
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TDAH	Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade
TEA	Transtorno do Espectro Autista
TND	Transtornos do Neurodesenvolvimento
VUS	Variante de Significância Incerta

Sumário

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Autismo.....	15
1.1.1 Diagnóstico	16
1.1.2 Aspectos etiopatogênicos do Autismo.....	19
1.1.3 Bases genéticas do TEA	21
1.1.4 Impactos Sociais e Econômicos no Autismo	24
2. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA	25
OBJETIVOS.....	26
3.1 Geral.....	26
3.2 Específicos:.....	26
4. METODOLOGIA.....	27
4.1 Delineamento do Estudo	27
4.2 Critérios de exclusão	28
4.3 Coleta de dados sociodemográfico	28
4.4 Coleta de sangue e Extração do cDNA.....	28
4.5 Aplicação de escalas de avaliação durante o desenvolvimento da criança	30
A- Escala de Pontuação para avaliação do neurodesenvolvimento BAYLEY III.....	30
B- Escala de Pontuação para Autismo na Infância	32
4.6 Avaliação <i>in silico</i> dos genes.....	34
A- OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man.....	34
B- SFARI Gene	35
5. ESTATÍSTICA	39
6. RESULTADOS	40
7. DISCUSSÃO.....	45
8. LIMITAÇÕES DO ESTUDO	55
9. CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS	57
APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO	67
APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO.....	70

1. INTRODUÇÃO

O transtorno do espectro autista (TEA) é um distúrbio de neurodesenvolvimento caracterizado por alterações na comunicação social e padrões repetitivos no comportamento. (Shaju *et al.*, 2025) O TEA apresenta uma prevalência estimada globalmente em 1 a cada 100 crianças, este transtorno é considerado um importante desafio na saúde pública, devido sua complexidade clínica e o impacto socioeconômico. (Zeidan *et al.*, 2022)

A etiologia do autismo é heterogênea e envolve interações entre fatores genéticos, ambientais e epigenéticos. Estudos realizados com gêmeo sugerem uma herança genética de 50% a 90%, intensificando o papel dos determinantes genéticos na sua origem. (Gaugler *et al.*, 2014)

Através da perspectiva genética o TEA pode estar relacionado a doenças mendelianas e variações genéticas complexas. Doenças mendelianas (monogênicas) são causadas por mutações relacionadas a um único gene que seguem padrões de herança autossômica dominante, recessiva ou ligada ao X, como por exemplo, a síndrome de Rett (*MECP2*) e a síndrome do X frágil (*FMRI*), ambas fortemente acompanhadas de fenótipos relacionados ao autismo (Hagerman *et al.*, 2017; Neul *et al.*, 2010).

Além das doenças monogênicas, alguns casos do TEA são classificados como idiopático, que apesar da forte evidência genética, não se reconhece uma única mutação causal ou síndrome reconhecida. Essa categorização representa a origem multifatorial e a heterogeneidade do TEA. (Satterstrom *et al.*, 2020) As variantes herdadas são transmitidas de um dos pais e pode haver alterações em genes sinápticos e de adesão celular como o *CNTNAP2* e *NRXN1*. Essas variantes embora ocorram uma expressividade variável, podem predispor o indivíduo ao TEA, principalmente combinadas com outras variantes de risco e exposição ambiental (Yasuda *et al.*, 2023).

Contudo as variantes de novo, também chamadas de “mutação nova” surgem de forma natural no indivíduo afetado e não estão presentes no genoma dos pais. Estas mutações acontecem durante a gametogênese ou nas primeiras divisões pós-zigóticas e constantemente estão relacionadas a genes de grande importância durante o processo de neurodesenvolvimento, como os genes *CHD8*, *SCN2A* e *DYRK1A*. As variantes de novo são particularmente relevantes em alguns casos e podem estar associadas a efeitos deletérios devido a alterações em vias moleculares. (Liu; Takumi, 2014)

Com o surgimento do Sequenciamento de Nova Geração (NGS) permitiu-se a identificação simultânea de múltiplas variantes genéticas em painéis direcionados, genomas

completos e exomas (Green; Rehm; Kohane, 2012) Além disso, a interpretação destas variantes baseia-se nos critérios do *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG), que as classifica como benigna, provavelmente benigna, de significado incerto (VUS), provavelmente patogênico e patogênico. (Richards *et al.*, 2015)

No entanto fatores ambientais e mecanismos epigenéticos surgem como elementos importantes no fator de risco para o TEA. A ativação imune materna (AIM), iniciada por infecções durante a gestação, pode levar a liberação de citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e IL-17^a, podendo atravessar a barreira placentária e afetar o desenvolvimento neural do feto. (Choi *et al.*, 2016) Além da AIM, fatores como idade avançada dos pais, exposição pré-natal a toxinas e uso de determinados fármacos como o ácido valpróico, foram relacionados à etiologia do TEA, interagindo com as predisposições genéticas existentes alterando assim o processo de neurodesenvolvimento. (Persico; Merelli, 2015)

Desta forma é necessário compreender as complexas interações entre genes e ambiente é essencial para entender a patogênese do TEA e avançar na criação de estratégias de diagnóstico precoce e intervenções terapêuticas.

1.1 Autismo

O TEA é definido como um transtorno do neurodesenvolvimento (TND) e configura um grupo heterogêneo de condições caracterizadas por alterações precoces durante o desenvolvimento cerebral, resultando em comprometimento total ou em funções cognitivas, sociais, linguagem e motora. É estimado que entre 7% a 14% da população infantil mundial tenha o transtorno, sendo uma das principais causas de incapacidade intelectual e limitação ao longo da vida. (Lee *et al.*, 2013; Vogel Ciernia *et al.*, 2020). Embora fatores genéticos desempenhem um papel importante, estudos apontam que fatores ambientais, como infecções durante a gestação, desnutrição e trauma, podem aumentar o risco de condições multifatoriais e heterogêneas, como autismo e esquizofrenia. (Santos-Terra *et al.*, 2021) Compreender as interações entre fatores genéticos e ambientais é fundamental para o desenvolvimento de estratégias preventivas para esses transtornos. (Moll, 2024)

Na última década, houve um aumento no número de diagnósticos de transtornos do neurodesenvolvimento, impulsionado pelos avanços nos métodos diagnósticos e pelas mudanças ocorridas nos critérios estabelecidos pelo DSM-5 (Moll, 2024). Além disso, fatores como idade avançada dos pais, especial a idade paterna, estão correlacionados a uma maior incidência de mutações que impactam o processo de neurodesenvolvimento (Kim; Youk;

Kim, 2022). Processos inflamatórios também podem interferir na formação do sistema nervoso do feto (Banu; Haque; Tasnim, 2022), enquanto a exposição materna a substâncias como álcool, tabaco, alguns medicamentos e drogas ilícitas têm sido relatadas como fator de risco para alterações cognitivas e comportamentais no desenvolvimento infantil. (Cernigliaro *et al.*, 2024)

O transtorno do espectro autista (TEA), um dos mais comuns de TND, pode envolver diversos níveis de gravidade e está relacionado ao desenvolvimento atípico da conectividade cerebral funcional durante o período pré-natal e pós-natal precoce. (Ma *et al.*, 2022) O TEA é caracterizado por sintomas relacionados por déficits nas habilidades e capacidade de comunicação, redução da interação social, comportamentos repetitivos e restritos, além de rigidez e hipersensibilidade sensorial. Estes sintomas podem surgir na primeira infância e persistir ao longo da vida. (Hirota; King, 2023; Voelker, 2024) O Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais da Associação Psiquiátrica Americana (APA), 5ª edição (DSM-5), determina que critérios de diagnósticos sejam agrupados em duas classes que possuem características como: déficits persistentes na comunicação social, interação social e comportamentos repetitivos. (Hirota; King, 2023)

A transição do DSM-IV para o DSM-5 trouxe mudanças significativas nesses critérios, aprimorando a compreensão e a precisão dos diagnósticos. Uma das principais alterações foi a consolidação dos subtipos de TEA em uma única categoria, reconhecendo a variabilidade dentro do espectro e tornando o diagnóstico mais abrangente e representativo (Moll, 2024). Essas mudanças foram realizadas devidas novas evidências neurobiológicas e epidemiológicas, que destacaram a necessidade de critérios inclusivos e mais representativos na diversidade de sintomas clínicos desses transtornos. (Théry *et al.*, 2018) Desta forma, as revisões realizadas nos critérios diagnósticos gerou um aumento nos diagnósticos, facilitando o acesso a tratamentos e intervenções precoces.

1.1.1 Diagnóstico

A primeira infância é o período entre o nascimento até os seis anos de idade, é um momento crítico para o desenvolvimento neurobiológico, são caracterizados pelo processo acentuado de neurogênese, sinaptogênese e remodelamento sináptico, esses processos são essenciais para a formação das habilidades socioemocionais, comunicativas e cognitivas. (Shonkoff; Phillips, 2000) Alterações durante o processo de desenvolvimento infantil podem resultar em manifestações precoces de TND, como o TEA, sendo o diagnóstico precoce

importante para aumentar a eficácia de intervenções terapêuticas durante o período de maior plasticidade cerebral. (Zwaigenbaum *et al.*, 2015)

O diagnóstico do TEA é clínico e baseia-se na observação de padrões comportamentais característicos, como déficits na comunicação social, dificuldades nas interações, e comportamentos restritos e repetitivos. (Moll, 2024) Normalmente o processo de diagnóstico ocorre através de entrevista com os cuidadores, uso de escalas padronizadas, como a *Autism Diagnostic Observation Schedule* (ADOS), *Autism Diagnostic Interview-Revised* (ADI-R), *Childhood Autism Rating Scale* (CARS) e *Modified Checklist for Autism in Toddlers* (M-CHAT), e incluindo avaliações multidisciplinares que envolvem profissionais como psicólogos, neurologistas e fonoaudiólogos (Rellini *et al.*, 2004; Sarovic, 2019).

A *Bayley Scales of Infant and Toddler Development*, Terceira Edição (Bayley-III) tem como principal objetivo detecção precoce de atrasos no desenvolvimento em crianças de 1 e 42 meses de idade, permitindo o planejamento de intervenções adequadas (Armstrong; Agazzi, 2010). A escala avalia três domínios principais: cognitivo, linguagem e motor, além de incluir uma análise do comportamento social e emocional (Armstrong; Agazzi, 2010). Essa escala é bastante utilizada em contextos clínicos e de reabilitação, especialmente em crianças com menos de 3 anos, sendo útil na triagem de suspeitas de TEA (Torras-Mañá *et al.*, 2016). Estudos demonstram que escores abaixo de 80 nesses domínios estão associados a maiores chances de diagnósticos do espectro autista, reforçando o caráter preditivo da escala. (Zaky *et al.*, 2021) A integração de escalas como Bayley-III à prática clínica contribuindo para diagnósticos mais precisos e as intervenções precoces.

Enquanto a *Childhood Autism Rating Scale* (CARS) é uma ferramenta essencial para avaliar transtornos de neurodesenvolvimento específicos, como o TEA (Anderson; Burnett, 2017). Composta por 15 itens que analisam aspectos como relacionamento interpessoal, comunicação verbal e não verbal, resposta emocional, uso do corpo e objetos, adaptação a mudanças, sensibilidade sensorial e comportamentos repetitivos (Rellini *et al.*, 2004). Esses itens são organizados em quatro domínios: comunicação, interação social, comportamento e padrões repetitivos. (Lima *et al.*, 2023)

A CARS permite classificar o autismo em três níveis: ausência de autismo (pontuação < 30), leve-moderado (30-36) e grave (> 36) (Flores-Rodríguez; Ceballos; Albores-Gallo, 2022). Os comportamentos avaliados refletem características do TEA, como déficits na comunicação, dificuldades de interação social e comportamentos repetitivos, observados ainda nos primeiros anos de vida e que impactam a qualidade de vida da criança. (Kodak; Bergmann, 2020)

Sua aplicação é realizada por profissionais da saúde, como psicólogos e pediatras, por meio de observação clínica e entrevistas com cuidadores. A CARS também se destaca por sua eficaz na diferenciação entre TEA de outros transtornos do desenvolvimento, como Transtorno global do desenvolvimento sem outra especificação, apresentando alta sensibilidade e especificidade, com base nos critérios diagnósticos do DSM-5 (Chlebowski *et al.*, 2010) (Perry *et al.*, 2005).

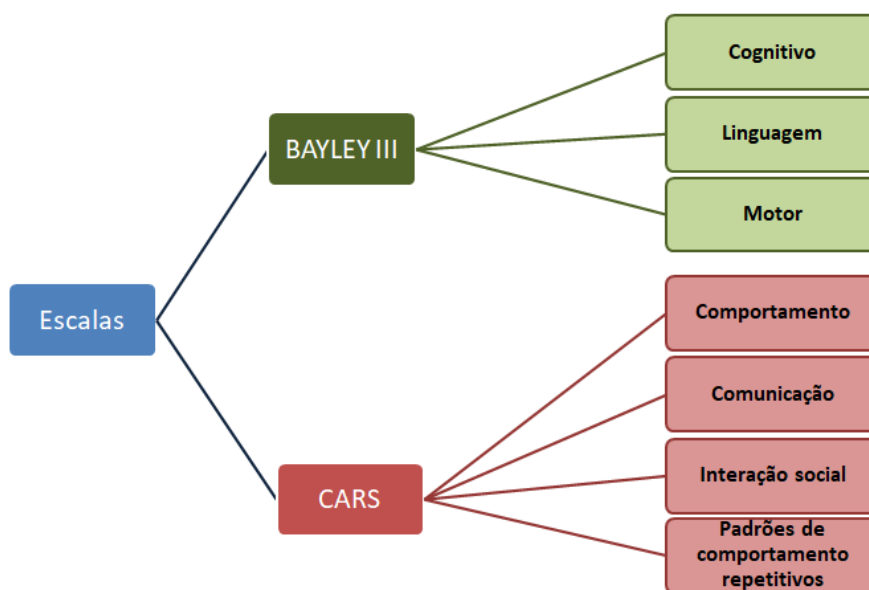


Figura 1: Instrumentos de Avaliação do Desenvolvimento Infantil

Complementarmente, o DSM-5 define a classificação do TEA baseada em níveis de suporte necessários, reconhecendo a heterogeneidade do espectro. A abordagem divide em três níveis de gravidade: nível 1 (requer suporte) os indivíduos apresentam dificuldades em iniciar interações sociais e podem exibir respostas atípicas em relação a tentativas dos outros; nível 2 (requer suporte substancial) paciente apresentam déficits mais significativos na comunicação verbal e não verbal, assim como dificuldades em adaptar-se a mudanças e comportamentos restritos; nível 3 (requer suporte muito substancial) os déficits são severos na comunicação social e comportamentos extremamente restritivo e repetitivo em que interferem na vida diária. (del Barrio, 2004)

Embora não existam marcadores biológicos definitivos para o diagnóstico do TEA, alguns estudos demonstram que exames como eletroencefalograma (EEG) e de neuroimagem podem ajudar na identificação precoce de padrões neurológicos associados ao TEA. (Kiser;

Rivero; Lesch, 2015) O diagnóstico pode ser realizado a partir dos dois anos de idade, sendo fundamental para intervenções precoces e precisas. Essas intervenções contribuem significativamente para o desenvolvimento comunicativo, social e cognitivo das crianças. (Pasco, 2018) Estudos indicam que o diagnóstico precoce combinado com abordagens terapêuticas intensivas, melhora significativamente o prognóstico e diminui as dificuldades associadas ao autismo no decorrer da vida. (Salgado *et al.*, 2024)

Desta forma tanto a Bayley III quanto a CARS constituem boas ferramentas na avaliação de neurodesenvolvimento infantil, pois oferecem algumas percepções sobre o neurodesenvolvimento infantil, contribuindo na identificação precoce do TEA, no direcionamento de estratégias de tratamento personalizadas e promoção de saúde em contextos clínicos no serviço público.

1.1.2 Aspectos etiopatogênicos do Autismo

A fisiopatologia do Transtorno do Espectro Autista (TEA) ainda não é completamente compreendida. No entanto, acredita-se que sua origem esteja associada a uma complexa interação entre fatores genéticos e ambientais. Diversos genes relacionados ao desenvolvimento neuronal e à regulação sináptica têm sido associados no TEA, influenciando processos epigenéticos e mecanismos de plasticidade neuronal. A expressão desses genes, por sua vez, pode ser modulada por fatores ambientais, que atuam como gatilhos ou amplificadores dos riscos genéticos.

A predisposição genética ao TEA é bem estabelecida, com centenas de mutações associadas ao transtorno. Estudos descrevem que mutações em genes que regulam a sinapse como *SHANK3*, *CHD8* e *NRXN1*, podem afetar a conectividade neural e estão fortemente associados a formas síndrômicas e não síndrômicas do autismo. (Warrier; Baron-Cohen, 2017) Esses genes desempenham papéis relevantes em vias biológicas como a do glutamato, que está envolvida na plasticidade sináptica, e o do cAMP, que regula a sinalização intracelular. Mutações nessas vias têm sido apontadas como mecanismos associados à fisiopatologia do TEA. (Luo *et al.*, 2018)

Os fatores ambientais podem interagir com essas predisposições genéticas, elevando significativamente o risco de desenvolvimento do autismo. Processos inflamatórios durante o período gestacionais desencadeados por infecções virais ou bacterianas podem ativar o sistema imune e alterar o neurodesenvolvimento fetal. (Tejaswini *et al.*, 2013) Além disso, deficiências nutricionais, como baixos níveis de vitamina D ou de ácidos graxos essenciais, também podem contribuir para esse risco, possivelmente por interferirem na expressão gênica

e no funcionamento neuronal (Korade; Mirnics, 2011). Evidências sugerem que inflamações crônicas e alterações imunológicas são capazes de modificar a diferenciação neuronal e prejudicar a plasticidade sináptica, mecanismos essenciais para o desenvolvimento cognitivo e social. (Russo, 2017) Corroborando com a hipótese que o TEA é resultado de uma interação complexa entre meio ambiente e genética.

Além desses aspectos, os processos inflamatórios e imunológicos durante a gestação induzem uma resposta inflamatória sistêmica conhecida como ativação imune materna (AIM), que afeta diretamente o cérebro fetal (Patterson, 2009; Choi et al., 2016), alterando a liberação de citocinas como IL-6, IL-17A e TNF- α . Citocinas essas que podem interferir no desenvolvimento sináptico, neurogênese e na regulação dos sistemas GABA e glutamato (Flashner *et al.*, 2013)

Na genética, estudos recentes apontam o TEA como condição com forte componente hereditário. Diversos genes envolvidos em processos neuronais fundamentais, como formação e manutenção das sinapses, funcionamento de canais iônicos e proteínas estruturais, foram identificados como alterados em indivíduos com o transtorno. Essas mutações não ocorrem de forma isolada, elas influenciam a rede de interação gênica, aumentando a vulnerabilidade ao TEA. (Yoon *et al.*, 2020)

Como já destacado entre os fatores ambientais, o sistema imunológico também desempenha um papel central e importante. Desta forma, a ativação imunológica materna durante a gestação, pode liberar citocinas inflamatórias desencadeadas por infecções virais ou bacterianas. Citocinas como a IL-17A, atravessam a barreira placentária e impacta diretamente no cérebro fetal, alterando as vias de excitabilidade neuronal e compromete os circuitos neurais. (Jhanji *et al.*, 2024; Nardone; Elliott, 2016)

Portanto, embora os fatores intrínsecos como a herança genética, alterações epigenéticas e os processos imunológicos, sejam importantes para a compreensão da etiologia do autismo, eles não atuam de forma isolada. O TEA na verdade é uma relação de uma rede complexa de influência em que fatores externos ao organismo possuem um papel determinante. Esses fatores são conhecidos como extrínsecos, em que envolvem condições e exposições no ambiente parental, gestacional e até mesmo pós-natal, interagindo desta forma com as vulnerabilidades biológicas já existentes. Assim, é necessário avaliar variáveis como a idade dos pais, e o uso de medicações na gestação, infecções maternas, estresse e a desnutrição para ampliar o risco do transtorno.

