



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

ANA CECÍLIA NOVAES DE OLIVEIRA ROLDAN

O TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA SOB UMA PERSPECTIVA
MULTIDIMENSIONAL: VARIANTES GENÉTICAS DO *MTHFR*,
BIOMARCADORES METABÓLICOS E CAPACITAÇÃO DE
PROFISSIONAIS NA ATENÇÃO PRIMÁRIA

Londrina

2026

ANA CECÍLIA NOVAES DE OLIVEIRA ROLDAN

O TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA SOB UMA PERSPECTIVA
MULTIDIMENSIONAL: VARIANTES GENÉTICAS DO *MTHFR*,
BIOMARCADORES METABÓLICOS E CAPACITAÇÃO DE
PROFISSIONAIS NA ATENÇÃO PRIMÁRIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Odebrecht Vargas Nunes

Londrina

2026

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

- R744 Roldan, Ana Cecília Novaes de Oliveira.
O TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA SOB UMA PERSPECTIVA MULTIDIMENSIONAL : VARIANTES GENÉTICAS DO MTHFR, BIOMARCADORES METABÓLICOS E CAPACITAÇÃO DE PROFISSIONAIS NA ATENÇÃO PRIMÁRIA / Ana Cecília Novaes de Oliveira Roldan. - Londrina, 2026.
147 f. : il.
- Orientador: Sandra Odebrecht Vargas Nunes.
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2026.
Inclui bibliografia.
1. Transtorno do Espectro Autista - Tese. 2. Genética - Tese. 3. Biomarcadores metabólicos - Tese. 4. Capacitação profissional - Tese. I. Odebrecht Vargas Nunes, Sandra. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDU 614

ANA CECÍLIA NOVAES DE OLIVEIRA ROLDAN

O TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA SOB UMA PERSPECTIVA
MULTIDIMENSIONAL: VARIANTES GENÉTICAS DO *MTHFR*,
BIOMARCADORES METABÓLICOS E CAPACITAÇÃO DE
PROFISSIONAIS NA ATENÇÃO PRIMÁRIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Sandra Odebrecht Vargas Nunes

Prof^a. Dr^a. Mariana Ragassi Urbano

Prof^a. Dr^a. Regina Celia Bueno Rezende Machado

Prof^a. Dr^a. Adna De Moura Fereli Reis

Prof. Dr. Carlos Eduardo Coral De Oliveira

Londrina

2026

AGRADECIMENTOS

Antes de qualquer palavra, um silêncio de gratidão a Deus, presença que sustentou cada passo desta longa jornada e transformou em possível o que, tantas vezes, pareceu maior do que as minhas forças. Foi Ele quem me deu fôlego nos dias de cansaço e clareza nos dias de dúvida.

À minha mãe Lucinéa, raiz de fortalecimento e colo de aconchego, agradeço por ser o primeiro lugar onde aprendi o que é perseverar. Seu amor incondicional atravessa cada linha deste trabalho, mesmo onde os olhos não conseguem ver.

Ao meu esposo Matheus, companheiro de todas as horas, agradeço pela paciência, pelo apoio nos momentos de exaustão e por compartilhar de grandes propósitos e lindos sonhos. Sua presença tornou esta jornada mais leve.

À família de alma e aos amigos do coração, que sustentaram minha ausência com compreensão e minha presença com afeto, meu carinho e gratidão. Vocês são o chão que me permite voar.

À Dra. Sandra, minha orientadora, agradeço por caminhar lado a lado comigo, guiando de forma generosa e altruísta esta pesquisa do início ao fim. Sua experiência, suas correções cuidadosas e sua disponibilidade constante foram determinantes para que este trabalho ganhasse consistência científica e amadurecesse a cada etapa.

Ao Dr. Heber, coorientador, mestre e mentor, agradeço não apenas pela contribuição técnica e pelas discussões que enriqueceram esta pesquisa, mas por ter sido, ao longo de toda a minha trajetória acadêmica e profissional, uma referência de formação intelectual e humana. Sua orientação ultrapassou os limites deste trabalho e moldou minha maneira de pensar e de atuar na psiquiatria.

Aos professores e doutores Regina, Carlos e Mariana, agradeço pelo apoio e pela ajuda constantes ao longo de todo o processo. Estiveram presentes nos momentos decisivos, oferecendo suporte prático e emocional que tornaram viável a conclusão desta pesquisa.

À professora doutora Adna, agradeço pela inspiração e pelo apoio que me acompanharam nesta trajetória. Sua forma de enxergar o trabalho e a vida foi combustível para que eu seguisse em frente nos momentos mais desafiadores.

Aos alunos que auxiliaram na coleta de dados, meu sincero agradecimento. Sem o empenho, a disponibilidade e o cuidado de vocês na execução dessa etapa fundamental da pesquisa, este trabalho não teria sido possível.

Aos participantes da pesquisa, agradeço por terem aberto espaço em suas rotinas para contribuir com este estudo. Sua colaboração é a base sobre a qual todos os resultados aqui apresentados se sustentam.

Por fim, agradeço à Universidade Estadual de Londrina (UEL), por ser, ao longo desses anos, verdadeira casa de conhecimento. Por meio de sua estrutura, de seus professores e de seu compromisso com a formação acadêmica de excelência, esta pesquisa pôde nascer, crescer e se concretizar.

A todos, minha singela gratidão e meu mais profundo respeito.

DEDICATÓRIA

Aos pacientes e às famílias autistas, dedico este trabalho.

Vocês me ensinaram que a força não grita, ela persiste; que a resiliência não é ausência de dor, mas a coragem de seguir mesmo quando o mundo insiste em não compreender.

Em cada olhar, em cada conquista silenciosa, em cada batalha travada longe dos holofotes, encontrei uma humanidade tão genuína que transformou, para sempre, o modo como enxergo a vida.

Este trabalho carrega um pouco de cada um de vocês, e é, antes de tudo, uma forma de agradecer por terem me mostrado do que os seres humanos são verdadeiramente capazes.

RESUMO

Introdução

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma condição do neurodesenvolvimento de natureza multifatorial e poligênica, cujas determinantes abrangem desde variantes genéticas no metabolismo do folato até déficits no acesso a diagnóstico precoce e capacitação profissional. Compreender o TEA exige, portanto, um olhar simultaneamente molecular e assistencial: entender o que se passa na célula não substitui entender o que se passa na sala de espera de uma unidade de saúde, e vice-versa. O presente projeto integra dois braços complementares, doravante denominados Braço 1 e Braço 2, desenvolvidos no âmbito de um programa de pós-graduação em ciências da saúde da Universidade Estadual de Londrina (UEL): (1) um estudo observacional transversal (Braço 1) que teve como objetivo investigar a associação entre variantes funcionais do gene *MTHFR* e a gravidade clínica do TEA, bem como a correlação entre as concentrações séricas de ácido fólico e homocisteína em pacientes ambulatoriais; e (2) um relato de experiência (Braço 2) que teve como objetivo descrever a implementação de um modelo de capacitação de profissionais de saúde da atenção primária para detecção precoce do TEA, baseado no modelo de Formação de Multiplicadores (*Training of Trainers* – ToT) e na Aprendizagem Baseada em Casos (*Case-Based Learning* – CBL).

Materiais e métodos

Braço 1: estudo observacional transversal com 19 pacientes ambulatoriais com TEA com genotipagem completa do *MTHFR*. As variantes *MTHFR* 677C>T e 1298A>C foram genotipadas por PCR-RFLP. A atividade enzimática predita foi derivada de modelos genótipo-função validados. A gravidade do TEA foi avaliada pela *Childhood Autism Rating Scale* (CARS), aplicada a um subconjunto de 22 participantes que compareceram à avaliação clínica estruturada, e pelos critérios de nível de suporte do DSM-5. Realizou-se análise de correlação de Spearman entre os níveis séricos de ácido fólico e homocisteína disponíveis na amostra ($n = 17$). Braço 2: relato de experiência qualitativo descrevendo um programa piloto de capacitação com 47 profissionais de saúde de diferentes regiões do Brasil, com carga horária de 72 horas, integrando atividades síncronas e assíncronas, reconhecimento de sinais precoces do TEA, uso de instrumentos de triagem, fluxos de encaminhamento e comunicação com famílias.

Resultados e discussão

Braço 1: nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada na distribuição dos níveis de suporte do DSM-5 entre os grupos de atividade enzimática preservada e reduzida do *MTHFR* ($p = 0,56$). A análise de correlação de Spearman entre concentrações séricas de ácido fólico e homocisteína demonstrou correlação negativa e estatisticamente significativa ($p = -0,52$; $p = 0,032$), indicando que maiores concentrações de ácido fólico estão associadas a menores concentrações de homocisteína, independentemente do nível de suporte do DSM-5. Braço 2: os participantes demonstraram elevado engajamento e melhora percebida na capacidade de reconhecer sinais precoces do TEA, na tomada de decisão clínica e na confiança no uso de instrumentos de triagem. O modelo ToT favoreceu a prontidão dos participantes para atuarem como multiplicadores do conhecimento na atenção primária.

Conclusões

O Braço 1 não identificou associação estatisticamente significativa entre atividade enzimática predita do *MTHFR* e gravidade clínica do TEA, reforçando a necessidade de estudos com maior poder amostral. A correlação negativa e estatisticamente significativa entre ácido fólico e homocisteína séricos ($p = -0,52$; $p = 0,032$) confirma a relevância clínica da via metabólica do carbono-1 em pacientes com TEA e é consistente com os achados da literatura que descreveram

de forma recorrente, ainda que heterogênea entre estudos, níveis reduzidos de folato e vitamina B12 e níveis elevados de homocisteína em indivíduos com TEA, com influência tanto de variantes do *MTHFR* quanto de alimentação inadequada. O Braço 2 demonstrou que a integração entre ToT e CBL constitui uma estratégia viável e potencialmente escalável para fortalecer a detecção precoce do TEA na atenção primária, complementando a dimensão clínico-biológica investigada pelo Braço 1. Tomados em conjunto, os dois braços sustentam a tese central deste projeto: o enfrentamento do TEA exige, ao mesmo tempo, compreensão etiológica, manejo clínico especializado e formação de profissionais de saúde — três frentes que só produzem impacto real quando avançam juntas.

Palavras-chave: Transtorno do Espectro Autista; Metilenotetra-Hidrofolato Redutase; Ácido Fólico; Homocisteína; Capacitação Profissional.

ABSTRACT

Introduction

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental condition of multifactorial and polygenic nature, whose determinants range from genetic variants in folate metabolism to deficits in access to early diagnosis and professional training. Understanding ASD therefore requires a simultaneously molecular and clinical perspective: understanding what happens within the cell does not substitute for understanding what happens in the waiting room of a health care unit, and vice versa. The present project integrates two complementary arms, henceforth referred to as Arm 1 and Arm 2, developed within a graduate program in health sciences at the Universidade Estadual de Londrina (UEL): (1) a cross-sectional observational study (Arm 1) that aimed to investigate the association between functional variants of the *MTHFR* gene and the clinical severity of ASD, as well as the correlation between serum folic acid and homocysteine concentrations in outpatients; and (2) an experience report (Arm 2) that aimed to describe the implementation of a primary care health professional training model for early detection of ASD, based on the Training of Trainers (ToT) model and Case-Based Learning (CBL).

Materials and methods

Arm 1: a cross-sectional observational study of 19 outpatients with ASD with complete *MTHFR* genotyping. The *MTHFR* 677C>T and 1298A>C variants were genotyped by PCR-RFLP. Predicted enzymatic activity was derived from validated genotype–function models. ASD severity was assessed using the Childhood Autism Rating Scale (CARS), applied to a subset of 22 participants who attended the structured clinical assessment, and by DSM-5 support level criteria. Spearman correlation analysis was performed between serum folic acid and homocysteine levels available in the sample ($n = 17$). Arm 2: a qualitative experience report describing a pilot training program with 47 health professionals from different regions of Brazil, with a workload of 72 hours, integrating synchronous and asynchronous activities, recognition of early signs of ASD, use of screening instruments, referral pathways, and communication with families.

Results and discussion

Arm 1: no statistically significant difference was observed in the distribution of DSM-5 support levels between the groups with preserved and reduced predicted *MTHFR* enzymatic activity ($p = 0.56$). Spearman correlation analysis between serum folic acid and homocysteine concentrations showed a statistically significant negative correlation ($\rho = -0.52$; $p = 0.032$), indicating that higher folic acid concentrations are associated with lower homocysteine concentrations, regardless of DSM-5 support level. Arm 2: participants demonstrated high engagement and perceived improvement in their ability to recognize early signs of ASD, in clinical decision-making, and in confidence in the use of screening instruments. The ToT model favored participants' readiness to act as knowledge multipliers in primary care.

Conclusions

Arm 1 did not identify a statistically significant association between predicted *MTHFR* enzymatic activity and ASD clinical severity, reinforcing the need for studies with greater statistical power. The statistically significant negative correlation between serum folic acid and homocysteine ($\rho = -0.52$; $p = 0.032$) confirms the clinical relevance of the carbon-1 metabolic pathway in patients with ASD and is consistent with findings in the literature, which have recurrently, albeit heterogeneously across studies, described reduced folate and vitamin B12 levels and elevated homocysteine levels in individuals with ASD, influenced by both *MTHFR* variants and inadequate diet. Arm 2 demonstrated that the integration of ToT and CBL constitutes a viable and potentially scalable strategy to strengthen early detection of ASD in primary care, complementing the clinical-

biological dimension investigated in Arm 1. Taken together, the two arms support the central thesis of this project: addressing ASD requires, simultaneously, etiological understanding, specialized clinical management, and health professional training — three fronts that only produce real impact when advancing together.

Keywords: Autism Spectrum Disorder; Methylenetetrahydrofolate Reductase; Folic Acid; Homocysteine; Professional Training.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-MTHF: 5-metiltetrahidrofolato

ATP: Trifosfato de Adenosina (*Adenosine Triphosphate*)

B6: Vitamina B6 (piridoxina)

B9: Vitamina B9 (ácido fólico/folato)

B12: Vitamina B12 (cobalamina)

BDNF: Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo (*Brain-Derived Neurotrophic Factor*)

CAPSi: Centro de Atenção Psicossocial Infantojuvenil

CARS: *Childhood Autism Rating Scale* (Escala de Classificação do Autismo na Infância)

CBL: Aprendizagem Baseada em Casos (*Case-Based Learning*)

CBS: Cistationina β -sintase

CH3: Grupo metila

CNVs: Variações no Número de Cópias (*Copy Number Variations*)

DCF: Deficiência Cerebral de Folato

DHF: Di-hidrofolato

DHFR: Di-hidrofolato redutase

DME: Diferença Média Estandarizada (medida de tamanho de efeito)

DNA: Ácido Desoxirribonucleico (*Deoxyribonucleic Acid*)

DSM-5 / DSM-5-TR: Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, 5ª edição (Texto Revisado)

EHW: Equilíbrio de Hardy-Weinberg

FRAA / FRAAs: Autoanticorpo(s) contra o Receptor de Folato Alfa (*Folate Receptor Alpha Autoantibody/Autoantibodies*)

Hcy: Homocisteína

IC 95%: Intervalo de Confiança de 95%

M-CHAT-R/F: *Modified Checklist for Autism in Toddlers, Revised with Follow-Up*

MAT: Metionina Adenosiltransferase

MECP2: *Methyl-CpG Binding Protein 2* (gene)

Met: Metionina

MS: Metionina Sintase

MTHFR: Metilenotetrahidrofolato Redutase

MTR: Metionina Sintase (símbolo gênico da enzima; equivalente a MS)

NCAM1: *Neural Cell Adhesion Molecule 1* (gene)

OR: Razão de Chances (*Odds Ratio*)

PCR-RFLP: Reação em Cadeia da Polimerase – Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição

RAPS: Rede de Atenção Psicossocial

RELN: Reelina (gene)

RNA: Ácido Ribonucleico (*Ribonucleic Acid*)

SAH: S-adenosil-homocisteína

SAM: S-adenosilmetionina

SHANK2: *SH3 and Multiple Ankyrin Repeat Domains 2* (gene)

SHANK3: *SH3 and Multiple Ankyrin Repeat Domains 3* (gene)

SHMT: Serina Hidroximetiltransferase

SUS: Sistema Único de Saúde

TEA: Transtorno do Espectro Autista

THF: Tetra-hidrofolato

ToT: Formação de Multiplicadores (*Training of Trainers*)

UEL: Universidade Estadual de Londrina

UTI: Unidade de Terapia Intensiva

LISTA DE SÍMBOLOS

p: Valor de significância estatística (p-valor)

ρ : Coeficiente de correlação de Spearman (rho)

α : Nível de significância estatística adotado (alfa)

β : Coeficiente de regressão (nos modelos de associação) ou componente do poder estatístico, conforme o contexto (beta)

$1-\beta$: Poder estatístico

χ^2 : Estatística do teste qui-quadrado de Pearson

d: Tamanho de efeito de Cohen (Cohen's d)

d.p.: Desvio padrão

n: Tamanho amostral

$\pm$: Indica média seguida do desvio padrão

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Figura 1: Ciclo do folato e ciclo da metionina, incluindo as etapas catalisadas por DHFR, SHMT, MTHFR, metionina sintase (MS/vitamina B12) e cistationina β -sintase (CBS/vitamina B6).

Figura 2: Fluxograma do processo de convite e recrutamento das famílias participantes do Braço 1.

Artigo 1 - Methylenetetrahydrofolate Reductase Variants, Metabolic Biomarkers, and Health Workforce Training for Early Identification of Autism Spectrum Disorder: A Multidimensional Approach

Table 1. Sociodemographic, clinical, and gestational characteristics of the sample stratified by predicted MTHFR enzymatic activity (n = 19).

Table 2. Sociodemographic, clinical, and gestational characteristics of the sample stratified by severity of CARS scores (n = 22).

Figure 1. Scatter plot of serum folic acid (ng/mL) and homocysteine (μ mol/L) concentrations in patients with autism spectrum disorder (n = 17), stratified by support level according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th edition (DSM-5). Spearman's correlation coefficient: $\rho = -0.52$ (p = 0.032).

Figure 2. Folate cycle and methionine cycle, including the steps catalysed by dihydrofolate reductase (DHFR), serine hydroxymethyltransferase (SHMT), methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), methionine synthase (MS/vitamin B12), and cystathionine β -synthase (CBS/vitamin B6). Adapted from Roufael et al. (2023), distributed under a Creative Commons Attribution (CC BY) licence.

Artigo 2 - Variantes do MTHFR, biomarcadores metabólicos e gravidade clínica do autismo

Tabela 1. Características sociodemográficas, clínicas e gestacionais da amostra estratificada conforme o perfil de atividade enzimática do MTHFR (n = 19).

Tabela 2. Características sociodemográficas, clínicas e gestacionais da amostra estratificada conforme a gravidade dos escores da CARS ($\leq 30,5$ vs. $> 30,5$; n = 22).

Figura 1. Gráfico de dispersão das concentrações séricas de ácido fólico (ng/mL) e homocisteína (μ mol/L) em pacientes com Transtorno do Espectro Autista (n = 17), estratificadas por nível de suporte do DSM-5. Coeficiente de correlação de Spearman: $\rho = -0,52$ (p = 0,032).

Figura 2. Ciclo do folato e ciclo da metionina, incluindo as etapas catalisadas por DHFR, SHMT, MTHFR, metionina sintase (MS/vitamina B12) e cistationina beta-sintase (CBS/vitamina B6). Adaptado de Roufael et al. (2023).

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 Justificativa.....	22
2 Referencial Teórico	22
2.1 Bases genéticas e epigenéticas do Transtorno do Espectro Autista	22
2.2 O gene <i>MTHFR</i>, suas variantes funcionais e o metabolismo do folato	24
2.3 A cascata bioquímica MTHFR–homocisteína–folato–vitamina B12	24
2.4 <i>MTHFR</i> e suscetibilidade ao TEA: evidências de estudos observacionais	27
2.5 <i>MTHFR</i> e gravidade clínica do TEA	28
2.6 FRAA e implicações terapêuticas	29
2.7 Capacitação profissional e detecção precoce do TEA na atenção primária	29
2.8 Critérios diagnósticos do TEA: DSM-5-TR e CID-11 em perspectiva comparada	31
2.9 Biomarcadores metabólicos no TEA: conceito e aplicação clínica	31
2.10 <i>MTHFR</i> na prática clínica: resposta terapêutica, inflamação e comorbidades associadas	32
3 OBJETIVOS.....	33
3.1 Objetivo geral	33
3.2 Objetivos específicos	33
4 MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1 Braço 1 — Variantes do <i>MTHFR</i>, biomarcadores metabólicos e gravidade clínica do TEA.....	34
4.1.1 Delineamento do estudo e local.....	34
4.1.2 Participantes do estudo.....	34
4.1.3 Recrutamento e coleta de dados	35
4.1.4 Genotipagem.....	37
4.1.5 Predição da atividade enzimática do <i>MTHFR</i>	37
4.1.6 Avaliações clínicas e bioquímicas.....	38

4.1.7 Análise estatística	38
4.1.8 Ética	38
4.2 Braço 2 — Capacitação de profissionais da atenção primária para detecção precoce do TEA	39
4.2.1 Delineamento e contexto	39
4.2.2 Participantes	39
4.2.3 Intervenção: programa de capacitação.....	39
4.2.3.1 Estrutura de uma sessão-modelo do programa: exemplo aplicado	40
4.2.3.2 Caso clínico fictício utilizado	41
4.2.4 Avaliação da intervenção	42
5 RESULTADOS	42
5.1 Artigo 1.....	44
5.2 Artigo 2.....	67
5.3 Artigo 3.....	90
6 DISCUSSÃO	102
6.1 Braço 1 — MTHFR, biomarcadores metabólicos e gravidade clínica do TEA	102
6.2 Braço 2 — Capacitação profissional para detecção precoce do TEA na atenção primária	104
6.3 Articulação entre os dois braços: uma visão multidimensional do TEA	105
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	106
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	109
APÊNDICES - Texto na íntegra dos resultados desta pesquisa.....	115
ANEXOS	126

1 INTRODUÇÃO

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma condição heterogênea do neurodesenvolvimento caracterizada por déficits persistentes na comunicação e na interação social, bem como por padrões restritos e repetitivos de interesses ou atividades. O transtorno é classificado por gravidade em três níveis de suporte: Nível 1 (requer suporte), Nível 2 (requer suporte substancial) e Nível 3 (requer suporte muito substancial).¹

Meta-análises de estudos de gêmeos — que comparam a concordância diagnóstica do TEA entre pares de gêmeos monozigóticos e dizigóticos, ou seja, entre pares em que ambos, apenas um, ou nenhum dos irmãos recebeu o diagnóstico — estimam que fatores genéticos respondem por aproximadamente 64% a 91% dos casos de TEA;² contudo, o transtorno não é causado por um único gene isolado, mas sim pela interação entre múltiplas variantes genéticas — incluindo mutações raras de grande efeito e polimorfismos comuns de pequeno efeito —, associadas a fatores ambientais que atuam sobre o desenvolvimento cerebral durante os períodos pré e perinatal. O autismo é uma condição poligênica complexa associada a mais de uma centena de genes de risco, cujas variantes raras (incluindo mutações de novo e variações no número de cópias) e variantes comuns herdadas, em interação com fatores ambientais, contribuem coletivamente para o risco poligênico do transtorno.³

Nas últimas décadas, a prevalência global do TEA tem aumentado de forma consistente: nos Estados Unidos, a rede de vigilância Autism and Developmental Disabilities Monitoring (ADDM) documentou uma prevalência de aproximadamente 1 em cada 150 crianças de 8 anos no ano de 2000, valor que se elevou para 1 em cada 36 crianças — um significativo aumento entre esses dois últimos ciclos de vigilância.⁵ Esse crescimento não deve, contudo, ser interpretado como uma “epidemia” do transtorno.

A evidência disponível indica que o aumento da prevalência é atribuível, predominantemente, ao alargamento progressivo dos critérios diagnósticos, à substituição diagnóstica a partir de outras categorias (como deficiência intelectual e transtornos de aprendizagem), ao aumento da conscientização de familiares, educadores e profissionais de saúde, e à redução de disparidades diagnósticas historicamente associadas a raça, condição socioeconômica e sexo.⁶ Ainda assim, esse aumento impõe importantes desafios clínicos, sociais e econômicos para os sistemas de saúde.

Diversos fatores etiológicos e de risco têm sido implicados no TEA, incluindo influências genéticas e ambientais. Entre os fatores genéticos investigados, os polimorfismos no gene da

metilenotetrahidrofolato redutase (*MTHFR*) têm recebido atenção crescente por seu potencial influência na suscetibilidade e na gravidade clínica do transtorno, ao afetar o metabolismo do folato, a capacidade de metilação e a regulação da homocisteína — mecanismos detalhados na seção de Referencial Teórico a seguir.

É importante destacar que o TEA é um transtorno multifatorial e poligênico, resultante de interações complexas entre fatores genéticos, epigenéticos, metabólicos e ambientais. Portanto, a genotipagem do *MTHFR* não deve ser considerada uma ferramenta diagnóstica padrão para o autismo, embora possa ter relevância em contextos clínicos selecionados, particularmente quando anormalidades no metabolismo do folato ou da homocisteína são suspeitas.

Paralelamente à dimensão biológica e genética, o manejo do TEA envolve desafios igualmente relevantes no âmbito do acesso ao diagnóstico e à intervenção precoce. Evidências robustas indicam que a identificação precoce e a intervenção iniciada antes dos três anos de vida estão associadas a melhores desfechos do desenvolvimento.⁷ Entretanto, apesar do crescente reconhecimento da importância da detecção precoce, o diagnóstico do TEA ainda ocorre tardiamente na maioria dos contextos: uma revisão sistemática e meta-análise de 56 estudos conduzidos em 40 países (n = 120.540 indivíduos) encontrou idade média ao diagnóstico de aproximadamente 60 meses — cinco anos — com valor de 43 meses quando restrita a crianças de até 10 anos.⁸ Esse atraso contribui para períodos prolongados sem intervenção e para custos elevados ao longo da vida — estimados entre 1,4 e 2,4 milhões de dólares por indivíduo.⁹

A atenção primária à saúde desempenha papel central nesse cenário, constituindo o primeiro ponto de contato das famílias com o sistema de saúde. No entanto, estudos apontam que muitos profissionais demonstram baixa confiança e preparo insuficiente para reconhecer os sinais precoces do TEA, resultando em atrasos diagnósticos que podem alcançar dois a três anos.¹⁰ Entre os principais sinais precoces, destacam-se déficits em atenção compartilhada, redução do contato ocular, ausência de resposta ao próprio nome, atraso de linguagem e padrões comportamentais repetitivos.^{11,12}

O diagnóstico precoce do TEA — convencionalmente definido, na literatura, como aquele estabelecido antes dos dois anos de idade — importa porque coincide com o período de maior neuroplasticidade cerebral, no qual intervenções comportamentais e, potencialmente, a correção de alterações metabólicas tratáveis têm maior capacidade de modificar a trajetória do desenvolvimento. Uma atualização recente de revisões sistemáticas sobre intervenções precoces no TEA, reunindo 252 estudos e mais de 13 mil participantes, demonstrou efeitos favoráveis de

intervenções comportamentais e de desenvolvimento sobre desfechos como comunicação social, comportamento adaptativo, linguagem e redução das características nucleares do TEA — efeitos mais consistentes quanto mais precocemente iniciada a intervenção.¹³ Esses achados reforçam, de forma atualizada, a associação já descrita entre intervenção iniciada antes dos dois anos de vida e melhores desfechos do desenvolvimento.⁷

A dificuldade de diagnóstico precoce não é uniforme entre os diferentes níveis de gravidade do TEA nem entre as faixas etárias mais precoces. Quadros de maior gravidade (Nível 3, que requer suporte muito substancial) tendem a apresentar sinais mais evidentes e a ser identificados mais cedo, ao passo que apresentações mais sutis (Nível 1, que requer suporte) — frequentemente marcadas por maior capacidade de compensação social e por queixas inespecíficas, como um “bebê tranquilo” ou uma criança apenas “tímida” — tendem a ser reconhecidas somente na idade pré-escolar ou escolar, quando as exigências sociais já excedem a capacidade de compensação da criança⁷. Esse padrão é agravado nas faixas etárias mais precoces (abaixo de 24 meses), nas quais os sinais de alerta são mais discretos e os instrumentos de triagem disponíveis, como o M-CHAT-R/F, apresentam desempenho psicométrico mais variável do que em crianças de 24 a 36 meses — o que exige dos profissionais da atenção primária vigilância continuada do desenvolvimento ao longo de múltiplas consultas de puericultura, e não a expectativa de um único sinal inequívoco em uma única consulta¹³.

O atraso diagnóstico tem impacto direto sobre pacientes e famílias. Para além da postergação do acesso a terapias, o período de incerteza entre a suspeita inicial e o diagnóstico definitivo constitui, por si só, uma fonte relevante de sofrimento familiar: um estudo com 277 famílias em processo diagnóstico demonstrou que o impacto familiar percebido durante essa espera está associado sobretudo à dificuldade de manejo comportamental da criança, mais do que ao desfecho diagnóstico em si — o que reforça a importância de que as famílias recebam suporte e orientação prática desde a suspeita inicial, e não apenas após a confirmação diagnóstica.¹⁴ Esse achado converge com a literatura já citada sobre baixa confiança e preparo insuficiente de muitos profissionais da atenção primária para reconhecer os sinais precoces do TEA¹⁰, evidenciando que a demora não é apenas um número em meses, mas um período em que famílias frequentemente permanecem sem orientação e sem encaminhamento adequado.

Nesse contexto, a puericultura — o acompanhamento longitudinal e sistemático do crescimento e do desenvolvimento infantil, historicamente incorporado às consultas de rotina de saúde da criança na atenção primária brasileira — constitui uma das principais janelas de oportunidade para a vigilância do desenvolvimento e a detecção precoce do TEA, por permitir

observação repetida do lactente e do pré-escolar ao longo do tempo, em vez de uma avaliação pontual. Estudos brasileiros recentes reforçam que capacitar os profissionais que realizam a puericultura a reconhecer e a avaliar sinais precoces do TEA é condição necessária para reduzir a distância, hoje ainda ampla, entre o momento em que os sinais se tornam observáveis e o momento em que o diagnóstico é, de fato, estabelecido — argumento que sustenta diretamente a proposta de capacitação profissional que compõe este projeto.¹⁵

É nesse cenário de desafios simultaneamente biológicos e assistenciais que se insere o objeto deste projeto: o gene *MTHFR* codifica a enzima metilenotetrahidrofolato redutase, que desempenha papel central no metabolismo do folato e na conversão da homocisteína em metionina. Como o metabolismo do folato é fundamental para a metilação do DNA e para a síntese de neurotransmissores, o Braço 1 investigou se variantes do gene *MTHFR* contribuem para a gravidade do TEA e avaliou a correlação entre ácido fólico e homocisteína séricos nos pacientes. Em paralelo, o Braço 2 abordou a dimensão operacional do TEA ao descrever a implementação de um modelo integrado de capacitação — baseado no modelo *Training of Trainers* (ToT) e na Aprendizagem Baseada em Casos (CBL) — voltado ao fortalecimento da detecção precoce do TEA na atenção primária.

Esses dois eixos — a compreensão etiológica de base molecular e a formação profissional na ponta do sistema de saúde — não são independentes: ambos convergem para a mesma janela biológica de oportunidade. É durante os primeiros anos de vida que o cérebro em desenvolvimento apresenta maior neuroplasticidade, e é justamente nesse período que tanto a identificação precoce quanto a eventual correção de desvios metabólicos tratáveis (como os relacionados ao ciclo do folato) têm o maior potencial de modificar trajetórias do desenvolvimento. Um diagnóstico tardio não apenas atrasa o acesso a terapias comportamentais — atrasa também a oportunidade de investigar e, quando indicado, tratar alterações bioquímicas que podem estar contribuindo para a apresentação clínica de cada paciente. É esse encontro entre biologia molecular e prática assistencial que motiva este projeto: entender o *MTHFR* de um paciente específico só tem valor clínico real se houver, na ponta do sistema, um profissional capacitado a reconhecer esse paciente a tempo. A articulação entre esses dois eixos — compreensão etiológica e formação profissional — reflete, portanto, a natureza multidimensional do enfrentamento do TEA em um sistema de saúde integrado, e é essa articulação, mais do que qualquer um dos dois braços isoladamente, que este trabalho pretende defender.

1.1 Justificativa

A escolha de investigar, num mesmo projeto, as variantes genéticas do *MTHFR* e a capacitação de profissionais da atenção primária parte do reconhecimento de que o enfrentamento do TEA não se resolve inteiramente no laboratório, nem inteiramente no consultório: ele exige que essas duas frentes dialoguem de forma assertiva. Compreender como os polimorfismos que afetam o metabolismo do folato podem se relacionar à gravidade clínica do transtorno tem valor que ultrapassa o interesse acadêmico, na medida em que aponta para biomarcadores metabólicos potencialmente acessíveis e para vias bioquímicas — como a relação entre ácido fólico e homocisteína — capazes de orientar, no futuro, investigações complementares em pacientes selecionados. Ao mesmo tempo, esse conhecimento só se converte em benefício real para as famílias se houver, na ponta do sistema de saúde, profissionais capacitados a reconhecer precocemente os sinais do TEA e a encaminhar cada caso de forma adequada — o que justifica, de maneira complementar, a segunda frente deste projeto.

Essa justificativa se torna ainda mais relevante quando se considera a janela de neuroplasticidade que caracteriza os primeiros anos de vida: é justamente nesse período que tanto a identificação precoce quanto a eventual investigação de alterações metabólicas tratáveis apresentam maior potencial de modificar as trajetórias do desenvolvimento. Um diagnóstico tardio compromete não apenas o acesso a intervenções comportamentais já estabelecidas, mas também a oportunidade de investigar, quando clinicamente indicado, alterações bioquímicas que podem estar contribuindo para a apresentação clínica de cada paciente. Diante disso, este projeto se justifica por integrar, numa mesma proposta de mestrado, a investigação da base biológica do TEA e o fortalecimento da capacidade da atenção primária de reconhecê-lo a tempo — reafirmando que o enfrentamento do transtorno é, por natureza, multidimensional, e que o avanço isolado de qualquer uma dessas frentes, sem a outra, tem alcance limitado para transformar a vida de quem convive com o TEA.

2 Referencial Teórico

2.1 Bases genéticas e epigenéticas do Transtorno do Espectro Autista

Estudos genéticos têm demonstrado que o TEA é uma condição poligênica complexa associada a mais de uma centena de genes. Variantes patogênicas raras e variações no número de cópias (CNVs), frequentemente de novo, afetam genes que regulam a arquitetura cerebral e

a função sináptica, enquanto a maior parte do risco genético agregado é atribuível a variantes comuns herdadas que atuam em conjunto, cada uma com efeito individual pequeno.³

Um aumento na frequência de autoanticorpos séricos contra o receptor de folato alfa (FRAA) foi relatado em crianças com TEA, sugerindo possível comprometimento do transporte de folato ao sistema nervoso central. Uma revisão sistemática e metanálise de Rossignol e Frye¹⁶ estimou a prevalência acumulada de FRAAs no TEA em aproximadamente 71%, e encontrou que a autoimunidade do receptor de folato respondia pela maioria dos casos de deficiência cerebral de folato (DCF) em indivíduos com TEA — atribuída a FRAAs em 83% dos casos identificados. Além disso, polimorfismos no gene *MTHFR* podem influenciar significativamente a suscetibilidade ao TEA ao afetar o metabolismo do folato, a capacidade de metilação e a regulação da homocisteína.¹⁷

Evidências emergentes sugerem que a desregulação epigenética pode contribuir não apenas para a suscetibilidade ao TEA, mas também para o comprometimento cognitivo e as comorbidades associadas^{18,19} e também para a gravidade dos sintomas e a heterogeneidade fenotípica do transtorno: um estudo de perfilamento genômico da metilação do DNA em células mononucleares do sangue periférico identificou milhares de posições diferencialmente metiladas entre pacientes com TEA e controles, com assinaturas epigenéticas distintas entre subgrupos de gravidade moderada e grave.²⁰

Nesse contexto, variantes em genes do metabolismo do carbono-1 — particularmente o *MTHFR* — podem exercer efeitos epigenéticos ao limitar a disponibilidade de S-adenosilmetionina (SAM)¹⁷. É fundamental destacar que o SAM é o doador universal de grupos metila necessário para a metilação do DNA e das histonas.^{17,21}

Como as modificações epigenéticas são potencialmente reversíveis, intervenções direcionadas à nutrição, ao metabolismo do folato, à inflamação e a outros fatores relacionados ao estilo de vida podem representar vias promissoras para estratégias futuras de tratamento no TEA. Estudos de biomarcadores sugerem que a suplementação com ácido folínico pode melhorar a comunicação verbal e os desfechos do neurodesenvolvimento em crianças com TEA positivas para FRAAs ou portadoras de variantes do *MTHFR* associadas ao comprometimento do processamento do folato.^{16,22}

2.2 O gene *MTHFR*, suas variantes funcionais e o metabolismo do folato

A enzima metilenotetrahidrofolato redutase (*MTHFR*), codificada pelo gene *MTHFR* (cromossomo 1p36.3),²³ catalisa a conversão irreversível de 5,10-metilenotetrahidrofolato em 5-metiltetrahidrofolato (5-MTHF) — a forma circulante predominante do folato e o principal doador de grupo metila para a remetilação da homocisteína em metionina. Essa reação é a etapa reguladora central do metabolismo do carbono-1, que fornece grupos metila essenciais para a metilação do DNA, a síntese de neurotransmissores (incluindo dopamina, serotonina e norepinefrina), a produção de mielina e o reparo gênico.

Dois polimorfismos funcionais do gene *MTHFR* são de particular relevância clínica: o 677C>T (rs1801133), que substitui uma citosina por timina na posição 677, gerando uma forma termolábil da enzima com atividade reduzida em aproximadamente 35% no heterozigoto (CT) e 70% no homozigoto variante (TT); e o 1298A>C (rs1801131), que induz alterações conformacionais que comprometem a catálise enzimática. Quando combinados, os efeitos desses dois polimorfismos sobre a atividade enzimática são aditivos.^{24,25}

Em termos clínicos, a redução da atividade da *MTHFR* resulta em três consequências bioquímicas principais:

- (1) acúmulo de homocisteína — aminoácido com efeitos neurotóxicos diretos;
- (2) redução dos níveis de 5-MTHF disponível; e
- (3) diminuição da síntese de SAM, o principal doador de grupos metila para reações de metilação do DNA e histonas.^{17,21.}

2.3 A cascata bioquímica *MTHFR*–homocisteína–folato–vitamina B12

O metabolismo do folato e da metionina constitui um ciclo integrado, no qual o folato dietético é progressivamente reduzido até 5-MTHF pela ação sequencial da di-hidrofolato redutase (*DHFR*) e da *MTHFR*. O 5-MTHF doa seu grupo metila para a homocisteína, reação mediada pela metionina sintase (*MTR*) com coenzima vitamina B12, regenerando metionina, que é ativada para formar SAM.

Quando a atividade da *MTHFR* está reduzida pelos polimorfismos 677C>T e/ou 1298A>C, o fluxo ao longo dessa via é comprometido, tendo-se como resultados:

- acúmulo de homocisteína;

- redução dos níveis de folato circulante; e
- diminuição da síntese de SAM — com consequente hipometilação global do DNA, que pode desregular a expressão de genes críticos para o neurodesenvolvimento, como *MECP2*, *RELN* e *SHANK3*.

A vitamina B12, como coenzima da metionina sintase, é indispensável nesse ciclo: sua deficiência amplifica os efeitos da disfunção do MTHFR.^{16,21,26.}

Do ponto de vista prático, é importante destacar que, entre os diferentes folatos circulantes, apenas o 5-metiltetrahidrofolato (5-MTHF) atravessa a barreira hematoencefálica em quantidade fisiologicamente relevante, por meio de transporte ativo mediado pelo receptor de folato alfa (FR α) no plexo coroide. Essa especificidade tem implicações clínicas diretas: (1) a suplementação com ácido fólico sintético — a forma mais amplamente disponível e prescrita — depende da conversão hepática completa até 5-MTHF para alcançar o sistema nervoso central, via que pode estar comprometida em portadores de variantes de baixa atividade do MTHFR; (2) em pacientes com deficiência cerebral de folato mediada por autoanticorpos contra o FR α (FRAAs), mesmo doses adequadas de ácido fólico oral podem ser insuficientes para normalizar o folato no líquido cefalorraquidiano, pois o bloqueio ocorre no transporte através da barreira, e não na disponibilidade sérica; e (3) por esse motivo, formas reduzidas de folato que não dependem dessa conversão — como o ácido folínico (leucovorina) ou o próprio 5-MTHF — têm sido preferencialmente investigadas como estratégia terapêutica em pacientes com TEA e evidência de comprometimento do metabolismo do folato, contornando tanto o bloqueio enzimático do MTHFR quanto o bloqueio imunomediado pelos FRAAs.^{16,21}

O ciclo do folato e o ciclo da metionina são as principais vias do metabolismo de um carbono (*one-carbon metabolism*). Ambos os ciclos são essenciais para a síntese de nucleotídeos, a reparação do DNA, a regulação epigenética por metilação do DNA, RNA e histonas, além da manutenção do equilíbrio da homocisteína.

No ciclo do folato, o folato (vitamina B9) é convertido em di-hidrofolato (DHF) e, posteriormente, em tetra-hidrofolato (THF) pela enzima di-hidrofolato redutase (*DHFR*). O THF é transformado em 5,10-metilenotetra-hidrofolato pela serina hidroximetiltransferase (SHMT) e, então, reduzido a 5-metiltetra-hidrofolato (5-metil-THF) pela MTHFR.

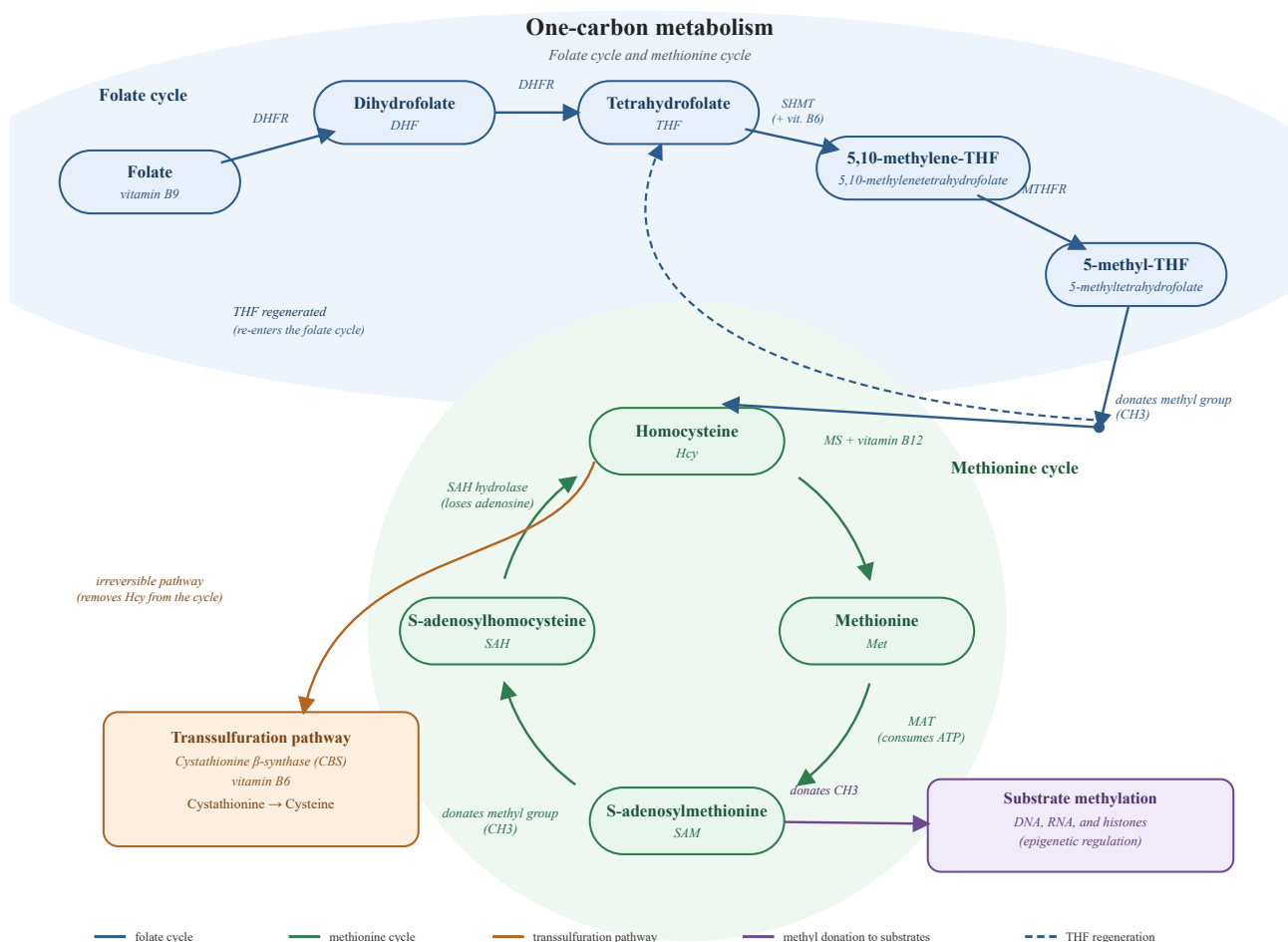
No ciclo da metionina, o 5-metil-THF doa um grupo metila para a conversão da homocisteína em metionina, reação catalisada pela metionina sintase (MS) na presença da

vitamina B12. A metionina é convertida em SAM, o principal doador universal de grupos metila para reações de metilação do DNA, RNA, proteínas e lipídios.