No contexto dos fatores extrínsecos, as pesquisas têm identificado vários elementos que podem aumentar o risco do TEA, como a idade paterna e materna avançada. Embora

esses resultados sejam divergentes, há evidência de que a idade paterna avançada pode estar associada a risco aumentado devido alterações epigenéticas acumuladas no esperma ao longo da vida (Murphy, 2014), enquanto outros estudos sugerem que a idade de forma isolada não pode ser considerada como fator determinante. (Nani *et al.*, 2020)

Infecções durante o período gestacional, como já mencionado, elevam o risco de TEA devido à ativação da cascata inflamatória que altera os processos normais do desenvolvimento fetal. (Jhanji *et al.*, 2024) O uso de alguns medicamentos, como ácido valpróico, anestésicos e esteroides sintéticos, também têm sido evidenciados como fator de risco, devido sua capacidade de induzir alterações nos gametas e diretamente no feto. (Escher *et al.*, 2022)

Por fim, individualidades como estresse materno e desnutrição durante a gestação estão sendo pesquisadas, pois esses fatores ambientais podem interagir com o genoma fetal, alterando diretamente a regulação de genes na formação de sinapses e a conexão das redes neuronais. (Bastaki; Alwan; Zahir, 2020)

1.1.3 Bases genéticas do TEA

As doenças mendelianas são condições genéticas ocasionadas por mutações em um único gene com um padrão de herança previsível, como o autossômico dominante, autossômico recessivo ou ligado ao cromossomo X. Estas doenças acompanham as leis de herança de Mendel e sua contribuição para o TEA é importante em casos síndrômicos, significando cerca de 10% a 20% dos diagnósticos quando associadas a distúrbios ou alterações neurológicas. (Choi; An, 2021)

Entre as doenças mendelianas associadas ao TEA, a síndrome de Rett é uma das mais estudadas, devido mutações no gene *MECP2* (*methyl CpG binding protein 2*), localizado no cromossomo X (Xq28), onde codifica uma proteína reguladora na expressão gênica e manutenção da estrutura cromatínica em neurônios. A síndrome afeta principalmente meninas devido à letalidade em hemizogotos no sexo masculino na maioria dos casos. Clinicamente, define-se pela regressão do desenvolvimento após um período de desenvolvimento normal neuropsicomotor entre 6 e 18 meses de idade. Nessa fase gera perda de habilidades motoras e linguísticas, microcefalia pós-natal (redução do perímetro cefálico após o nascimento) e a sobreposição de sintomas do TEA, como movimentos repetitivos de torcer ou esfregar as mãos e déficits na comunicação social. (Neul *et al.*, 2010)

A síndrome do X frágil, é decorrente de repetições na trinca de nucleotídeos citosina-guanina-guanina no gene *FMRI*, essa expansão anômala leva a metilação e silenciamento do

gene, e representa aproximadamente 1% a 3% dos indivíduos com TEA. Essa proteína é importante para a regulação da tradução local de proteínas em neurônios e na plasticidade sináptica, sendo a sua ausência um fator crítico nas alterações neurodesenvolvimentais. (Hagerman *et al.*, 2017)

A esclerose tuberosa resulta em mutações nos genes *TSC1* ou *TSC2*, onde codificam proteínas reguladoras da via mTOR. Alterações nessa via resultam no crescimento celular descontrolado e alterações cerebrais como tubérculos corticais, que estão associados constantemente ao TEA, em torno de 40% a 60% dos casos. (Curatolo *et al.*, 2024)

Portanto a identificação de condições genéticas é fundamental na prática clínica, e os painéis genéticos direcionados têm sido utilizados como ferramenta de triagem inicial em crianças com autismo. Esses painéis permitem uma análise de dezenas a centenas de genes já associados ao transtorno, sendo economicamente mais efetivo do que o sequenciamento de exoma completo. (Reale *et al.*, 2021)

Além das doenças genéticas, as variantes no TEA podem ser classificadas como herdadas ou de novo. Sendo as variantes herdadas àquelas que são transmitidas dos pais e seguem um padrão poligênico aditivo e com múltiplas variantes de pequeno efeito que se acumulam e aumentam o risco do transtorno. Alguns genes com variantes herdadas e relacionadas ao TEA são *CNTNAP2* e *RELN*, que estão relacionados à formação e estabilidade das conexões sinápticas. (Lovato *et al.*, 2019) Em contrapartida, as variantes de novo são mutações que ocorrem de forma espontânea durante a gametogênese ou no processo de desenvolvimento embrionário precoce, ausentes no genoma dos pais. Essas mutações têm impacto funcional e estão associadas fortemente ao TEA, muitas vezes associados à doenças neurológicas. (Viggiano *et al.*, 2024)

A aplicação do Sequenciamento de Nova Geração (NGS) transformou a genética do TEA, é uma tecnologia que permite realizar análises simultâneas de múltiplos genes. Essa técnica possibilita a identificação de variantes genéticas, substituições de bases, inserções, deleções e até alterações estruturais. Entre as principais categorias do NGS, estão os painéis direcionados que avaliam um conjunto restrito de genes já associados a um fenótipo, o sequenciamento de exoma que abrange as regiões codificadoras, e o sequenciamento de genoma completo que analisa o DNA, incluindo regiões regulatórias, permitindo a detecção de variantes raras. (Bacchelli *et al.*, 2023)

A interpretação dos dados gerados pela NGS é guiada pela *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG), uma instituição responsável pela padronização da análise e classificação hierárquica de cinco categorias para as variantes, como benignas,

provavelmente benignas, de significado incerto (VUS), provavelmente patogênicas e patogênicas. Essa divisão é baseada em critérios robustos, incluindo a frequência populacional da variante em bases de dados, predições *in silico* sobre o efeito da alteração na proteína, evidências funcionais. (Richards *et al.*, 2015)

A integração entre NGS e a classificação ACMG é importante para diferenciar variantes de relevância clínica sem significado patogênico, além disso, a identificação dos VUS reforça a importância de realizar análises periódicas dos dados genômicos, à medida que surgem novas evidências. (Lovato *et al.*, 2019)

Por fim, o uso de painéis genéticos associados à classificação ACMG é importante enquanto ferramenta no diagnóstico molecular do TEA. Ambas ao serem associadas permitem um aconselhamento genético mais preciso e auxilia na criação de intervenções direcionadas. (Hu *et al.*, 2023)

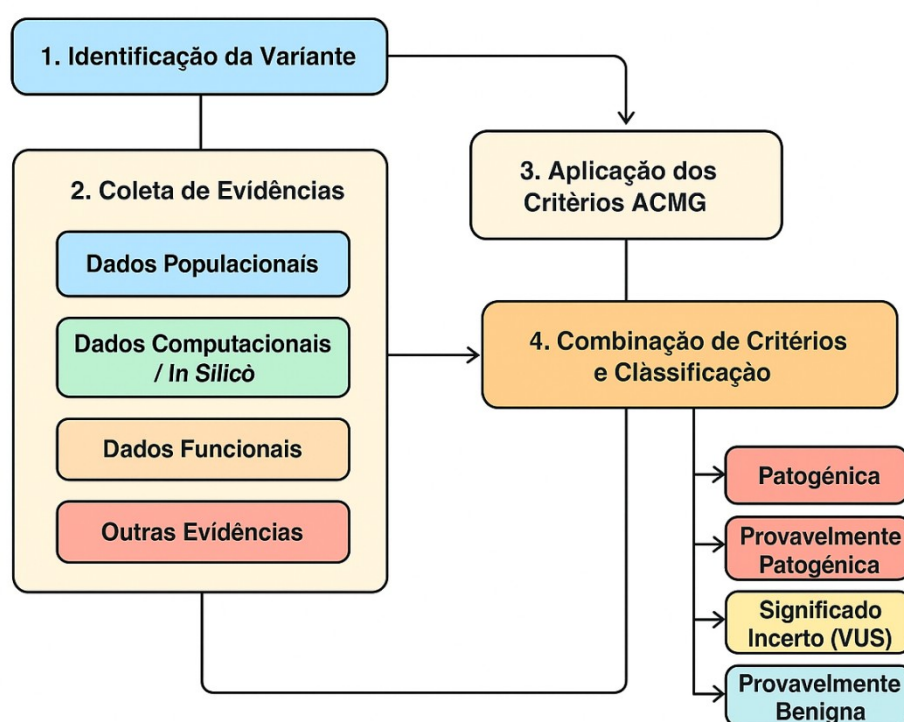


Figura 2: Fluxograma de classificação das variantes genéticas ACMG

Este fluxograma (figura 2) resume o processo de classificação de variantes genéticas segundo os critérios da ACMG. O percurso inicia-se com a identificação da variante, seguida pela coleta de evidências, que incluem dados populacionais, análises computacionais (*in silico*), estudos funcionais e outras fontes de informação. Em seguida, esses dados são confrontados com os critérios estabelecidos pela ACMG, permitindo a combinação

sistemática das evidências para classificar a variante em uma das cinco categorias: patogênica, provavelmente patogênica, de significado incerto (VUS), provavelmente benigna ou benigna. Esse processo é essencial para transformar a informação genética em conhecimento clínico aplicável, contribuindo para a prática da medicina de precisão.

1.1.4 Impactos Sociais e Econômicos no Autismo

O diagnóstico do TEA impacta diretamente as famílias, além do sistema público de saúde e o sistema educacional, impondo diversos desafios econômicos e sociais. O impacto econômico ocorre devido aos altos custos para o tratamento do autismo, incluindo as terapias especializadas e o acompanhamento multidisciplinar. Socioeconomicamente falando a grande maioria dependem do Sistema Único de Saúde (SUS), o que gera um diagnóstico tardio e intervenções limitadas, agravando ainda mais as dificuldades de socialização e autonomia. (Miguel; Miguel, 2020)

Esse cenário é aumentado através das desigualdades socioeconômicas que influenciam diretamente no diagnóstico e tratamento das pessoas com autismo. Famílias com baixa renda enfrentam maiores barreiras para acessar profissionais especializados, o que dificulta a identificação precoce e intervenções fundamentais para o processo de desenvolvimento da criança. Além disso, a grande maioria das famílias arca com despesas adicionais ao utilizarem serviços privados ou terapias alternativas em que o Serviço Único de Saúde (SUS) não cobre, comprometendo assim a organização financeira. (Durkin *et al.*, 2017)

O peso econômico atinge o cotidiano dos cuidadores, principalmente as mães, que na maioria das vezes necessitam renunciar a suas carreiras para se dedicar ao cuidado integral dos filhos. Esse distanciamento do mercado de trabalho gera perda de renda, mas também sentimento de sobrecarga emocional e isolamento social, que afeta a qualidade de vida das famílias. (Gorlin *et al.*, 2016)

No contexto educacional, é grande o desafio para incluir crianças com TEA, visto que a maioria das instituições públicas não possuem infraestrutura adequada e formação docente adequada, além da falta de equipes multidisciplinares para apoio. Frequentemente isso resulta em práticas educacionais excludentes e até mesmo em processos judiciais para garantir o acesso a direitos que são básicos como, por exemplo, a presença de tutores ou suporte terapêutico na escola. (Durkin *et al.*, 2017)

Outros fatores como a idade parental e condições perinatais têm sido abordadas como risco para o aumento da prevalência do TEA, principalmente em populações vulneráveis. Um

estudo realizado no Brasil demonstrou que uma associação entre a idade o risco de diagnóstico de autismo com a idade dos pais, indicando assim que pode ser um fator ligado a possíveis alterações genéticas e epigenéticas relacionadas ao processo de envelhecimento dos gametas. (Maia *et al.*, 2018)

Portanto, os impactos econômicos e sociais do autismo ultrapassam a situação clínica e exigem que políticas públicas sejam integradas e considerem o contexto socioeconômico destas famílias, e promovam a igualdade no acesso a cuidados e garantam os direitos fundamentais das pessoas com TEA desde a infância.

2. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

O TEA é uma condição neurobiológica complexa e multifatorial, caracterizada por alterações no comportamento, comunicação e desenvolvimento social. Sua origem envolve uma interação entre os fatores ambientais, epigenéticos, genéticos e imunológicos, dificultando o diagnóstico precoce e o estabelecimento de marcadores prognósticos. Desta forma, é necessário investigar os mecanismos etiopatológicos relacionados ao TEA, com o objetivo de aprimorar estratégias de prevenção, diagnóstico precoce e intervenções mais eficazes.

Os fatores genéticos exercem influência direta no desenvolvimento do TEA, especialmente genes envolvidos diretamente no processo da neurogênese, formação sináptica e plasticidade cerebral, como *SHANK3*, *NRXN1* e *CNTNAP2*. (Warrier; Baron-Cohen, 2017)

Entre os fatores ambientais mais investigados estão as infecções virais perinatais, como influenza, rubéola e citomegalovírus. Esses agentes são comumente agrupados sob o termo Ativação Imunes Maternos (MIA, do inglês Maternal Immune Activation), uma condição respaldada por evidências clínicas e pré-clínicas como um importante fator de risco para atrasos no neurodesenvolvimento. (Aswani *et al.*, 2023; Bjørklund; Bhat; El-Ansary, 2024; Monte *et al.*, 2017) O conceito de MIA busca esclarecer os mecanismos mediados pelo sistema imune que ligam a infecção materna durante a gestação a alterações no desenvolvimento cerebral fetal e ao aumento do risco de transtornos do neurodesenvolvimento. Durante a pandemia de COVID-19, surgiram preocupações sobre os possíveis efeitos da infecção materna pelo SARS-CoV-2 no sistema imunológico ainda imaturo do feto, portanto um modelo de MIA. Especulou-se que a infecção pudesse induzir resposta inflamatória exacerbada, com o aumento de produção de citocinas pró-inflamatórias, mecanismo já descrito em outras infecções virais associadas ao risco aumentado para o TEA.

Embora ainda não haja evidências conclusivas, três hipóteses vêm sendo consideradas: a infecção direta do vírus no sistema nervoso central (SNC), infecções em outros tecidos que impactam indiretamente o SNC e alterações na resposta imunológica materno-fetais que afetam o neurodesenvolvimento (Bae *et al.*, 2010; Bao; Hofsink; Plösch, 2022; Hall *et al.*, 2023; Oliveira; Júnior; Aragao, 2021).

Nos últimos anos, avanços tecnológicos de sequenciamento de nova geração permitiram a identificação de variantes genéticas associadas ao neurodesenvolvimento, como o TEA. (Satterstrom *et al.* 2020) No entanto a maioria dos estudos genéticos dessa área concentra-se em populações de países da América do Norte, Europa e Ásia, resultando em um importante viés de representatividade nos bancos de dados genômicos e clínicos. (Alice B. Popejoy and Stephanie M. Fullerton n.d.) Dessa forma torna-se essencial desenvolver pesquisas que explorem perfil genético de populações sub-representadas, como a brasileira. (Fonseca *et al.* 2021)

O estudo justifica-se necessidade de ampliar o conhecimento sobre o perfil genético relacionado ao neurodesenvolvimento infantil, subsidiando futuros esforços de diagnóstico precoce, aconselhamento genético e intervenções terapêuticas personalizadas.

OBJETIVOS

3.1 Geral

Investigar o perfil genético de crianças nascidas durante a pandemia COVID-19 e sua relação exploratória com o desenvolvimento neuropsicomotor até os dois anos de idade, em uma coorte acompanhada na Maternidade Escola Assis Chateaubriand (MEAC), Fortaleza - Ceará.

3.2 Específicos:

- ✓ Caracterizar os aspectos sociodemográfico, clínicos e perinatais das crianças incluídas no estudo.
- ✓ Avaliar o desenvolvimento neuropsicomotor na primeira infância, com ênfase nos domínios cognitivo, linguagem e motor utilizando instrumentos padronizados e validados, como a Escala Bayley-III e a Childhood Autism Rating Scale (CARS).
- ✓ Realizar a análise genética das crianças participantes, utilizando um painel de 229 genes associados ao neurodesenvolvimento, com foco na identificação de variantes

relacionadas ao risco de transtornos como o Transtorno do Espectro Autista (TEA).

- ✓ Anotar e classificar as variantes genéticas identificadas por meio de bancos de dados como OMIM e SFARI Gene, com foco na categorização clínica e descrição das funções gênicas.

4. METODOLOGIA

4.1 Delineamento do Estudo

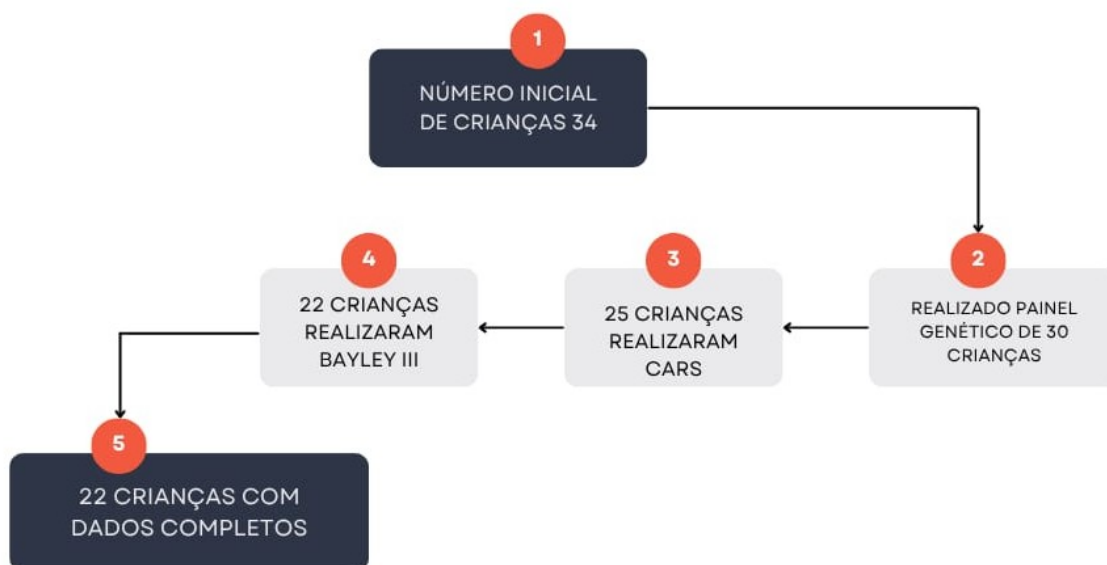


Figura 3: Fluxograma de recrutamento

O trabalho foi realizado através do acompanhamento de crianças que nasceram o período da pandemia COVID-19 (2021 a 2022). O estudo seguiu as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos previstas na Resolução Nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Além disso, o estudo foi cuidadosamente explicado às participantes. Após consentimento, cada participante assinou um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

A pesquisa não impôs riscos às participantes, exceto pelo desconforto da punção venosa e pelo incômodo ao responder às perguntas. A autonomia das participantes foi respeitada, permitindo a desistência a qualquer momento do estudo. As crianças, que as mães

aceitaram participam da pesquisa, foram acompanhadas até os dois anos de idade. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética CAAE nº 79236824.2.0000.5050.

4.2 Critérios de exclusão

Foram excluídas do estudo todas as crianças cujas mães não autorizaram a participação mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), bem como aquelas que se desligaram ou desistiram da pesquisa ao longo do acompanhamento (anexo).

4.3 Coleta de dados sociodemográfico

O questionário foi utilizado para coleta de informações sobre o perfil socioeconômico como idade materna, sexo, raça, escolaridade, onde mora (capital ou interior), renda mensal familiar, possíveis comorbidades associadas à gravidez, histórico de saúde da paciente, medicações utilizadas, uso de vitaminas, álcool ou drogas e a possível intervenção de terapias alternativas.

4.4 Coleta de sangue e Extração do cDNA

Foram coletadas amostras de sangue periférico de 32 crianças, por profissionais especializados do Núcleo de Tratamento e Estimulação Precoce da Universidade Federal do Ceará (NUTEP-UFC), cerca de 5 a 8 mL do sangue, utilizando tubos contendo EDTA como anticoagulante.

A extração do DNA genômico foi realizada a partir de 200 µL de sangue total utilizando o kit QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Alemanha). Inicialmente foram adicionados 20 µL de solução de Proteinase K à amostra de sangue em um microtubo de 1,5 mL, seguida de agitação em vórtex. Posteriormente, a mistura foi colocada em banho-maria a 70°C por 10 minutos. Após essa etapa, foi adicionado 200 µL de etanol absoluto (96–100%), seguido de agitação em vórtex, favorecendo a precipitação do DNA e sua ligação à membrana de sílica presente na coluna QIAamp.

A mistura homogeneizada foi transferida para a coluna QIAamp montada em um tubo de coleta de 2 mL, e centrifugada a 6.000 x g por 1 minuto, descartando-se o precipitado ao final e a coluna transferida para um novo tubo de coleta.

A etapa de purificação ocorreu em duas etapas, sendo a primeira adicionada 500 µL do tampão AW1 e em seguida centrifugação a 6.000 x g por 1 minuto, logo após acrescentou-se 500 µL do tampão AW2 seguido por centrifugação a 20.000 x g por 3 minutos. Ao final desta

etapa, a coluna foi transferida para um novo tubo de coleta e realizada uma nova centrifugação a 20.000 x g por 1 minuto para completa remoção de qualquer resíduo de etanol.

Para a eluição final, 50 µL do tampão AE, previamente aquecido a 70°C, foram aplicados cuidadosamente no centro da membrana da coluna. Após a incubação por 5 minutos em temperatura ambiente, a coluna foi centrifugada a 6.000 x g por 1 minuto, resultando na purificação do DNA purificado.

O DNA foi eluído em 50 µL de tampão AE pré-aquecido (70 °C) e armazenado a – 80 °C. A quantificação do DNA foi realizada utilizando um espectrofotômetro NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, EUA). A pureza foi avaliada pelas razões de absorbância 260/280 (faixa aceitável: 1,8–2,2) e pela concentração mínima de ≥ 10 ng/µL. As amostras que apresentaram rendimento mínimo de 500 ng em 50 µL foram consideradas elegíveis e enviadas sob condições controladas para os Laboratórios Fleury (São Paulo, Brasil) para sequenciamento.

A análise por sequenciamento de nova geração (NGS) foi realizada utilizando um painel customizado com 229 genes associados a transtornos do neurodesenvolvimento. O DNA genômico foi fragmentado enzimaticamente, indexado e enriquecido para regiões codificantes por meio de captura híbrida, seguido de sequenciamento na plataforma Illumina. O ensaio atingiu alta cobertura, com 99–100% das bases-alvo sequenciadas com profundidade $\geq 20\times$, garantindo detecção robusta de variantes. O alinhamento das sequências e a identificação das variantes foram realizados utilizando o pipeline germinativo do Fleury (v3.6), tendo como referência a montagem genômica humana GRCh37. A classificação das variantes seguiu as diretrizes do American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), sendo interpretadas no contexto clínico de cada criança.

O painel incluiu os seguintes genes: *ACSL4*, *ADNP*, *ADSL*, *AFF2*, *AHDC1*, *AHII*, *ALDH5A1*, *ANK2*, *ANK3*, *ANKRD11*, *APIS2*, *AP4B1*, *AP4M1*, *ARHGEF9*, *ARID1A*, *ARID1B*, *ARX*, *ASXL1*, *ASXL2*, *ATP1A3*, *ATP6AP2*, *ATRX*, *AUTS2*, *BCL11A*, *BDNF*, *BRAF*, *BRD4*, *BRSK2*, *BRWD3*, *C12orf57*, *CACNA1A*, *CACNA1C*, *CACNA1D*, *CACNA2D3*, *CAMK2A*, *CAMK2B*, *CASK*, *CC2D1A*, *CDK13*, *CDKL5*, *CHAMP1*, *CHD2*, *CHD3*, *CHD7*, *CHD8*, *CIC*, *CLCN4*, *CNKS2*, *CNOT3*, *CNTN4*, *CNTNAP2*, *CRADD*, *CRBN*, *CREBBP*, *CSNK2A1*, *CTCF*, *CTNNB1*, *CUL3*, *CUL4B*, *DDX3X*, *DEAF1*, *DHCR7*, *DLGAP2*, *DLG3*, *DMD*, *DNMT3A*, *DYRK1A*, *EHMT1*, *EIF2S3*, *EP300*, *FGD1*, *FLNA*, *FMR1*, *FOLR1*, *FOXG1*, *FOXP1*, *FOXP2*, *FRMPD4*, *FTSJ1*, *GABRB3*, *GATAD2B*, *GATM*, *GDII*, *GNAIL*, *GPC3*, *GRIA3*, *GRIK2*, *GRIN2B*, *HCN1*, *HDAC4*, *HDAC8*, *HEPACAM*, *HERC2*, *HNRNPK*,

HNRNPU, HOXA1, HPRT1, HUWE1, ILIRAPL1, IQSEC2, KANSL1, KAT6A, KAT6B, KATNAL2, KCNH1, KDM5B, KDM5C, KDM6A, KDM6B, KIF1A, KIRREL3, KMT2C, KMT2D, KMT5B, LICAM, MAGEL2, MAN1B1, MAOA, MBD5, MECP2, MED12, MED13, MED13L, MED23, MEF2C, MEIS2, MID1, MSL3, MYT1L, NAA10, NBEA, NDP, NEXMIF, NF1, NFIX, NHS, NIPBL, NLGN3, NLGN4X, NR2F1, NR4A2, NRXN1, NSD1, NSD2, NSUN2, NTNG1, OCRL, OFD1, OPHN1, PACS1, PAFAH1B1, PAK3, PCDH19, PHF3, PHF6, PHF8, PHIP, PIK3R2, PLP1, PNKP, POGZ, PPM1D, PPP2R5D, PQBP1, PTCHD1, PTEN, PTPN11, PUF60, RAB39B, RAD21, RAI1, RBFOX1, RELN, RIMS1, RORA, RPL10, RPS6KA3, SATB2, SCN1A, SCN2A, SET, SETBP1, SETD2, SHANK2, SHANK3, SLC16A2, SLC6A1, SLC9A6, SLC9A9, SMARCA2, SMARCA4, SMC1A, SMC3, SMS, SNRPN, SOX5, SRCAP, ST3GAL3, STXBP1, SYN1, SYNGAP1, TAF1, TAOK1, TBC1D23, TBL1XR1, TBR1, TCF20, TCF4, TCF7L2, TNRC6B, TRAPPC9, TRIO, TRIP12, TSC1, TSC2, TTI2, TUSC3, UBE2A, UBE3A, UPF3B, USP7, VPS13B, WDFY3, YY1, ZBTB18, ZDHHC9, ZEB2, ZNF292, ZNF711.