Após a doação do grupo metila, a SAM é convertida em S-adenosil-homocisteína (SAH) e, posteriormente, em homocisteína (Hcy). Esta, por sua vez, pode ser remetilada ou seguir a via da transulfuração por meio da cistationina β -sintase (CBS), dependente da vitamina B6.²¹

A esquematização de todas essas vias é apresentada de forma didática pela na Figura 1, revelada abaixo.

Figura 1. Ciclo do folato e ciclo da metionina, incluindo as etapas catalisadas por DHFR, SHMT, MTHFR, metionina sintase (MS/vitamina B12) e cistationina β -sintase (CBS/vitamina B6).



Fonte: Elaborada pela própria autora, com auxílio de inteligência artificial, adaptado de Roufael et al. (2023).

As variantes genéticas no gene *MTHFR*, especialmente os polimorfismos C677T e A1298C, podem reduzir a atividade da enzima MTHFR, responsável pela conversão do 5,10-metilenotetraidrofolato em 5-MTHF, a principal forma de folato utilizada na remetilação da homocisteína. Essa remetilação depende da ação da metionina sintase, que utiliza o 5-MTHF como doador de grupos metila e a vitamina B12 (metilcobalamina) como cofator.

Quando há redução da atividade da MTHFR e/ou vitamina B12, ocorre diminuição da atividade da metionina sintase, favorecendo o acúmulo de homocisteína (hiper-homocisteinemia). A redução da disponibilidade de metionina compromete, por sua vez, a síntese de SAM, alterando a metilação do DNA e de histonas e interferindo em mecanismos epigenéticos que regulam a expressão gênica, a estabilidade genômica e os processos de reparo do DNA — alterações que podem contribuir para o desenvolvimento de diversas condições do neurodesenvolvimento, incluindo o TEA.²⁷

2.4 *MTHFR* e suscetibilidade ao TEA: evidências de estudos observacionais

Estudos observacionais e metanálises relataram associação entre o polimorfismo *MTHFR* C677T e maior suscetibilidade ao TEA. Em uma população Han chinesa, Guo et al.²⁸ constataram que a frequência do genótipo 677TT foi significativamente maior em crianças com autismo (16,1%) em comparação com controles (8,6%), sugerindo que essa variante pode atuar como fator de risco. Uma ampla metanálise de Pan, McDill e Mooney²⁹ identificou associação estatisticamente significativa entre TEA e a variante *MTHFR* C677T independentemente de raça ou etnia, em uma síntese de 22 estudos e 13.913 indivíduos.

O conjunto de metanálises disponíveis converge para a conclusão de que o risco de TEA é consistentemente maior para portadores do genótipo 677TT, enquanto os achados para A1298C são nulos ou inconsistentes entre populações.^{30,31,32} Vale notar que essa convergência entre metanálises coexiste com heterogeneidade em estudos primários individuais: por exemplo, Sener et al.,³³ em uma amostra turca de 98 crianças com TEA e 70 controles, não encontraram diferença estatisticamente significativa na frequência do alelo T do C677T entre os grupos (29% vs. 24%), ilustrando como o tamanho amostral reduzido de estudos isolados pode não captar um efeito que só se torna aparente na agregação de dados de múltiplas populações.

Além disso, uma revisão sistemática e metanálise abrangente confirmou que variantes genéticas comuns estão significativamente associadas ao TEA, reforçando a natureza poligênica do transtorno e a importância de novos indicadores clínicos e genéticos para predição de suscetibilidade.³⁴ Adicionalmente, uma ampla metanálise de biomarcadores nutricionais no TEA

confirmou que as concentrações circulantes de homocisteína estão significativamente elevadas (DME $\approx 0,7$; $p < 0,001$), enquanto os níveis de vitamina D (DME $\approx -1,0$; $p < 0,001$) e vitamina B12 (DME $\approx -0,7$; $p < 0,001$) estão significativamente reduzidos em comparação com controles com desenvolvimento típico.²⁶

É importante destacar que as alterações nos metabólitos séricos — especialmente os níveis elevados de homocisteína e os níveis reduzidos de vitamina B12 e folato observados em indivíduos com TEA — são influenciadas não apenas por polimorfismos genéticos no gene *MTHFR*, mas também por uma alimentação inadequada. Crianças com TEA frequentemente apresentam seletividade alimentar acentuada, o que pode comprometer a qualidade da dieta e resultar em deficiências nutricionais que impactam diretamente o metabolismo do carbono-1. A revisão sistemática de Roufael et al.²¹ descreveu, de forma recorrente, ainda que heterogênea entre os estudos incluídos, níveis mais baixos de vitamina B12 e folato, bem como níveis mais elevados de homocisteína, em indivíduos com TEA em comparação com crianças saudáveis do grupo controle — achados que corroboram a hipótese de que perturbações no ciclo folato-metionina contribuem para a neurobiologia do transtorno, seja por via genética ou dietética.

Nesse sentido, alguns estudos epidemiológicos sugerem associação entre deficiência de folato durante a gestação e a primeira infância e aumento do risco de TEA, ainda que a literatura nessa área seja heterogênea e nem sempre reproduzível entre desenhos de estudo distintos — uma revisão dedicada ao tema descreveu explicitamente resultados inconsistentes entre os poucos estudos disponíveis, com efeitos de intervenções de reforço de folato sobre desfechos clínicos ainda não confirmados.³⁵

Essa cautela interpretativa é relevante: é possível que indivíduos com TEA apresentem deficiência cerebral de folato (DCF) mesmo na presença de níveis séricos normais, quando a causa é a presença de autoanticorpos contra o receptor de folato alfa (FRAAs) que bloqueiam o transporte de folato ao sistema nervoso central — condição que responde à suplementação com ácido folínico.¹⁶

2.5 *MTHFR* e gravidade clínica do TEA

Além da suscetibilidade, evidências emergentes sugerem que o status funcional do *MTHFR* pode modular a gravidade clínica e as necessidades de suporte. Iannuzzelli et al.,³⁶ em uma coorte de 78 indivíduos com TEA, encontraram correlação negativa significativa entre os níveis de atividade do *MTHFR* e a gravidade do TEA medida pelos critérios do DSM-5 ($p < 0,05$).

Um estudo de Li et al.³⁷ demonstrou que a homocisteína sérica elevada foi significativamente associada ao diagnóstico de TEA ($\beta = 0,370$; IC 95%: 0,299–0,441; $p < 0,001$), enquanto baixas concentrações de folato foram significativamente associadas à maior gravidade do TEA (OR = 4,227; IC 95%: 1,022–17,488; $p = 0,041$), evidenciando que as consequências bioquímicas dos polimorfismos do *MTHFR* podem traduzir-se diretamente em perfis do neurodesenvolvimento mais comprometidos. Adicionalmente, evidências emergentes indicam que a desregulação das concentrações circulantes de homocisteína — importante intermediário do metabolismo do folato e da vitamina B12 — está associada ao TEA, configurando-a como biomarcador potencial para o diagnóstico e o monitoramento clínico do transtorno.³⁷

2.6 FRAA e implicações terapêuticas

A autoimunidade sérica do receptor de folato parece representar um fator importante na patogênese da redução do transporte de folato ao sistema nervoso. Rossignol e Frye¹⁶ estimaram a prevalência acumulada de FRAAs no TEA em 71%, com a deficiência cerebral de folato atribuída a FRAAs em 83% dos casos. O tratamento com ácido folínico (d,l-leucovorina) demonstrou melhora clínica, particularmente em indivíduos positivos para FRAA.³⁸ Esses achados levantam a questão de se indivíduos com TEA portadores de variantes do *MTHFR* poderiam igualmente beneficiar-se de formas reduzidas de folato — como ácido folínico ou 5-MTHF — que contornam o bloqueio enzimático.

Cabe registrar que, até o momento, o teste de FRAAs não está disponível na rede pública de saúde brasileira (SUS) nem é rotineiramente contemplado pelos planos de saúde privados no país: sua realização depende de laboratórios privados que enviam a amostra para processamento no exterior, a um custo aproximado de R\$ 4.490,00 e com prazo de até 25 dias úteis para o resultado — uma barreira prática relevante que, no contexto brasileiro, limita a investigação rotineira dessa via mesmo quando clinicamente indicada.³⁹

2.7 Capacitação profissional e detecção precoce do TEA na atenção primária

A identificação precoce do TEA constitui um dos principais desafios para os sistemas de saúde ao redor do mundo. Embora os sinais do transtorno sejam observáveis entre 12 e 24 meses de vida,¹² a idade média ao diagnóstico permanece significativamente elevada, frequentemente próxima ou superior a quatro anos.⁸ Esse atraso prolonga o período sem intervenção, impactando negativamente as trajetórias do desenvolvimento e aumentando os custos de longo prazo.^{9,40}

A capacitação de profissionais de atenção primária é uma das estratégias mais estudadas para reduzir esse atraso. Uma revisão sistemática de programas de treinamento sobre TEA mostrou que médicos capacitados se tornam mais conhecedores do transtorno, relatam maior autoeficácia e passam a rastrear seus pacientes com maior frequência.⁴¹

De forma convergente, uma revisão sistemática de programas de capacitação voltados especificamente à construção de capacidade diagnóstica em contextos comunitários mostrou que treinar profissionais da atenção primária reduz o tempo de espera por avaliação especializada e melhora o acesso ao diagnóstico, com boa concordância diagnóstica entre profissionais treinados e equipes especializadas.⁴² Esses achados sustentam empiricamente a premissa deste projeto: capacitar a linha de frente do sistema de saúde não é uma medida paliativa enquanto se aguarda acesso a serviços especializados — é, ela própria, uma intervenção com efeito mensurável sobre o tempo até o diagnóstico.

O modelo de Formação de Multiplicadores (*Training of Trainers* – ToT) destaca-se como abordagem promissora por permitir a capacitação de profissionais que atuam como multiplicadores do conhecimento, promovendo disseminação em cascata e ampliando a sustentabilidade das intervenções em contextos de recursos limitados. Uma revisão de escopo sobre adaptações culturais e barreiras de implementação do programa *Caregiver Skills Training* da Organização Mundial da Saúde — um modelo de capacitação de facilitadores não especialistas para intervenção em TEA e outros atrasos do desenvolvimento — demonstrou a viabilidade do *task-shifting* (redistribuição de tarefas para profissionais não especialistas) como estratégia escalável em diferentes contextos socioculturais e níveis de recursos.⁴³

A Aprendizagem Baseada em Casos (Case-Based Learning – CBL) tem sido reconhecida como estratégia eficaz para o desenvolvimento do raciocínio clínico ao integrar conhecimento teórico e prática em contextos reais.³⁵ Essa abordagem favorece a tomada de decisão e a aplicação do conhecimento em cenários de incerteza, de forma convergente com evidências sobre programas de capacitação voltados à construção de capacidade diagnóstica.³⁶

A articulação entre o manejo clínico-biológico do TEA — abordado pelo Braço 1 deste projeto — e a formação de profissionais para detecção precoce — objetivo do Braço 2 — reflete a compreensão de que o enfrentamento efetivo do TEA requer intervenções simultâneas em diferentes níveis: da caracterização etiológica e bioquímica à capacitação da linha de frente do sistema de saúde. Um paciente com uma variante funcionalmente relevante do *MTHFR* só se beneficia desse conhecimento se um profissional da atenção primária o identificar, encaminhar

e, eventualmente, solicitar a investigação bioquímica adequada dentro da janela de maior plasticidade do desenvolvimento cerebral — é esse o elo prático entre os dois braços que este projeto busca evidenciar.

2.8 Critérios diagnósticos do TEA: DSM-5-TR e CID-11 em perspectiva comparada

Embora o presente estudo tenha adotado os critérios do DSM-5-TR como referência diagnóstica (detalhados na seção de Métodos), amplamente usado em pesquisa científica, é relevante situar esses critérios em relação à 11ª revisão da Classificação Internacional de Doenças (CID-11), da Organização Mundial da Saúde, atualmente em processo de implementação no Brasil e já vigente em diversos sistemas de saúde internacionais.⁴⁴ Ambos os manuais reconhecem o TEA como uma condição única e dimensional — abandonando a antiga subdivisão em categorias distintas, como autismo, síndrome de Asperger e transtorno desintegrativo da infância —, mas diferem em aspectos conceituais e operacionais relevantes para a prática clínica.

O DSM-5-TR exige a presença de déficits nos três domínios da comunicação e interação social (Critério A) e de pelo menos dois entre quatro padrões restritos e repetitivos de comportamento (Critério B), especificando ainda um nível de suporte necessário (Nível 1, 2 ou 3) e especificadores adicionais (com ou sem comprometimento intelectual associado, com ou sem comprometimento da linguagem, entre outros). A CID-11, por sua vez, adota uma estrutura mais dimensional: codifica o TEA sob o código 6A02, com qualificadores que descrevem separadamente o comprometimento da linguagem funcional e o comprometimento intelectual associado, sem definir um número mínimo obrigatório de sintomas em cada domínio nem hierarquizar formalmente três níveis de suporte. Uma análise crítica da CID-11 estimou que esse manual admite mais de 300 combinações possíveis de manifestações clínicas compatíveis com o diagnóstico — flexibilidade que amplia a sensibilidade diagnóstica, mas que também levanta a preocupação de maior risco de diagnósticos falso-positivos e de maior dificuldade na diferenciação entre TEA e outras condições do neurodesenvolvimento ou traços autísticos subclínicos.⁴⁵

2.9 Biomarcadores metabólicos no TEA: conceito e aplicação clínica

De acordo com a definição consolidada pela iniciativa conjunta Biomarkers, EndpointS, and other Tools (BEST), da Food and Drug Administration e do National Institutes of Health dos Estados Unidos, um biomarcador é definido como uma característica medida objetivamente e avaliada como indicador de processos biológicos normais, processos patogênicos ou respostas

a uma exposição ou intervenção — podendo abranger desde parâmetros moleculares e bioquímicos até achados de imagem ou fisiológicos.⁴⁶ Um biomarcador não precisa, necessariamente, possuir valor diagnóstico isolado; sua utilidade clínica pode residir em auxiliar a estratificação de risco, o monitoramento de atividade biológica ou a predição de resposta a determinadas intervenções.

No contexto do TEA, o ácido fólico e a homocisteína séricos preenchem esse conceito de biomarcadores metabólicos: não se prestam ao diagnóstico do transtorno — que permanece eminentemente clínico e comportamental, conforme os critérios do DSM-5-TR ou da CID-11 (seção 2.8) —, mas auxiliam na interpretação do quadro metabólico subjacente de cada paciente, sinalizando a atividade da via de um carbono e orientando a investigação de causas tratáveis de disfunção nessa via (como deficiência nutricional de folato/B12 ou redução da atividade do MTHFR). Sabendo-se que correlação negativa entre ácido fólico e homocisteína séricos foi observada de forma consistente entre os diferentes níveis de suporte do DSM-5, é possível compreender esse par de biomarcadores dentro de um processo metabólico sistêmico, presente de forma transversal ao espectro clínico, e não um epifenômeno restrito a subgrupos mais graves. Essa é a justificativa prática central para propor a incorporação desses dois biomarcadores — de baixo custo e amplamente disponíveis na rede laboratorial do Sistema Único de Saúde (SUS) — à investigação complementar de pacientes com TEA, particularmente diante de suspeita clínica de comprometimento nutricional ou de variantes funcionais do MTHFR.

2.10 MTHFR na prática clínica: resposta terapêutica, inflamação e comorbidades associadas

Para além da associação com a suscetibilidade e a gravidade do TEA discutida nas seções anteriores, o estado funcional do MTHFR carrega implicações práticas mais amplas, já documentadas na literatura de psiquiatria geral e de particular interesse para a condução clínica de pacientes com TEA. Uma metanálise sobre variantes do gene MTHFR e transtornos psiquiátricos descreveu associação do polimorfismo com a suscetibilidade a condições como depressão maior, transtorno bipolar e esquizofrenia, reforçando a hipótese de que o MTHFR contribui para uma via fisiopatológica comum a diferentes transtornos psiquiátricos — achado que reforça, por analogia bioquímica, a plausibilidade de que a suplementação com metilfolato (a forma ativa do folato, que contorna o bloqueio enzimático do MTHFR) module a resposta a tratamentos farmacológicos em subgrupos de pacientes com atividade enzimática reduzida, mecanismo relacionado ao ciclo do folato já apresentado neste trabalho.⁴⁷ Extrapolando esse racional para o TEA, é biologicamente plausível — ainda que careça de ensaios clínicos

específicos e controlados — que pacientes com TEA portadores de variantes de baixa atividade do MTHFR apresentem menor capacidade de metilação basal e, por consequência, resposta clínica potencialmente distinta a intervenções farmacológicas usuais (como antipsicóticos atípicos utilizados para irritabilidade associada ao TEA), o que reforça a relevância prática de considerar o status do MTHFR na interpretação de respostas terapêuticas heterogêneas observadas na prática clínica.

Adicionalmente, a hiper-homocisteinemia resultante da redução da atividade do MTHFR tem sido associada a maior estresse oxidativo e à ativação de vias pró-inflamatórias, o que pode contribuir para comorbidades frequentemente observadas em pacientes com TEA, como alterações gastrointestinais e, em alguns subgrupos, quadros comportamentais de maior irritabilidade — achados que, embora ainda heterogêneos entre estudos, reforçam a importância de investigar o eixo MTHFR-folato-homocisteína não como uma curiosidade acadêmica, mas como uma via metabólica com correlatos clínicos potencialmente acionáveis⁴⁷. Essas observações sustentam, em termos práticos, a proposta central deste trabalho: mapear o perfil funcional do MTHFR e dos biomarcadores a ele associados pode, no futuro, auxiliar a personalizar tanto a investigação complementar quanto o acompanhamento clínico de pacientes com TEA — reforçando a relevância prática deste estudo para além do interesse estritamente acadêmico.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar, sob uma perspectiva multidimensional, o Transtorno do Espectro Autista (TEA), articulando a caracterização de variantes genéticas do *MTHFR* e de biomarcadores metabólicos associados à gravidade clínica do transtorno (Braço 1) com a capacitação de profissionais da atenção primária à saúde para a detecção precoce do TEA (Braço 2).

3.2 Objetivos específicos

Braço 1 — Variantes genéticas do *MTHFR* e biomarcadores metabólicos:

- Investigar se os níveis de gravidade do TEA e a severidade dos sintomas estão associados à atividade enzimática reduzida do *MTHFR*;
- Explorar a correlação entre as concentrações séricas de ácido fólico e homocisteína em indivíduos com TEA.

Braço 2 — Capacitação de profissionais na atenção primária:

- Descrever a implementação de um programa piloto de capacitação de profissionais de saúde da atenção primária para detecção precoce do TEA, utilizando o modelo ToT associado à CBL;
- Fortalecer, por meio desse programa, a capacidade de identificação precoce, a organização dos fluxos de encaminhamento e a disseminação do conhecimento nos territórios de atuação dos profissionais capacitados.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Braço 1 — Variantes do *MTHFR*, biomarcadores metabólicos e gravidade clínica do TEA

4.1.1 Delineamento do estudo e local

Estudo observacional transversal com abstração retrospectiva de dados clínicos, conduzido com amostra de conveniência de pacientes ambulatoriais com TEA em acompanhamento psiquiátrico de rotina no Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Londrina (UEL), Brasil, entre 2025 e 2026.

4.1.2 Participantes do estudo

Os participantes eram elegíveis se:

- (1) tinham entre 2 e 35 anos de idade;
- (2) preenchiam previamente os critérios diagnósticos do DSM-5-TR para TEA, confirmados por avaliação com especialista; e
- (3) possuíam avaliação clínica e resultado de genotipagem para variantes do *MTHFR* disponível em prontuário.

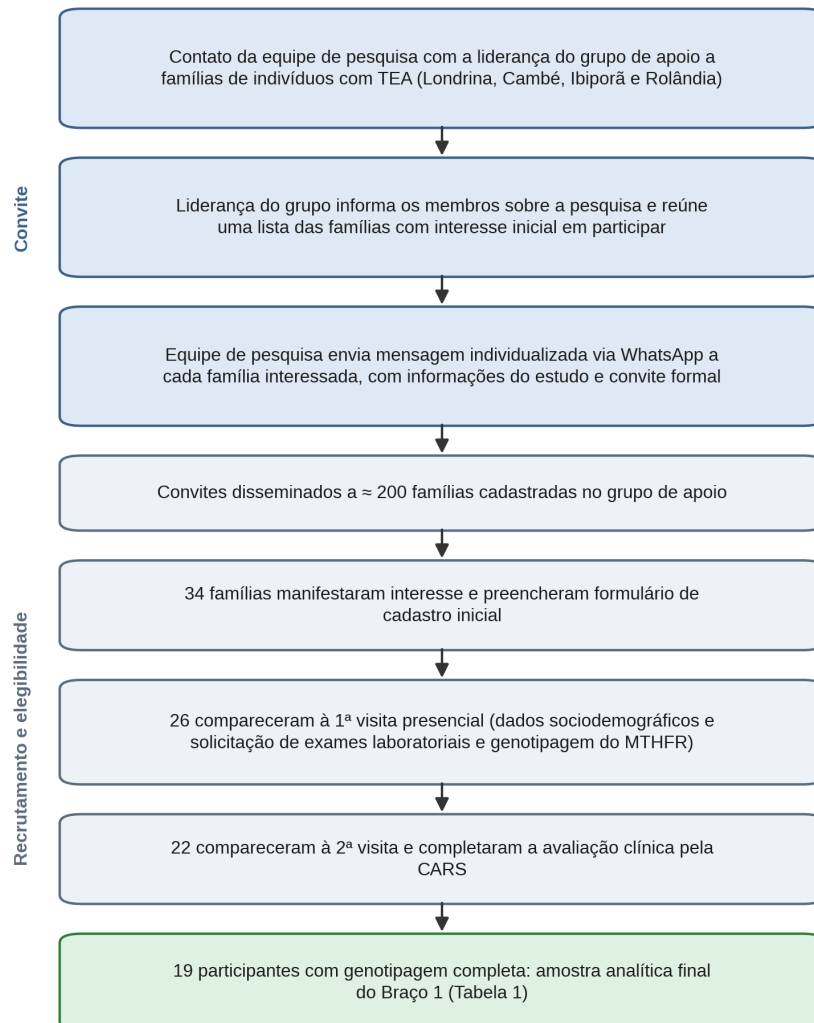
Foram excluídos os candidatos que não preenchessem integralmente os critérios de inclusão acima, bem como aqueles que apresentassem: registros clínicos incompletos ou inacessíveis em prontuário que impossibilitassem a confirmação diagnóstica ou a caracterização da amostra; recusa ou impossibilidade de comparecimento às visitas presenciais necessárias para a coleta dos dados sociodemográficos, clínicos e laboratoriais previstos no protocolo; ou

retirada do consentimento em qualquer etapa do estudo. O diagnóstico de TEA foi confirmado com base nos critérios do DSM-5-TR, adotado como referência diagnóstica no presente estudo.

4.1.3 Recrutamento e coleta de dados

O recrutamento foi realizado entre os anos de 2025 e 2026 por meio de convites ativos a um grupo de apoio a famílias de indivíduos com autismo de quatro municípios da região metropolitana de Londrina, estado do Paraná, Brasil (Londrina, Cambé, Ibiporã e Rolândia). O contato às famílias e recrutamento dos pacientes seguiu um fluxo estruturado (Figura 2).

Figura 2. Fluxograma do processo de convite e recrutamento das famílias participantes do Braço 1.



Fonte: Elaborada pela autora, com base nos dados da pesquisa.

Inicialmente, a equipe de pesquisa estabeleceu contato com a liderança do grupo de apoio, apresentando os objetivos do estudo e solicitando sua colaboração na divulgação. Em seguida, a liderança do grupo informou os membros sobre a pesquisa e reuniu uma lista das famílias que manifestaram interesse inicial em participar. Por fim, cada família listada como interessada recebeu uma mensagem individualizada via WhatsApp, elaborada pela equipe de pesquisa, contendo informações detalhadas sobre o estudo e o convite formal para participação — o que permitiu um contato inicial respeitoso e não invasivo, preservando a autonomia das famílias quanto à decisão de participar.

Por meio desse fluxo, convites foram disseminados a aproximadamente 200 famílias cadastradas neste grupo. Dessas, 34 manifestaram interesse e preencheram um formulário de cadastro inicial. Entre essas, 26 compareceram a um primeiro encontro presencial, no qual foram coletados dados sociodemográficos e solicitados exames laboratoriais — incluindo homocisteína sérica, ácido fólico e vitamina B12 — além da genotipagem do *MTHFR*.

Na segunda visita, estruturada especificamente para a avaliação clínica de cada paciente, 22 participantes compareceram e completaram a avaliação pela CARS. Desses, 19 possuíam adicionalmente resultados completos de genotipagem do *MTHFR* e preenchiam todos os critérios de elegibilidade para a análise estratificada por atividade enzimática predita, constituindo a amostra analítica do Braço 1 propriamente dito (Tabela 1).

Os três participantes com CARS disponível, mas sem genotipagem completa no momento do fechamento da coleta, foram mantidos na análise descritiva de gravidade clínica estratificada por escore da CARS (Tabela 2), ampliando essa análise específica para $n = 22$ — uma decisão metodológica que preserva o uso de todos os dados clínicos disponíveis, mas que exige cautela na comparação direta entre as Tabelas 1 e 2, já que não representam exatamente a mesma subamostra. Os motivos de não participação/não conclusão dos exames incluíram sobrecarga diagnóstica prévia, desgaste dos cuidadores, resistência à participação em pesquisa e falta de kits específicos para coleta laboratorial — barreiras amplamente descritas na literatura sobre participação em pesquisas envolvendo famílias de indivíduos com TEA.

Uma decisão metodológica deliberada foi adotada: a presença dos pacientes com TEA foi solicitada apenas na segunda visita — quando a avaliação clínica pela CARS foi realizada —, e não na primeira visita, focada exclusivamente em entrevistas com os cuidadores e coleta de dados sociodemográficos. Essa decisão foi motivada pelo risco de sobrecarga sensorial e desregulação comportamental em ambiente clínico compartilhado, quente e imprevisível —

condições que poderiam comprometer tanto o bem-estar dos pacientes quanto a qualidade da avaliação clínica. Ao restringir a presença do paciente à segunda consulta estruturada, foi possível minimizar o risco de descompensação e assegurar um contexto favorável à aplicação da CARS.

4.1.4 Genotipagem

Amostras de sangue periférico foram coletadas para extração de DNA genômico e genotipagem conduzida em laboratórios certificados. A genotipagem focou em duas variantes funcionais do gene *MTHFR*: 677C>T (rs1801133) e 1298A>C (rs1801131). Os genótipos foram categorizados como homozigoto selvagem, heterozigoto ou homozigoto variante para cada locus. Os procedimentos de controle de qualidade incluíram verificação da consistência genotípica e avaliação do equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) para cada variante.

4.1.5 Predição da atividade enzimática do MTHFR

A atividade enzimática predita foi derivada pela combinação dos efeitos funcionais atribuídos às variantes 677C>T e 1298A>C, de acordo com modelos genótipo–função previamente publicados e amplamente utilizados. Esses modelos consideram o genótipo selvagem (677CC e 1298AA) como condição de referência (100% de atividade), atribuindo níveis decrescentes de atividade predita de acordo com a presença e combinação dos alelos variantes (Tabela 1).

A variante 677C>T reduz a eficiência catalítica do MTHFR em aproximadamente 35% no heterozigoto (CT) e 70% no homozigoto variante (TT), enquanto a variante 1298A>C reduz a atividade por alterações conformacionais; genótipos combinados produzem reduções aditivas.^{24,25}

O ponto de corte de $\leq 50\%$ foi aplicado como limiar operacional para as análises estratificadas. É importante ressaltar que esse valor de 50% não corresponde a um limiar clínico validado na literatura, mas foi adotado como convenção analítica do presente estudo — situando-se entre a atividade residual aproximada do heterozigoto ($\approx 65\%$, correspondente a uma redução de 35%) e do homozigoto variante ($\approx 30\%$, correspondente a uma redução de 70%) do polimorfismo 677C>T isoladamente — permitindo dicotomizar a atividade enzimática predita combinada (677C>T + 1298A>C) em dois grupos comparáveis para fins de análise estatística estratificada.

4.1.6 Avaliações clínicas e bioquímicas

O nível de suporte foi baseado nos critérios do DSM-5.¹ A *Childhood Autism Rating Scale* (CARS), traduzida e validada para o português brasileiro por Pereira et al.,⁴⁸ foi utilizada como instrumento padronizado de avaliação clínica da gravidade dos sintomas do TEA em 15 domínios comportamentais, aplicada aos 22 participantes que compareceram à avaliação clínica estruturada de segunda visita (seção 4.1.2).

Níveis séricos de ácido fólico, vitamina B12 e homocisteína total foram solicitados para todos os participantes como parte do protocolo do estudo, dada sua relevância direta para o metabolismo do carbono-1 mediado pelo MTHFR. A coleta foi realizada nos pacientes em que os kits laboratoriais estavam disponíveis no laboratório institucional durante o período do estudo, resultando em dosagens pareadas de ácido fólico e homocisteína em 17 dos participantes. Os dados bioquímicos obtidos foram utilizados para análise de correlação entre ácido fólico sérico e homocisteína sérica ($n = 17$), conforme descrito na seção de análise estatística.

4.1.7 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R (R Core Team, 2024). As variáveis contínuas são expressas como média (desvio padrão). Os pressupostos para a análise paramétrica foram avaliados por meio do teste de Shapiro–Wilk para normalidade. Quando os pressupostos foram atendidos, as comparações entre os grupos foram realizadas utilizando o teste t de Student para amostras independentes; caso contrário, aplicou-se o teste de Wilcoxon–Mann–Whitney.

As variáveis categóricas são apresentadas em tabelas de contingência como frequências absolutas (n) e percentuais (%). As comparações de proporções entre os grupos foram realizadas por meio do teste qui-quadrado de Pearson ou do teste exato de Fisher, conforme o atendimento dos pressupostos teóricos (i.e., frequências esperadas por célula < 5). Para todas as análises inferenciais, adotou-se o nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$, sendo $p < 0,05$ considerado estatisticamente significativo).

4.1.8 Ética

O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Londrina sob o número 78296724.0.0000.5231. Os participantes forneceram consentimento informado de acordo com a Declaração de Helsinque.

4.2 Braço 2 — Capacitação de profissionais da atenção primária para detecção precoce do TEA

4.2.1 Delineamento e contexto

Trata-se de um estudo qualitativo, do tipo relato de experiência, descrevendo a implementação de um programa piloto de capacitação para melhoria da detecção precoce do TEA na atenção primária. O estudo é informado pelos princípios da ciência da implementação, particularmente os relacionados à capacitação (*capacity building*), redistribuição de tarefas (*task-shifting*) e formação descentralizada.^{41,43} O programa foi conduzido no Brasil e concebido para aplicação no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), particularmente na Rede de Atenção Psicossocial (RAPS), que integra serviços de atenção primária, serviços especializados de saúde mental e atenção hospitalar, oferecendo um arcabouço abrangente para encaminhamento e acompanhamento de crianças com suspeita de condições do neurodesenvolvimento.

4.2.2 Participantes

Um total de 47 profissionais de saúde de diferentes regiões do Brasil participou do programa, incluindo médicos, enfermeiros, psicólogos, assistentes sociais e nutricionistas que atuavam em contextos comunitários e de atenção primária. A participação foi voluntária, e todos os participantes estavam envolvidos em atividades relacionadas à saúde da criança e/ou à saúde mental.

Foram incluídos profissionais de saúde atuantes em contextos de atenção primária ou de saúde mental que aceitaram participar voluntariamente do programa de capacitação e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido. Foram excluídos os profissionais que não completaram ao menos 75% da carga horária síncrona do programa, por comprometer a avaliação da experiência de capacitação, bem como aqueles que não haviam concluído a formação até o encerramento da coleta de dados.

4.2.3 Intervenção: programa de capacitação

O programa de capacitação foi estruturado com base em um modelo de Formação de Multiplicadores (ToT) combinado com Aprendizagem Baseada em Casos (CBL), visando desenvolver competências tanto clínicas quanto educacionais entre os participantes. A carga horária total foi de 72 horas, composta por atividades síncronas (aulas online, discussões em grupo e cenários clínicos simulados) e assíncronas (leitura de materiais educacionais, análise de casos e reflexões orientadas).

O conteúdo abrangeu três domínios centrais: (1) reconhecimento de sinais e sintomas precoces do TEA; (2) uso de instrumentos de triagem e fluxos de encaminhamento; e (3) estratégias de comunicação com famílias. Os participantes também foram estimulados a desenvolver estratégias para disseminar o conhecimento em seus contextos locais, reforçando o modelo de formação em cascata.

Os participantes foram capacitados para implementar vigilância do desenvolvimento e triagem estruturada durante as consultas de rotina de saúde da criança, incluindo o uso do *Modified Checklist for Autism in Toddlers, Revised with Follow-Up* (M-CHAT-R/F) para crianças de 16 a 30 meses. Ênfase foi dada ao reconhecimento dos sinais de alerta precoce — déficits em comunicação social, comportamentos restritos e repetitivos e atrasos do desenvolvimento — e à organização dos fluxos de encaminhamento dentro da RAPS, incluindo a articulação com os Centros de Atenção Psicossocial Infantojuvenil (CAPSi) e equipes multidisciplinares de diagnóstico.

4.2.3.1 Estrutura de uma sessão-modelo do programa: exemplo aplicado

Para ilustrar de forma concreta como os pilares metodológicos do programa — a Formação de Multiplicadores (ToT) e a Aprendizagem Baseada em Casos (CBL) — foram articulados na prática, descreve-se a seguir a estrutura de uma sessão síncrona representativa do programa de capacitação, com duração aproximada de 80 minutos, organizada em cinco etapas sequenciais.

Etapla 1 — Apresentação do caso clínico (15 minutos). A facilitadora apresentou ao grupo um caso clínico, em formato escrito e com apoio de imagens, sem revelar diagnóstico ou hipóteses. O objetivo foi estimular o raciocínio clínico inicial dos participantes a partir de dados brutos de anamnese e observação comportamental, reproduzindo a experiência de uma consulta real.

Etapla 2 — Discussão inicial (20 minutos). Os participantes são estimulados a expor suas percepções e são orientados a: (i) listar os sinais e comportamentos que chamaram atenção no caso; (ii) formular hipóteses diagnósticas iniciais; e (iii) registrar dúvidas específicas a serem levadas à plenária.

Etapla 3 — Plenária com facilitação socrática (20 minutos). Os participantes compartilham de forma objetiva suas hipóteses. Em vez de fornecer respostas prontas, o facilitador conduz a discussão por meio de perguntas norteadoras — por exemplo: “O que, na fala da mãe, poderia ser um sinal de alerta e não apenas uma característica de temperamento

da criança?”; “Que diferença há entre uma criança ‘quieta’ e uma criança com déficit de reciprocidade socioemocional?” —, incentivando os próprios participantes a chegarem, de forma guiada, aos pontos-chave do caso.

Etapas 4 — Sistematização teórica (15 minutos). O facilitador amarra a discussão ao conteúdo teórico de referência: sinais de alerta do TEA por faixa etária, aplicação e interpretação do M-CHAT-R/F, e critérios diagnósticos do DSM-5-TR (seção 2.8). Nesse momento, é reforçada a mensagem central de que a suspeita clínica na atenção primária não exige certeza diagnóstica, mas sim reconhecimento de sinais de alerta suficientes para justificar encaminhamento precoce.

Etapas 5 — Planejamento da multiplicação (10 minutos). Cada participante esboça, brevemente, como adaptaria e replicaria essa mesma discussão de caso em seu próprio território de atuação — reforçando o modelo de formação em cascata característico do ToT, no qual cada profissional capacitado torna-se, também, um potencial formador de colegas em sua unidade de saúde.

4.2.3.2 Caso clínico fictício utilizado

A seguir, reproduz-se o caso clínico fictício elaborado para essa sessão, utilizado como material de apoio na Etapa 1 descrita acima.

Vinheta clínica — “Pedro, 22 meses”. Pedro, 22 meses, é levado por sua mãe a uma consulta de rotina de puericultura na Unidade Básica de Saúde. A mãe não traz queixa específica, mas comenta, quando questionada sobre o desenvolvimento da criança: “Ele é bem quietinho, não fala muita coisa ainda, mas cada criança tem seu tempo, né?”. Durante a consulta, observa-se que Pedro caminha sozinho desde os 13 meses e manipula objetos pequenos sem dificuldade motora aparente. Contudo, não atende consistentemente quando chamado pelo nome, mantém contato visual breve e infrequente, e não aponta para objetos ou pessoas para compartilhar interesse (aponta apenas, ocasionalmente, para pedir algo). Durante a espera, alinha repetidamente os carrinhos de brinquedo disponíveis na sala em fileiras retas, mostrando-se incomodado quando a mãe tenta reorganizá-los. A mãe relata também que Pedro tapa os ouvidos com frequência em ambientes barulhentos, como supermercados. Não há relato de perda de habilidades previamente adquiridas nem sinais sugestivos de outras condições médicas associadas.

Esse caso foi elaborado deliberadamente para reunir sinais de alerta compatíveis com um quadro de TEA — déficit de atenção compartilhada, ausência de apontar, comportamento repetitivo com objetos e hiper-reatividade sensorial —, mas apresentados de forma sutil e

entremeados a uma queixa materna inespecífica (“é quietinho”), reproduzindo a dificuldade real de reconhecimento desses quadros na rotina da atenção primária, discutida na Introdução e na seção 2.8 deste trabalho. Ao final da discussão, esperou-se que os participantes cheguem, de forma independente, à indicação de aplicação do M-CHAT-R/F e ao encaminhamento de Pedro para avaliação especializada, consolidando, na prática, o raciocínio clínico que se pretendeu desenvolver com o programa.

4.2.4 Avaliação da intervenção

Dado o caráter exploratório deste relato de experiência, a avaliação do programa de capacitação baseou-se no desenvolvimento percebido de competências relacionadas à detecção precoce do TEA e à disseminação do conhecimento. As evidências de impacto foram inferidas a partir do engajamento dos participantes nas atividades síncronas, das contribuições às discussões de casos e da confiança reportada no reconhecimento de sinais precoces, na tomada de decisões clínicas e na atuação como formadores em suas comunidades.

5 RESULTADOS

Os resultados desta pesquisa serão apresentados no formato de três artigos que foram elaborados e submetidos a periódicos científicos. O texto completo dos resultados deste projeto, o qual foi fonte e base para elaboração dos respectivos artigos, é apresentado na íntegra na seção Apêndice.

Artigo 1: *Methylenetetrahydrofolate Reductase Variants, Metabolic Biomarkers, and Health Workforce Training for Early Identification of Autism Spectrum Disorder: A Multidimensional Approach*

Revista: *Early Intervention in Psychiatry* - Com foco no diagnóstico precoce e no tratamento de todos os problemas e transtornos de saúde mental, a revista *Early Intervention in Psychiatry* promove a importância da intervenção precoce na prática psiquiátrica. São bem-vindos artigos que abranjam todo o espectro dos transtornos psiquiátricos, bem como os mecanismos epidemiológicos, biológicos, psicológicos e sociais subjacentes que influenciam o surgimento desses transtornos. Serão considerados trabalhos nas seguintes áreas: questões diagnósticas, psicopatologia, epidemiologia clínica, mecanismos biológicos, tratamentos e outras formas de intervenção, ensaios clínicos, pesquisa em serviços de saúde e economia, e saúde mental.

Artigo 2: *Variantes do MTHFR, biomarcadores metabólicos e gravidade clínica do autismo*

Revista: *Revista de Saúde Pública* - Tendo por finalidade publicar contribuições científicas originais sobre temas relevantes para a saúde pública em geral, a *Revista de Saúde Pública* engloba artigos que têm como escopo: epidemiologia; nutrição e saúde; ambiente e saúde; políticas, planejamento e administração em saúde; desigualdades sociais em saúde; gênero e saúde; epidemiologia de doenças crônicas não transmissíveis e infecciosas; epidemiologia em serviços de saúde; infectologia; vigilância epidemiológica; saúde e trabalho; ergonomia; educação física; saúde reprodutiva; nutrição e alimentação em saúde pública; saúde da criança; bioestatística; atenção básica e atenção primária em saúde; atenção à saúde; ciência e tecnologia em saúde; sistemas de informação em saúde; economia da saúde; gestão em saúde; saúde bucal; saúde mental; saúde materno infantil; saúde do idoso; planejamento em saúde; política de saúde; gestão em saúde; racismo e iniquidades raciais em saúde; educação popular em saúde; saúde da população negra; saúde indígena, entre outros. Atualmente, a Revista é publicada em português e inglês e está indexada nas principais bases bibliográficas, como PubMed Central (PMC), PubMed/Medline, Web of Science, Scopus, Lilacs, entre outras.

Artigo 3: *Modelo de capacitação para detecção precoce do autismo na atenção primária*

Revista: *Revista de Saúde Pública* - Tendo por finalidade publicar contribuições científicas originais sobre temas relevantes para a saúde pública em geral, a *Revista de Saúde Pública* engloba artigos que têm como escopo: epidemiologia; nutrição e saúde; ambiente e saúde; políticas, planejamento e administração em saúde; desigualdades sociais em saúde; gênero e saúde; epidemiologia de doenças crônicas não transmissíveis e infecciosas; epidemiologia em serviços de saúde; infectologia; vigilância epidemiológica; saúde e trabalho; ergonomia; educação física; saúde reprodutiva; nutrição e alimentação em saúde pública; saúde da criança; bioestatística; atenção básica e atenção primária em saúde; atenção à saúde; ciência e tecnologia em saúde; sistemas de informação em saúde; economia da saúde; gestão em saúde; saúde bucal; saúde mental; saúde materno infantil; saúde do idoso; planejamento em saúde; política de saúde; gestão em saúde; racismo e iniquidades raciais em saúde; educação popular em saúde; saúde da população negra; saúde indígena, entre outros. Atualmente, a Revista é publicada em português e inglês e está indexada nas principais bases bibliográficas, como PubMed Central (PMC), PubMed/Medline, Web of Science, Scopus, Lilacs, entre outras.

5.1 Artigo 1

Methylenetetrahydrofolate Reductase Variants, Metabolic Biomarkers, and Health Workforce Training for Early Identification of Autism Spectrum Disorder: A Multidimensional Approach

Authors

Ana Cecília Novaes de Oliveira Roldan^a — corresponding author (anacecilianovaes@outlook.com); Bárbara Ponciano Costa^a (barbara.poncianoc@uel.br); Luiza Tacci Biolo de Abreu^a (luiza.tacci.abreu@uel.br); Mariana Ragassi Urbano, Ph.D.^{a,b} (mrurbano@uel.br); Regina Célia Rezende Machado, Ph.D.^c (reginamachado123@uel.br); Gustavo Aliano Gâmbaro (gustavo.gambaro@uel.br)^d; Isabella Cristina Chagas Rocha (isabella.rocha@uel.br)^d; Lucian Carlos Cardoso Machado (lucian.machado@uel.br)^d; Sandra Odebrecht Vargas Nunes, M.D., Ph.D.^a (sandraovargasnunes@gmail.com)

a Graduate Programme in Health Sciences, Health Sciences Centre, State University of Londrina (UEL), Londrina, Brazil.

b Department of Statistics, Exact Sciences Centre, State University of Londrina, Londrina, Brazil.

c Nursing Department, State University of Londrina, Londrina, Paraná, Brazil.

d Health Sciences Centre, State University of Londrina (UEL), Londrina, Brazil.