Devido a limitações técnicas, alguns genes (*APIS2, HERC2, MECP2, MSL3, PLP1, SMS e UPF3B*) podem não ter cobertura completa em todas as regiões codificantes. Além disso, o teste não avalia regiões não codificantes, DNA mitocondrial, expansões de repetições trinucleotídicas ou rearranjos estruturais complexos. Variações no número de cópias (CNVs) são detectadas apenas quando afetam três ou mais éxons, e os pontos de quebra (breakpoints) não são fornecidos.

4.5 Aplicação de escalas de avaliação durante o desenvolvimento da criança

Foram aplicadas duas escalas padronizadas para avaliação do desenvolvimento infantil: a *Bayley Scales of Infant and Toddler Development – Third Edition* (Bayley-III) e a *Childhood Autism Rating Scale* (CARS), ambas em versões validadas para a população brasileira.

A- Escala de Pontuação para avaliação do neurodesenvolvimento BAYLEY III

A Bayley-III é considerada a escala padrão-ouro na avaliação do desenvolvimento global de crianças de 1 a 42 meses, sendo possível identificar precocemente atrasos em múltiplas áreas. A versão brasileira foi validada por (Madaschi *et al.*, 2016), demonstrando validade e confiabilidade adequada.

A escala avalia cinco grandes domínios:

Tabela 1. Domínios escala *BAYLEY III*

Domínio	Subdomínios
Cognitivo	Atenção, exploração de objetos, resolução de problemas, memória e categorização
Linguagem	Receptiva (compreensão verbal) e Expressiva (produção verbal)
Motor	Motricidade grossa (controle postural, locomoção) e fina (coordenação manual)

(Bayley, 2006)

Cada subdomínio avaliado gera uma pontuação composta. A interpretação destes parâmetros pode ser classificada da seguinte maneira:

Tabela 2. Classificação do risco de atraso de desenvolvimento

Pontuação	Classificação
≥ 130	Muito superior
120-129	Superior
110-119	Média alta
90-109	Média
80-89	Média baixa
70-79	Limítrofe
< 69	Extremamente baixo

(Armstrong; Agazzi, 2010)

As avaliações foram realizadas individualmente por terapeuta ocupacional previamente treinada e cega quanto à exposição materna, em dois momentos distintos: aos 6 e aos 24 meses de idade. Cada sessão teve duração média de 60 minutos por criança. A BSID-III avalia cinco domínios principais: cognição, linguagem (compreensiva e expressiva), motricidade (grossa e fina), comportamento socioemocional e comportamento adaptativo. No entanto, este estudo concentrou-se especificamente nos domínios cognitivo, motor e de linguagem, por serem medidas diretamente observadas no desempenho da criança, ao contrário dos domínios socioemocional e adaptativo, que se baseiam predominantemente em relatos dos cuidadores.

Os escores obtidos foram convertidos em escores compostos padronizados, com média de 100 e desvio-padrão de 15, variando entre 40 e 160. Com base nesses valores, as crianças foram classificadas de acordo com sete faixas de desempenho: extremamente alto (>130), muito alto (120–129), acima da média (110–119), média (90–109), abaixo da média (80–89), limítrofe (70–79) e extremamente baixo (<70). Para fins analíticos, crianças com escores iguais ou superiores a 90 em todos os domínios avaliados foram consideradas com desenvolvimento típico, enquanto aquelas com escores inferiores a 80 em pelo menos um dos domínios foram classificadas como apresentando atraso no desenvolvimento.

Cabe destacar que, para garantir a acurácia das interpretações, os escores foram corrigidos para prematuridade ao longo do seguimento, com base na idade gestacional ao nascimento. Essa correção é essencial para evitar subestimação do desempenho de crianças nascidas antes do termo, respeitando as diretrizes estabelecidas para a aplicação da escala.

B- Escala de Pontuação para Autismo na Infância

A Escala CARS (*Childhood Autism Rating Scale*, em português, Escala de Pontuação para Autismo na Infância) é um questionário amplamente utilizado para avaliar a possibilidade de autismo em crianças. Geralmente, sua aplicação ocorre a partir dos 2 anos de idade, sendo considerada uma ferramenta pré-diagnóstica altamente confiável.

É importante ressaltar, no entanto, que escalas de avaliação não substituem o diagnóstico formal realizado por um profissional qualificado, como neurologistas, psiquiatras ou neuropediatras. A CARS atua como um instrumento complementar na investigação clínica, auxiliando na identificação de sinais compatíveis com o transtorno.

A escala avalia o comportamento em 15 itens que, frequentemente, estão alterados no autismo. (Magyar; Pandolfi, 2007; Rellini *et al.*, 2004)

Cada item é pontuado em uma escala de 1 a 4, onde: 1 – Dentro dos limites da normalidade e 4 – Presença de sintomas autistas graves. Os 15 itens avaliados na escala são apresentados a seguir:

Tabela 3. Domínios escala CARS

Comportamentos observados	Descrição resumida
1. Relações interpessoais	Capacidade de estabelecer contato afetivo e social
2. Imitação	Imitação motora e verbal como base do aprendizado
3. Resposta emocional	Capacidade de expressar e compreender emoções
4. Uso do corpo	Presença de estereotípias e movimentos corporais peculiares
5. Uso de objetos	Brincar funcional vs. uso incomum ou repetitivo de objetos
6. Adaptação à mudança	Flexibilidade cognitiva diante de mudanças ou transições
7. Resposta visual	Atenção e contato visual, interesse por estímulos visuais
8. Resposta auditiva	Reações a sons, vozes e estímulos auditivos
9. Resposta sensorial (tato, paladar, olfato, dor)	Reatividade sensorial incomum, seletividade alimentar ou hiporresponsividade à dor
10. Medos ou ansiedades	Respostas emocionais atípicas frente a situações potencialmente ameaçadoras
11. Comunicação verbal	Presença e qualidade da linguagem falada
12. Comunicação não verbal	Uso de gestos, expressões faciais, postura e resposta à comunicação não verbal alheia
13. Nível de atividade	Hiperatividade ou hipoatividade
14. Nível de resposta intelectual	Consistência e adequação da resposta cognitiva
15. Impressão geral	Julgamento clínico global a partir da observação integrada dos outros itens

(Pereira; Riesgo; Wagner, 2008)

Após a realização dos testes, a CARS pode ter pontuação total variável de 15 a 60. A classificação utilizada foi:

Tabela 4. Classificação de risco CARS

Pontuação **Classificação Clínica**

Total

≤ 30	Normal
30 – 36	Autismo leve-moderado
≥ 37	Autismo grave

(Pereira; Riesgo; Wagner, 2008)

A CARS foi aplicada com base em observação direta e entrevista com os cuidadores. Crianças que apresentaram escore ≥ 30 foram consideradas com indícios de TEA, sendo encaminhadas para avaliação multiprofissional.

4.6 Avaliação *in silico* dos genes

Com base nos avanços tecnológicos de sequenciamento e análise genética de distúrbios relacionados ao TEA deixou-se de limitar a identificação de variantes para implementar a avaliação do seu impacto biológico e clínico. Sendo assim, a avaliação *in silico* é uma etapa importante para priorizar genes e interpretar variantes por meio de técnicas como o NGS. Essa abordagem utiliza plataformas bioinformáticas especializada que une dados genômicos, clínicos e funcionais provenientes de estudos populacionais e experimentais. (Kharrat *et al.*, 2023; Larsen *et al.*, 2016)

Bases de dados como *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM) e o *SFARI Gene* são fundamentais para essas análises. O OMIM fornece informações detalhadas sobre doenças mendelianas e suas relações genéticas, já o *SFARI Gene* classificam genes relacionados ao TEA de acordo com as evidências disponíveis e fornece métricas quantitativas como o *EAGLE score*. O uso combinado destas auxilia o pesquisador identificar variantes potencialmente relevantes. (Pirooznia *et al.*, 2019)

A- OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man

A base de dados OMIM é de livre acesso e cataloga informações sobre todos os genes humanos conhecidos e suas associações com doenças de herança mendeliana. Desenvolvido por Victor McKusick e atualmente é mantido pelo *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), o OMIM se tornou uma ferramenta essencial para médicos, geneticistas e pesquisadores, ao juntar dados de mais de 16.000 genes e mais de 7.000 fenótipo-genótipo descritos. (Amberger *et al.*, 2015)

Cada entrada do OMIM possui um número, conhecido por *MIM number*, e um prefixo que descreve o tipo de informação fornecida:

- # (*Gene-disease relationship conhecida*): usado quando um gene está comprovadamente associado a uma doença mendeliana.
- % (*Phenotype without confirmed molecular basis*): aplicado quando há um fenótipo com suspeita de causa genética, mas sem gene identificado.
- * (Gene conhecido): marca genes com função conhecida mesmo sem doença associada.
- + (Gene com doença causada por mutações em múltiplos genes): indica fenótipo geneticamente heterogêneo.

Além disso, o OMIM descreve variantes patogênicas relatadas, padrão de herança e manifestações clínicas associadas a cada gene. (Amberger *et al.*, 2019)

B- SFARI Gene

O *SFARI Gene* é um banco de dados criado pela *Simons Foundation* para apoiar a pesquisa genética do TEA. Esta base de dado reúne informações advindas de estudos genômicos, análise funcional de variantes e pesquisa populacionais, determinando a cada gene uma classificação baseada nas forças das evidências que são associadas ao autismo. (Abrahams *et al.*, 2013)

O *SFARI Gene* classifica os genes em quatro categorias, com base na confiança das evidências científicas disponíveis:

Tabela 5. Classificação SFARI Gene

Categoria	Definição
S – Sindrômico	A categoria sindrômica inclui mutações associadas a um grau substancial de risco aumentado e consistentemente associadas a características adicionais não necessárias para um diagnóstico de TEA. Se houver evidências independentes que impliquem um gene no TEA idiopático, ele será listado como "#S" (por exemplo, 2S, 3S). Se não houver tais evidências independentes, o gene será listado simplesmente como "S".
Categoria 1 –Alta confiança	Cada um desses genes foi claramente implicado no TEA — tipicamente pela presença de pelo menos três mutações de novo, provavelmente perturbadoras do gene, relatadas na literatura — e tais mutações identificadas no sequenciamento da coorte SPARK são normalmente retornadas aos participantes. Alguns desses genes atendem ao limite mais rigoroso de significância em todo o genoma; todos atendem, pelo menos, a uma taxa de descoberta falsa de $< 0,1$.
Categoria 2 –Candidato forte	Genes com duas mutações de novo provavelmente perturbadoras de genes relatadas. Um gene implicado exclusivamente por um estudo de associação em todo o genoma, alcançando significância em todo o genoma ou, se não, consistentemente replicado e acompanhado por evidências de que a variante de risco tem um efeito funcional.
Categoria 3 –Evidência sugestiva	Genes com uma única mutação de novo relatada, provavelmente perturbadora de genes. Evidências de um estudo de associação significativo, mas não replicado, ou uma série de mutações herdadas raras para as quais não há uma comparação estatística rigorosa com controles.

Além da classificação baseada em evidência, o *SFARI Gene* possui uma escala métrica adicional chamada *EAGLE (Evidence and Gene Likelihood Evaluation) score* desenvolvida para quantificar a probabilidade de um gene estar relacionado ao risco do TEA. Ele considera fatores em relação a frequência de mutações em coortes de TEA e controles, tipos de variantes e dados funcionais. O *EAGLE score* varia de 0 a 12+, e valores mais altos indicam maior confiança na associação, esse escore é útil para priorizar genes em análises bioinformáticas e painéis genéticos.

A classificação EAGLE score, é dividida:

Tabela 6. Classificação EAGLE escore

Pontuação/ Classificação	Definição
12+: Forte	O papel desse gene no TEA tem sido repetidamente demonstrado em pesquisas e em ambientes clínicos, e tem sido confirmado ao longo do tempo (pelo menos 2 publicações independentes ao longo de 3 anos). Não surgiu nenhuma evidência convincente que contradiga o papel do gene no TEA.
7-11: Moderado	Há evidências moderadas que apoiam um papel causal para esse gene no TEA, incluindo principalmente dados de nível de caso e potencialmente dados experimentais: • Pelo menos 3 indivíduos não relacionados que apresentam variantes com evidências suficientes para apoiar um papel no TEA • Dados experimentais moderados que apoiam a associação gene-TEA (não é necessário, mas os curadores devem documentar se existir) O papel desse gene no TEA pode não ter sido relatado de forma independente, mas não surgiu nenhuma evidência convincente que contradiga o papel do gene no TEA.
0, 1-6: Limitado	Há evidências limitadas que apoiam um papel causal para esse gene no TEA, como: • Menos de três observações de variantes com evidências suficientes que apoiem uma contribuição do gene para o TEA OU • Variantes foram observadas em casos de TEA, mas nenhuma apresenta evidências suficientes para uma forte contribuição. • Dados experimentais podem ser limitados ou ausentes; como nas categorias anteriores, não são necessários, mas devem ser documentados, se existirem. O papel desse gene no TEA pode não ter sido relatado de forma independente, mas não surgiu nenhuma evidência convincente que contradiga o papel do gene no TEA.

5. ESTATÍSTICA

Os dados sociodemográficos e clínicos foram analisados por meio de estatística descritiva. As variáveis quantitativas foram expressas como média e desvio-padrão, e a normalidade foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Para comparação entre dois grupos independentes, foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Quando havia mais de dois grupos, aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido do pós-teste de Dunn, conforme a distribuição dos dados e o número de grupos envolvidos.

As variáveis categóricas foram apresentadas como frequências absolutas e relativas, e as associações entre grupos foram avaliadas por meio do teste exato de Fisher ou do teste do Qui-quadrado de Pearson.

Além disso, foram realizadas análises de associação entre a presença e quantidade de variantes de significado incerto (VUS) e desfechos clínicos, incluindo alterações no exame clínico, escores da escala CARS e domínios da escala Bayley-III (cognitivo e linguagem). Essas análises comparativas foram conduzidas de acordo com o número de VUS identificadas (0 a 3), permitindo explorar potenciais relações dose-resposta entre carga genômica e perfil de desenvolvimento.

Todas as análises foram realizadas com nível de significância de 5% ($p < 0,05$), utilizando o software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), versão 20.0 para Windows.

6. RESULTADOS

A análise dos dados sociodemográfico, história clínica e obstétrica e dados genéticos mostra uma visão abrangente das condições materna e infantis durante o período da pandemia de COVID-19. Esse contexto é importante, pois há diversos estudos que demonstram que determinantes sociais de saúde, como renda, escolaridade e acesso aos serviços de saúde podem influenciar diretamente no processo de neurodesenvolvimento infantil. (Shonkoff; Garner, 2012; Walker *et al.*, 2011)

Este estudo, as variantes maternas como idade, uso de suplementação, pré-natal, ocorrência de hipertensão gestacional e diabetes gestacional, foram detalhadas e avaliadas. Essas condições têm sido relacionadas a alterações no ambiente intrauterino, podendo gerar impacto no processo de neurodesenvolvimento através da AIM e outras vias fisiopatológicas. (Estes; McAllister, 2016; Knuesel *et al.*, 2014) A união desses fatores pode ativar o sistema imune materna, aumentando citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 ao atravessar a placenta e pode ativar células imunes no cérebro fetal como a micróglia e alterar a poda sináptica, mecanismo este associado ao TEA. (Knuesel *et al.*, 2014)

Caracterizar as condições sociais e de saúde da gestante permitiu compreender melhor o ambiente ao quais as crianças se desenvolveram, e favoreceu o cenário para interpretar os achados encontrados nas escalas Bayley-III e CARS. Essas escalas são validadas e auxiliam na identificação precoce de déficits relacionados ao desenvolvimento neuropsicomotor e sinais clínicos relacionados ao TEA. (Zwaigenbaum *et al.*, 2015)

Com relação a análise genômica, foi utilizado painéis direcionados com NGS e permitiu identificar VUS e outras mutações em genes relacionados ao TEA como *SHANK3* e *CNTNAP2*, esses genes integram os processos de formação e manutenção sináptica e alterações nesses genes têm sido relacionadas em casos síndrômicos de autismo. (Sanders *et al.*, 2015; Satterstrom *et al.*, 2020) A classificação das variantes seguiu os critérios do ACMG, o que confere a solidez aos achados e permite conclusões clínicas mais relevantes. (Richards *et al.*, 2015)

Portanto, os resultados a seguir são demonstrados de forma unificada, apresentando: o perfil sociodemográfico das mães (Tabela 7), características obstétricas e clínicas (Tabela 8), associação entre os achados das escalas Bayley-III/ CARS e o painel genético (Tabela 9) e análise funcional das variantes identificadas com apoio de bases bioinformáticas como OMIM e SFARI Gene. Essa abordagem ajudar fornecer uma visão relacionada aos fatores genéticos e ambientais.

Tabela 7. Dados sociodemográficos das mães.

	Origem (%)		
	Fortaleza e Região Metropolitana	Região não metropolitana	Não informado
Idade (anos) (%)			
<35 a	15 (44,12%)	9 (26,47%)	5 (14,70%)
>35 a	1 (2,94%)	3 (8,82%)	1 (2,94%)
Raça (%)			
Branco	3 (8,82%)	3 (8,82%)	1 (2,94%)
Pardo	12 (35,29%)	9 (26,47%)	1 (2,94%)
Negro	1 (2,94%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Não informado	0 (0,0%)	0 (0,0%)	4 (11,76%)
Estado civil (%)			
Casada	7 (20,59%)	7 (20,59%)	7 (20,59%)
Solteira	7 (20,59%)	7 (20,59%)	7 (20,59%)
União estável	1 (2,94%)	1 (2,94%)	1 (2,94%)
Não informado	1 (2,94%)	1 (2,94%)	1 (2,94%)
Situação ocupacional (%)			
Assalariada	7 (20,59%)	1 (2,94%)	1 (2,94%)
Dona de casa	4 (11,76%)	3 (8,82%)	1 (2,94%)
Autônoma	3 (8,82%)	4 (11,76%)	0 (0,0%)
Desempregada	2 (5,88%)	4 (11,76%)	0 (0,0%)
Não informado	0 (0,0%)	0 (0,0%)	4 (11,76%)
Número de moradores na casa (%)			
2	4 (11,76%)	6 (17,65%)	1 (2,94%)
3	7 (20,59%)	2 (5,88%)	0 (0,0%)
4	4 (11,76%)	1 (2,94%)	1 (2,94%)
5	0 (0,0%)	1 (2,94%)	0 (0,0%)
Não informado	1 (2,94%)	2 (5,88%)	4 (11,76%)
Renda familiar anual (R\$) (%)			
> 24.000	4 (11,76%)	4 (11,76%)	0 (0,0%)
12.000 - 24.000	4 (11,76%)	2 (5,88%)	1 (2,94%)
6.000 - 12.000	6 (17,65%)	2 (5,88%)	0 (0,0%)
até 6.000	2 (5,88%)	3 (8,82%)	0 (0,0%)
Não informado	0 (0,0%)	1 (2,94%)	5 (14,71%)

A idade das mães no momento do parto variou de 19 a 43 anos, com média de 28,3 anos ($\pm 6,5$), com predominância de idade inferior a 35 anos, sendo apenas 11,76% com idade ≥ 35 anos, faixa etária considerada como fator de risco para disfunções placentárias. (Lean *et al.*, 2017)

Quanto à etnia, vinte e duas mulheres (64,51%) se autodeclararam pardas, 20,58% brancas, 2,94% negras e 11,76% não informaram. Quanto à ocupação, 26,47% das

participantes eram trabalhadoras assalariadas, 23,53% exerciam atividades domésticas, 20,59% trabalhavam por conta própria e 17,65% estavam desempregadas. Quanto à estrutura familiar, a maioria (67,65%) residia com o companheiro, e os domicílios tinham em média de 7 a 11 moradores. Quanto à renda familiar anual, variou entre R\$ 6.000,00 e R\$ 24.000,00.