Corresponding author:

Ana Cecília Novaes de Oliveira Rolda

Address: Celso Garcia Cid, km 380, S/N – CEP – 86057-970

State University of Londrina, Londrina – PR, Brazil

E-mail address: anacecilianovaes@outlook.com

Abstract

Introduction: Autism spectrum disorder is a heterogeneous, highly heritable neurodevelopmental condition whose management depends on both its biological underpinnings and the capacity of primary care to recognise it early. This project examined two complementary dimensions: a folate-metabolism gene's contribution to clinical severity and metabolic profile, and the effect of structured training on primary care professionals' readiness for early detection.

Methods: In a cross-sectional study, 19 outpatients with autism spectrum disorder were genotyped for two functional variants of methylenetetrahydrofolate reductase; predicted enzymatic activity was compared against clinical severity, and serum folic acid and homocysteine were correlated in 17 participants. In parallel, a qualitative experience report described a 72-hour training programme, combining a trainer-cascade model with case-based learning, delivered to 47 primary care professionals across Brazil.

Results: No significant association emerged between predicted enzymatic activity and clinical severity ($p = 0.56$), constrained by low statistical power (reduced-activity group, $n = 5$). Serum folic acid and homocysteine were significantly and inversely correlated ($\rho = -0.52$, $p = 0.032$), independent of severity level. Training participants reported improved confidence in recognising early signs, using screening instruments, and organising referral pathways.

Conclusion: Although no genotype-severity association emerged, the folate-homocysteine correlation supports this pathway's clinical relevance in autism spectrum disorder. Combined with evidence that structured training strengthens frontline detection, these findings support a multidimensional strategy in which biological characterisation and workforce capacity-building jointly extend the window for early intervention.

Keywords

Autism Spectrum Disorder; Early Diagnosis; Homocysteine; Inservice Training; Methylenetetrahydrofolate Reductase; Polymorphism, Genetic; Primary Health Care

Practitioner Points

- Isolated genetic testing for autism spectrum disorder is not recommended, but awareness of folate-homocysteine metabolism may help clinicians identify patients who could benefit from biochemical work-up.
- A trainer-cascade model combined with case-based learning improved primary care professionals' confidence in recognising early signs of autism spectrum disorder and in using standardised screening tools.
- Pairing biological literacy with frontline workforce training may extend the practical reach of early-identification programmes, particularly where specialist services are scarce.

Introduction

Autism spectrum disorder (ASD) is a heterogeneous neurodevelopmental condition characterised by persistent deficits in social communication and interaction, alongside restricted and repetitive patterns of behaviour and interests, and is classified by severity into three support levels (American Psychiatric Association, 2022). Twin studies estimate that genetic factors account for 64-91% of cases, although the disorder is not attributable to a single gene but to the interaction of numerous rare and common variants with environmental influences during early brain development (Tick et al., 2016; Havdahl et al., 2021). Global prevalence has risen consistently, now reaching approximately 1 in 36 children (Maenner et al., 2023).

Among the genetic factors under investigation, functional polymorphisms of the folate-metabolism gene methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) have attracted growing attention for their potential influence on susceptibility and clinical severity, through effects on methylation capacity and homocysteine regulation. *MTHFR* genotyping should not be regarded as a diagnostic tool for ASD, but its variants may be clinically relevant when folate or homocysteine abnormalities are suspected. Serum autoantibodies against the folate receptor alpha have also been implicated in impaired central folate transport, with a pooled prevalence of around 71% among individuals with ASD (Rossignol & Frye, 2021).

Alongside this biological dimension, access to early diagnosis remains a major challenge. Early identification and intervention before three years of age are associated with better developmental outcomes, yet diagnosis continues to occur late in most settings: a systematic review and meta-analysis of 56 studies across 40 countries found a mean age at diagnosis of approximately 60 months, with attendant lifetime costs estimated at 1.4-2.4 million US dollars per

individual (van 't Hof et al., 2021; Buescher et al., 2014). Primary care professionals, as the first point of contact for families, frequently report low confidence in recognising early signs, contributing to diagnostic delays of two to three years.

This project was designed around the premise that these two dimensions - the molecular basis of ASD and the readiness of the primary care workforce to recognise it - are not independent but converge on the same developmental window of maximal neuroplasticity. A late diagnosis delays not only access to established behavioural therapies, but also the opportunity to investigate treatable metabolic contributors to a given patient's presentation. Understanding an individual patient's *MTHFR* status has limited clinical value unless a professional on the front line is equipped to recognise that patient in time. We therefore report two complementary studies: Study 1, a cross-sectional investigation of *MTHFR* variants, predicted enzymatic activity, and clinical severity, alongside the correlation between serum folic acid and homocysteine; and Study 2, an experience report describing a professional training programme designed to strengthen early identification of ASD in primary care. We argue that the practical link between these two axes - rather than either study in isolation - is the central contribution of this work.

Methods

Study 1: design, participants, and setting

We conducted a cross-sectional observational study with retrospective clinical data abstraction, in a convenience sample of outpatients with ASD followed at the Clinical Hospital of the State University of Londrina (UEL), Brazil, between 2025 and 2026. Eligible participants were aged 2-35 years, had a pre-existing specialist-confirmed diagnosis according to the fifth edition, text revision, of the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5-TR), and had both a structured clinical assessment and *MTHFR* genotyping results available.

Recruitment was conducted in 2025 through a regional support association for families of autistic individuals across four municipalities in the Londrina metropolitan area. Of approximately 200 families invited, 34 registered interest and 26 attended an initial visit for sociodemographic data and laboratory sampling (serum homocysteine, folic acid, vitamin B12, and genotyping). At a second, clinically focused visit, 22 participants completed the severity assessment; of these, 19 also had complete genotyping and met all eligibility criteria, forming the analytic sample for Study 1. To minimise the risk of sensory overload and behavioural dysregulation, patients attended only the second, structured visit; the first visit involved caregivers only.

Peripheral blood was genotyped for two functional *MTHFR* variants, 677C>T (rs1801133) and 1298A>C (rs1801131), with genotype consistency and Hardy-Weinberg equilibrium checked for each locus. Predicted enzymatic activity was derived from previously published genotype-function models, in which the wild-type genotype (677CC/1298AA) represents 100% activity; 677C>T reduces catalytic efficiency by approximately 35% in heterozygotes and 70% in variant homozygotes, while 1298A>C reduces activity through conformational change, with additive effects when combined (Frosst et al., 1995; van der Put et al., 1998). A 50% activity threshold, adopted as an analytic convention rather than a validated clinical cut-off, was used to dichotomise participants into preserved- and reduced-activity groups.

Severity was assessed using the Childhood Autism Rating Scale (CARS), translated and validated for Brazilian Portuguese (Pereira et al., 2008), applied to the 22 participants attending the structured visit, alongside DSM-5 support-level classification. Serum folic acid, vitamin B12, and total homocysteine were requested for all participants; paired folic acid and homocysteine values were available for 17 participants. Continuous variables were compared using Student's t-test or the Wilcoxon-Mann-Whitney test, and categorical variables using the chi-squared or Fisher's exact test, as appropriate (R Core Team, 2024); significance was set at $\alpha = 0.05$. The study protocol was approved by the Research Ethics Committee of the State University of Londrina (approval 78296724.0.0000.5231), and all participants provided informed consent in accordance with the Declaration of Helsinki.

Study 2: design, participants, and intervention

Study 2 was a qualitative experience report describing a pilot training programme to strengthen early identification of ASD in primary care, informed by implementation-science principles of capacity building and task-shifting. The programme, designed for Brazil's Unified Health System and its Psychosocial Care Network, was delivered to 47 primary care professionals (physicians, nurses, psychologists, social workers, and nutritionists) from different regions of Brazil, all voluntary participants. The 72-hour curriculum combined a Training-of-Trainers cascade model with case-based learning across synchronous and asynchronous activities, covering recognition of early signs, use of screening instruments - including the Modified Checklist for Autism in Toddlers, Revised with Follow-Up (M-CHAT-R/F), for children aged 16-30 months - and referral pathways. Given the exploratory nature of this report, evaluation relied on participant engagement, contribution to case discussions, and self-reported confidence in recognising early signs, making clinical decisions, and acting as knowledge multipliers.

Results

Study 1

Of 19 participants with complete genotyping, 14 (73.7%) had preserved (>50%) and 5 (26.3%) had reduced ($\leq 50\%$) predicted MTHFR activity; both groups were predominantly male (85.7% and 80.0%), consistent with the established male predominance in ASD. For 677C>T, genotype frequencies were CC 42.1%, CT 47.4%, and TT 10.5% (allele frequencies: C 65.8%, T 34.2%); for 1298A>C, AA 52.6%, AC 31.6%, and CC 15.8% (allele frequencies: A 68.4%, C 31.6%). Both variants were in Hardy-Weinberg equilibrium (677C>T: chi-squared = 0.052; 1298A>C: chi-squared = 1.377; both $p > 0.05$).

Sociodemographic, clinical, and gestational characteristics were homogeneous between activity groups, with no statistically significant differences for any variable (all $p > 0.05$; Table 1). Reduced-activity participants showed a numerically higher proportion classified as DSM-5 support level 1 (60.0% vs 28.6%), while preserved-activity participants were more often classified as level 2 (42.9% vs 20.0%); this difference was not statistically significant ($p = 0.56$) and, given that each of the five reduced-activity participants represents 20% of that group, should not be interpreted as evidence of a genotype-severity trend. Mean CARS scores were similar between groups (preserved: 30.73 $\pm$ 6.37; reduced: 29.7 $\pm$ 9.38; $p = 0.79$). An overlapping but non-identical subsample of 22 participants, stratified by CARS score around a median split, is described in Table 2; no statistically significant between-group differences emerged for any sociodemographic or perinatal variable, although a numerically higher proportion of participants with more severe symptoms required very substantial support (40.0% vs 8.3%), consistent with convergent validity between CARS and DSM-5 support levels.

Among the 17 participants with paired biochemical measurements, serum folic acid and homocysteine concentrations were significantly and negatively correlated (Spearman's $\rho = -0.52$, $p = 0.032$; Figure 1), independent of DSM-5 support level, indicating that higher folic acid concentrations tracked with lower homocysteine concentrations across the severity spectrum.

Study 2

All 47 participants engaged with synchronous and asynchronous activities, with particularly active participation in case-based discussions. Participants reported progressive improvement in recognising early signs of ASD - social communication deficits, restricted and repetitive behaviours, and developmental delay - and greater confidence in clinical decision-making, in using

screening instruments such as the M-CHAT-R/F, and in organising referral pathways. A notable outcome was participants' perceived readiness to act as knowledge multipliers within their own local services.

Discussion

Study 1 found no statistically significant association between predicted MTHFR activity and clinical severity, but this null result must be read against the study's limited statistical power: with 19 participants unevenly split (14 and 5), detecting a moderate effect (Cohen's $d = 0.5$) at 80% power would have required approximately 128 participants; the achieved power was below 20% (Cohen, 1988). This makes a type II error - concluding there is no effect when the study was simply underpowered to detect one - substantially more plausible than a true absence of biological association, and it also explains why our findings do not replicate the significant negative correlation between enzymatic activity and severity reported by Iannuzzelli et al. (2026) in a considerably larger cohort ($n = 78$).

By contrast, the significant inverse correlation between serum folic acid and homocysteine ($\rho = -0.52$, $p = 0.032$) is consistent with the established biochemistry of one-carbon metabolism, in which folate supplies methyl groups for the remethylation of homocysteine to methionine, and directly corroborates systematic-review evidence of reduced folate and vitamin B12 and elevated homocysteine in ASD relative to typically developing controls (Roufael et al., 2023; Avram et al., 2025). Case-control and meta-analytic evidence further links 677C>T to susceptibility, with the TT genotype consistently overrepresented among affected individuals (Guo et al., 2012; Pan et al., 2026), while findings for 1298A>C remain inconsistent (Li et al., 2020). Elevated homocysteine has also been linked to ASD diagnosis and to symptom severity in other cohorts (Li et al., 2022). These metabolic alterations likely reflect both genetic and dietary contributions, given the marked food selectivity often observed in this population, and support incorporating folate-homocysteine assessment into the metabolic work-up of selected patients, particularly *MTHFR* variant carriers.

Study 2 suggests that combining a Training-of-Trainers cascade with case-based learning is a feasible, potentially scalable strategy for strengthening early identification in primary care, consistent with systematic-review evidence that structured training improves physician knowledge, self-efficacy, and screening behaviour (Clarke & Fung, 2022; Guan et al., 2022), and with task-shifting approaches shown to be viable across diverse resource settings (Montiel-Nava et al., 2026). As an experience report describing a single implementation, its findings may not

generalise, and long-term effects on diagnostic rates and patient outcomes remain unmeasured; pre-post and longitudinal designs are needed.

Taken together, these two studies embody a multidimensional view of ASD that resists treating molecular biology and health-service organisation as separate problems, because in clinical practice they are not: both compete for the same scarce resource, namely time within the window of maximal neuroplasticity. Earlier identification, strengthened by structured training, increases the likelihood that patients will be evaluated in time for metabolic contributors - such as those investigated in Study 1 - to be considered; conversely, biological understanding of ASD can usefully inform what frontline professionals are taught to look for. Neither axis alone is sufficient: a clinically meaningful genetic or biochemical finding only translates into benefit for a family if a trained professional is positioned to recognise, and act on, that patient in time.

Limitations include the cross-sectional design, which precludes causal inference; the small reduced-activity group, which limited statistical power; incomplete systematic biochemical sampling; and a non-identical overlap between the two analytic subsamples ($n = 19$ and $n = 22$), reflecting logistic constraints on laboratory kit availability rather than a data-handling error. Study 2's single-site, single-cohort design similarly limits generalisability.

Conclusion

This project did not identify a significant association between predicted MTHFR activity and clinical severity in ASD, a finding best explained by limited statistical power rather than a true absence of effect. It did identify a significant inverse correlation between serum folic acid and homocysteine, supporting the clinical relevance of one-carbon metabolism in this population. In parallel, a structured, cascade-based training programme combining case-based learning improved primary care professionals' confidence and readiness to identify ASD early. Read together, these findings support a multidimensional strategy for ASD in which biological characterisation and health workforce capacity-building are complementary, not competing, priorities: strengthening one extends the practical reach of the other within the same critical developmental window. Future studies should combine adequate sample sizes and systematic biochemical measurement with longitudinal evaluation of training sustainability and its real-world impact on early detection and outcomes.

References

- American Psychiatric Association. (2022). Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed., text rev.). <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596>
- Avram, O. E., Bratu, E. A., Curis, C., Moroianu, L. A., & Drima, E. (2025). Modifiable nutritional biomarkers in autism spectrum disorder: A systematic review and meta-analysis of vitamin D, B12, and homocysteine exposure spanning prenatal development through late adolescence. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(9), 4410. <https://doi.org/10.3390/ijms26094410>
- Buescher, A. V., Cidav, Z., Knapp, M., & Mandell, D. S. (2014). Costs of autism spectrum disorders in the United Kingdom and the United States. *JAMA Pediatrics*, 168(8), 721–728. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2014.210>
- Clarke, L., & Fung, L. K. (2022). The impact of autism-related training programs on physician knowledge, self-efficacy, and practice behavior: A systematic review. *Autism*, 26(7), 1626–1640. <https://doi.org/10.1177/13623613221102016>
- Cohen, J. (1988). *Statistical power analysis for the behavioral sciences* (2nd ed.). Lawrence Erlbaum Associates.
- Frosst, P., Blom, H. J., Milos, R., Goyette, P., Sheppard, C. A., Matthews, R. G., et al. (1995). A candidate genetic risk factor for vascular disease: A common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genetics*, 10(1), 111–113. <https://doi.org/10.1038/ng0595-111>
- Guan, X., Zwaigenbaum, L., & Sonnenberg, L. K. (2022). Building capacity for community pediatric autism diagnosis: A systemic review of physician training programs. *Journal of Developmental and Behavioral Pediatrics*, 43(1), 44–54. <https://doi.org/10.1097/DBP.0000000000001042>
- Guo, T., Chen, H., Liu, B., Ji, W., & Yang, C. (2012). Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms C677T and risk of autism in the Chinese Han population. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 16(8), 968–973. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2012.0091>
- Havdahl, A., Niarchou, M., Starnawska, A., Uddin, M., van der Merwe, C., & Warrier, V. (2021). Genetic contributions to autism spectrum disorder. *Psychological Medicine*, 51(13), 2260–2273. <https://doi.org/10.1017/S0033291721000192>

- Iannuzzelli, C. C., Iannuzzelli, A. L., Cunha, B., Venkataraman, V., & Aita, W. (2026). Exploring the impact of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene variations on autism spectrum disorder severity. *Journal of Osteopathic Medicine*, 126(3), 113–117. <https://doi.org/10.1515/jom-2025-0004>
- Li, B., Xu, Y., Pang, D., Zhao, Q., Zhang, L., Li, M., et al. (2022). Interrelation between homocysteine metabolism and the development of autism spectrum disorder in children. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 15, 947513. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.947513>
- Li, Y., Qiu, S., Shi, J., Guo, Y., Li, Z., Cheng, Y., et al. (2020). Association between methylenetetrahydrofolate reductase C677T/A1298C and susceptibility to autism spectrum disorders: A meta-analysis. *BMC Pediatrics*, 20, 449. <https://doi.org/10.1186/s12887-020-02330-3>
- Maenner, M. J., Warren, Z., Williams, A. R., Amoakohene, E., Bakian, A. V., Bilder, D. A., et al. (2023). Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 sites, United States, 2020. *MMWR Surveillance Summaries*, 72(2), 1–14. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss7202a1>
- Montiel-Nava, C., Montenegro, M. C., Ramirez, A. C., Villarreal, V., Murillo Chacko, L., Dixon, P., & Dababnah, S. (2026). Scoping review: Facilitators, barriers, and cultural adaptations in the caregiver skills training program for children with developmental concerns. *Autism*, 30(3). <https://doi.org/10.1177/13623613251406399>
- Pan, Y., McDill, B., & Mooney, M. (2026). The contribution of ethnicity to the association of methylenetetrahydrofolate reductase variants C677T and A1298C with autism spectrum disorder: A meta-analysis. *Brain Sciences*, 16(1), 93. <https://doi.org/10.3390/brainsci16010093>
- Pereira, A. M., Riesgo, R. S., & Wagner, M. B. (2008). Childhood autism: Translation and validation of the Childhood Autism Rating Scale for use in Brazil. *Jornal de Pediatria*, 84(6), 487–494. <https://doi.org/10.2223/JPED.1828>
- R Core Team. (2024). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>

- Rossignol, D. A., & Frye, R. E. (2021). Cerebral folate deficiency, folate receptor alpha autoantibodies and leucovorin (folinic acid) treatment in autism spectrum disorders: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Personalized Medicine*, 11(11), 1141. <https://doi.org/10.3390/jpm11111141>
- Roufael, M., Bitar, T., Sacre, Y., Andres, C., & Hleihel, W. (2023). Folate-methionine cycle disruptions in ASD patients and possible interventions: A systematic review. *Genes*, 14(3), 709. <https://doi.org/10.3390/genes14030709>
- Tick, B., Bolton, P., Happé, F., Rutter, M., & Rijdsdijk, F. (2016). Heritability of autism spectrum disorders: A meta-analysis of twin studies. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 57(5), 585–595. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12499>
- van der Put, N. M. J., Gabreëls, F., Stevens, E. M. B., Smeitink, J. A. M., Trijbels, F. J. M., Eskes, T. K. A. B., et al. (1998). A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: An additional risk factor for neural-tube defects? *American Journal of Human Genetics*, 62(5), 1044–1051. <https://doi.org/10.1086/301825>
- van 't Hof, M., Tisseur, C., van Berckelaer-Onnes, I., van Nieuwenhuyzen, A., Daniels, A. M., Deen, M., et al. (2021). Age at autism spectrum disorder diagnosis: A systematic review and meta-analysis from 2012 to 2019. *Autism*, 25(4), 862–873. <https://doi.org/10.1177/1362361320971107>

Table 1. Sociodemographic, clinical, and gestational characteristics of the sample stratified by predicted MTHFR enzymatic activity (n = 19).

Variable	MTHFR >50% (n=14)	MTHFR ≤50% (n=5)	p-value*
Age; mean (SD)	12.86 (7.41)	8.80 (4.76)	0.08
Sex; n (%)			0.99
Female	2 (14.3%)	1 (20.0%)	
Male	12 (85.7%)	4 (80.0%)	
Race/Ethnicity; n (%)			0.79
Asian	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
White	7 (50.0%)	4 (80.0%)	
Mixed/Brown	5 (35.7%)	1 (20.0%)	
Black	2 (14.3%)	0 (0.0%)	
Educational level; n (%)			0.99
Early childhood education (preschool/nursery)	4 (28.6%)	2 (40.0%)	
Incomplete primary education	7 (50.0%)	2 (40.0%)	
Incomplete secondary education	2 (14.3%)	1 (20.0%)	
Complete secondary education	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
Complete higher education	1 (7.1%)	0 (0.0%)	
Currently attending school/educational institution; n (%)			0.73
Not attending	1 (7.1%)	0 (0.0%)	
Yes, special education (e.g., specialised unit within mainstream school)	3 (21.4%)	1 (20.0%)	
Yes, mainstream school (with therapeutic/support aide)	5 (35.7%)	3 (60.0%)	

Yes, mainstream school (without therapeutic/support aide)	1 (7.1%)	1 (20.0%)	
Yes, specialised institution	4 (28.6%)	0 (0.0%)	
Monthly household income (in minimum wages); n (%)			0.89
Up to 1 minimum wage	3 (21.4%)	0 (0.0%)	
1–3 minimum wages	6 (42.9%)	2 (40.0%)	
3–5 minimum wages	2 (14.3%)	1 (20.0%)	
5–10 minimum wages	3 (21.4%)	2 (40.0%)	
Other cases of autism spectrum disorder in the family?; n (%)			0.28
No	1 (7.1%)	2 (40.0%)	
Don't know / not reported	4 (28.6%)	1 (20.0%)	
Yes	9 (64.3%)	2 (40.0%)	
Maternal age at conception; mean (SD)	33.07 (4.16)	31.60 (5.77)	0.55
Did the mother take folic acid supplements BEFORE pregnancy?; n (%)			0.48
No	8 (57.1%)	2 (40.0%)	
Don't know / not reported	2 (14.3%)	0 (0.0%)	
Yes	4 (28.6%)	3 (60.0%)	
Did the mother take folic acid supplements DURING pregnancy?; n (%)			0.74
No	1 (7.1%)	1 (20.0%)	
Don't know / not reported	2 (14.3%)	0 (0.0%)	
Yes	11 (78.6%)	4 (80.0%)	

Did the mother take prenatal multivitamins during pregnancy?; n (%)			0.69
No	3 (21.4%)	2 (40.0%)	
Don't know / not reported	1 (7.1%)	0 (0.0%)	
Yes	10 (71.4%)	3 (60.0%)	
Paternal age at conception; mean (SD)	37.0 (6.46)	36.6 (5.41)	0.9
Birth weight (grams); mean (SD)	3228.62 (781.21)	3379.00 (504.46)	0.7
Delivery type; n (%)			0.53
Caesarean (elective)	6 (42.9%)	3 (60.0%)	
Caesarean (emergency)	4 (28.6%)	0 (0.0%)	
Vaginal delivery	4 (28.6%)	2 (40.0%)	
Complications during or shortly after birth; n (%)	6 (42.9%)	2 (40.0%)	0.99
Jaundice requiring treatment (phototherapy); n (%)	4 (66.7%)	0 (0.0%)	0.43
Neonatal intensive care unit admission; n (%)	3 (50.0%)	1 (50.0%)	0.99
Fetal distress; n (%)	3 (50.0%)	2 (100.0%)	0.46
Hypoxia (oxygen deprivation); n (%)	3 (50.0%)	2 (100.0%)	0.46
Developmental delay or regression; n (%)	11 (78.6%)	4 (80.0%)	0.99
DSM-5 support level required; n (%)			0.56
Level 1 (Requires support)	4 (28.6%)	3 (60.0%)	
Level 2 (Requires substantial support)	6 (42.9%)	1 (20.0%)	
Level 3 (Requires very substantial support)	4 (28.6%)	1 (20.0%)	

CARS score (Childhood Autism Rating Scale); mean (SD)	30.73 (6.37)	29.7 (9.38)	0.79
---	--------------	-------------	------

MTHFR, methylenetetrahydrofolate reductase; SD, standard deviation. *P-values were obtained using Student's t-test for independent samples or the Wilcoxon-Mann-Whitney test for continuous variables, and the chi-squared test or Fisher's exact test for categorical variables, as appropriate given statistical assumptions. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Source: prepared by the author, based on the study data.

Table 2. Sociodemographic, clinical, and gestational characteristics of the sample stratified by severity of CARS scores (n = 22).

Variable	CARS $\leq$30.5 (n=12)	CARS >30.5 (n=10)	p-value*
Age; mean (SD)	11.17 (7.96)	10.90 (4.41)	0.57
Sex; n (%)			0.22
Female	3 (25.0%)	0 (0.0%)	
Male	9 (75.0%)	10 (100.0%)	
Race/Ethnicity; n (%)			0.9
Asian	0 (0.0%)	1 (10.0%)	
White	7 (58.3%)	5 (50.0%)	
Mixed/Brown	4 (33.3%)	3 (30.0%)	
Black	1 (8.3%)	1 (10.0%)	
Educational level; n (%)			0.27
Early childhood education (preschool/nursery)	3 (25.0%)	4 (40.0%)	
Incomplete primary education	8 (66.7%)	4 (40.0%)	
Incomplete secondary education	0 (0.0%)	2 (20.0%)	
Complete secondary education	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
Complete higher education	1 (8.3%)	0 (0.0%)	
Currently attending school/educational institution; n (%)			0.25
Not attending	1 (8.3%)	0 (0.0%)	
Yes, special education (e.g., specialised unit within mainstream school)	1 (8.3%)	2 (20.0%)	
Yes, mainstream school (with therapeutic/support aide)	4 (33.3%)	5 (50.0%)	

Yes, mainstream school (without therapeutic/support aide)	4 (33.3%)	0 (0.0%)	
Yes, specialised institution	2 (16.7%)	3 (30.0%)	
Monthly household income (in minimum wages); n (%)			0.93
Up to 1 minimum wage	1 (8.3%)	2 (20.0%)	
1–3 minimum wages	6 (50.0%)	4 (40.0%)	
3–5 minimum wages	2 (16.7%)	2 (20.0%)	
5–10 minimum wages	3 (25.0%)	2 (20.0%)	
Other cases of autism spectrum disorder in the family?; n (%)			0.99
No	2 (16.7%)	1 (10.0%)	
Don't know / not reported	3 (25.0%)	2 (20.0%)	
Yes	7 (58.3%)	7 (70.0%)	
Maternal age at conception; mean (SD)	31.33 (4.23)	33.50 (4.86)	0.28
Did the mother take folic acid supplements BEFORE pregnancy?; n (%)			0.81
No	8 (66.7%)	6 (60.0%)	
Don't know / not reported	1 (8.3%)	0 (0.0%)	
Yes	3 (25.0%)	4 (40.0%)	
Did the mother take folic acid supplements DURING pregnancy?; n (%)			0.48
No	2 (16.7%)	0 (0.0%)	
Don't know / not reported	0 (0.0%)	1 (10.0%)	
Yes	10 (83.3%)	9 (90.0%)	

Did the mother take prenatal multivitamins during pregnancy?; n (%)			0.8
No	3 (25.0%)	3 (30.0%)	
Don't know / not reported	0 (0.0%)	1 (10.0%)	
Yes	9 (75.0%)	6 (60.0%)	
Paternal age at conception; mean (SD)	34.08 (5.68)	37.80 (7.20)	0.19
Birth weight (grams); mean (SD)	3155.0 (653.35)	3257.20 (728.95)	0.74
Delivery type; n (%)			0.38
Caesarean (elective)	6 (50.0%)	5 (50.0%)	
Caesarean (emergency)	1 (8.3%)	3 (30.0%)	
Vaginal delivery	5 (41.7%)	2 (20.0%)	
Complications during or shortly after birth; n (%)	6 (50.0%)	5 (50.0%)	0.99
Jaundice requiring treatment (phototherapy); n (%)	3 (50.0%)	1 (20.0%)	0.55
Neonatal intensive care unit admission; n (%)	1 (16.7%)	3 (60.0%)	0.24
Fetal distress; n (%)	3 (50.0%)	3 (50.0%)	0.99
Hypoxia (oxygen deprivation); n (%)	3 (50.0%)	3 (50.0%)	0.99
Developmental delay or regression; n (%)	7 (58.3%)	8 (80.0%)	0.38
DSM-5 support level required; n (%)			0.27
Don't know	1 (8.3%)	0 (0.0%)	
Level 1 (Requires support)	5 (41.7%)	2 (20.0%)	
Level 2 (Requires substantial support)	5 (41.7%)	4 (40.0%)	

Level 3 (Requires very substantial support)

1 (8.3%)

4 (40.0%)

CARS, Childhood Autism Rating Scale; SD, standard deviation. *P-values were obtained using Student's t-test for independent samples or the Wilcoxon-Mann-Whitney test for continuous variables, and the chi-squared test or Fisher's exact test for categorical variables, as appropriate given statistical assumptions. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Source: prepared by the author, based on the study data.

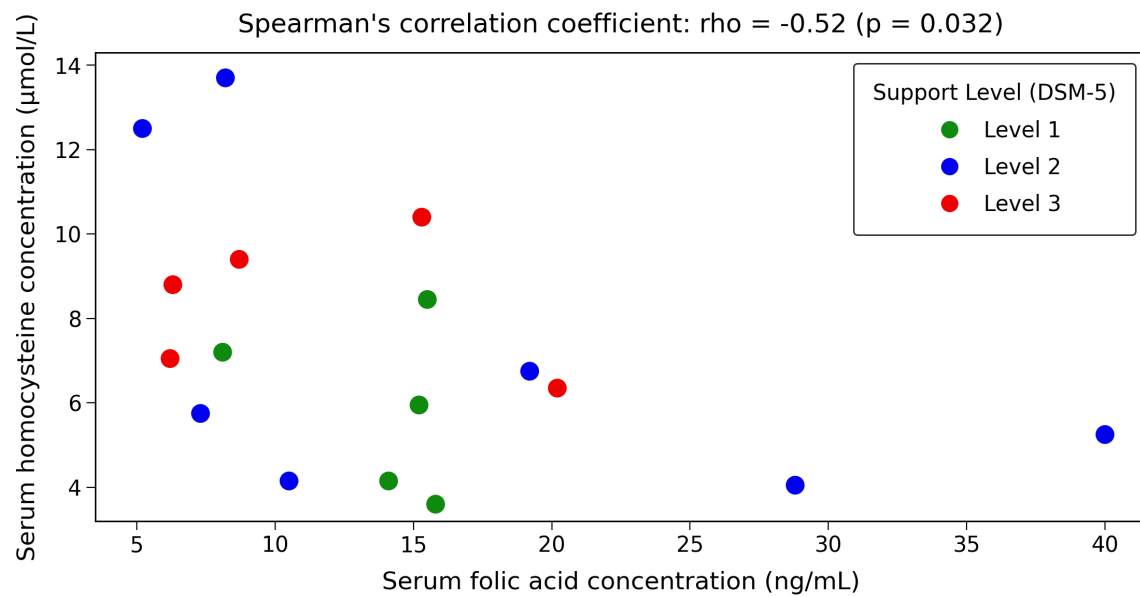


Figure 1. Scatter plot of serum folic acid (ng/mL) and homocysteine (μmol/L) concentrations in patients with autism spectrum disorder ($n = 17$), stratified by support level according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th edition (DSM-5). Spearman's correlation coefficient: $\rho = -0.52$ ($p = 0.032$).

Source: prepared by the author, based on the study data.

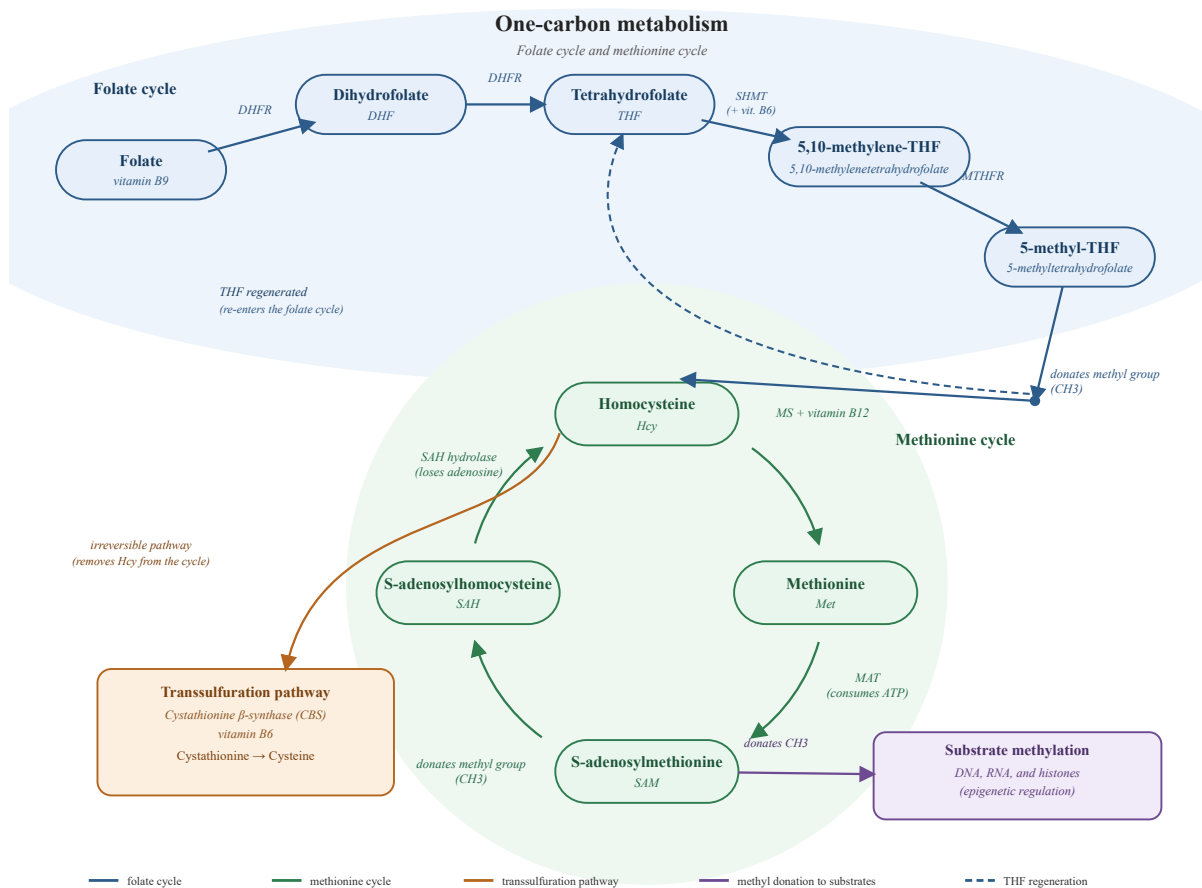


Figure 2. Folate cycle and methionine cycle, including the steps catalysed by dihydrofolate reductase (DHFR), serine hydroxymethyltransferase (SHMT), methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), methionine synthase (MS/vitamin B12), and cystathionine β-synthase (CBS/vitamin B6). Adapted from Roufael et al. (2023), distributed under a Creative Commons Attribution (CC BY) licence.

Source: prepared by the author with the assistance of artificial intelligence, adapted from Roufael et al. (2023).

Cover Letter

26 July 2026

Editorial Office

Early Intervention in Psychiatry

eip.eo@wiley.com

Dear Editor,

We are pleased to submit our manuscript, "Methylenetetrahydrofolate Reductase Variants, Metabolic Biomarkers, and Health Workforce Training for Early Identification of Autism Spectrum Disorder: A Multidimensional Approach," for consideration as an Original Article in Early Intervention in Psychiatry.

This manuscript reports two complementary studies conducted as part of a master's research project. Study 1 is a cross-sectional investigation of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genotype, predicted enzymatic activity, and clinical severity in 19 outpatients with autism spectrum disorder, including a correlation analysis between serum folic acid and homocysteine concentrations. Study 2 is an experience report describing a 72-hour training programme, combining a Training-of-Trainers cascade model with case-based learning, delivered to 47 primary care professionals across Brazil to strengthen early identification of autism spectrum disorder.

We believe this work is well suited to Early Intervention in Psychiatry because it addresses, in an integrated way, both the biological mechanisms that may underlie autism spectrum disorder and the health workforce capacity needed to translate early recognition into timely referral and intervention — squarely within the journal's stated interest in early recognition, diagnosis, biological mechanisms, and treatment across the full range of psychiatric and neurodevelopmental conditions. The manuscript's central contribution is not either study in isolation, but the argument that biological characterization and primary care training are complementary strategies that jointly extend the practical window for early intervention in autism spectrum disorder.

This manuscript has not been published previously and is not under consideration by any other journal. All authors have approved the manuscript and agree with its submission to Early Intervention in Psychiatry. The authors declare no conflict of interest. The study protocol was approved by the Research Ethics Committee of the State University of Londrina, and all participants (or their parent/guardian) provided informed consent in accordance with the Declaration of Helsinki.

Thank you for your consideration. We look forward to your response.

Yours sincerely,

Ana Cecília Novaes de Oliveira Roldan, M.D.

Corresponding author

Graduate Program in Health Sciences, Health Sciences Centre, State University of Londrina (UEL), Londrina, Brazil

anacecilianovaes@outlook.com

5.2 Artigo 2

Variantes do MTHFR, biomarcadores metabólicos e gravidade clínica do autismo

Título corrido: MTHFR e gravidade clínica do TEA

Title (English): MTHFR variants, metabolic biomarkers, and autism clinical severity

1 Ana Cecília Novaes de Oliveira Roldan^a — corresponding author
(anacecilianovaes@outlook.com) – ORCID: 0000-0002-5066-8143

2 Bárbara Ponciano Costa^a (barbara.poncianoc@uel.br) – ORCID: 0009-0009-3266-1018

3 Luiza Tacci Biolo de Abreu^a (luiza.tacci.abreu@uel.br) – ORCID: 0009-0006-6257-6031

4 Antonio Fernando Zabini^d (antonio.zabini@uel.br) – ORCID: 0009-0005-8331-4316

5 Mariana Ragassi Urbano, Ph.D.^{a,b} (mrurbano@uel.br) – ORCID: 0000-0002-5411-5554

6 Regina Célia Bueno Rezende Machado, Ph.D.^c (reginamachado123@uel.br) – ORCID: 0000-0001-5531-7345

7 Gustavo Aliano Gâmbaro (gustavo.gambaro@uel.br)^d – ORCID: 0000-0003-0115-0898

8 Isabella Cristina Chagas Rocha (isabella.rocha@uel.br)^d – ORCID: 0000-0001-5096-2089

9 Lucian Carlos Cardoso Machado (lucian.machado@uel.br)^d – ORCID: 0009-0004-1662-1992

10 Sandra Odebrecht Vargas Nunes, M.D., Ph.D.^a (sandraovargasnunes@gmail.com) – ORCID: 0000-0003-4851-6121

a Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.

b Departamento de Estatística, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.

c Departamento de Enfermagem, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.

d Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.

RESUMO

OBJETIVO: Investigar se a atividade enzimática predita da metilenotetraidrofolato redutase (MTHFR) está associada à gravidade clínica do Transtorno do Espectro Autista (TEA) e explorar a correlação entre as concentrações séricas de ácido fólico e homocisteína em pacientes com TEA.

MÉTODOS: Estudo observacional transversal, com amostra de conveniência de pacientes ambulatoriais com TEA em acompanhamento psiquiátrico de rotina em hospital universitário no Sul do Brasil, entre 2025 e 2026. Participantes com genotipagem completa para as variantes MTHFR 677C>T e 1298A>C ($n = 19$) foram estratificados em atividade enzimática preservada ($>50\%$) ou reduzida ($\leq 50\%$), com base em modelos genótipo-função publicados. A gravidade clínica foi avaliada pela Childhood Autism Rating Scale (CARS) e pelos níveis de suporte do DSM-5 ($n = 22$). Concentrações séricas de ácido fólico e homocisteína foram correlacionadas em subamostra pareada ($n = 17$) por meio do coeficiente de Spearman.

RESULTADOS: Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de atividade enzimática preservada e reduzida quanto a características sociodemográficas, gestacionais ou escores da CARS (todos $p > 0,05$). A distribuição dos níveis de suporte do DSM-5 diferiu numericamente entre os grupos, sem significância estatística ($p = 0,56$). Observou-se correlação negativa e estatisticamente significativa entre as concentrações séricas de ácido fólico e homocisteína ($\rho = -0,52$; $p = 0,032$; $n = 17$).

CONCLUSÕES: A atividade enzimática predita do MTHFR não se associou à gravidade clínica do TEA nesta amostra piloto, resultado provavelmente limitado pelo baixo poder estatístico (grupo de atividade reduzida, $n = 5$). A correlação inversa entre ácido fólico e homocisteína reforça a relevância clínica da via metabólica do carbono-1 no TEA e sustenta a viabilidade de incorporar o rastreio desses biomarcadores à rotina assistencial do Sistema Único de Saúde, como estratégia exploratória de estratificação de risco metabólico.

DESCRITORES: Transtorno do Espectro Autista; Metilenotetraidrofolato Redutase (NADPH2); Ácido Fólico; Homocisteína; Biomarcadores; Polimorfismo Genético; Atenção Primária à Saúde

INTRODUÇÃO

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma condição heterogênea do neurodesenvolvimento, classificada em três níveis de suporte conforme a gravidade dos déficits de comunicação social e dos padrões restritos e repetitivos de comportamento¹. Sua prevalência global tem aumentado de forma consistente, atingindo aproximadamente 1 em cada 36 crianças². Meta-análises de estudos de gêmeos estimam que fatores genéticos respondem por 64% a 91% dos casos³, mas o TEA é reconhecido como condição poligênica complexa, associada a mais de uma centena de genes de risco que interagem com fatores ambientais ao longo do desenvolvimento pré e perinatal⁴.

Entre os fatores genéticos investigados, os polimorfismos do gene da metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) têm recebido atenção crescente por sua influência no metabolismo do folato, na capacidade de metilação e na regulação da homocisteína. O gene MTHFR codifica a enzima que catalisa a conversão de 5,10-metilenotetrahidrofolato em 5-metiltetrahidrofolato — forma predominante do folato circulante e principal doadora de grupos metila para a remetilação da homocisteína em metionina⁵. Dois polimorfismos funcionais são particularmente relevantes: o 677C>T, que reduz a atividade enzimática em aproximadamente 35% no heterozigoto e 70% no homozigoto variante; e o 1298A>C, que compromete a catálise por alterações conformacionais, com efeitos aditivos quando combinados^{6,7}. A redução da atividade da MTHFR resulta em acúmulo de homocisteína, redução do folato circulante disponível e diminuição da síntese de S-adenosilmetionina, o principal doador de grupos metila para a metilação do DNA.

Uma metanálise recente confirmou que crianças com TEA apresentam concentrações séricas de homocisteína significativamente elevadas e de vitamina B12 e vitamina D significativamente reduzidas em comparação com controles de desenvolvimento típico⁸. Estudos de caso-controle e metanálises relataram associação entre o polimorfismo 677TT e maior suscetibilidade ao TEA de forma consistente entre populações^{9,10}, embora os achados para o 1298A>C permaneçam nulos ou inconsistentes¹¹ e a heterogeneidade entre estudos primários isolados seja considerável^{12,13}. Além da suscetibilidade, evidências emergentes sugerem que a atividade funcional do MTHFR pode modular a gravidade clínica: um estudo em coorte de 78 indivíduos com TEA encontrou correlação negativa entre atividade do MTHFR e gravidade pelo DSM-5¹⁴, enquanto outro estudo associou homocisteína elevada ao diagnóstico de TEA e baixas concentrações de folato à maior gravidade clínica¹⁵.