Tabela 8. Distribuição das características sociodemográficas, obstétricas e clínicas das participantes segundo a naturalidade

Categoria (%)	Fortaleza e Região Metropolitana	Região não metropolitana	Não informado
Suplementação alimentar (%)			
Não	1 (2,94%)	3 (8,82%)	5 (14,71%)
Sim	15 (44,12%)	9 (26,47%)	1 (2,94%)
Pré-natal (%)			
Não	2 (5,88%)	1 (2,94%)	1 (2,94%)
Sim	14 (41,18%)	11 (32,35%)	5 (14,71%)
Número de consultas médicas (%)			
<6	2 (5,88%)	5 (14,71%)	1 (2,94%)
>6	12 (35,29%)	6 (17,65%)	4 (11,76%)
Não informado	2 (5,88%)	1 (2,94%)	1 (2,94%)
HAS prévia (%)			
Não	13 (38,24%)	12 (35,29%)	2 (5,88%)
Sim	3 (8,82%)	0 (0,0%)	3 (8,82%)
Não informado	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (2,94%)
HAS Gestacional/Pré-eclâmpsia(%)			
Não	12 (35,29%)	11 (32,35%)	5 (14,71%)
Sim	4 (11,76%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Não informado	0 (0,0%)	1 (2,94%)	1 (2,94%)
DM prévia (%)			
Não	16 (47,06%)	12 (35,29%)	4 (11,76%)
Sim	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (5,88%)
DM Gestacional (%)			
Não	13 (38,24%)	10 (29,41%)	3 (8,82%)
Sim	3 (8,82%)	2 (5,88%)	2 (5,88%)
ITU (%)			
Não	10 (29,41%)	4 (11,76%)	3 (8,82%)
Sim	6 (17,65%)	8 (23,53%)	2 (5,88%)
Não informado	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (2,94%)
ISTs (%)			
Não	14 (41,18%)	10 (29,41%)	3 (8,82%)
Sim	2 (5,88%)	2 (5,88%)	1 (2,94%)
Não informado	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (5,88%)

Legenda: *HAS (Hipertensão arterial sistêmica); **DM (Diabetes mellitus); ***ITU (Infecção do trato urinário);

******ISTs (Infecção sexualmente transmissível)**

Grande parte das gestantes (73,53%) realizou pré-natal, com média de até sete consultas, e 70,59% relataram uso de suplementação de ácido fólico e sulfato ferroso. Entretanto, 38,24% das participantes relataram uso de substâncias ilícitas antes da gestação, sendo que 76,92% desse grupo as consumiam ocasionalmente e 15,38% diariamente. Além disso, 11,76% foram diagnosticadas com hipertensão gestacional e 20,59% desenvolveram diabetes gestacional, 47,06% com infecção do trato urinário (ITU) e 14,71% relataram ter desenvolvido infecção sexualmente transmissível (IST). Esses achados reforçam evidências que tais condições podem aumentar a ativação de vias inflamatórias e elevar os níveis de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF- α , aumentando o risco para alterações no neurodesenvolvimento. (Knuesel *et al.*, 2014)

Tabela 9. Associações entre as avaliações das escalas Bayley-III e CARS e o painel genético de 30 recém-nascidos

	VUS			Quantidade de VUS				
	Não	Sim	p- Valor	0	1	2	3	p-Valor
Características clínicas								
Sem alterações clínicas	8 (61.5%)	4 (23.5%)	0,076	8 (61.5%)	4 (44.4%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0,026
Suspeita	0 (0.0%)	2 (11.8%)		0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (16.7%)	1 (50.0%)*	
Alteração clínica	5 (38.5%)	11 (64.7%)		5 (38.5%)	5 (55.6%)	5 (83.3%)*	1 (50.0%)	
Escala CARS	21.72±5.06	23.34±8.52	0,609	21.72±5.06	18.56±2.92	28.25±9.71	27.75±13.79	0,06
Sem autismo	8 (88.9%)	12 (75.0%)	0,529	8 (88.9%)	8 (100.0%)	3 (50.0%)	1 (50.0%)	0,082
Leve-moderado	1 (11.1%)	2 (12.5%)		1 (11.1%)	0 (0.0%)	2 (33.3%)	0 (0.0%)	
Autismo severo	0 (0.0%)	2 (12.5%)		0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (16.7%)	1 (50.0%)	
Bayley Cognitivo	96.88±23.90	87.50±19.19	0,325	96.88±23.90	98.33±16.93	80.00±18.97	77.50±17.68	0,292
Muito baixo	0 (0.0%)	2 (14.3%)	0,317	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (16.7%)	1 (50.0%)	0,404
Limítrofe	1 (12.5%)	4 (28.6%)		1 (12.5%)	1 (16.7%)	3 (50.0%)	0 (0.0%)	
Médio	2 (25.0%)	5 (35.7%)		2 (25.0%)	2 (33.3%)	2 (33.3%)	1 (50.0%)	
Médio baixo	1 (12.5%)	0 (0.0%)		1 (12.5%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
Médio alto	3 (37.5%)	3 (21.4%)		3 (37.5%)	3 (50.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
Superior	1 (12.5%)	0 (0.0%)		1 (12.5%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
Bayley Linguagem	79.88±25.26	81.64±22.90	0,868	79.88±25.26	91.33±21.62	75.50±26.25	71.00±4.24	0,621
Muito baixo	3 (37.5%)	5 (35.7%)	0,686	3 (37.5%)	1 (16.7%)	3 (50.0%)	1 (50.0%)	0,792
Limítrofe	3 (37.5%)	3 (21.4%)		3 (37.5%)	1 (16.7%)	1 (16.7%)	1 (50.0%)	
Médio	0 (0.0%)	3 (21.4%)		0 (0.0%)	2 (33.3%)	1 (16.7%)	0 (0.0%)	
Médio baixo	0 (0.0%)	1 (7.1%)		0 (0.0%)	1 (16.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
Médio alto	1 (12.5%)	1 (7.1%)		1 (12.5%)	0 (0.0%)	1 (16.7%)	0 (0.0%)	
Superior	1 (12.5%)	1 (7.1%)		1 (12.5%)	1 (16.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
Bayley Motora	89.63±13.31	87.00±14.64	0,681	89.63±13.31	97.17±5.71	77.50±16.07	85.00±12.73	0,09
Muito baixo	0 (0.0%)	2 (14.3%)	0,147	0 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (33.3%)*	0 (0.0%)	0,02
Limítrofe	3 (37.5%)	1 (7.1%)		3 (37.5%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (50.0%)*	
Médio	2 (25.0%)	8 (57.1%)		2 (25.0%)	6 (100.0%)*	1 (16.7%)	1 (50.0%)	
Médio baixo	3 (37.5%)	3 (21.4%)		3 (37.5%)	0 (0.0%)	3 (50.0%)*	0 (0.0%)	

Entre as 22 crianças avaliadas pela Bayley-III e CARS, 56,7% apresentaram algum grau de comprometimento nos três domínios. Na avaliação cognitiva 23,3% das crianças foram classificadas com risco de atraso, enquanto 20% apresentaram atraso grave, definido por escores abaixo da média esperada. No domínio de linguagem, 20% apresentaram risco de atraso e 20% atraso grave, e com dificuldades relacionadas a compreensão e expressão verbal, sendo compatível com o padrão observado em crianças com atrasos do neurodesenvolvimento e no espectro autista. (Zwaigenbaum *et al.*, 2015)

Em relação ao desenvolvimento motor, 13,3% das crianças apresentaram risco de atraso e 6,7% atraso grave. Esses achados demonstram a importância do rastreamento precoce em populações de risco, visto que déficits motores podem ser fatores de predição de alterações no neurodesenvolvimento. (Bhat, 2021)

A aplicação da CARS mostrou que 20% das crianças foram classificadas com autismo grave (pontuação >36), caracterizado por comprometimento em áreas de comunicação, interação social, padrões comportamentais, e sensibilidade sensorial. Além disso, 23,3% foram classificadas com autismo leve-moderado (pontuação entre 30-36), com manifestações clínicas de menor intensidade.

Duas crianças apresentaram pontuação indicativa de autismo na CARS, mas não apresentaram grandes atrasos na Bayley-III. Este achado sugere que a CARS pode identificar características comportamentais mais sutis relacionadas ao espectro autista que não são identificadas em instrumentos de avaliação global do desenvolvimento, destacando sua importância como ferramenta complementar. (Chlebowski *et al.*, 2010; Perry *et al.*, 2005)

A análise genética por meio do NGS apresentou 28 genes nas crianças avaliadas. A maior parte das variantes foi classificada como VUS, de acordo com os critérios de classificação do ACMG. A VUS é definida como alteração genética relacionada com a doença, porém ainda não é clara devido a falta de evidências para ser considerada como benigna ou patogênica. (Richards *et al.*, 2015)

Com base nos resultados do painel genético, foram observados diferentes padrões de mutação. Uma criança do sexo feminino foi identificada com uma mutação provavelmente patogênica (PP) no gene *DHCR7*, bem como duas variantes de significado incerto (VUS) nos genes *OFD1* e *PCDH19*. Na avaliação Bayley-III, a criança apresentou atrasos significativos nos três domínios analisados: cognitivo, linguagem e motor. No entanto, quando avaliada pela escala CARS, a criança foi classificada como portadora de autismo leve a moderado.

A segunda criança com mutação PP era do sexo masculino e apresentava alteração no gene *CNTNAP2*, juntamente com três VUS (*GATM*, *KMT2D* e *SHANK2*). Na avaliação Bayley-III, a criança apresentou atrasos apenas no domínio da linguagem, sem comprometimentos significativos em outros aspectos do desenvolvimento. No entanto, de acordo com a escala CARS, a criança foi classificada como portadora de autismo grave.

A terceira criança, que apresentou mutação no gene PP (*CHD7*), também é do sexo masculino e apresentou dois VUS (*ZEB2* e *CDK13*). Sua avaliação Bayley-III indicou atrasos nos domínios da linguagem e motor, bem como risco de atraso cognitivo. Quando avaliado pela escala CARS, ele foi classificado como portador de autismo leve a moderado.

Além desses casos, o estudo identificou duas crianças, uma do sexo feminino e um do sexo masculino, que pontuaram dentro da faixa de autismo na CARS, apesar de não apresentarem atrasos no desenvolvimento de acordo com a Bayley-III. Os resultados do painel genético revelaram que a menina apresentava três VUS (*GATM*, *KMT2D* e *SHANK2*), enquanto o menino apresentava dois VUS (*IQSEC2* e *VPS13B*). Três crianças não apresentaram atrasos no desenvolvimento ou pontuações indicativas de autismo na CARS, mas cada uma apresentava duas variantes de significado incerto (VUS). Além disso, duas crianças do sexo masculino apresentavam risco de atraso no desenvolvimento, sendo que uma apresentava dois VUS e a outra, três VUS.

Tabela 10. Classificação geral dos genes de acordo com os transtornos e síndromes associadas

Genes	Pontuação Gene SFARI	Pontuação EAGLE	Transtornos Associados	Síndromes Associadas	Categoria genética
ADSL	1S	0.35	ASD	Não aplicado	Mutação genética rara e síndrômica
ANK3	1S	7.3	DD?NDD, ADHD, ID, EPS, ASD	Síndrome de tourette	Mutação genética rara, associação genética, funcional
AP4B1	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado
ARID1A	3	Não aplicado	Não aplicado	Síndrome de Coffin-Siris 2	Não aplicado
CC2D1A	2	Não aplicado	ASD, EPS, ID	Não aplicado	Não aplicado
CDK13	S	Não aplicado	ADHD, ASD	Não aplicado	Não aplicado
CHD3	1S	Não aplicado	ASD	Síndrome de Snijders Blok-Campeau (SNIBCPS), síndrome de Snijders Blok-Campeau, ASD, DD, ID, síndrome de Snijders Blok-Campeau, DD, síndrome de Snijders Blok-Campeau, ASD, DD, síndrome de Snijders Blok-Campeau, DD, ID, síndrome de Snijders Blok-Campeau, ASD, DD, epilepsia	Não aplicado
CHD7	1S	8,1	DD/NDD, ID, ASD, EPS	Síndrome CHARGE	Rare Single Gene Mutation, Syndromic, Functional

CNTNAP2	2S	Não aplicado	ADHD, ID, EP, BPD, EPS, ASD	Displasia cortical-síndrome de epilepsia focal, síndrome semelhante a Pitt-Hopkins 1, síndrome semelhante a Pitt-Hopkins 1, DD, epilepsia/convulsão	Não aplicado
CRBN	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado
CTCF	1S	10.45	DD/NDD, ID, ASD	Síndrome de tourette	Rare Single Gene Mutation, Syndromic, Functional
DHCR7	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado
FRMPD4	S	Não aplicado	SCZ, ID, EP, EPS, ASD	Não aplicado	Não aplicado
GATM	S	Não aplicado	ID, EP, ASD	Não aplicado	Não aplicado
HDAC4	2S	Não aplicado	ID, ASD	Braquidactilia síndrome de retardo mental	Não aplicado
IQSEC2	1S	Não aplicado	SCZ, DD/NDD, ADHD, ID, EPS, ASD	Não aplicado	Não aplicado
KDM6B	1	13.75	DD/NDD, ASD	Não aplicado	Mutação genética rara, sindrômica, funcional
KMT2D	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado
L1CAM	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado
OFD1	2	6	Não aplicado	Síndrome orofaciodigital I, TEA, DD	Mutação genética rara e sindrômica
PCDH19	1S	Não aplicado	SCZ, DD/NDD, ADHD, ID, EP, EPS, ASD	Não aplicado	Não aplicado

RAB39B	2	Não aplicado	SCZ, ASD, EPS, ID	Não aplicado	Mutações raras no gene RAB39B foram identificadas no autismo (Giannandrea et al., 2010).
SHANK2	1	18.55	ID, EP, EPS, ASD	Não aplicado	Mutação genética rara, síndrômica, associação genética, funcional
SHANK3	1S	74.85	DD/NDD, BPD, ID, EPS, ASD	Síndrome de Phelan-McDermid, fenótipo semelhante à síndrome de Rett, Síndrome Neuropsiquiátrica de Início Agudo Pediátrica (P, Síndrome de Phelan-McDermid, TEA	Mutação genética rara, síndrômica, associação genética, funcional
SLC9A9	2	Não aplicado	ID	Não aplicado	Não aplicado
VPS13B	1S	6.35	DD/NDD, ID, EP, EPS, ASD	Síndrome de Cohen	Mutação genética rara, síndrômica, associação genética, funcional
WDFY3	1	17.2	DD/NDD, ADHD, ASD, EPS	Não aplicado	Mutação genética rara, síndrômica, funcional
ZEB2	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado	Não aplicado

Legenda: S (síndrômico), TDAH (transtorno de déficit de atenção e hiperatividade), DI (deficiência intelectual), EP (epilepsia), TPB (transtorno bipolar), EPS (sintomas extrapiramidais), TEA (transtorno do espectro autista), DD (atraso no desenvolvimento), NDD (transtornos do neurodesenvolvimento).

A tabela 10 apresenta a classificação dos genes identificados nas análises genéticas de acordo com *SFARI Gene* e o *EAGLE score*, além de abordarem os transtornos relacionados e síndromes associadas a essas alterações.

Os genes categorizados em Sindrômico (S) são *CHD7* (relacionado à síndrome de Charge), *TSC1/ TSC2* (esclerose tuberosa) e *MECP2* (síndrome de Rett), eles estão relacionados a síndromes monogênicas em que o TEA compõe parte do fenótipo. Essas síndromes possuem como características, déficits cognitivos, atraso global do desenvolvimento, comportamentos repetitivos e dificuldade de interação social, fortalecendo o papel dessas vias moleculares na etiologia do autismo. (Amiet *et al.*, 2008; Neul, 2012)

Já os genes *CHD8* e *SHANK3* são classificados como categoria 1, sendo de alta confiança quando associados ao TEA em estudos genômicos. O *CHD8* atua na remodelação da cromatina e na regulação da expressão gênica durante o desenvolvimento neural, e alterações nesse gene têm sido associadas à macrocefalia, déficits de linguagem e comportamentos repetitivos. (Bernier *et al.*, 2014) O *SHANK3* é uma proteína de ancoragem pré-sináptica, fundamental na formação e manutenção de sinapses glutamérgicas, mutação neste gene pode resultar em graves desordens sinápticas e fenótipo para autismo sindrômico. (Bourgeron, 2015)

Genes de categoria 2 como *CNTNAP2* tem evidências decorrentes de associação ao TEA, esse gene é importante no processo de migração neuronal e na formação de redes neurais. Polimorfismos nesse gene foram associados a déficits de linguagem e comportamento social. (Peñagarikano *et al.*, 2011)

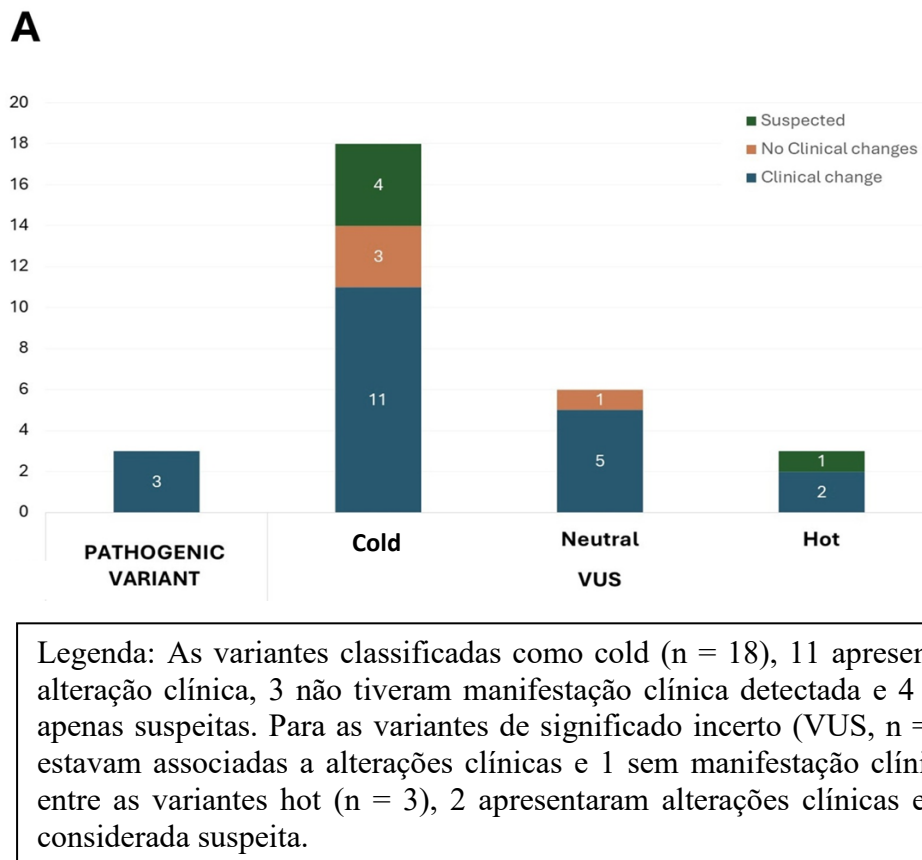


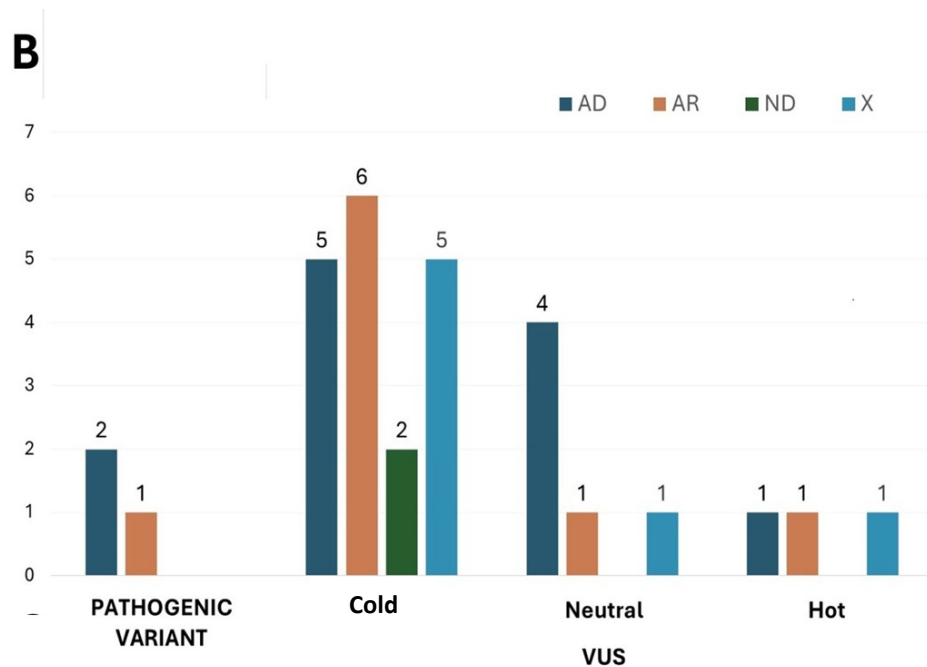
Figura 4: Classificação genética das variantes

A figura 3 apresenta a distribuição das variantes genéticas identificadas na amostra, sendo classificadas de acordo com a sua significância clínica e subdivididas em Vus quente, VUS fria, VUS neutra e provavelmente patogênica (PP). Além disso, cada categoria também considera o impacto clínico observado nas crianças com três subgrupos: alteração clínica (clinical change), ausência de alteração clínica (no clinical changes) e casos suspeitos (suspected).

Três variantes foram classificadas como patogênicas segundo os critérios do ACMG, e associadas a alterações clínicas evidentes nos indivíduos portadores. Esse achado é coerente com a literatura, demonstrando que variantes patogênicas em genes importantes no neurodesenvolvimento podem resultar em fenótipos sindrômicos e manifestações do TEA. (Richards *et al.*, 2015)

A categoria VUS fria com sinais de alteração patogênica, foi mais frequente na amostra (n=18). Ainda nesta categoria, 61% (n=11) foram associadas a clínicas nos

portadores dessas variantes, outros 16,7% (n=3) não apresentaram alterações clínicas detectáveis, e 22,2% (n=4) foram classificados como suspeitos.



As variantes foram classificadas de acordo com os mecanismos de herança: **AD** = autossômico dominante, **AR** = autossômico recessivo, **ND** = não determinado, e **X** = ligado ao cromossomo X. Foram identificadas 3 variantes patogênicas, sendo 2 AD e 1 AR. Entre as variantes cold (n = 13), observou-se 5 AD, 6 AR, 2 ND e 5 X. Para as variantes de significado incerto – VUS (n = 6), houve 4 AD e 1 AR. Já nas variantes hot (n = 3), foi encontrado 1 AD, 1 AR e 1 X.

Figura 5: Padrão de herança das variantes

A figura 4 ilustra a distribuição relacionada aos padrões de herança das variantes genéticas, sendo os padrões de herança divididos em AD (Autossômico Dominante) – azul escuro, AR (Autossômico Recessivo) – laranja, ND (Não Determinado) – verde e X (Ligado ao X) – azul claro. Entre as variantes classificadas como patogênicas, duas foram herdadas de forma AD e uma AR. Na categoria VUS fria a distribuição foi variada, sendo 5 variantes AD, 6 variantes AR, 2 variantes ND e 5 variantes ligadas ao X.

A categoria VUS neutra observou-se 4 variantes AD, 1 AR e 1 ligada ao X, e na categoria VUS quente 1 variante AD, 1 AR e 1 ligada ao X.

Em relação aos padrões de herança genética, a herança autossômica dominante foi observada em duas crianças com variantes PP e em nove com VUS. Herança recessiva foi

identificada em oito crianças, uma das quais portadoras de uma variante PP e sete com VUS. Herança ligada ao cromossomo X foi encontrada em sete crianças, todas portadoras de VUS.

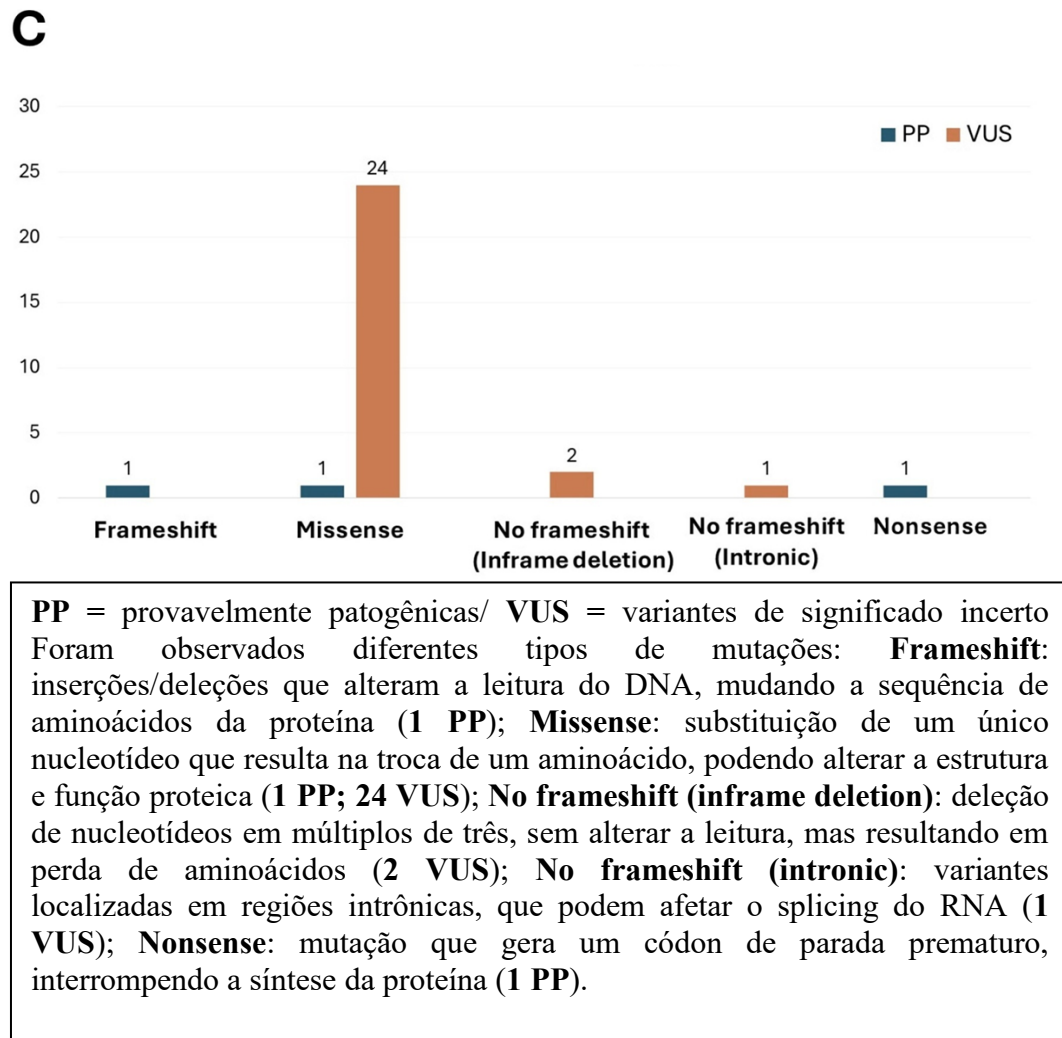


Figura 6: Tipo de mutação (PP e VUS)

A figura 5 demonstra a distribuição dos tipos de variantes genéticas detectadas na amostra, sendo separada em PP e VUS. A análise apresenta uma frequência importante de variantes missense (n=24, todas classificadas como VUS e n=1 como PP), seguida por pequenas frequências de frameshift, nonsense, inframe deletion e intronic.