Do ponto de vista de saúde pública, a hipótese de que biomarcadores metabólicos acessíveis — folato, vitamina B12 e homocisteína séricos — possam se relacionar à apresentação clínica do TEA é particularmente relevante para sistemas de saúde universais como o Sistema Único de Saúde (SUS), nos quais exames bioquímicos de rotina têm cobertura e custo muito mais favoráveis do que a genotipagem molecular. Caso essa relação se confirme em estudos futuros com maior poder amostral, o rastreamento metabólico poderia constituir estratégia de estratificação de risco mais equitativa e escalável do que a genotipagem isolada, cujo acesso permanece concentrado em centros de referência. Este estudo teve como objetivo investigar se a atividade enzimática predita do MTHFR está associada à gravidade clínica do TEA e explorar a correlação entre as concentrações séricas de ácido fólico e homocisteína em pacientes com TEA.

MÉTODOS

Estudo observacional transversal, com abstração retrospectiva de dados clínicos, conduzido com amostra de conveniência de pacientes ambulatoriais com TEA em acompanhamento psiquiátrico de rotina no Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Londrina (UEL), Brasil, entre 2025 e 2026. Os participantes eram elegíveis se tivessem entre 2 e 35 anos de idade, preenchessem os critérios diagnósticos do DSM-5-TR para TEA — confirmados por avaliação especializada —, e possuísem avaliação clínica e resultado de genotipagem para variantes do MTHFR disponíveis em prontuário.

O recrutamento foi realizado em 2025 por meio de convites a um grupo de apoio a famílias de indivíduos com autismo de quatro municípios da região metropolitana de Londrina, Paraná. De aproximadamente 200 famílias convidadas, 34 manifestaram interesse, 26 compareceram a um primeiro encontro para coleta sociodemográfica e solicitação de exames laboratoriais (homocisteína, ácido fólico, vitamina B12 e genotipagem do MTHFR), e 22 compareceram a uma segunda visita, na qual foi aplicada a Childhood Autism Rating Scale (CARS), traduzida e validada para o português brasileiro¹⁶. Desses, 19 possuíam genotipagem completa e constituíram a amostra estratificada por atividade enzimática (análise primária). Os três participantes com CARS disponível, mas sem genotipagem completa, foram mantidos na análise descritiva por gravidade da CARS (n = 22). A presença dos pacientes foi solicitada apenas na segunda visita, para minimizar o risco de sobrecarga sensorial e desregulação comportamental durante a coleta de dados dos cuidadores.

A genotipagem, conduzida em laboratórios certificados a partir de sangue periférico, focou nas variantes 677C>T (rs1801133) e 1298A>C (rs1801131), com verificação do equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) para controle de qualidade. A atividade enzimática predita foi derivada de modelos genótipo-função publicados, considerando o genótipo selvagem como referência (100%) e atribuindo reduções conforme a presença e combinação dos alelos variantes^{6,7}. O ponto de corte de $\leq 50\%$ foi adotado como convenção analítica para dicotomizar a atividade enzimática combinada em dois grupos comparáveis, situando-se entre a atividade residual aproximada do heterozigoto e do homozigoto variante do 677C>T isoladamente.

O nível de suporte foi classificado conforme o DSM-5¹. Concentrações séricas de ácido fólico, vitamina B12 e homocisteína total foram solicitadas a todos os participantes, com dosagens pareadas de ácido fólico e homocisteína disponíveis em 17 participantes, conforme a disponibilidade de kits laboratoriais no período do estudo. As análises estatísticas foram realizadas em R (R Core Team, 2024). Variáveis contínuas foram expressas como média (desvio padrão) e comparadas por teste t de Student ou teste de Wilcoxon–Mann–Whitney, conforme a normalidade (Shapiro–Wilk). Variáveis categóricas foram comparadas por qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fisher. Adotou-se $\alpha = 0,05$. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UEL (nº 78296724.0.0000.5231), com consentimento informado conforme a Declaração de Helsinque.

RESULTADOS

Dos 19 participantes com genotipagem completa, 14 (73,7%) foram classificados como tendo atividade enzimática preservada ($>50\%$) e 5 (26,3%) como tendo atividade reduzida ($\leq 50\%$). O predomínio do sexo masculino em ambos os grupos (85,7% e 80,0%) foi consistente com a razão masculino:feminino de aproximadamente 4:1 relatada em estudos populacionais de TEA.

Para a variante 677C>T, as frequências genotípicas foram: CC em 8 (42,1%), CT em 9 (47,4%) e TT em 2 (10,5%), com frequência alélica de 34,2% para o alelo T. Para a 1298A>C: AA em 10 (52,6%), AC em 6 (31,6%) e CC em 3 (15,8%), com frequência alélica de 31,6% para o alelo C. Ambas as variantes estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg (677C>T: $\chi^2 = 0,052$; 1298A>C: $\chi^2 = 1,377$; $p > 0,05$ para ambas). O grupo de atividade reduzida ($n = 5$) foi composto exclusivamente pelos genótipos combinados 677CT/1298AC ($n = 3$) ou 677TT/1298AA ($n = 2$).

A Tabela 1 resume a comparação de características sociodemográficas, socioeconômicas e gestacionais entre os grupos estratificados por atividade do MTHFR, sem diferenças estatisticamente significativas em nenhuma variável (todos $p > 0,05$). Quanto à gravidade, o grupo de atividade reduzida apresentou proporção numericamente maior no Nível 1 do DSM-5 (60,0% vs. 28,6%), e o grupo de atividade preservada, no Nível 2 (42,9% vs. 20,0%), diferença sem significância estatística ($p = 0,56$). Os escores médios da CARS foram semelhantes entre os grupos (atividade preservada: $30,73 \pm 6,37$; reduzida: $29,7 \pm 9,38$; $p = 0,79$). Dado que o grupo de atividade reduzida continha apenas 5 indivíduos, cada participante correspondia a 20% das proporções grupais, o que limita severamente a interpretação de qualquer padrão distribucional observado.

A Tabela 2 apresenta a comparação estratificada pela gravidade da CARS ($\leq 30,5$ vs. $> 30,5$) na subamostra de 22 participantes com avaliação clínica completa. Não houve diferenças estatisticamente significativas para nenhuma variável sociodemográfica, perinatal ou gestacional, embora uma proporção numericamente maior de indivíduos com sintomas mais graves necessitasse de suporte muito substancial (Nível 3: 40,0% vs. 8,3%), consistente com validade convergente entre a CARS e os níveis de suporte do DSM-5.

Entre os 19 participantes do Estudo 1, 17 possuíam dosagens pareadas de ácido fólico e homocisteína. A Figura 1 apresenta a dispersão dessas concentrações, estratificadas por nível de suporte. A análise de correlação de Spearman revelou correlação negativa e estatisticamente significativa entre ácido fólico e homocisteína séricos ($\rho = -0,52$; $p = 0,032$; $n = 17$), indicando que maiores concentrações de ácido fólico se associam a menores concentrações de homocisteína, de forma consistente entre os diferentes níveis de suporte do DSM-5.

DISCUSSÃO

Neste estudo piloto, não foram identificadas associações estatisticamente significativas entre a atividade enzimática predita do MTHFR e os desfechos clínicos avaliados, incluindo os níveis de suporte do DSM-5 e os escores da CARS. Com $n = 19$ distribuídos em grupos de tamanhos desiguais (14 e 5), o poder estatístico estimado era inferior a 20% para efeitos de magnitude moderada (d de Cohen = 0,5)¹⁷, tornando substancial o risco de erro tipo II — isto é, de concluir ausência de efeito quando o estudo simplesmente não teve condições de detectá-lo. Esse achado não reproduz a correlação negativa entre atividade do MTHFR e gravidade do TEA relatada por Iannuzzelli et al.¹⁴ em uma coorte de 78 indivíduos, divergência mais plausivelmente

explicada pelo tamanho amostral insuficiente do presente estudo do que por contradição biológica.

Por outro lado, a correlação negativa e estatisticamente significativa entre ácido fólico e homocisteína séricos ($\rho = -0,52$; $p = 0,032$) constitui o achado mais robusto deste trabalho e é biologicamente coerente: o folato, ao fornecer grupos metila para a remetilação da homocisteína em metionina, é determinante central das concentrações de homocisteína circulante. Esse achado é consistente com estudos que associaram homocisteína elevada ao diagnóstico de TEA¹⁵ e com a metanálise de Avram et al.⁸, que confirmou elevação de homocisteína e redução de folato e vitamina B12 em crianças com TEA. O papel do polimorfismo 677C>T na suscetibilidade ao TEA foi corroborado por estudos caso-controle em diferentes populações^{9,18}, embora a magnitude do efeito varie conforme o contexto populacional e o tamanho amostral¹².

Do ponto de vista de saúde pública, esse conjunto de achados sustenta a viabilidade de incorporar a dosagem de ácido fólico, vitamina B12 e homocisteína — exames já disponíveis na rede laboratorial do SUS a custo muito inferior ao da genotipagem molecular — como estratégia exploratória de estratificação de risco metabólico em pacientes com TEA, particularmente em regiões com acesso limitado a testes genéticos. Uma abordagem baseada em biomarcadores bioquímicos de rotina poderia ampliar o acesso equitativo à investigação metabólica do TEA para além dos centros de referência universitários, nos quais a genotipagem geralmente está concentrada.

Este estudo possui limitações relevantes: o delineamento transversal impede inferência causal; o pequeno tamanho do grupo de atividade enzimática reduzida ($n = 5$) gera poder estatístico insuficiente; a indisponibilidade de dosagens bioquímicas sistemáticas para todos os participantes (17 de 19) limitou a análise mecanística completa; e a diferença de tamanho amostral entre a análise estratificada por MTHFR ($n = 19$) e por gravidade da CARS ($n = 22$), decorrente da falta de kits laboratoriais para um subconjunto de participantes, impede comparação direta entre as duas tabelas. Essas limitações devem ser endereçadas em estudos futuros multicêntricos, com poder amostral adequado e coleta simultânea e completa de todas as variáveis clínicas, genéticas e bioquímicas — idealmente conduzidos em múltiplos serviços do SUS, de modo a testar a generalização destes achados exploratórios e a viabilidade operacional do rastreio metabólico em diferentes contextos assistenciais do país.

Em conclusão, a atividade enzimática predita do MTHFR não se associou à gravidade clínica do TEA nesta amostra piloto, resultado provavelmente atribuível ao baixo poder estatístico

do grupo de atividade reduzida. A correlação negativa e significativa entre ácido fólico e homocisteína reforça a relevância clínica da via metabólica do carbono-1 no TEA e aponta para a viabilidade de incorporar biomarcadores metabólicos acessíveis à investigação clínica de pacientes com TEA no SUS, como hipótese a ser testada em estudos prospectivos de maior escala.

REFERÊNCIAS

1. American Psychiatric Association. Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais. 5ª ed. Revisão de Texto (DSM-5-TR). Washington (DC): American Psychiatric Publishing; 2022. doi:10.1176/appi.books.9780890425596
2. Maenner MJ, Warren Z, Williams AR, Amoakohene E, Bakian AV, Bilder DA, et al. Prevalence and Characteristics of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2020. *MMWR Surveill Summ.* 2023;72(2):1–14. doi:10.15585/mmwr.ss7202a1
3. Tick B, Bolton P, Happé F, Rutter M, Rijdsdijk F. Heritability of autism spectrum disorders: a meta-analysis of twin studies. *J Child Psychol Psychiatry.* 2016;57(5):585–595. doi:10.1111/jcpp.12499
4. Havdahl A, Niarchou M, Starnawska A, Uddin M, van der Merwe C, Warriier V. Genetic contributions to autism spectrum disorder. *Psychol Med.* 2021;51(13):2260–2273. doi:10.1017/S0033291721000192
5. Goyette P, Sumner JS, Milos R, Duncan AM, Rosenblatt DS, Matthews RG, et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat Genet.* 1994;7(2):195–200. doi:10.1038/ng0694-195
6. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet.* 1995;10(1):111–113. doi:10.1038/ng0595-111
7. van der Put NMJ, Gabreëls F, Stevens EMB, Smeitink JAM, Trijbels FJM, Eskes TKAB, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet.* 1998;62(5):1044–1051. doi:10.1086/301825
8. Avram OE, Bratu EA, Curis C, Moroianu LA, Drima E. Modifiable nutritional biomarkers in autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis of vitamin D, B12, and homocysteine exposure spanning prenatal development through late adolescence. *Int J Mol Sci.* 2025;26(9):4410. doi:10.3390/ijms26094410
9. Guo T, Chen H, Liu B, Ji W, Yang C. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms C677T and risk of autism in the Chinese Han population. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2012;16(8):968–973. doi:10.1089/gtmb.2012.0091

10. Pan Y, McDill B, Mooney M. The contribution of ethnicity to the association of MTHFR variants C677T and A1298C with autism spectrum disorder: a meta-analysis. *Brain Sci.* 2026;16(1):93. doi:10.3390/brainsci16010093
11. Li Y, Qiu S, Shi J, Guo Y, Li Z, Cheng Y, et al. Association between MTHFR C677T/A1298C and susceptibility to autism spectrum disorders: a meta-analysis. *BMC Pediatr.* 2020;20:449. doi:10.1186/s12887-020-02330-3
12. Sener EF, Oztop DB, Ozkul Y. MTHFR gene C677T polymorphism in autism spectrum disorders. *Genet Res Int.* 2014;2014:698574. doi:10.1155/2014/698574
13. Fang Y, Cui Y, Yin Z, Hou M, Guo P, Wang H, et al. Comprehensive systematic review and meta-analysis of the association between common genetic variants and autism spectrum disorder. *Gene.* 2023;887:147723. doi:10.1016/j.gene.2023.147723
14. Iannuzzelli CC, Iannuzzelli AL, Cunha B, Venkataraman V, Aita W. Exploring the impact of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene variations on autism spectrum disorder severity. *J Osteopath Med.* 2026;126(3):113–117. doi:10.1515/jom-2025-0004
15. Li B, Xu Y, Pang D, Zhao Q, Zhang L, Li M, et al. Interrelation between homocysteine metabolism and the development of autism spectrum disorder in children. *Front Mol Neurosci.* 2022;15:947513. doi:10.3389/fnmol.2022.947513
16. Pereira AM, Riesgo RS, Wagner MB. Childhood autism: translation and validation of the Childhood Autism Rating Scale for use in Brazil. *J Pediatr (Rio J).* 2008;84(6):487–494. doi:10.2223/JPED.1828
17. Cohen J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences.* 2nd ed. Hillsdale (NJ): Lawrence Erlbaum Associates; 1988.
18. El-Baz F, El-Aal MA, Kamal TM, Sadek AA, Othman AA. Study of the C677T and 1298AC polymorphic genotypes of MTHFR gene in autism spectrum disorder. *Electron Physician.* 2017;9(5):5287–5293. doi:10.19082/5287

Tabela 1. Características sociodemográficas, clínicas e gestacionais da amostra estratificada conforme o perfil de atividade enzimática do MTHFR (n = 19).

Variável	MTHFR > 50% (n=14)	MTHFR ≤ 50% (n=5)	valor de p^a
Idade; média (d.p.)	12,86 (7,41)	8,80 (4,76)	0,08
Sexo; n(%)			0,99
Feminino	2 (14,3%)	1 (20,0%)	
Masculino	12 (85,7%)	4 (80,0%)	
Raça/Etnia; n(%)			0,79
Asiática	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Branca	7 (50,0%)	4 (80,0%)	
Parda/Mista	5 (35,7%)	1 (20,0%)	
Preta	2 (14,3%)	0 (0,0%)	
Nível de escolaridade; n(%)			0,99
Educação Infantil (Pré-escola/Creche)	4 (28,6%)	2 (40,0%)	
Ensino Fundamental Incompleto	7 (50,0%)	2 (40,0%)	
Ensino Médio Incompleto	2 (14,3%)	1 (20,0%)	
Ensino Médio Completo	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Ensino Superior Completo	1 (7,1%)	0 (0,0%)	
Frequenta atualmente escola ou instituição de ensino; n(%)			0,73
Não frequenta	1 (7,1%)	0 (0,0%)	
Sim, educação especial (ex.: sala especializada em escola regular)	3 (21,4%)	1 (20,0%)	

Sim, escola regular (com acompanhante terapêutico/profissional de apoio)	5 (35,7%)	3 (60,0%)	
Sim, escola regular (sem acompanhante terapêutico/profissional de apoio)	1 (7,1%)	1 (20,0%)	
Sim, instituição especializada	4 (28,6%)	0 (0,0%)	
Renda familiar mensal (em salários-mínimos); n(%)			0,89
Até 1 salário-mínimo	3 (21,4%)	0 (0,0%)	
De 1 a 3 salários- mínimos	6 (42,9%)	2 (40,0%)	
De 3 a 5 salários- mínimos	2 (14,3%)	1 (20,0%)	
De 5 a 10 salários- mínimos	3 (21,4%)	2 (40,0%)	
Há outros casos de Transtorno do Espectro Autista (TEA) na família? n(%)			0,28
Não	1 (7,1%)	2 (40,0%)	
Não sabe / Não soube informar	4 (28,6%)	1 (20,0%)	
Sim	9 (64,3%)	2 (40,0%)	
Idade materna no momento da concepção; n(%)	33,07 (4,16)	31,60 (5,77)	0,55
A mãe tomou suplementos de ácido			0,48

fólico ANTES de engravidar?; n(%)			
Não	8 (57,1%)	2 (40,0%)	
Não sabe / Não soube informar	2 (14,3%)	0 (0,0%)	
Sim	4 (28,6%)	3 (60,0%)	
A mãe tomou suplementos de ácido fólico DURANTE a gravidez?; n(%)			0,74
Não	1 (7,1%)	1 (20,0%)	
Não sabe / Não soube informar	2 (14,3%)	0 (0,0%)	
Sim	11 (78,6%)	4 (80,0%)	
A mãe tomou polivitamínicos pré-natais durante a gravidez?; n(%)			0,69
Não	3 (21,4%)	2 (40,0%)	
Não sabe / Não soube informar	1 (7,1%)	0 (0,0%)	
Sim	10 (71,4%)	3 (60,0%)	
Idade paterna no momento da concepção	37,0 (6,46)	36,6 (5,41)	0,9
Peso ao nascer (gramas); média (d.p.)	3228,62 (781,21)	3379,00 (504,46)	0,7
Tipo de parto; n(%)			0,53
Cesariana (eletiva)	6 (42,9%)	3 (60,0%)	
Cesariana (de emergência)	4 (28,6%)	0 (0,0%)	
Parto vaginal (normal)	4 (28,6%)	2 (40,0%)	

Complicações durante o parto ou logo após o nascimento; n(%)	6 (42,9%)	2 (40,0%)	0,99
Icterícia com necessidade de tratamento (fototerapia); n(%)	4 (66,7%)	0,00%	0,43
Internação em UTI neonatal; n(%)	3 (50,0%)	1 (50,0%)	0,99
Sufrimento fetal; n(%)	3 (50,0%)	2 (100,0%)	0,46
Hipóxia (privação de oxigênio); n(%)	3 (50,0%)	2 (100,0%)	0,46
Atraso ou regressão do desenvolvimento; n(%)	11 (78,6%)	4 (80,0%)	0,99
Nível de suporte necessário, de acordo com o DSM-5; n(%)			0,56
Nível 1 (Requer suporte)	4 (28,6%)	3 (60,0%)	
Nível 2 (Requer suporte substancial)	6 (42,9%)	1 (20,0%)	
Nível 3 (Requer suporte muito substancial)	4 (28,6%)	1 (20,0%)	
Escala CARS (Childhood Autism Rating Scale); média (d.p.)	30,73 (6,37)	29,7 (9,38)	0,79

a Os valores de p foram obtidos por meio do teste t de Student para amostras independentes ou do teste de Wilcoxon-Mann-Whitney para variáveis contínuas, e do teste qui-quadrado de Pearson ou do teste exato de Fisher para variáveis categóricas, conforme apropriado de acordo com os pressupostos estatísticos. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Fonte: Elaborada pela autora, com base nos dados da pesquisa.

Tabela 2. Características sociodemográficas, clínicas e gestacionais da amostra estratificada conforme a gravidade dos escores da CARS ($\leq 30,5$ vs. $> 30,5$; $n = 22$).