O painel revelou uma predominância de mutações missense entre as VUS, em comparação com outros tipos de alterações genéticas. As mutações menos frequentes, como frameshift e nonsense, foram detectadas em genes classificados como Provavelmente Patogênicos (PP), especificamente CHD7 e CNTNAP2, respectivamente. Além disso,

variantes frameshift-intronic (CC2D1A) e frameshift in-frame deletion (CTCF e KDM6B) foram identificadas em genes classificados como VUS.

A tabela 11 apresenta o conjunto de genes e suas proteínas relacionadas, com destaque para suas funções gerais, detecção em plasma e a relevância para a neuroproteção. Ao observar os genes analisados, nota-se a presença de variantes associadas a funções críticas no neurodesenvolvimento e a suscetibilidade aos distúrbios neurodesenvolvimentais.

Observam-se cinco genes com relevância para o fator de neuroproteção, destacando os genes *DHCR7* e *OFDI*, em que suas proteínas mesmo não sendo detectáveis em plasma, estão associadas a vias essenciais como a ferroptose e a ciclogênese, respectivamente. Entretanto, *PCDH19* e *CNTNAP2* são proteínas detectáveis na circulação e demonstram forte correlação com doenças ligadas ao cromossomo X e TEA. O gene *CNTNAP2*, especialmente, é reconhecido como um dos principais fatores genéticos de risco associado ao TEA, devido sua função está ligada à conectividade sináptica e na condução nervosa em axônios mielinizados.

Tabela 11. Genes e proteínas com potencial papel na neuroproteção

Gene	Proteína (nome comum)	Uniprot ID	Função geral	Detectável em plasma	Relevância para neuroproteção
<i>DHCR7</i>	<i>7-dehydrocholesterol reductase</i>	<i>Q9UBM7</i>	<i>Modulates ferroptosis (a form of regulated cell death driven by iron-dependent lipid peroxidation) through the metabolic breakdown of the anti-ferroptotic metabolites 7-DHC and 7-DHD which, when accumulated, divert the propagation of peroxy radical-mediated damage from phospholipid components to its sterol core, protecting plasma and mitochondrial membranes from phospholipid autooxidation (PubMed:38297129, PubMed:38297130).</i>	<i>Não</i>	<i>Crítico para desenvolvimento cerebral</i>
<i>OFD1</i>	<i>Oral-facial-digital syndrome 1 protein</i>	<i>O75665</i>	<i>Ciliogênese, desenvolvimento neural. Involved in the biogenesis of the cilium, a centriole-associated function. The cilium is a cell surface projection found in many vertebrate cells required to transduce signals important for development and tissue homeostasis (PubMed:33934390). Plays an important role in development by regulating Wnt signaling and the specification of the left-right axis. Only OFD1 localized at the centriolar satellites is removed by autophagy, which is an important step in the ciliogenesis regulation (By similarity).</i>	<i>Não</i>	<i>Associado a síndromes com atraso no desenvolvimento</i>
<i>PCDH19</i>	<i>Protocadherin-19</i>	<i>Q8TAB3</i>	<i>Adesão celular neural. Calcium-dependent cell-adhesion protein.</i>	<i>Sim</i>	<i>Ligado a epilepsia ligada ao X e TEA</i>

<i>CNTNAP2</i>	<i>Contactin-associated protein-like 2</i>	<i>Q9UHC6</i>	<i>Conectividade sináptica. Required for gap junction formation (Probable). Required, with CNTNAP1, for radial and longitudinal organization of myelinated axons. Plays a role in the formation of functional distinct domains critical for saltatory conduction of nerve impulses in myelinated nerve fibers. Demarcates the juxtaparanodal region of the axo-glial junction.</i>	<i>Sim</i>	<i>Um dos principais genes de risco para TEA</i>
<i>GATM</i>	<i>Glycine amidinotransferase</i>	<i>P50440</i>	<i>Transamidinase that catalyzes the transfer of the amidino group of L-arginine onto the amino moiety of acceptor metabolites such as glycine, beta-alanine, gamma-aminobutyric acid (GABA) and taurine yielding the corresponding guanidine derivatives (PubMed:16820567, PubMed:27233232, PubMed:36543883, PubMed:3800397). Catalyzes the rate-limiting step of creatine biosynthesis, namely the transfer of the amidino group from L-arginine to glycine to generate guanidinoacetate, which is then methylated by GATM to form creatine. Provides creatine as a source for ATP generation in tissues with high energy demands, in particular skeletal muscle, heart and brain (Probable) (PubMed:27233232, PubMed:36543883, PubMed:3800397, PubMed:9266688).</i>	<i>Sim</i>	<i>Distúrbios metabólicos associados a TEA</i>
<i>KMT2D</i>	<i>Histone-lysine N-methyltransferase 2D</i>	<i>O14686</i>	<i>Regulação epigenética. Histone methyltransferase that catalyzes methyl group transfer from S-adenosyl-L-methionine to the epsilon-amino group of 'Lys-4' of histone H3 (H3K4) (PubMed:25561738). Part of chromatin remodeling machinery predominantly forms H3K4me1 methylation marks at active chromatin sites where transcription and DNA repair take place (PubMed:17500065, PubMed:25561738). Acts as a coactivator for estrogen receptor by being recruited by ESR1, thereby activating transcription (PubMed:16603732).</i>	<i>Não</i>	<i>Associado à síndrome de Kabuki</i>

<i>SHANK2</i>	<i>SH3 and multiple ankyrin repeat domains protein 2</i>	<i>Q9UPX8</i>	<i>Organização sináptica. Seems to be an adapter protein in the postsynaptic density (PSD) of excitatory synapses that interconnects receptors of the postsynaptic membrane including NMDA-type and metabotropic glutamate receptors, and the actin-based cytoskeleton. May play a role in the structural and functional organization of the dendritic spine and synaptic junction.</i>	<i>Não</i>	<i>Mutado em diversos casos de TEA</i>
<i>CHD7</i>	<i>Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 7</i>	<i>Q9P2D1</i>	<i>Remodelamento de cromatina. ATP-dependent chromatin-remodeling factor, slides nucleosomes along DNA; nucleosome sliding requires ATP (PubMed:28533432). Probable transcription regulator. May be involved in the in 45S precursor rRNA production</i>	<i>Não</i>	<i>Síndrome de CHARGE, atraso global</i>
<i>CDK13</i>	<i>Cyclin-dependent kinase 13</i>	<i>Q14004</i>	<i>Regulação da transcrição. Cyclin-dependent kinase which displays CTD kinase activity and is required for RNA splicing. Has CTD kinase activity by hyperphosphorylating the C-terminal heptapeptide repeat domain (CTD) of the largest RNA polymerase II subunit RPB1, thereby acting as a key regulator of transcription elongation. Required for RNA splicing, probably by phosphorylating SRSF1/SF2. Required during hematopoiesis. In case of infection by HIV-1 virus, interacts with HIV-1 Tat protein acetylated at 'Lys-50' and 'Lys-51', thereby increasing HIV-1 mRNA splicing and promoting the production of the doubly spliced HIV-1 protein Nef.</i>	<i>Não</i>	<i>Ligado a transtornos do desenvolvimento intelectual</i>

ZEB2	Zinc finger E-box-binding homeobox 2	O60315	Neurogênese e EMT. Transcriptional inhibitor that binds to DNA sequence 5'-CACCT-3' in different promoters (PubMed:16061479, PubMed:20516212). Represses transcription of E-cadherin (PubMed:16061479). Represses expression of MEOX2 (PubMed:20516212)	Não	Síndrome de Mowat-Wilson (MOWS), deficiência intelectual e atraso no desenvolvimento motor.
CC2D1A	Coiled-coil and C2 domain-containing protein 1A	Q6P1N0	Transcription factor that binds specifically to the DRE (dual repressor element) and represses HTR1A gene transcription in neuronal cells. The combination of calcium and ATP specifically inactivates the binding with FRE. May play a role in the altered regulation of HTR1A associated with anxiety and major depression.	Sim	Transtorno do desenvolvimento intelectual, autossômico recessivo 3 (MRT3) associado a comprometimentos no comportamento adaptativo
CRBN	Protein cereblon	Q96SW2	Maintains presynaptic glutamate release and consequently cognitive functions, such as memory and learning, by negatively regulating large-conductance calcium-activated potassium (BK) channels in excitatory neurons (PubMed:18414909, PubMed:29530986). Likely to function by regulating the assembly and neuronal surface expression of BK channels via its interaction with KCNT1 (PubMed:18414909). May also be involved in regulating anxiety-like behaviors via a BK channel-independent mechanism (By similarity). Plays a negative role in TLR4 signaling by interacting with TRAF6 and ECSIT, leading to inhibition of ECSIT ubiquitination, an important step of the signaling (PubMed:31620128).	Não	Transtorno do desenvolvimento intelectual autossômico recessivo 2 (MRT2), funcionamento intelectual abaixo da média, comprometimentos no comportamento adaptativo

<i>CTCF</i>	<i>Transcriptional repressor CTCF</i>	<i>P49711</i>	<i>Participates in the allele-specific gene expression at the imprinted IGF2/H19 gene locus (PubMed:16107875, PubMed:16815976, PubMed:17827499). On the maternal allele, binding within the H19 imprinting control region (ICR) mediates maternally inherited higher-order chromatin conformation to restrict enhancer access to IGF2 (By similarity). Regulates asynchronous replication of IGF2/H19 (By similarity). Mediates interchromosomal association between IGF2/H19 and WSB1/NF1 and may direct distant DNA segments to a common transcription factory (By similarity).</i>	<i>Não</i>	<i>Transtorno do desenvolvimento intelectual, autossômico dominante 21 (MRD21), funcionamento intelectual abaixo da média e comprometimentos no comportamento adaptativo</i>
<i>CHD3</i>	<i>Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 3</i>	<i>Q12873</i>	<i>Acts as a component of the histone deacetylase NuRD complex which participates in the remodeling of chromatin (PubMed:16428440, PubMed:28977666, PubMed:30397230, PubMed:9804427). Involved in transcriptional repression as part of the NuRD complex (PubMed:27068747). Required for anchoring centrosomal pericentrin in both interphase and mitosis, for spindle organization and centrosome integrity (PubMed:17626165).</i>	<i>Não</i>	<i>Síndrome de Snijders Blok-Campeau (SNIBCPS), deficiência intelectual com ampla gama de gravidade, atraso no desenvolvimento e comprometimento da fala e linguagem.</i>
<i>FRMPD4</i>	<i>FERM and PDZ domain-containing protein 4</i>	<i>Q14CM0</i>	<i>Positive regulator of dendritic spine morphogenesis and density. Required for the maintenance of excitatory synaptic transmission. Binds phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate.</i>	<i>Não</i>	<i>Transtorno do desenvolvimento intelectual ligado ao cromossomo X 104 (XLID104), comprometimentos no comportamento adaptativo.</i>

<i>IQSEC2</i>	<i>IQ motif and SEC7 domain-containing protein 2</i>	<i>Q5JU85</i>	<i>Is a guanine nucleotide exchange factor for the ARF GTP-binding proteins</i>	<i>Não</i>	<i>Transtorno do desenvolvimento intelectual ligado ao cromossomo X 1 (XLID1), funcionamento intelectual abaixo da média, comprometimentos no comportamento adaptativo.</i>
<i>VP13B</i>	<i>Intermembrane lipid transfer protein VPS13B</i>	<i>Q7Z7G8</i>	<i>Mediates the transfer of lipids between membranes at organelle contact sites (By similarity).</i> <i>Binds phosphatidylinositol 3-phosphate (By similarity).</i> <i>Functions as a tethering factor in the slow endocytic recycling pathway, to assist traffic between early and recycling endosomes (PubMed:24334764, PubMed:30962439, PubMed:32375900).</i> <i>Involved in the transport of proacrosomal vesicles to the nuclear dense lamina (NDL) during spermatid development (By similarity).</i> <i>Plays a role in the assembly of the Golgi apparatus, possibly by mediating trafficking to the Golgi membrane (PubMed:21865173).</i> <i>Plays a role in the development of the nervous system, and may be required for neuron projection development (PubMed:25492866, PubMed:32560273).</i> <i>May also play a role during adipose tissue development (PubMed:26358774).</i> <i>Required for maintenance of the ocular lens (By similarity)</i>	<i>Não</i>	<i>Síndrome de Cohen (COH1), déficit intelectual.</i>

<i>ADSL</i>	<i>Adenylosuccinate lyase</i>	<i>P30566</i>	<i>Catalyzes two non-sequential steps in de novo AMP synthesis: converts (S)-2-(5-amino-1-(5-phospho-D-ribosyl)imidazole-4-carboxamido)succinate (SAICAR) to fumarate plus 5-amino-1-(5-phospho-D-ribosyl)imidazole-4-carboxamide, and thereby also contributes to de novo IMP synthesis, and converts succinyladenosine monophosphate (SAMP) to AMP and fumarate.</i>	<i>Sim</i>	<i>Deficiência de adenilossuccinase (ADSLD), atraso psicomotor acentuado, frequentemente acompanhado de epilepsia ou características autistas.</i>
<i>ARID1A</i>	<i>AT-rich interactive domain-containing protein 1A</i>	<i>O14497</i>	<i>The nBAF complex along with CREST plays a role regulating the activity of genes essential for dendrite growth (By similarity).</i>	<i>Não</i>	<i>Síndrome de Coffin-Siris 2 (CSS2), deficiência intelectual.</i>
<i>HDAC4</i>	<i>Histone deacetylase 4</i>	<i>P56524</i>	<i>Responsible for the deacetylation of lysine residues on the N-terminal part of the core histones (H2A, H2B, H3 and H4). Histone deacetylation gives a tag for epigenetic repression and plays an important role in transcriptional regulation, cell cycle progression and developmental events. Histone deacetylases act via the formation of large multiprotein complexes. Involved in muscle maturation via its interaction with the myocyte enhancer factors such as MEF2A, MEF2C and MEF2D. Involved in the MTA1-mediated epigenetic regulation of ESR1 expression in breast cancer. Deacetylates HSPA1A and HSPA1B at 'Lys-77' leading to their preferential binding to co-chaperone STUB1 (PubMed:27708256).</i>	<i>Não</i>	<i>síndrome da deficiência intelectual (PubMed:20691407, PubMed:23188045, PubMed:24715439). Doença autossômica dominante caracterizada por atraso global do desenvolvimento, comprometimento do desenvolvimento intelectual.</i>

<i>WDFY3</i>	<i>WD repeat and FYVE domain-containing protein 3</i>	<i>Q8IZQ1</i>	<i>Required for selective macroautophagy (aggrephagy). Acts as an adapter protein by linking specific proteins destined for degradation to the core autophagic machinery members, such as the ATG5-ATG12-ATG16L E3-like ligase, SQSTM1 and LC3 (PubMed:20417604).</i> <i>Along with p62/SQSTM1, involved in the formation and autophagic degradation of cytoplasmic ubiquitin-containing inclusions (p62 bodies, ALIS/aggresome-like induced structures). Along with SQSTM1, required to recruit ubiquitinated proteins to PML bodies in the nucleus (PubMed:20168092).</i> <i>Important for normal brain development. Essential for the formation of axonal tracts throughout the brain and spinal cord, including the formation of the major forebrain commissures. Involved in the ability of neural cells to respond to guidance cues. Required for cortical neurons to respond to the trophic effects of netrin-1/NTN1 (By similarity).</i> <i>Regulates Wnt signaling through the removal of DVL3 aggregates, likely in an autophagy-dependent manner. This process may be important for the determination of brain size during embryonic development (PubMed:27008544).</i>	<i>Não</i>	<i>Microcefalia 18, primária, autossômica dominante (MCPH18).</i> <i>Indivíduos afetados pelo MCPH18 manifestam microcefalia com deficiência intelectual leve a moderada.</i>
<i>LICAM</i>	<i>Neural cell adhesion molecule L1</i>	<i>P32004</i>	<i>Neural cell adhesion molecule involved in the dynamics of cell adhesion and in the generation of transmembrane signals at tyrosine kinase receptors. During brain development, critical in multiple processes, including neuronal migration, axonal growth and fasciculation, and synaptogenesis. In the mature brain, plays a role in the dynamics of neuronal structure and function, including synaptic plasticity.</i>	<i>Sim</i>	<i>Hidrocefalia congênita ligada ao cromossomo X (HYCX), deficiência intelectual.</i>

SHANK3	SH3 and multiple ankyrin repeat domains protein 3	Q9BYB0	Major scaffold postsynaptic density protein which interacts with multiple proteins and complexes to orchestrate the dendritic spine and synapse formation, maturation and maintenance. Interconnects receptors of the postsynaptic membrane including NMDA-type and metabotropic glutamate receptors via complexes with GKAP/PSD-95 and HOMER, respectively, and the actin-based cytoskeleton. Plays a role in the structural and functional organization of the dendritic spine and synaptic junction through the interaction with Arp2/3 and WAVE1 complex as well as the promotion of the F-actin clusters. By way of this control of actin dynamics, participates in the regulation of developing neurons growth cone motility and the NMDA receptor-signaling. Also modulates GRIA1 exocytosis and GRM5/MGLUR5 expression and signaling to control the AMPA and metabotropic glutamate receptor-mediated synaptic transmission and plasticity. May be required at an early stage of synapse formation and be inhibited by IGF1 to promote synapse maturation.	NA	Associado a transtornos neuropsiquiátricos, como transtornos do espectro autista (TEA), transtornos afetivos bipolares e demência de início precoce.
ANK3	Ankyrin-3	Q12955	Membrane-cytoskeleton linker. May participate in the maintenance/targeting of ion channels and cell adhesion molecules at the nodes of Ranvier and axonal initial segments (PubMed:7836469). In skeletal muscle, required for costamere localization of DMD and betaDAG1 (By similarity). Regulates KCNA1 channel activity in function of dietary Mg ²⁺ levels, and thereby contributes to the regulation of renal Mg ²⁺ reabsorption (PubMed:23903368). Required for intracellular adhesion and junctional conductance in myocytes, potentially via stabilization of GJA1/CX43 protein abundance and promotion of PKP2, GJA1/CX43, and SCN5A/Nav1.5 localization to cell-cell junctions (By similarity)	Não	Transtorno do desenvolvimento intelectual, autossômico recessivo 37 (MRT37). Déficit intelectual, comprometimento no comportamento adaptativo, atraso global na fala.

<i>RAB39B</i>	<i>Ras-related protein Rab-39B</i>	<i>Q96DA2</i>	<i>RAB39B is involved in autophagy and may function in autophagosome formation (PubMed:27103069, PubMed:37821429).</i> <i>Binds downstream effector PICK1 to ensure selectively GRIA2 exit from the endoplasmic reticulum to the Golgi and to regulate AMPAR composition at the post-synapses and thus synaptic transmission (By similarity).</i> <i>May regulate the homeostasis of SNCA/alpha-synuclein (By similarity).</i>	<i>Não</i>	<i>Transtorno do desenvolvimento intelectual ligado ao cromossomo X 72 (XLID72). Déficit intelectual, comprometimento no comportamento adaptativo.</i>
<i>SLC9A9</i>	<i>Sodium/hydrogen exchanger 9</i>	<i>Q8IVB4</i>	<i>Endosomal Na⁺, K⁺/H⁺ antiporter. Mediates the electroneutral exchange of endosomal luminal H⁺ for a cytosolic Na⁺ or K⁺ (Probable). By facilitating proton efflux, SLC9A9 counteracts the acidity generated by vacuolar (V)-ATPase, thereby limiting luminal acidification. Regulates organellar pH and consequently, e.g., endosome maturation and endocytic trafficking of plasma membrane receptors and neurotransmitters (PubMed:15522866, PubMed:24065030, PubMed:28130443).</i> <i>Promotes the recycling of transferrin receptors back to the cell surface to facilitate additional iron uptake in the brain (PubMed:28130443).</i> <i>Regulates synaptic transmission by regulating the luminal pH of axonal endosomes (By similarity).</i> <i>Regulates phagosome lumenal pH, thus affecting phagosome maturation, and consequently, microbicidal activity in macrophages (By similarity).</i>	<i>Sim</i>	<i>Comprometimentos na interação social e na comunicação recíprocas, padrões restritos e estereotipados de interesses e atividades.</i>
<i>KDM6B</i>	<i>Lysine-specific demethylase 6B</i>	<i>O15054</i>	<i>Histone demethylase that specifically demethylates 'Lys-27' of histone H3, thereby playing a central role in histone code (PubMed:17713478, PubMed:17825402, PubMed:17851529, PubMed:18003914).</i> <i>Demethylates trimethylated and dimethylated H3 'Lys-27' (PubMed:17713478, PubMed:17825402, PubMed:17851529, PubMed:18003914).</i> <i>Plays a central role in regulation of posterior development, by regulating HOX gene expression (PubMed:17851529).</i> <i>Involved in inflammatory response by participating in macrophage differentiation in case of inflammation by regulating gene expression and macrophage differentiation</i>	<i>Não</i>	<i>Síndrome do neurodesenvolvimento de Stolerman (NEDSST). Atraso global do desenvolvimento, deficiência intelectual variável, aquisição deficiente da linguagem.</i>

			<i>(PubMed:17825402).</i> <i>Plays a demethylase-independent role in chromatin remodeling to regulate T-box family member-dependent gene expression by acting as a link between T-box factors and the SMARCA4-containing SWI/SNF remodeling complex (By similarity).</i>		
<i>AP4B1</i>	<i>AP-4 complex subunit beta-1</i>	<i>Q9Y6B7</i>	<i>Component of the adaptor protein complex 4 (AP-4). Adaptor protein complexes are vesicle coat components involved both in vesicle formation and cargo selection. They control the vesicular transport of proteins in different trafficking pathways (PubMed:10066790, PubMed:10436028). AP-4 forms a non clathrin-associated coat on vesicles departing the trans-Golgi network (TGN) and may be involved in the targeting of proteins from the trans-Golgi network (TGN) to the endosomal-lysosomal system. It is also involved in protein sorting to the basolateral membrane in epithelial cells and the proper asymmetric localization of somatodendritic proteins in neurons. AP-4 is involved in the recognition and binding of tyrosine-based sorting signals found in the cytoplasmic part of cargos, but may also recognize other types of sorting signal (Probable)</i>	<i>Não</i>	<i>Paraplegia espástica 47, autossômica recessiva (SPG47). Deficiência intelectual grave com desenvolvimento deficiente ou ausente da fala.</i>

7. DISCUSSÃO

O TEA é uma condição complexa do neurodesenvolvimento caracterizada por déficits na comunicação social e pela presença de comportamentos sensório-motores repetitivos. Sua etiologia é multifatorial, envolvendo uma combinação de predisposições genéticas, influências ambientais e distúrbios moleculares que impactam o desenvolvimento. (Kaplan et al., 2017) (Castro et al., 2016).

O presente estudo reforça a complexidade do TEA, destacando a interação entre fatores genéticos, ambientais e epigenéticos. A identificação de VUS no grupo estudado sugere uma possível contribuição da carga genética para o perfil clínico observado, embora neste momento não seja possível estabelecer associações causais diretas. Este achado está em consonância com a literatura que aponta para um modelo poligênico do TEA, em que múltiplas variantes de risco interagem com fatores ambientais e influenciam o fenótipo (Sanders et al., 2015; Weiner et al., 2017).

Investigações epidemiológicas relatam fatores não genéticos, como idade parental avançada e parto prematuro, como fatores de risco para TEA (Lyll et al., 2017). O estudo de Shelton (2010) constatou que mães com mais de 40 anos de idade tinham um risco 51% maior de ter um filho com autismo em comparação com aquelas com idade entre 25 e 29 anos e um risco 77% maior em comparação com mães com menos de 25 anos. No entanto, não foram encontradas evidências sobre a influência da idade paterna (Shelton et al., 2010). Em nosso estudo, a maioria das mães com filhos diagnosticados com TEA segundo a escala CARS estava entre 27 e 31 anos, e a distribuição entre os sexos foi semelhante (30% meninas e 33,3% meninos com classificação leve a grave).

No contexto da pandemia de COVID-19, esse estudo possui grande relevância. Pesquisas recentes têm mostrado que crianças nascidas ou em processo de desenvolvimento durante esse período possuem maior risco de atrasos no desenvolvimento da linguagem e em habilidades sociais, provavelmente associados aos estressores ambientais e mudanças nas interações sociais precoces (Shuffrey et al., 2022; Deoni et al., 2021). A sobreposição desses fatores ambientais com predisposições genéticas pode ter amplificado vulnerabilidades, reforçando a necessidade de estudos que integrem ambas as dimensões.

Costa e colaboradores, de 2024, mostrou que há uma associação entre o uso materno de antipiréticos/analgésicos e antibióticos antes da gravidez e durante qualquer trimestre da gravidez com maior incidência de TEA (de Andrade Costa et al., 2024). No entanto, o

consumo materno e paterno de tabaco, álcool e drogas ilícitas antes e durante a gravidez não mostrou relação significativa. Infecções gestacionais, hipertensão e diabetes gestacional foram comuns, assim como infecções do trato urinário e sexualmente transmissíveis. Evidências emergentes sugerem que os processos biológicos subjacentes ao TEA podem se iniciar na fase fetal e estudos relatam que a exposição pré-natal a infecções virais, como citomegalovírus, herpes simplex e rubéola, tem sido associada a um risco aumentado de TEA (Stella Chess, 1971), Deykin, 1979, Ghaziuddin et al., 1992 e Yamashita et al., 2003).

Modelos animais demonstraram que a ativação imunológica materna (AIM) durante a gravidez pode desencadear comportamentos semelhantes aos do TEA na prole, potencialmente por meio da interrupção do neurodesenvolvimento fetal (Shi et al., 2003) (Hsiao; Patterson, 2012) (Malkova et al., 2012). Anticorpos maternos podem atravessar a placenta e interferir no desenvolvimento cerebral fetal, tendo como alvo antígenos neurais, destacando o papel das respostas imunológicas maternas na patogênese do TEA (Braunschweig; Van De Water, 2012) (Shi et al., 2003).

Diagnosticar o TEA em crianças de 18 a 30 meses é desafiador em comparação com crianças mais velhas, adolescentes e adultos. Um obstáculo significativo é a falta de dados robustos sobre como a intervenção precoce impacta os resultados a longo prazo na idade adulta. Fatores preditivos como o desenvolvimento da linguagem e o nível cognitivo são difíceis de mensurar com precisão nessa faixa etária, complicando os esforços de triagem precoce (Siu *et al.*, 2016). Ferramentas de avaliação multidimensional, como as Escalas Bayley de Desenvolvimento de Bebês e Crianças Pequenas, Terceira Edição (Bayley-III) e a Escala de Avaliação do Autismo Infantil (CARS), têm se mostrado valiosas na identificação de atrasos no desenvolvimento e comportamentos relacionados ao TEA. A Bayley-III avalia o desenvolvimento geral por meio de atividades estruturadas e questionários para cuidadores, enquanto a CARS se concentra especificamente em observações comportamentais e relatos dos pais, demonstrando forte concordância com os critérios do DSM-IV para TEA em crianças de 2 a 4 anos (Weis, 2017; Gulart, 2022) (Chlebowski, 2010). Usando a escala, algumas crianças no estudo apresentaram forte correlação com o TEA.

Avanços na pesquisa, por meio da criação de um painel genético para genes relacionados ao autismo, forneceram insights relevantes sobre os mecanismos moleculares subjacentes ao atraso no desenvolvimento e ao TEA. A análise dos genes presentes em crianças, realizada em bancos de dados como OMIM e ClinVar, permitiu a identificação de múltiplos genes associados a processos de neurodesenvolvimento. Três crianças no estudo apresentaram variantes prováveis patogênicas, enquanto outras 26 apresentaram variantes de

significado incerto. Muitos desses genes estão implicados no neurodesenvolvimento, fornecendo informações sobre a arquitetura genética do TEA.

Genes como SHANK3, SHANK2, WDFY3, CHD7, VPS13B, OFD1 estão associados a processos como migração neuronal e regulação epigenética. (Leblond *et al.*, 2014; Monteiro; Feng, 2017)

Genes como ANK3, CTCF e KDM6B estão implicados em múltiplos transtornos neuropsiquiátricos, incluindo TEA, TDAH e deficiência intelectual, destacando os mecanismos genéticos compartilhados entre essas condições (Bi *et al.*, 2012; Politano *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2020). Assim como, os genes CC2D1A e FRMPD4 que desempenham papéis especializados na maturação sináptica e na formação de espinhas dendríticas, respectivamente, a sua desregulação pode contribuir tanto para o TEA quanto para a esquizofrenia (Manzini *et al.*, 2014; Piard *et al.*, 2018)

Outros genes desempenham papéis importantes no metabolismo e no desenvolvimento do sistema nervoso como o GATM que está envolvido na síntese de creatina, mutações nesse gene estão associadas a distúrbios comportamentais e déficits cognitivos (Mercimek-Mahmutoglu *et al.*, 2006). O CHD3, quando alterado, pode resultar em atrasos no desenvolvimento e deficiência intelectual, e o CDK13 desempenha um papel fundamental no processamento de RNA e na regulação transcricional, estando implicado tanto em defeitos cardíacos congênitos quanto no TEA. Essas descobertas demonstram como o desenvolvimento neurológico está interconectado com vários outros processos biológicos, destacando a complexidade das interações genéticas na determinação das manifestações clínicas dessas condições. (Morison *et al.*, 2023; Snijders Blok *et al.*, 2018) E os genes como PCDH19 e RAB39B desempenham papel importante, respectivamente, na codificação de proteína de adesão celular dependente de cálcio que influencia a comunicação neuronal e está associada ao autismo, esquizofrenia e epilepsia, enquanto que o outro gene regula o transporte de vesículas intracelulares, impactando a função sináptica e o desenvolvimento cerebral, e está associado ao TEA, esquizofrenia e deficiência intelectual. (Mignogna *et al.*, 2015; Park *et al.*, 2024; Pham *et al.*, 2016)

Nossos achados corroboram a literatura que associa variantes de alto impacto em genes importantes relacionados ao neurodesenvolvimento e a fenótipos clínicos significativos. Um exemplo claro em nossa coorte é a criança portadora de uma variante provavelmente patogênica (PP) no gene *CHD7*, que apresentou atrasos nos domínios de linguagem e motor, além de risco para atraso cognitivo segundo a escala Bayley-III. Este perfil é altamente consistente com a síndrome de CHARGE, causada por mutações em *CHD7*, frequentemente

associada a atraso global do desenvolvimento e alterações de linguagem (Vissers et al., 2004; Zentner et al., 2010). De modo que a identificação de uma variante PP no gene *DHCR7*, em uma criança com comprometimento nos três domínios da Bayley-III, reforça a ligação entre esse gene e quadros sindrômicos multissistêmicos, como a síndrome de *Smith-Lemli-Opitz*, previamente associada a atraso neuropsicomotor e deficiência intelectual (Porter, 2008). Esses resultados ilustram como o uso de painéis genéticos direcionados pode ser uma ferramenta poderosa para esclarecer a etiologia de quadros clínicos mais acentuados.

Na seção da análise genética, o uso de um painel direcionado de 229 genes permitiu identificar genes já associados ao TEA e ao neurodesenvolvimento, entretanto restringiu a descoberta de novas variantes em genes ainda não descritos. Estudos baseados em exoma ou genoma completo têm demonstrado maior sensibilidade para identificar variantes raras e novas associações (Satterstrom et al., 2020; Vorstman et al., 2017). Essa limitação deve ser considerada ao interpretar os achados, que podem subestimar a real contribuição genética nos participantes.

O papel imunológico materno não pode emergir como um fator crítico no neurodesenvolvimento fetal, porém sugere que a inflamação materna desencadeada por autoimunidade, infecções ou exposição a toxinas pode interromper o desenvolvimento neurobiológico, aumentando assim o risco de TEA. (Jaini *et al.*, 2021) As infecções virais maternas têm sido associadas a desfechos adversos na gravidez, incluindo parto prematuro e malformações do sistema nervoso. (Pereira; Wendt, 2020)

Infecções durante o período pré-natal promovem o aumento da expressão de algumas proteínas como as proteínas S100B por fatores como TNF α , IL-1 β , IL-6 e IL-8. Quando ocorre a desregulação da S100 β , proteína envolvida na homeostase do zinco, pode haver o comprometimento das redes sinápticas SHANK, essenciais para a maturação das espinhas dendríticas e a plasticidade sináptica (Leblond *et al.*, 2014; Roussignol *et al.*, 2005). As proteínas SHANK também regulam a via de sinalização WNT, crucial para o desenvolvimento neuronal e é uma proteína que está associada ao transtorno do espectro autista (TEA) (Monteiro; Feng, 2017; Théry *et al.*, 2018).

Esta descoberta está alinhada com estudos genéticos que indicam que fatores etiológicos parentais como a inflamação materna perinatal, causada por autoimunidade, infecções ou toxinas, estão associados ao TEA (Jaini *et al.*, 2021).

Além do papel da S100b como um biomarcador confiável de sofrimento neural, vazando para fluidos biológicos em casos de dano neuronal e à barreira hematoencefálica. A S100b atua como uma molécula associada a danos (DAMP), interagindo com os receptores

RAGE e TLR-4, e seus níveis elevados desencadeiam respostas teciduais em distúrbios neurais. (Duan *et al.*, 2022; Sreejit *et al.*, 2020)

Ainda assim, a identificação de genes com potencial papel na neuroproteção e no desenvolvimento sináptico amplia a compreensão da interação entre genética e fenótipo clínico. Mesmo que classificadas como VUS, essas variantes devem ser acompanhadas em estudos longitudinais, visto que análises funcionais futuras poderão esclarecer sua patogenicidade e relevância para o desenvolvimento infantil.

Receptores como *Toll-like* desempenham um papel fundamental na regulação da resposta imune, detectando patógenos e reconhecendo padrões associados a danos, o que é essencial para ativação de respostas inflamatórias (Duan *et al.*, 2022), o TRL4 é um componente do sistema imunológico e é conhecido pelo seu papel na mediação de respostas moleculares associados a patógenos (Aboudounya; Heads, 2021) além de ser expresso na micróglia que são células imunes presentes no cérebro e em outras células do sistema nervoso central, e o aumento da expressão de TRL4 pode contribuir para neuroinflamação crônica. (Xu *et al.*, 2022)

Quando a desregulação do S100b promove alteração da homeostase do zinco durante o desenvolvimento cerebral afeta as redes SHANK sináptica. SHANK 2 E SHANK 3 são proteínas de *scaffold* pós-sináptica que induzem o processo de maturação das espinhas dendríticas em sinapses glutamérgicas (Leblond *et al.*, 2014). A perda de SHANK 3 pode resultar na redução da densidade das espinhas dendríticas e na transmissão sináptica prejudicada, enquanto sua superexpressão pode induzir a formação de espinhas dendríticas funcionais. As espinhas funcionais são essenciais para a plasticidade sináptica, processo que fortalece ou enfraquece conexões sinápticas, cruciais para a aprendizagem e a memória. (Roussignol *et al.*, 2005)

Além disso, as proteínas SHANK regulam a via de sinalização chamada WNT na célula pós-sináptica, fundamental para o processo de maturação da sinapse durante o desenvolvimento neuronal, (Théry *et al.*, 2018). Essas proteínas também codificam proteínas presentes na estrutura pós-sináptica, e estão associadas ao TEA. (Monteiro; Feng, 2017)

O zinco é essencial para a função imunológica e sua deficiência ativa o NF-κB, intensificando a inflamação (Jarosz *et al.*, 2017). Complementarmente, a proteína CRBN regula de forma negativa a sinalização do TRL4, inibindo desta forma a ativação do NF-Kb e produção das citocinas pró-inflamatórias, (Min *et al.*, 2016) desta forma a homeostase do zinco é extremamente importante para regular a resposta imune, a deficiência em sua produção pode resultar em uma ativação intensa do NF-Kb aumentando a inflamação e a

proteína CRBN está envolvida na modulação dessas respostas. Ao desencadear uma desregulação do zinco e o aumento do processo inflamatório, isto pode comprometer o desenvolvimento sináptico, sugerindo que a inflamação materna pode predispor o feto a distúrbios de neurodesenvolvimento. (Jarosz *et al.*, 2017)

Além do zinco, o cálcio regula a expressão gênica via CREB, impactando a memória e a aprendizagem (Sutton *et al.*, 1999). Genes como o CC2D1A influenciam os processos cognitivos e estão ligados à hiperatividade e à ansiedade, além de regularem vias moleculares essenciais para a plasticidade sináptica (Majumdar *et al.*, 2011; Oaks *et al.*, 2017). A inibição de CREB na região do hipocampo prejudica a memória espacial e a de reconhecimento de objetos. (Pittenger *et al.*, 2002). Os genes CC2D1A e CC2D1B estão intimamente ligados aos processos de aprendizagem e memória, com CC2D1A, sozinho, contribui para a hiperatividade e ansiedade (Oaks *et al.*, 2017). Esse gene também regula importantes vias moleculares, como NF-kB, Akt e CREB, que são essenciais para a memória e a aprendizagem (Majumdar *et al.*, 2011). Além disso, Oaks e colaboradores, observaram que a exclusão de CC2D1A pode levar a uma redução na densidade de espinhas dendríticas, afetando a plasticidade sináptica e a memória espacial, mutações neste gene está associado a redução da sociabilidade, hiperatividade e comportamentos repetitivos. (Oaks *et al.*, 2017)

O gene CNTNAP2 foi identificado como um fator de suscetibilidade ao TEA, estando associado à conectividade cerebral e ao processamento da linguagem (Alarcón *et al.*, 2008; Tan *et al.*, 2010). Dado que os exossomos influenciam o desenvolvimento do SNC e as respostas imunes, sugere-se que o CNTNAP2 pode estar diretamente envolvido no TEA, reforçando ainda mais a hipótese de que respostas imunes maternas desreguladas contribuem para comprometimentos no desenvolvimento infantil.

Contudo, nem todas as crianças avaliadas seguiram esse padrão de concordância direta. Observamos situações em que variantes classificadas como PP apresentaram expressão clínica atípica ou parcial, reforçando a complexidade da relação genótipo-fenótipo no TEA. Um caso destaque foi o de uma criança com variante PP no gene *CNTNAP2*, onde enquanto a escala CARS a classificou com autismo grave, a Bayley-III indicou atraso mais expressivo apenas no domínio da linguagem, sem déficits significativos nos domínios cognitivo e motor. Este achado é coerente com o papel do *CNTNAP2* na organização da conectividade de circuitos neurais associados à linguagem e ao processamento social (Alarcón *et al.*, 2008; Peñagarikano *et al.*, 2011), sugerindo que a alteração desse gene pode se manifestar de forma mais seletiva e não ser totalmente capturado por avaliações globais de desenvolvimento. Essa variabilidade ressalta a importância de integrar múltiplos instrumentos de avaliação clínica e

neuropsicológica, além da análise genética, para melhor compreender a heterogeneidade fenotípica do TEA.

Considerando essas evidências, torna-se claro que a predisposição genética ao autismo e outros transtornos do neurodesenvolvimento resulta de uma rede complexa de interações genéticas e moleculares. A identificação desses genes não apenas expande nossa compreensão da biologia do TEA, mas também abre novas perspectivas para a terapia.

Diante disso, a presença de VUS em genes relacionados ao neurodesenvolvimento merece atenção importante. Os VUS são aquelas sobre as quais ainda não possuem informações concretas sobre a probabilidade de serem patogênicas ou benignas. Quando o paciente apresenta uns VUS, as informações clínicas informadas aos profissionais de saúde como o histórico familiar do paciente e a genotipagem dos genitores podem trazer informações importantes, auxiliando desta forma a reclassificação dessa variante como provavelmente patogênica ou provavelmente benigna, contribuindo para a conclusão do diagnóstico. Neste caso se um paciente apresentar uns VUS raros em um gene que já está associado a alguma doença genética que ocasiona sintomas descritos pela equipe médica e essa variante não foi encontrada nos pais, é possível que ela cause sintomas e seja patogênica, entretanto se estes VUS se encontram em algum gene que não condiz com sintomas apresentados, ou se esta variante for positiva nos pais e esses saudáveis, é provável que ela seja benigna. (Richards *et al.*, 2015)

A maioria das variantes identificadas nesta pesquisa foi classificada como VUS, cujo impacto clínico permanece indefinido segundo as diretrizes da ACMG (Richards *et al.*, 2015). Entretanto, a presença de múltiplos VUS em crianças com alterações clínicas relevantes sugere a possibilidade de um modelo poligênico, em que a soma dessas variantes de pequeno efeito pode aumentar a suscetibilidade ao TEA. Desta forma, foi observado em duas crianças de nossa amostra que pontuaram para autismo pela escala CARS, apesar de não apresentarem atrasos globais na Bayley-III, mas que carregavam três e duas VUS, respectivamente, em genes relacionados ao neurodesenvolvimento, como *GATM*, *KMT2D* e *SHANK2*. Embora individualmente essas variantes possam não ser suficientes para determinar o fenótipo, sua interação com fatores ambientais e clínicos, como: prematuridade, intercorrências gestacionais ou estressores do contexto pandêmico, pode modular o risco clínico final (Sanders *et al.*, 2015; Weiner *et al.*, 2017). Assim, a interpretação dos VUS deve considerar não apenas a patogenicidade isolada, mas também sua inserção em uma rede de fatores que contribuem coletivamente para a manifestação do TEA.

Assim, deve-se notar que alguns laboratórios optam por níveis adicionais como por exemplo as subclassificações de modo interno para as VUS, desta forma diferindo um pouco do que é recomendado atualmente para classificar variantes de número de cópias (CNVs) através do microarray citogenético. Embora o CNVs recomende e tenha cinco níveis, usa a classificação “significância clínica incerta – provavelmente patogênica” e “significância clínica incerta – provavelmente benigna”. (Kearney *et al.*, 2011)

Outro ponto importante refere-se à abordagem estatística. Optou-se pelo uso predominante de análises univariadas, que são úteis para explorar relações iniciais, mas insuficientes para controlar múltiplos fatores de confusão que influenciam o neurodesenvolvimento, como condições socioeconômicas maternas, prematuridade, infecções gestacionais e acesso a intervenções precoces. Estudos futuros devem incorporar análises multivariadas, capazes de dissecar com maior precisão a contribuição relativa dos fatores genéticos e ambientais (Bishop-Fitzpatrick & Kind, 2017).

Dando suporte a essa abordagem, os resultados apresentados, reforçam a significância entre as variantes genéticas patogênicas e as alterações nos domínios avaliados pela Bayley-III e CARS. Esses achados contrastam com os resultados encontrados no estudo (Harris *et al.*, 2020), em que relata não haver diferenças estatisticamente significativas nos escores da Bayley-III nos grupos genéticos com achados normais ou negativos, variantes de significado desconhecido e achados patogênicos.

Nossos resultados identificam que as crianças que apresentaram variantes patogênicas apresentando médias baixas nos domínios avaliados pela Bayley-III, em que evidencia risco de atraso de desenvolvimento nos domínios motor (70) e cognitivo (71,67), entretanto o domínio de linguagem (56) apresenta atraso de desenvolvimento grave, de acordo com a classificação utilizada por (Fajardo-Martinez *et al.*, 2024), desta forma podemos sugerir que o achado é relevante e as variantes patogênicas podem estar associadas a atrasos de desenvolvimento global.

Entretanto os resultados da CARS apresentaram média de 34,17 e classifica essas crianças com autismo leve-moderado, sendo consistente com as alterações observadas na Bayley-III, refletindo assim em atrasos significativos no desenvolvimento, um estudo afirma que teste genéticos são recomendados para crianças pequenas com TEA, visto que o rendimento de 12% dos achados patogênicos levou a considerar recomendações médicas adicionais. (Harris *et al.*, 2020)

Os achados no estudo reforçam a importância de não considerar apenas a presença de variantes, mas também a influência de fatores múltiplos que podem modular sua expressão e

seu impacto clínico direto. A patogenicidade de variantes genéticas pode ser influenciada por diversos aspectos como o nível de função adequada para manter a homeostase e o estágio ontogenético ao qual a expressão gênica ocorre. Esses fatores desempenham extrema importância na associação gene-doença e na gravidade das manifestações patológicas. (Li *et al.*, 2023)

Considerando as evidências encontradas, observa-se a necessidade de integrar os achados genéticos à prática clínica por meio de protocolos multiprofissionais. Compreender o perfil genético e molecular aprofundado de crianças com TEA permite não apenas diagnósticos mais precoces, e melhores intervenções, podendo ser adaptadas ao perfil biológico e comportamental de cada indivíduo. Desta forma, recomenda-se a ampliação do uso de painéis genéticos como ferramenta de rastreio, principalmente em populações de risco com histórico familiar associado a doenças e/ou sinais clínicos precoces observados em crianças com atraso no desenvolvimento global. Ao unir a triagem genômica integrada aos serviços de atenção básica à saúde pode melhorar a taxa de diagnóstico precoce em crianças com distúrbio de neurodesenvolvimento e assim reduzir desigualdades no acesso ao serviço especializado.

Portanto do ponto de vista translacional, compreender a interação entre variantes genéticas e fatores ambientais em um cenário como a pandemia COVID-19 é fundamental. Isso pode subsidiar estratégias de rastreamento precoce, diagnóstico oportuno e intervenção personalizada, com impacto direto na qualidade de vida das crianças e de suas famílias (Zwaigenbaum *et al.*, 2015). Nesse sentido, os resultados aqui apresentados não devem ser interpretados como conclusivos, mas como geradores de hipóteses que abrem caminho para investigações mais robustas.

Uma limitação central desta pesquisa foi o tamanho reduzido da amostra, decorrente da desistência de participantes ao longo do acompanhamento, o que diminui o poder estatístico para detectar associações mais raras. Além disso, a ausência de um grupo controle de crianças nascidas no mesmo período, mas sem alterações do desenvolvimento, restringe a interpretação dos resultados e impede comparações diretas que poderiam fortalecer as associações identificadas. O delineamento adotado, embora adequado ao cenário pandêmico, confere ao estudo um caráter exploratório e descritivo.

O presente estudo apresenta algumas limitações e que devem ser consideradas na interpretação desses achados. A desistência de algumas mães durante o período de coleta de dados o que comprometeu o tamanho da amostra. A ausência de um grupo controle impossibilitou comparações diretas entre crianças com e sem achados genéticos relevantes,

além de limitar a avaliação das associações observadas, além disso a análise genética foi realizada de forma direcionada ao TEA, o que restringe a detecção de variantes em genes ainda não relacionados diretamente ao transtorno. O tamanho reduzido da amostra limita uma generalização dos resultados e a identificação de possíveis correlações clínicas. Diante disso, é necessário estudos futuros que considere o uso de painéis genéticos ampliados, inclusão de grupos controles e estratégias para evitar perdas amostrais, e abordagens longitudinais que permitam acompanhar o impacto clínico ao longo do desenvolvimento infantil. Além de avaliar se a exposição intrauterina ao SARS-CoV-2, mesmo sem transmissão vertical, altera o padrão epigenético de genes reguladores do neurodesenvolvimento e está associada a alterações no comportamento ou atraso no desenvolvimento neuromotor dessas crianças. Para isso torna-se necessário estudos de Methyl-Seq ou PCR em genes candidatos para avaliar metilação de promotores de genes envolvidos em neurodesenvolvimento ou MicroRNAs em exossomos derivados de neurônios (NDEs) isolados do sangue periférico.

Em conclusão, este estudo contribuiu para apontar possíveis relações entre genética e desfechos clínicos em crianças expostas ao contexto pandêmico, ressaltando a importância de pesquisas integrativas e multidisciplinares. A convergência entre genética, ambiente e políticas públicas de saúde infantil se mostra urgente para compreender e mitigar os impactos do TEA, especialmente em situações de vulnerabilidade como a vivenciada durante a COVID-19.

8. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

É fundamental reconhecer que o estudo apresenta limitações e que devem ser consideradas na interpretação e generalização dos achados.

A limitação mais relevante está no tamanho reduzido da amostra, resultado não apenas da natureza seletiva dos critérios de inclusão, mas também da desistência de algumas mães ao longo do acompanhamento. Essa restrição compromete o poder estatístico para detectar associações mais raras e restringe a generalização dos resultados em uma população geral.

Além disso, a ausência de um grupo controle, composto por crianças nascidas no mesmo período, mas com desenvolvimento típico. Essa limitação metodológica impossibilitou uma comparação direta que poderia reforçar as conclusões e delimitar com maior clareza o papel específico das variantes genéticas observadas. Tal decisão, embora positiva e de acordo com as dificuldades logísticas no período da pandemia, tornou o estudo primordialmente exploratório e descritivo.

No campo analítico, foi utilizada uma abordagem estatística univariada, importante para identificar relações iniciais, mas insuficiente para o controle simultâneo de múltiplos fatores de confusão. O neurodesenvolvimento possui um desfecho complexo e multifatorial, influenciado por determinantes genéticos ambientais e clínicos, incluindo prematuridade, condições socioeconômicas, intercorrências gestacionais e acesso a intervenções precoces. Sem uma aplicação de modelos multivariados, não é possível afirmar, se as diferenças observadas nos escores das escalas Bayley-III e CARS derivam exclusivamente da presença de variantes genéticas ou se refletem o impacto combinado de outros determinantes.

Por fim, a análise genética realizada com um painel direcionado, restringe a investigação a um conjunto pré-selecionado de 229 genes, limitando a descoberta de variantes em outros genes que possam ser relevantes para o neurodesenvolvimento, e que ainda não foram associados ao TEA.

Desta forma, os resultados devem ser vistos como geradores de hipóteses e como um ponto de partida para investigações posteriores. Estudos futuros, com amostras maiores, inclusão de grupos controles e um desenho longitudinal, abordagens estatísticas multivariadas e análises genômicas mais amplas como exoma e genoma completo são necessários para aprofundar a compreensão da interação entre carga genética e determinantes ambientais no desenvolvimento infantil.

9. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo reforçam a importância da integração de ferramentas de triagem genômica à vigilância precoce do desenvolvimento infantil, especialmente em populações socialmente vulneráveis. Em nossa coorte, observou-se que variantes patogênicas raras, classificadas como provavelmente patogênicas em genes de alto impacto como *CHD7* e *CNTNAP2*, estiveram associadas a comprometimentos significativos incluindo atrasos no domínio da linguagem e motor na escala Bayley-III e classificações de autismo leve a grave na escala CARS. Ao mesmo tempo, a prevalência de variantes de significado incerto e fatores não genéticos, como condições socioeconômicas e o histórico de infecções maternas, contribuiu para um espectro mais amplo e heterogêneo nos desfechos de desenvolvimento.

A análise sociodemográfica e clínica revelou um perfil de risco cumulativo, no qual adversidades perinatais como a alta frequência de infecções gestacionais se sobrepõem a uma possível predisposição genética. Este cenário de vulnerabilidade múltipla amplia a heterogeneidade clínica observada e sustenta a necessidade de ampliar o acesso ao diagnóstico molecular. A identificação de uma etiologia genética pode, como observado nos casos de variantes patogênicas, aprimorar a identificação precoce de risco e possibilitar intervenções mais personalizadas e oportunas para crianças no contexto pós-pandemia.

De forma integrada, os dados apontam para a superação de modelos diagnósticos estáticos, em favor de uma abordagem dinâmica e multiômica. A heterogeneidade fenotípica, vista no caso da criança com variante em *CNTNAP2* que apresentou perfil de autismo grave na CARS com um atraso específico na linguagem pela Bayley-III, ilustra que alterações comportamentais e cognitivas precoces devem ser compreendidas como reflexo da interação entre o conjunto de fatores genéticos, as janelas críticas do desenvolvimento e as influências ambientais. Esse delineamento é essencial para o avanço neurodesenvolvimental baseada em princípios de medicina de precisão.

Essa medida pode ter grande relevância para o Sistema Único de Saúde (SUS), desde que implementada com o suporte de profissionais devidamente treinados e capacitados no uso de instrumentos padronizados de rastreamento durante as consultas de puericultura. Ao unir a vigilância do desenvolvimento à possibilidade de investigação genômica em casos de risco, é possível aperfeiçoar a jornada diagnóstica e terapêutica das crianças com transtorno do neurodesenvolvimento no Brasil.

REFERÊNCIAS

ABOUDOUNYA, Mohamed M; HEADS, Richard J. COVID-19 and Toll-Like Receptor 4 (TLR4): SARS-CoV-2 May Bind and Activate TLR4 to Increase ACE2 Expression, Facilitating Entry and Causing Hyperinflammation. **Mediators of inflammation**, United States, v. 2021, p. 8874339, 2021.

ABRAHAMSON, Brett S *et al.* SFARI Gene 2.0: a community-driven knowledgebase for the autism spectrum disorders (ASDs). **Molecular autism**, [s. l.], v. 4, p. 1–3, 2013.

AMBERGER, Joanna S *et al.* OMIM. org: leveraging knowledge across phenotype–gene relationships. **Nucleic acids research**, [s. l.], v. 47, n. D1, p. D1038–D1043, 2019.

AMBERGER, Joanna S *et al.* OMIM. org: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM®), an online catalog of human genes and genetic disorders. **Nucleic acids research**, [s. l.], v. 43, n. D1, p. D789–D798, 2015.

AMIET, Claire *et al.* Epilepsy in autism is associated with intellectual disability and gender: evidence from a meta-analysis. **Biological psychiatry**, [s. l.], v. 64, n. 7, p. 577–582, 2008.

ANDERSON, Peter J.; BURNETT, Alice. Assessing developmental delay in early childhood — concerns with the Bayley-III scales. **Clinical Neuropsychologist**, [s. l.], v. 31, n. 2, p. 371–381, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/13854046.2016.1216518>.

ARMSTRONG, Kathleen H; AGAZZI, Heather C. The Bayley-III cognitive scale. *In*: BAYLEY-III CLINICAL USE AND INTERPRETATION. [S. l.]: Elsevier, 2010. p. 29–45.

ASWANI, Laxme Velasco *et al.* Alterações Neurológicas Decorrentes De Infecções Congênitas E Perinatais: Uma Revisão Integrativa Da Literatura. **Revista Contemporânea**, [s. l.], v. 3, n. 12, p. 28894–28912, 2023.

BACCHELLI, Elena *et al.* Whole genome analysis of rare deleterious variants adds further evidence to BRSK2 and other risk genes in Autism Spectrum Disorder. **Research Square**, [s. l.], p. rs-3, 2023.

BAE, Gi-Sang *et al.* Inhibition of lipopolysaccharide-induced inflammatory responses by piperine. **European journal of pharmacology**, [s. l.], v. 642, n. 1–3, p. 154–162, 2010.

BANU, Laila Areju Man; HAQUE, F. M. Anamul; TASNIM, Saria. Neurodevelopmental Disorders (NDDs) in Children: Role of Maternal Factors. **Bangladesh Journal of Obstetrics and Gynecology**, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 139–147, 2022.

BAO, Mian; HOFSTINK, Naomi; PLÖSCH, Torsten. LPS versus Poly I: C model: comparison of long-term effects of bacterial and viral maternal immune activation on the offspring. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, [s. l.], v. 322, n. 2, p. R99–R111, 2022.

BASTAKI, Kholoud N; ALWAN, Sura; ZAHIR, Farah R. Maternal prenatal exposures in pregnancy and autism spectrum disorder: an insight into the epigenetics of drugs and diet as key environmental influences. **Personalized food intervention and therapy for autism spectrum disorder management**, [s. l.], p. 143–162, 2020.

BAYLEY, Nancy. Bayley scales of infant and toddler development. [s. l.], 2006.

BERNIER, Raphael *et al.* Disruptive CHD8 mutations define a subtype of autism early in development. **Cell**, United States, v. 158, n. 2, p. 263–276, 2014.

BHAT, Anjana N. Motor impairment increases in children with autism spectrum disorder as a function of social communication, cognitive and functional impairment, repetitive behavior severity, and comorbid diagnoses: A SPARK study report. **Autism research**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 202–219, 2021.

BI, Cheng *et al.* Mutations of ANK3 identified by exome sequencing are associated with autism susceptibility. **Human mutation**, [s. l.], v. 33, n. 12, p. 1635–1638, 2012.

BJØRKLUND, Geir; BHAT, Ramesa Shafi; EL-ANSARY, Afaf. Maternal Immune Activation and Autism Spectrum Disorder: Complex Interactions and Therapeutic Possibilities. **International Journal for Autism Challenges & Solution**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 39–50, 2024.

BOURGERON, Thomas. From the genetic architecture to synaptic plasticity in autism spectrum disorder. **Nature Reviews Neuroscience**, [s. l.], v. 16, n. 9, p. 551–563, 2015.

CERNIGLIARO, Federica *et al.* Prenatal nutritional factors and neurodevelopmental disorders: A narrative review. **Life**, [s. l.], v. 14, n. 9, p. 1084, 2024.

CHLEBOWSKI, Colby *et al.* Using the childhood autism rating scale to diagnose autism spectrum disorders. **Journal of Autism and Developmental Disorders**, [s. l.], v. 40, n. 7, p. 787–799, 2010.

CHOI, Gloria B *et al.* The maternal interleukin-17a pathway in mice promotes autism-like phenotypes in offspring. **Science (New York, N.Y.)**, United States, v. 351, n. 6276, p. 933–939, 2016.

CHOI, Leejee; AN, Joon-Yong. Genetic architecture of autism spectrum disorder: Lessons from large-scale genomic studies. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 128, p. 244–257, 2021.

CURATOLO, Paolo *et al.* Is tuberous sclerosis complex-associated autism a preventable and treatable disorder?. **World journal of pediatrics : WJP**, Switzerland, v. 20, n. 1, p. 40–53, 2024.

DEL BARRIO, Victoria. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**. [S. l.: s. n.], 2004. v. 1

DUAN, Tianhao *et al.* Toll-Like Receptor Signaling and Its Role in Cell-Mediated Immunity. **Frontiers in immunology**, Switzerland, v. 13, p. 812774, 2022.

DURKIN, Maureen S *et al.* Autism spectrum disorder among US children (2002–2010): Socioeconomic, racial, and ethnic disparities. **American journal of public health**, [s. l.], v. 107, n. 11, p. 1818–1826, 2017.

ESCHER, Jill *et al.* Beyond genes: germline disruption in the etiology of autism spectrum disorders. **Journal of autism and developmental disorders**, [s. l.], v. 52, n. 10, p. 4608–4624, 2022.

ESTES, Myka L; MCALLISTER, A Kimberley. Maternal immune activation: Implications for neuropsychiatric disorders. **Science (New York, N.Y.)**, United States, v. 353, n. 6301, p. 772–777, 2016.

FAJARDO-MARTINEZ, Viviana *et al.* Neurodevelopmental delay in children exposed to maternal SARS-CoV-2 in-utero. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 1–11, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-61918-2>.

FLASHNER, Bess M *et al.* Epigenetic factors and autism spectrum disorders. **Neuromolecular medicine**, [s. l.], v. 15, p. 339–350, 2013.

FLORES-RODRÍGUEZ, Yassel; CEBALLOS, Ofelia Roldán; ALBORES-GALLO, Lilia. Assessing autism with DSM-IV and DSM-5 criteria using the Childhood Autism Rating Scale (CARS). **Salud mental**, [s. l.], v. 45, n. 1, p. 3–10, 2022.

GAUGLER, Trent *et al.* Most genetic risk for autism resides with common variation. **Nature genetics**, [s. l.], v. 46, n. 8, p. 881–885, 2014.

GORLIN, Jocelyn Bessette *et al.* Severe childhood autism: The family lived experience. **Journal of pediatric nursing**, [s. l.], v. 31, n. 6, p. 580–597, 2016.

GREEN, Robert C.; REHM, Heidi L.; KOHANE, Isaac S. Clinical Genome Sequencing. **Genomic and Personalized Medicine**, [s. l.], p. 102–122, 2012.

HAGERMAN, Randi J *et al.* Fragile X syndrome. **Nature reviews. Disease primers**, England, v. 3, p. 17065, 2017.

HALL, Mary Beth *et al.* Maternal immune activation as an epidemiological risk factor for neurodevelopmental disorders: Considerations of timing, severity, individual differences, and sex in human and rodent studies. **Frontiers in Neuroscience**, [s. l.], v. 17, n. April, p. 1–21, 2023.

HARRIS, Holly K *et al.* Pathogenic yield of genetic testing in autism spectrum disorder. **Pediatrics**, [s. l.], v. 146, n. 4, 2020.

HIROTA, Tomoya; KING, Bryan H. Autism Spectrum Disorder: A Review. **JAMA**, United States, v. 329, n. 2, p. 157–168, 2023.

HU, Chunchun *et al.* Targeted sequencing and clinical strategies in children with autism spectrum disorder: A cohort study. **Frontiers in Genetics**, [s. l.], v. 14, p. 1083779, 2023.

JAINI, Ritika *et al.* Maternal genetics influences fetal neurodevelopment and postnatal autism spectrum disorder-like phenotype by modulating in-utero immunosuppression. **Translational Psychiatry**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 348, 2021.

JAROSZ, Magdalena *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory effects of zinc. Zinc-dependent NF- κ B signaling. **Inflammopharmacology**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 11–24, 2017.

JHANJI, Megha *et al.* The intersection of inflammation and DNA damage as a novel axis underlying the pathogenesis of autism spectrum disorders. **bioRxiv**, [s. l.], p. 2012–2024, 2024.

KEARNEY, Hutton M *et al.* American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. **Genetics in Medicine**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. 680–685, 2011.

KHARRAT, Marwa *et al.* A novel mutation in the MAP7D3 gene in two siblings with severe intellectual disability and autistic traits: concurrent assessment of BDNF functional polymorphism, X-inactivation and oxidative stress to explain disease severity. **Journal of Molecular Neuroscience**, [s. l.], v. 73, n. 9, p. 853–864, 2023.

KIM, Seong Woo; YOUK, Taemi; KIM, Jiyong. Maternal and neonatal risk factors affecting the occurrence of neurodevelopmental disorders: A population-based nationwide study. **Asia Pacific Journal of Public Health**, [s. l.], v. 34, n. 2–3, p. 199–205, 2022.

KISER, Dominik P; RIVERO, Olga; LESCH, Klaus-Peter. Annual research review: the (epi) genetics of neurodevelopmental disorders in the era of whole-genome sequencing—unveiling the dark matter. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, [s. l.], v. 56, n. 3, p. 278–295, 2015.

KNUESEL, Irene *et al.* Maternal immune activation and abnormal brain development across CNS disorders. **Nature Reviews Neurology**, [s. l.], v. 10, n. 11, p. 643–660, 2014.

KODAK, Tiffany; BERGMANN, Samantha. Autism Spectrum Disorder: Characteristics, Associated Behaviors, and Early Intervention. **Pediatric Clinics of North America**, [s. l.], v. 67, n. 3, p. 525–535, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2020.02.007>.

KORADE, Željka; MIRNICS, Károly. The autism disconnect. **Nature**, [s. l.], v. 474, n. 7351, p. 294–295, 2011.

LARSEN, Eric *et al.* A systematic variant annotation approach for ranking genes associated with autism spectrum disorders. **Molecular autism**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 44, 2016.

LEAN, Samantha C *et al.* Placental dysfunction underlies increased risk of fetal growth restriction and stillbirth in advanced maternal age women. **Scientific reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 9677, 2017.

LEBLOND, Claire S. *et al.* Meta-analysis of SHANK Mutations in Autism Spectrum Disorders: A Gradient of Severity in Cognitive Impairments. **PLoS Genetics**, [s. l.], v. 10, n. 9, 2014.

LEE, S Hong *et al.* Genetic relationship between five psychiatric disorders estimated from genome-wide SNPs. **Nature genetics**, United States, v. 45, n. 9, p. 984–994, 2013.

- LI, Bin *et al.* Genetic dependence and genetic diseases. **bioRxiv**, [s. l.], p. 2008–2023, 2023.
- LIMA, Leilane Júlia Chaves de *et al.* Fatores relacionados à funcionalidade da comunicação social em crianças com transtorno do espectro do autismo: estudo preliminar. **Audiology - Communication Research**, [s. l.], v. 28, p. 1–9, 2023.
- LIU, Xiaoxi; TAKUMI, Toru. Genomic and genetic aspects of autism spectrum disorder. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s. l.], v. 452, n. 2, p. 244–253, 2014.
- LOVATO, Diogo V *et al.* The relevance of variants with unknown significance for autism spectrum disorder considering the genotype–phenotype interrelationship. **Frontiers in Psychiatry**, [s. l.], v. 10, p. 409, 2019.
- LUO, Z *et al.* Identifying and characterizing SCRaMbLEd synthetic yeast using ReSCuES. **Nature communications**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1930, 2018.
- MA, Zeng-Hui *et al.* Atypicalities in the developmental trajectory of cortico-striatal functional connectivity in autism spectrum disorder. **Autism : the international journal of research and practice**, England, v. 26, n. 5, p. 1108–1122, 2022.
- MADASCHI, Vanessa *et al.* Bayley-III scales of infant and toddler development: transcultural adaptation and psychometric properties. **Paidéia (Ribeirão Preto)**, [s. l.], v. 26, p. 189–197, 2016.
- MAGYAR, Caroline I; PANDOLFI, Vincent. Factor structure evaluation of the childhood autism rating scale. **Journal of autism and developmental disorders**, [s. l.], v. 37, p. 1787–1794, 2007.
- MAIA, Fernanda Alves *et al.* Autism spectrum disorder and parents' age: A case-control study in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, [s. l.], v. 34, p. e00109917, 2018.
- MAJUMDAR, Devi *et al.* An APPL1/Akt signaling complex regulates dendritic spine and synapse formation in hippocampal neurons. **Molecular and Cellular Neuroscience**, [s. l.], v. 46, n. 3, p. 633–644, 2011.
- MANZINI, M Chiara *et al.* CC2D1A regulates human intellectual and social function as well as NF-κB signaling homeostasis. **Cell reports**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 647–655, 2014.
- MERCIMEK-MAHMUTOGLU, S *et al.* GAMT deficiency: features, treatment, and outcome in an inborn error of creatine synthesis. **Neurology**, [s. l.], v. 67, n. 3, p. 480–484, 2006.
- MIGNOGNA, Maria Lidia *et al.* The intellectual disability protein RAB39B selectively regulates GluA2 trafficking to determine synaptic AMPAR composition. **Nature communications**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 6504, 2015.
- MIGUEL, Sabrina Lucília; MIGUEL, Sabrina Lucília. **Os impactos da diversidade socioeconômica no desenvolvimento de crianças autistas**. [S. l.: s. n.], 2020.
- MIN, Yoon *et al.* Cereblon negatively regulates TLR4 signaling through the attenuation of ubiquitination of TRAF6. **Cell Death and Disease**, [s. l.], v. 7, n. 7, p. 1–12, 2016.

MOLL, Kristina. Editorial: Thinking outside the box – enhancing causal models of neurodevelopmental disorders. **Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines**, [s. l.], v. 65, n. 3, p. 257–259, 2024.

MONTE, Aline Santos *et al.* Two-hit model of schizophrenia induced by neonatal immune activation and peripubertal stress in rats: Study of sex differences and brain oxidative alterations. **Behavioural brain research**, Netherlands, v. 331, p. 30–37, 2017.

MONTEIRO, Patricia; FENG, Guoping. SHANK proteins: roles at the synapse and in autism spectrum disorder. **Nature Reviews Neuroscience**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 147–157, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.183>.

MORISON, Lottie D *et al.* CDK13-related disorder: a deep characterization of speech and language abilities and addition of 33 novel cases. **European Journal of Human Genetics**, [s. l.], v. 31, n. 7, p. 793–804, 2023.

MURPHY, Susan K. Paternal obesity—a risk factor for autism?. **Nature Reviews Endocrinology**, [s. l.], v. 10, n. 7, p. 389–390, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrendo.2014.81>.

NANI, Desiyani *et al.* Maternal and paternal Age and Risk of Autism Spectrum Disorder (ASD) in Banyumas District, Central Java, Indonesia. **Journal of Bionursing**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 135–139, 2020.

NARDONE, Stefano; ELLIOTT, Evan. The interaction between the immune system and epigenetics in the etiology of autism spectrum disorders. **Frontiers in neuroscience**, [s. l.], v. 10, p. 329, 2016.

NEUL, Jeffrey L *et al.* Rett syndrome: revised diagnostic criteria and nomenclature. **Annals of neurology**, United States, v. 68, n. 6, p. 944–950, 2010.

NEUL, Jeffrey Lorenz. The relationship of Rett syndrome and MECP2 disorders to autism. **Dialogues in clinical neuroscience**, England, v. 14, n. 3, p. 253–262, 2012.

OAKS, Adam W. *et al.* CC2D1a loss of function disrupts functional and morphological development in forebrain neurons leading to cognitive and social deficits. **Cerebral Cortex**, [s. l.], v. 27, n. 2, p. 1670–1685, 2017.

OLIVEIRA, Sayd Douglas Rolim Carneiro; JÚNIOR, José Eduardo Ribeiro Honório; ARAGAO, Gislei. Possível risco de desenvolvimento fetal de autismo em gestantes infectadas por SARS-CoV-2. **Revista Neurociências**, [s. l.], v. 29, p. 1–24, 2021. Disponível em: <https://periodicos.unifesp.br/index.php/neurociencias/article/view/11197>.

PARK, Jugeon *et al.* Mosaicism-independent mechanisms contribute to Pcdh19-related epilepsy and repetitive behaviors in *Xenopus*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 121, n. 21, p. e2321388121, 2024.

PASCO, Greg. The value of early intervention for children with autism. **Paediatrics and Child Health**, [s. l.], v. 28, n. 8, p. 364–367, 2018.

- PEÑAGARIKANO, Olga *et al.* Absence of CNTNAP2 leads to epilepsy, neuronal migration abnormalities, and core autism-related deficits. **Cell**, United States, v. 147, n. 1, p. 235–246, 2011.
- PEREIRA, Alessandra; RIESGO, Rudimar S; WAGNER, Mario B. Autismo infantil: tradução e validação da Childhood Autism Rating Scale para uso no Brasil. **Jornal de Pediatria**, [s. l.], v. 84, p. 487–494, 2008.
- PEREIRA, Otávio Augusto; WENDT, Guilherme Welter. Manifestações clínicas e laboratoriais do novo coronavírus (COVID-19) em gestantes e análise do possível risco de transmissão vertical intrauterina: uma revisão sistemática. **Revista de Medicina**, [s. l.], v. 99, n. 6, p. 601–608, 2020.
- PERRY, Adrienne *et al.* Multi-site study of the Childhood Autism Rating Scale (CARS) in five clinical groups of young children. **Journal of Autism and Developmental Disorders**, [s. l.], v. 35, n. 5, p. 625–634, 2005.
- PERSICO, A M; MERELLI, S. Environmental factors and autism spectrum disorder. **Autism spectrum disorders: phenotypes, mechanisms and treatments**, [s. l.], v. 180, p. 113–134, 2015.
- PHAM, Duyen *et al.* Protocadherin mutations in neurodevelopmental disorders. *In*: NEURONAL AND SYNAPTIC DYSFUNCTION IN AUTISM SPECTRUM DISORDER AND INTELLECTUAL DISABILITY. [S. l.]: Elsevier, 2016. p. 221–231.
- PIARD, Juliette *et al.* FRMPD4 mutations cause X-linked intellectual disability and disrupt dendritic spine morphogenesis. **Human molecular genetics**, England, v. 27, n. 4, p. 589–600, 2018.
- PIROOZNIA, Mehdi *et al.* Affected sib-pair analyses identify signaling networks associated with social behavioral deficits in autism. **Frontiers in Genetics**, [s. l.], v. 10, p. 1186, 2019.
- PITTENGER, Christopher *et al.* Reversible inhibition of CREB/ATF transcription factors in region CA1 of the dorsal hippocampus disrupts hippocampus-dependent spatial memory. **Neuron**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 447–462, 2002.
- POLITANO, Davide *et al.* Cerebellar heterotopia in an 11-year-old child with KDM6B-related neurodevelopmental disorder: A case report and review of the literature. **American Journal of Medical Genetics Part A**, [s. l.], v. 194, n. 6, p. e63555, 2024.
- REALE, Chiara *et al.* Multiple Genetic Rare Variants in Autism Spectrum Disorders: A Single-Center Targeted NGS Study. **Applied Sciences**, [s. l.], v. 11, n. 17, p. 8096, 2021.
- RELLINI, E *et al.* Childhood Autism Rating Scale - Wikipedia. **Journal of Autism and Developmental Disorders**, [s. l.], v. 34, n. 6, p. 703–708, 2004.
- RICHARDS, Sue *et al.* Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. **Genetics in medicine**, [s. l.], v. 17, n. 5, p. 405–423, 2015.
- ROUSSIGNOL, Gautier *et al.* Shank expression is sufficient to induce functional dendritic spine synapses in aspiny neurons. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 25, n. 14, p. 3560–

3570, 2005.

RUSSO, Anthony J. Intracellular Pathways Associated with the Etiology of Autism. *In: AUTISM-PARADIGMS, RECENT RESEARCH AND CLINICAL APPLICATIONS*. [S. l.]: IntechOpen, 2017.

SALGADO, Nuala Maria *et al.* DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO AUTISMO: UMA REVISÃO DE LITERATURA. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, [s. l.], v. 6, n. 9, p. 1448–1456, 2024.

SANDERS, Stephan J *et al.* Insights into Autism Spectrum Disorder Genomic Architecture and Biology from 71 Risk Loci. **Neuron**, United States, v. 87, n. 6, p. 1215–1233, 2015.

SANTOS-TERRA, Júlio *et al.* Transcription factors in neurodevelopmental and associated psychiatric disorders: A potential convergence for genetic and environmental risk factors. **International Journal of Developmental Neuroscience**, [s. l.], v. 81, n. 7, p. 545–578, 2021.

SAROVIC, Darko. A framework for neurodevelopmental disorders: operationalization of a pathogenetic triad. [s. l.], 2019.

SATTERSTROM, F Kyle *et al.* Large-Scale Exome Sequencing Study Implicates Both Developmental and Functional Changes in the Neurobiology of Autism. **Cell**, United States, v. 180, n. 3, p. 568–584.e23, 2020.

SHAJU, Marina *et al.* Successful Online Early Intervention in a Child with Features Suggestive of Autism Spectrum Disorder. **Indian Practitioner**, [s. l.], v. 78, n. 4, 2025.

SHONKOFF, Jack P; GARNER, Andrew S. Committee on psychosocial aspects of child and family health committee on early childhood, adoption, and dependent care section on developmental and behavioral pediatrics the lifelong effects of early childhood adversity and toxic stress. **Pediatrics**, [s. l.], v. 129, n. 1, p. e232–e246, 2012.

SHONKOFF, Jack P; PHILLIPS, Deborah A (org.). **No Title**. Washington (DC): [s. n.], 2000.

SIU, Albert L *et al.* Screening for autism spectrum disorder in young children: US Preventive Services Task Force recommendation statement. **Jama**, [s. l.], v. 315, n. 7, p. 691–696, 2016.

SNIJEDERS BLOK, Lot *et al.* CHD3 helicase domain mutations cause a neurodevelopmental syndrome with macrocephaly and impaired speech and language. **Nature communications**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 4619, 2018.

SREEJIT, Gopalkrishna *et al.* Chapter Six - S100 family proteins in inflammation and beyond. *In: MAKOWSKI, Gregory S B T - Advances in Clinical Chemistry* (org.). [S. l.]: Elsevier, 2020. v. 98, p. 173–231. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065242320300184>.

SUTTON, Kathy G. *et al.* P/Q-type calcium channels mediate the activity-dependent feedback of syntaxin-1A. **Nature**, [s. l.], v. 401, n. 6755, p. 800–804, 1999.

TEJASWINI, YRSN *et al.* Identification of Significant Pathways Responsible For Autism

through Molecular Network Analysis. **Indian Research Journal of Genetics and Biotechnology**, [s. l.], v. 5, n. 01, p. 1–10, 2013.

THÉRY, Clotilde *et al.* Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. **Journal of Extracellular Vesicles**, [s. l.], v. 7, n. 1, 2018.

TORRAS-MAÑÁ, M *et al.* Assessment of cognition and language in the early diagnosis of autism spectrum disorder: usefulness of the Bayley Scales of infant and toddler development, third edition. **Journal of intellectual disability research : JIDR**, England, v. 60, n. 5, p. 502–511, 2016.

VIGGIANO, Marta *et al.* Genomic analysis of 116 autism families strengthens known risk genes and highlights promising candidates. **NPJ Genomic Medicine**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 21, 2024.

VOELKER, Rebecca. What Is Autism Spectrum Disorder?. **JAMA**, United States, v. 331, n. 19, p. 1686, 2024.

VOGEL CIERNIA, A. *et al.* Epigenomic Convergence of Neural-Immune Risk Factors in Neurodevelopmental Disorder Cortex. **Cerebral Cortex**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 640–655, 2020.
WALKER, Susan P *et al.* Inequality in early childhood: risk and protective factors for early child development. **Lancet (London, England)**, England, v. 378, n. 9799, p. 1325–1338, 2011.

WANG, Jincheng *et al.* CTCF-mediated chromatin looping in EGR2 regulation and SUZ12 recruitment critical for peripheral myelination and repair. **Nature Communications**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 4133, 2020.

WARRIER, Varun; BARON-COHEN, Simon. The genetics of autism. **Encyclopedia of Life Sciences**, [s. l.], 2017.

XU, Yating *et al.* Nanomedicine: An Emerging Novel Therapeutic Strategy for Hemorrhagic Stroke. **International journal of nanomedicine**, New Zealand, v. 17, p. 1927–1950, 2022.
YASUDA, Yuka *et al.* Genetics of autism spectrum disorders and future direction. **Journal of Human Genetics**, [s. l.], v. 68, n. 3, p. 193–197, 2023.

YOON, Sang Hoon *et al.* Genetic and epigenetic etiology underlying autism spectrum disorder. **Journal of Clinical Medicine**, [s. l.], v. 9, n. 4, 2020.

ZAKY, Eman Ahmed *et al.* Neurodevelopmental Outcomes after Neonatal Mechanical Ventilation. **QJM: An International Journal of Medicine**, [s. l.], v. 114, n. Supplement_1, p. hcab113-030, 2021.

ZEIDAN, Jinan *et al.* Global prevalence of autism: A systematic review update. **Autism research : official journal of the International Society for Autism Research**, United States, v. 15, n. 5, p. 778–790, 2022.

ZWAIGENBAUM, Lonnie *et al.* Early Identification of Autism Spectrum Disorder:

Recommendations for Practice and Research. **Pediatrics**, United States, v. 136 Suppl 1, n. Suppl 1, p. S10-40, 2015.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa: Estudo dos efeitos a longo prazo da exposição à COVID-19 na gravidez: mecanismos neurofisiológicos e epigenéticos associados e consequências para o desenvolvimento dos bebês.

Pesquisador responsável: Dr. Herlânio Costa

Prezado(a) colaborador(a), Você está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa intitulado Estudo dos efeitos a longo prazo da exposição à COVID-19 na gravidez: mecanismos neurofisiológicos e epigenéticos associados e consequências para o desenvolvimento dos bebês, que visa melhorar o entendimento do acometimento neurológico da COVID-19, com dados que podem corroborar com estudos já realizados na comunidade científica bem como trazer novas informações sobre a doença. O objetivo do estudo é Avaliar sintomas neuropsiquiátricos da Síndrome pós-COVID-19 (SPCA) aguda em mulheres expostas ao vírus SARS-CoV-2 na gravidez, comparando as não-grávidas expostas e o envolvimento de mecanismos neurofisiológicos e epigenéticos, bem como determinar as consequências da SPCA para o desenvolvimento dos bebês, os exames que podem contribuir para o seu diagnóstico e que perfil epidemiológico é mais suscetível a esse acometimento.

1.Participação na pesquisa: Ao participar desta pesquisa, você deve concordar com a doação da placenta, cordão umbilical e líquido amniótico, assim como a utilização dos dados de sua história clínica, das imagens de exames radiológicos, dos resultados de polissonografia e actigrafia, dos resultados de exames laboratoriais, e de dados que possam ser eventualmente coletados do seu prontuário. Sua identidade será preservada em todo o processo. Ao participar da pesquisa você também concorda com realização dos exames de polissonografia e actigrafia para análise dos parâmetros de sono, ciclo circadiano, bem como avaliação cognitiva, avaliação neuropsicológica e responder questionários sobre qualidade e transtornos do sono e sintomas neuropsiquiátricos. Nenhuma identificação dos dados, seja da história clínica ou dos exames, será feita.

2. Descrição dos desconfortos e riscos esperados: Para o nosso estudo, os possíveis riscos ou desconfortos são decorrentes da punção venosa para coleta de sangue venoso periférico, que será realizado com equipe devidamente treinada e do tempo utilizado para responder às perguntas, à realização da polissonografia e actigrafia

3 – Benefícios para o participante: Não se restringem aos pacientes envolvidos, mas a todos pacientes com diagnóstico de alterações neurológicas relacionadas ao COVID-19, uma vez que os resultados obtidos poderão propiciar um maior conhecimento sobre a doença. Não haverá nenhum benefício direto para o participante que optar por ser incluído no estudo.

4 – Direito de se retirar do estudo: Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso o(a) Sr.(a) decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento durante a pesquisa, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou poderá vir a receber na instituição.

5 – Direito de confidencialidade: As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos pacientes, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre todos os dados relativos à sua participação neste estudo.

6 – Despesas e compensações: Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo pesquisador, integralmente, em todas as etapas do estudo.

7. Garantia de acesso: “Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Pedro Braga Neto, que pode ser encontrado no endereço Rua Prof. Costa Mendes, 1608-4o. andar - Rodolfo Teófilo, CEP 60.430-140 - Bloco Didático da Faculdade de Medicina /UFC. Fone: (85) 3366- 8052/3366-8054.

8 – Uso e Armazenamento de amostras: Gostaríamos de confirmar que seu material biológico será coletado e utilizado para esta pesquisa. Também gostaríamos de pedir sua autorização para guardarmos o restante do seu material biológico. Seu material será guardado e conservado em local seguro e adequado no Laboratório de Neuropsicofarmacologia do NPDM da Universidade Federal do Ceará – UFC sob a guarda da Professora Doutora Danielle Macêdo Gaspar.

Caso haja outro estudo no futuro você permite o uso de suas amostras.

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO

Ficha de recrutamento das grávidas - MEAC

FICHA DE RECRUTAMENTO	Versão 16/05/21	Página 1/1	Preenchimento: ____/____/____
-----------------------	--------------------	------------	----------------------------------

IDENTIFICAÇÃO DA PACIENTE

Nome da paciente: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Idade: ____ anos IG (início dos sintomas): ____ s ____ d

Nº do prontuário: _____ CPF: _____ Telefone: () _____

Nome da mãe: _____

Nome de um contato: _____ Parentesco: _____ Telefone: () _____

CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

A paciente contempla os seguintes critérios?

- () É maior de 18 anos.
 () Idade gestacional acima de 20 semanas.
 () Apresenta síndrome gripal com início nos últimos 14 dias.

DESCRIÇÃO DA SÍNDROME GRIPAL

Início dos sintomas: ____/____/____

- | | |
|---------------------|---------------------------|
| () Febre | () Tosse |
| () Calafrios | () Coriza |
| () Dor de garganta | () Distúrbios olfativos |
| () Dor de cabeça | () Distúrbios gustativos |

Apresenta sintomas gastrointestinais? () Não () Sim

Se sim, quais? _____

Outros sintomas: _____

Apresentou algum sintoma que indicasse agravamento do quadro? () Não () Sim / Quais?

- | | |
|---------------------------------------|---|
| () Dispneia/desconforto respiratório | () Saturação de O ₂ menor que 95% |
| () Pressão persistente no tórax | () Coloração azulada dos lábios ou rosto |
| () Outro: _____ | |

Foi vacinada contra Covid-19? () Não () Sim

Se sim, quantas doses recebeu? () 1 dose () 2 doses

DOSE	1ª dose	2ª dose
DATA		
FABRICANTE		

FICHA DE DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS	Versão 16/05/21	Página 1/1	Preenchimento: ____/____/____
---	---------------------------	-------------------	---

Endereço: _____

Comp.: _____ CEP: _____

Bairro: _____ Cidade: _____ Estado: _____

Nacionalidade: _____ Naturalidade: _____

Etnia/Cor da pele: ☐ Parda ☐ Amarela
☐ Branca ☐ Preta ☐ Outro: _____

Estado Civil: ☐ Solteira ☐ União Estável ☐ Parceira do mesmo sexo
☐ Casada ☐ Separada/Divorciada ☐ Viúva

Nível de escolaridade: ☐ Ensino Fund. completo ☐ Ensino Superior incomp.
☐ Analfabeta ☐ Ensino Médio incompleto ☐ Ensino Superior completo
☐ Ensino Fund. incompleto ☐ Ensino Médio completo ☐ Pós-Graduação

Situação ocupacional: ☐ Estudante ☐ Afastada por m. médicos
☐ Assalariada ☐ Atividades domésticas ☐ Nunca trab. e/ou estudou
☐ Autônoma ☐ Desempregada ☐ Outro: _____

Situação domiciliar (mora com): ☐ Parceiro ☐ Amigos ☐ Parceiro e familiares
☐ Pais ☐ Sozinha ☐ Parceiro e amigos
☐ Familiares ☐ Parceiro e pais ☐ Outros: _____

Nº de residentes na casa: _____ Nº de filhos: _____ Nº de cômodos na casa: _____

Renda familiar anual: ☐ Até R\$ 6 mil (até R\$ 500/mês) ☐ R\$ 12 mil - R\$ 24 mil (R\$ 1.001 - R\$ 2.000/mês)
☐ R\$ 6 mil - R\$ 12 mil (R\$ 501 - R\$ 1.000/mês) ☐ > R\$ 24 mil (> R\$ 2.000/mês)

Tipo de assistência pré-natal: ☐ Público ☐ Particular ☐ Público e Particular
☐ Convênio ☐ Público e Convênio ☐ Convênio e Particular
☐ Outro: _____

HISTÓRIA OBSTÉTRICA E DE SAÚDE MATERNA	Versão 16/05/21	Página 1/3	Preenchimento: ____/____/____
--	--------------------	------------	----------------------------------

Número de gestações (incluindo a gravidez atual, ectópica, aborto):

Gestas: ____ Partos: ____ Abortos: ____

Gravidez anterior:

Desfecho da gestação*	IG	Ano

*Utilizar para preencher o desfecho das gestações anteriores: Parto vaginal; Parto cesáreo; Aborto (com quantas semanas); Perda Fetal; Doença trofoblástica gestacional.

Gravidez atual: () Única () Gemelar () Tripla ou mais () Ectópica () Ignorada

DUM	IG (DUM)	IG (USG)	DPP (DUM)	DPP (USG)
____/____/____	____s ____d	____s ____d	____/____/____	____/____/____

Desfecho gravidez atual:

Data ____/____/____

Idade gestacional: ____s ____d

Hora (aprox.) ____:____

Sexo do RN: () F () M

Tipo de parto: _____

Complicações obst.: _____

História de infertilidade? () Não () Sim

Tratamento de infertilidade para essa gravidez?

() Não

() Recusou

() Sim

() Desconhecido

Se sim, qual tipo? _____

*Tratamento hormonal; Inseminação artificial; Fertilização in vitro; Injeção intracitoplasmática de espermatozoides; Gravidez atual por ovo-doação.

HISTÓRIA OBSTÉTRICA E DE SAÚDE MATERNA	Versão 16/05/21	Página 2/3	Preenchimento: ____/____/____
--	--------------------	------------	----------------------------------

HISTÓRIA FAMILIAR DE COMPLICAÇÕES OBSTÉTRICAS

Algum membro familiar apresentou alguma das seguintes complicações: aborto, hemorragia pós-parto, hipertensão gest., pré-eclâmpsia, eclampsia, bebê < 2500g, anomalia congênita, nascimento pré-termo, diabetes mellitus gest., óbito fetal, ou óbito neonatal? () Não () Sim

Se sim, especifique abaixo:

Parentesco: _____ Complicação: _____

Parentesco: _____ Complicação: _____

Parentesco: _____ Complicação: _____

HISTÓRIA FAMILIAR DE COMORBIDADES

() Hipertensão arterial sistêmica

() Diabetes Mellitus

() Dislipidemia

() Cardiopatia

() Anemia falciforme

() Obesidade

() Artrite reumatoide

() Asma

() Doença inflamatória intestinal

() Epilepsia

() História de depressão

HISTÓRIA DA SAÚDE MATERNA

() Hipertensão em uso de contraceptivo oral

() Hipertensão estágio 1 sem tratamento anti-hipertensivo

() Diabetes Mellitus

() Diabetes Mellitus Gestacional

() Dislipidemia

() Cardiopatia

() Obesidade

() Anemia falciforme

() Infecção do trato urinário durante a gravidez / Em qual trimestre? _____

() Sífilis

() Infecção sexualmente transmissível

() Artrite reumatoide

() Asma

() Doença inflamatória intestinal

() Epilepsia

() Tromboembolismo com diagnóstico confirmado

() História de depressão

() Fator V de Leiden

Síndrome do ovário policístico (SOP)? () Não () Sim

Se sim, foi confirmado por: _____

HISTÓRIA OBSTÉTRICA E DE SAÚDE MATERNA	Versão 16/05/21	Página 3/3	Preenchimento: ____/____/____
--	--------------------	------------	----------------------------------

MEDICAÇÕES EM USO NA GRAVIDEZ

SUPLEMENTOS VITAMÍNICOS E MINERAIS

Utilizou alguma suplementação vitamínica e mineral antes de engravidar? () Não () Sim

Se sim, qual? _____ Por quantos meses? _____

Utiliza/utilizou suplementação vitamínica e mineral durante a gravidez? () Não () Sim

Qual suplementação utilizada? (Se possível identificar a marca)

() ácido fólico + sulfato ferroso

() sulfato ferroso

() ácido fólico

() outra: _____

Em que período? _____ (Indicar data de início e data de término, caso não esteja mais em uso.)

TERAPIAS ALTERNATIVAS

Utilizou terapias alternativas durante a gravidez? () Não () Sim

Se sim, especifique quais:

() Homeopatia

() Massagem

() Aromaterapia

() Yoga/Meditação

() Acupuntura

() Outra: _____

HÁBITO/USO DE DROGAS

Fazia uso de álcool ou drogas antes de engravidar? () Sim () Não

Se sim, qual(is)? _____

Com que frequência? _____

Parou de usar quando engravidou? () Sim () Não

Faz uso de álcool ou drogas durante a gestação atual? () Sim () Não

Se sim, qual(is)? _____

Com que frequência? _____