Variável	CARS $\leq 30,5$ (n=12)	CARS $> 30,5$ (n=10)	valor de p ^a
Idade; média (d.p.)	11,17 (7,96)	10,90 (4,41)	0,57
Sexo; n(%)			0,22
Feminino	3 (25,0%)	0 (0,0%)	
Masculino	9 (75,0%)	10 (100,0%)	
Raça/Etnia; n(%)			0,9
Asiática	0 (0,0%)	1 (10,0%)	
Branca	7 (58,3%)	5 (50,0%)	
Parda/Mista	4 (33,3%)	3 (30,0%)	
Preta	1 (8,3%)	1 (10,0%)	
Nível de escolaridade; n(%)			0,27
Educação Infantil (Pré-escola/Creche)	3 (25,0%)	4 (40,0%)	
Ensino Fundamental Incompleto	8 (66,7%)	4 (40,0%)	
Ensino Médio Incompleto	0 (0,0%)	2 (20,0%)	
Ensino Médio Completo	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Ensino Superior Completo	1 (8,3%)	0 (0,0%)	
Frequenta atualmente escola ou instituição de ensino; n(%)			0,25
Não frequenta	1 (8,3%)	0 (0,0%)	
Sim, educação especial (ex.: sala especializada em escola regular)	1 (8,3%)	2 (20,0%)	

Sim, escola regular (com acompanhante terapêutico/profissional de apoio)	4 (33,3%)	5 (50,0%)	
Sim, escola regular (sem acompanhante terapêutico/profissional de apoio)	4 (33,3%)	0 (0,0%)	
Sim, instituição especializada	2 (16,7%)	3 (30,0%)	
Renda familiar mensal (em salários-mínimos); n(%)			0,93
Até 1 salário-mínimo	1 (8,3%)	2 (20,0%)	
De 1 a 3 salários- mínimos	6 (50,0%)	4 (40,0%)	
De 3 a 5 salários- mínimos	2 (16,7%)	2 (20,0%)	
De 5 a 10 salários- mínimos	3 (25,0%)	2 (20,0%)	
Há outros casos de Transtorno do Espectro Autista (TEA) na família?; n(%)			0,99
Não	2 (16,7%)	1 (10,0%)	
Não sabe / Não soube informar	3 (25,0%)	2 (20,0%)	
Sim	7 (58,3%)	7 (70,0%)	
Idade materna no momento da concepção; n(%)	31,33 (4,23)	33,50 (4,86)	0,28
A mãe tomou suplementos de ácido			0,81

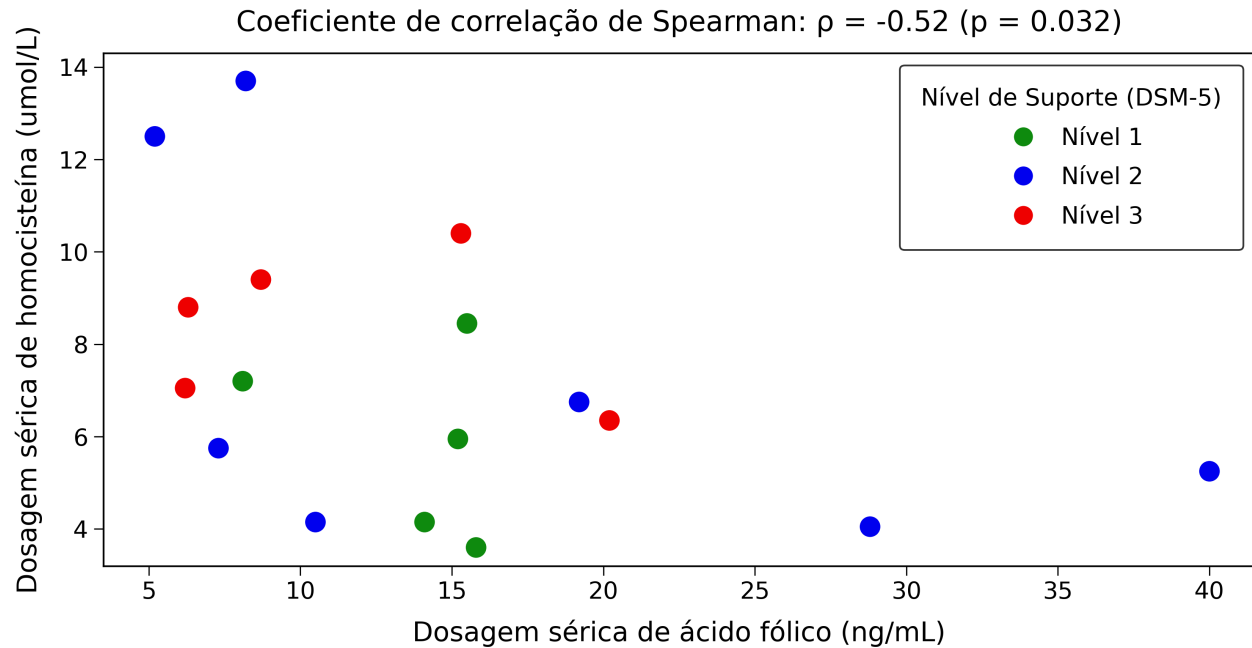
fólico ANTES de engravidar?; n(%)			
Não	8 (66,7%)	6 (60,0%)	
Não sabe / Não soube informar	1 (8,3%)	0 (0,0%)	
Sim	3 (25,0%)	4 (40,0%)	
A mãe tomou suplementos de ácido fólico DURANTE a gravidez?; n(%)			0,48
Não	2 (16,7%)	0 (0,0%)	
Não sabe / Não soube informar	0 (0,0%)	1 (10,0%)	
Sim	10 (83,3%)	9 (90,0%)	
A mãe tomou polivitamínicos pré-natais durante a gravidez?; n(%)			0,8
Não	3 (25,0%)	3 (30,0%)	
Não sabe / Não soube informar	0 (0,0%)	1 (10,0%)	
Sim	9 (75,0%)	6 (60,0%)	
Idade paterna no momento da concepção	34,08 (5,68)	37,80 (7,20)	0,19
Peso ao nascer (gramas); média (d.p.)	3155,0 (653,35)	3257,20 (728,95)	0,74
Tipo de parto; n(%)			0,38
Cesariana (eletiva)	6 (50,0%)	5 (50,0%)	
Cesariana (de emergência)	1 (8,3%)	3 (30,0%)	
Parto vaginal (normal)	5 (41,7%)	2 (20,0%)	

Complicações durante o parto ou logo após o nascimento; n(%)	6 (50,0%)	5 (50,0%)	0,99
Icterícia com necessidade de tratamento (fototerapia); n(%)	3 (50,0%)	1 (20,0%)	0,55
Internação em UTI neonatal; n(%)	1 (16,7%)	3 (60,0%)	0,24
Sufrimento fetal; n(%)	3 (50,0%)	3 (50,0%)	0,99
Hipóxia (privação de oxigênio); n(%)	3 (50,0%)	3 (50,0%)	0,99
Atraso ou regressão do desenvolvimento; n(%)	7 (58,3%)	8 (80,0%)	0,38
Nível de suporte necessário, de acordo com o DSM-5; n(%)			0,27
Não sabe	1 (8,3%)	0 (0,0%)	
Nível 1 (Requer suporte)	5 (41,7%)	2 (20,0%)	
Nível 2 (Requer suporte substancial)	5 (41,7%)	4 (40,0%)	
Nível 3 (Requer suporte muito substancial)	1 (8,3%)	4 (40,0%)	

a Os valores de p foram obtidos por meio do teste t de Student para amostras independentes ou do teste de Wilcoxon-Mann-Whitney para variáveis contínuas, e do teste qui-quadrado de Pearson ou do teste exato de Fisher para variáveis categóricas, conforme apropriado de acordo com os pressupostos estatísticos. Valores de p < 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

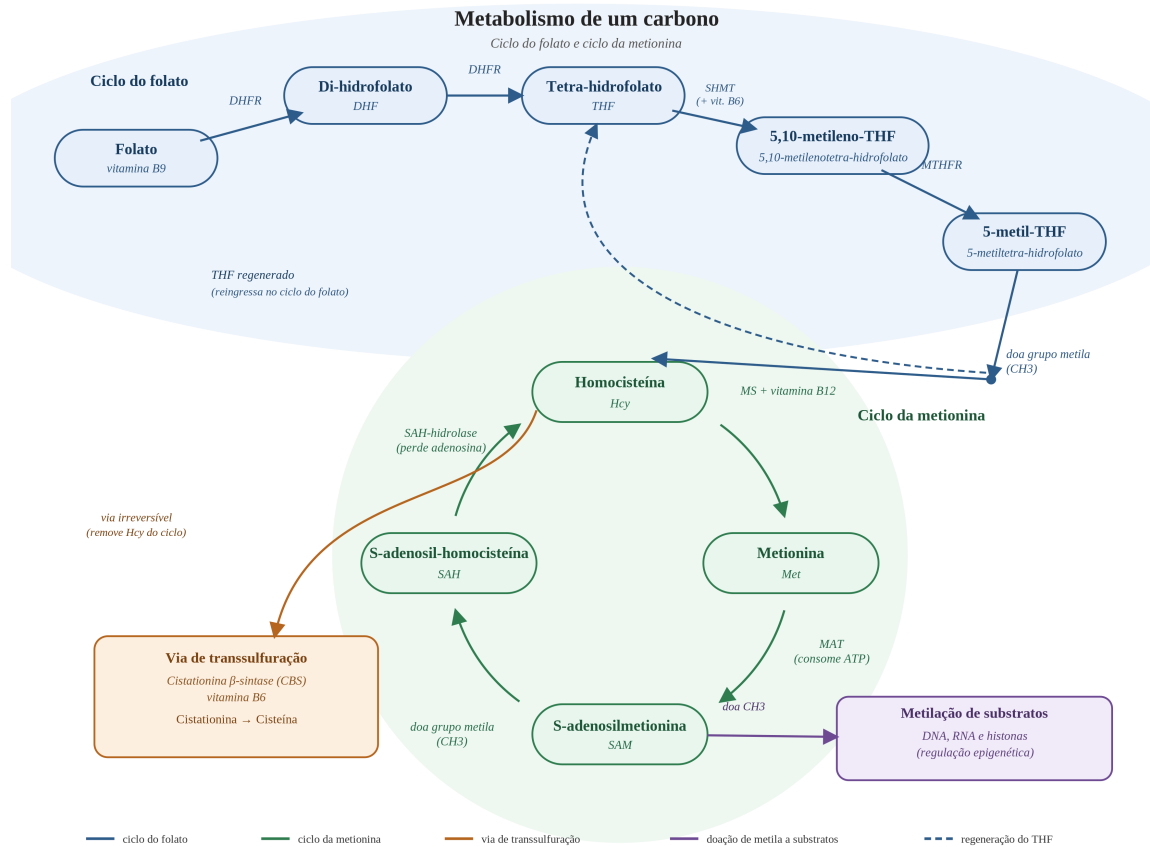
Fonte: Elaborada pela autora, com base nos dados da pesquisa.

Figura 1. Gráfico de dispersão das concentrações séricas de ácido fólico (ng/mL) e homocisteína (μmol/L) em pacientes com Transtorno do Espectro Autista (n = 17), estratificadas por nível de suporte do DSM-5. Coeficiente de correlação de Spearman: $\rho = -0,52$ ($p = 0,032$).



Fonte: Elaborada pela autora, com base nos dados da pesquisa.

Figura 2. Ciclo do folato e ciclo da metionina, incluindo as etapas catalisadas por DHFR, SHMT, MTHFR, metionina sintase (MS/vitamina B12) e cistationina beta-sintase (CBS/vitamina B6). Adaptado de Roufael et al. (2023).



Fonte: Elaborada pela própria autora, com auxílio de inteligência artificial, adaptado de Roufael et al. (2023).

Carta de apresentação

Londrina, 31 de Julho de 2026

À Secretaria Editorial

Revista de Saúde Pública

Prezados(as) Editores(as),

Submetemos para avaliação e possível publicação na Revista de Saúde Pública o manuscrito intitulado “Variantes do MTHFR, biomarcadores metabólicos e gravidade clínica do autismo” (título corrido: “MTHFR e gravidade clínica do TEA”), na categoria Artigo Original.

O manuscrito investiga se a atividade enzimática predita do gene MTHFR está associada à gravidade clínica do Transtorno do Espectro Autista (TEA) e explora a correlação entre as concentrações séricas de ácido fólico e homocisteína em pacientes com TEA. Os principais achados indicam ausência de associação estatisticamente significativa entre a atividade do MTHFR e a gravidade clínica (limitação atribuível ao baixo poder amostral do grupo de atividade reduzida, $n = 5$), mas revelam correlação negativa e estatisticamente significativa entre ácido fólico e homocisteína séricos ($\rho = -0,52$; $p = 0,032$). Concluímos que esse achado sustenta a viabilidade de incorporar biomarcadores metabólicos já disponíveis na rede laboratorial do SUS — de custo muito inferior à genotipagem molecular — como estratégia exploratória de estratificação de risco metabólico em pacientes com TEA, com potencial de ampliar o acesso equitativo a essa investigação para além dos centros de referência universitários.

Como novidade, este trabalho articula, em uma mesma amostra clínica brasileira, a caracterização genotípica do MTHFR, a predição de atividade enzimática combinada e a dosagem sérica pareada de ácido fólico e homocisteína — combinação pouco explorada na literatura nacional sobre TEA. Escolhemos a Revista de Saúde Pública por seu escopo dedicado a temas relevantes de saúde pública no Brasil e por sua tradição em discutir a viabilidade e a equidade de acesso a estratégias diagnósticas no SUS.

Não há, até o momento, outros artigos publicados pelos autores nesta mesma linha de pesquisa.

Contribuição de cada autor(a): Concepção, delineamento do estudo, interpretação dos dados clínicos e genéticos e redação do manuscrito: autoras 1 e 10; coleta de dados: autores 2, 3, 4, 7, 8 e 9; análise estatística: autora 5; revisão crítica do conteúdo: autora 6. Todos os autores aprovaram a versão final submetida.

Declaramos que este manuscrito é original, não foi publicado anteriormente e não está sob avaliação simultânea em nenhum outro periódico, em parte ou em sua totalidade. Todos os autores listados contribuíram substancialmente para a concepção do estudo, a análise e a interpretação dos dados, e revisaram e aprovaram a versão final deste manuscrito, responsabilizando-se por seu conteúdo.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Londrina (UEL), e todos os participantes forneceram consentimento informado de acordo com a Declaração de Helsinque.

Os autores declaram não haver conflitos de interesse relacionados a este trabalho.

Fonte de financiamento: Os autores declaram não ter recebido financiamento específico para esta pesquisa.

Segue abaixo a relação completa de autores, em ordem de autoria, com respectivos ORCID iD, conforme exigido pelas normas da revista:

Nome completo	Afiliação institucional	ORCID iD
Ana Cecília Novaes de Oliveira Roldan	Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0000-0002-5066-8143
Bárbara Ponciano Costa	Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0009-0009-3266-1018
Luiza Tacci Biolo de Abreu	Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0009-0006-6257-6031

Antonio Fernando Zabini	Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0009-0005-8331-4316
Mariana Ragassi Urbano	Departamento de Estatística, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0000-0002-5411-5554
Regina Célia Bueno Rezende Machado	Departamento de Enfermagem, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0000-0001-5531-7345
Gustavo Aliano Gâmbaro	Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0000-0003-0115-0898
Isabella Cristina Chagas Rocha	Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0000-0001-5096-2089
Lucian Carlos Cardoso Machado	Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0009-0004-1662-1992
Sandra Odebrecht Vargas Nunes	Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0000-0003-4851-6121

Agradecemos antecipadamente a atenção e permanecemos à disposição para quaisquer esclarecimentos adicionais.

Atenciosamente,

Ana Cecília Novaes de Oliveira Roldan

anacecilianovaes@outlook.com

5.3 Artigo 3

Modelo de capacitação para detecção precoce do autismo na atenção primária

Título corrido: Capacitação para detecção precoce do TEA

Title (English): A capacity-building model for early autism detection in primary care

1 Ana Cecília Novaes de Oliveira Roldan^a — corresponding author
(anacecilianovaes@outlook.com) – ORCID: 0000-0002-5066-8143

2 Bárbara Ponciano Costa^a (barbara.poncianoc@uel.br) – ORCID: 0009-0009-3266-1018

3 Luiza Tacci Biolo de Abreu^a (luiza.tacci.abreu@uel.br) – ORCID: 0009-0006-6257-6031

4 Antonio Fernando Zabini^d (antonio.zabini@uel.br) – ORCID: 0009-0005-8331-4316

5 Mariana Ragassi Urbano, Ph.D.^{a,b} (mrurbano@uel.br) – ORCID: 0000-0002-5411-5554

6 Regina Célia Bueno Rezende Machado, Ph.D.^c (reginamachado123@uel.br) – ORCID: 0000-0001-5531-7345

7 Gustavo Aliano Gâmbaro (gustavo.gambaro@uel.br)^d – ORCID: 0000-0003-0115-0898

8 Isabella Cristina Chagas Rocha (isabella.rocha@uel.br)^d – ORCID: 0000-0001-5096-2089

9 Lucian Carlos Cardoso Machado (lucian.machado@uel.br)^d – ORCID: 0009-0004-1662-1992

10 Sandra Odebrecht Vargas Nunes, M.D., Ph.D.^a (sandraovargasnunes@gmail.com) – ORCID: 0000-0003-4851-6121

a Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.

b Departamento de Estatística, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.

c Departamento de Enfermagem, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.

d Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.

RESUMO

OBJETIVO: Descrever a implementação e os resultados percebidos de um programa piloto de capacitação de profissionais da atenção primária para a detecção precoce do Transtorno do Espectro Autista (TEA), estruturado a partir dos modelos *Training of Trainers* (ToT) e Aprendizagem Baseada em Casos (*Case-Based Learning* – CBL).

MÉTODOS: Relato de experiência sobre um programa de capacitação conduzido no Brasil entre 2025 e 2026, voltado a profissionais de saúde atuantes na atenção primária e articulado à Rede de Atenção Psicossocial (RAPS) do Sistema Único de Saúde (SUS). Participaram 47 profissionais de diferentes regiões do país, entre médicos, enfermeiros, psicólogos, assistentes sociais e nutricionistas. O programa, com carga horária de 72 horas em formato síncrono e assíncrono, abordou o reconhecimento de sinais precoces do TEA, o uso de instrumentos de triagem — incluindo o Modified Checklist for Autism in Toddlers, Revised with Follow-Up (M-CHAT-R/F) — e a organização de fluxos de encaminhamento. A avaliação, de caráter exploratório, baseou-se no engajamento dos participantes e na confiança percebida para o reconhecimento de sinais precoces e para a atuação como multiplicadores.

RESULTADOS: Observou-se elevado engajamento nas atividades síncronas e assíncronas, com melhora progressiva relatada na identificação de sinais precoces do TEA. Os participantes relataram maior confiança na tomada de decisão clínica, no uso do M-CHAT-R/F e na organização dos fluxos de encaminhamento na RAPS, além de prontidão percebida para atuar como multiplicadores do conhecimento em seus territórios.

CONCLUSÕES: A integração entre ToT e CBL mostrou-se uma estratégia viável e potencialmente escalável para fortalecer a detecção precoce do TEA na atenção primária, com potencial de descentralizar conhecimento especializado em contextos de recursos limitados. Estudos futuros com delineamento pré e pós-intervenção são necessários para confirmar o impacto sobre os desfechos diagnósticos.

DESCRITORES: Transtorno do Espectro Autista; Diagnóstico Precoce; Atenção Primária à Saúde; Capacitação de Recursos Humanos em Saúde; Educação Continuada; Sistema Único de Saúde; Ciência da Implementação

INTRODUÇÃO

A prevalência global do Transtorno do Espectro Autista (TEA) tem aumentado de forma consistente, atingindo aproximadamente 1 em cada 36 crianças e impondo desafios crescentes aos sistemas de saúde¹. Apesar de os sinais precoces do transtorno serem observáveis já entre 12 e 24 meses de vida², o diagnóstico segue ocorrendo tardiamente na maioria dos contextos: uma revisão sistemática e metanálise de 56 estudos conduzidos em 40 países (n = 120.540) encontrou idade média ao diagnóstico de aproximadamente 60 meses³. Esse atraso prolonga o período sem intervenção e eleva os custos ao longo da vida, estimados entre 1,4 e 2,4 milhões de dólares por indivíduo⁴. Evidências robustas indicam que a intervenção iniciada antes dos três anos de idade associa-se a melhores desfechos do desenvolvimento⁵ e a redução de custos assistenciais subsequentes⁶, reforçando o valor da identificação precoce como estratégia de saúde pública, e não apenas como decisão clínica individual.

A atenção primária constitui o primeiro ponto de contato das famílias com o sistema de saúde e, portanto, um espaço estratégico para a detecção precoce do TEA. Entretanto, estudos mostram que profissionais desse nível de atenção frequentemente relatam baixa confiança e preparo insuficiente para reconhecer os sinais do transtorno, o que pode ampliar o atraso diagnóstico em dois a três anos⁷. Diante desse cenário, a capacitação de profissionais da atenção primária tem se consolidado como uma das estratégias mais estudadas para reduzir esse atraso. Segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, 5ª edição, Revisão de Texto (DSM-5-TR)⁸, o TEA é classificado em três níveis de suporte conforme a gravidade dos déficits de comunicação social e dos padrões restritos e repetitivos de comportamento, e sua identificação estruturada — inclusive por meio de instrumentos de triagem validados para a faixa etária de 16 a 30 meses — depende diretamente da capacidade da linha de frente de reconhecer esses sinais.

Clarke e Fung⁹ mostraram, em revisão sistemática, que profissionais capacitados em programas de treinamento sobre TEA tornam-se mais conhecedores do transtorno, relatam maior autoeficácia e passam a rastrear seus pacientes com maior frequência. De forma convergente, Guan et al.¹⁰ demonstraram que treinar profissionais da atenção primária reduz o tempo de espera por avaliação especializada e melhora o acesso ao diagnóstico, com boa concordância entre profissionais treinados e equipes especializadas. Revisão de escopo sobre o programa *Caregiver Skills Training* da Organização Mundial da Saúde, conduzida por Montiel-Nava et al.¹¹, evidenciou ainda a viabilidade do *task-shifting* — a redistribuição de tarefas de identificação e

manejo inicial para profissionais não especialistas — como estratégia escalável em diferentes contextos de recursos.

O modelo de Formação de Multiplicadores (*Training of Trainers* – ToT) destaca-se nesse contexto por permitir a capacitação de profissionais que atuam, eles próprios, como multiplicadores do conhecimento, promovendo disseminação em cascata e ampliando a sustentabilidade das intervenções em territórios com poucos especialistas. A Aprendizagem Baseada em Casos (*Case-Based Learning* – CBL), por sua vez, tem sido reconhecida como estratégia eficaz para o desenvolvimento do raciocínio clínico, ao integrar conhecimento teórico e prática em cenários reais. Para sistemas de saúde universais e territorialmente extensos como o Sistema Único de Saúde (SUS), nos quais o acesso a especialistas em neurodesenvolvimento é desigual entre regiões, a combinação de ambos os modelos oferece uma via de baixo custo para ampliar a capacidade diagnóstica sem depender exclusivamente da expansão de serviços especializados.

Este estudo teve como objetivo descrever a implementação de um programa piloto de capacitação de profissionais de saúde da atenção primária para a detecção precoce do TEA, estruturado a partir dos modelos ToT e CBL, com vistas a fortalecer a identificação precoce, a organização dos fluxos de encaminhamento e a disseminação do conhecimento nos territórios de atuação.

MÉTODOS

Trata-se de um relato de experiência descrevendo a implementação de um programa piloto de capacitação para a melhoria da detecção precoce do TEA na atenção primária. O estudo é informado pelos princípios da ciência da implementação, particularmente os relacionados à capacitação (*capacity building*), à redistribuição de tarefas (*task-shifting*) e à formação descentralizada^{9,11}. O programa foi conduzido no Brasil entre 2025 e 2026 e concebido para aplicação no âmbito do SUS, particularmente na Rede de Atenção Psicossocial (RAPS), que integra atenção primária, serviços especializados de saúde mental e atenção hospitalar, oferecendo arcabouço para o encaminhamento e o acompanhamento de crianças com suspeita de condições do neurodesenvolvimento.

Participaram do programa 47 profissionais de saúde de diferentes regiões do Brasil, incluindo médicos, enfermeiros, psicólogos, assistentes sociais e nutricionistas atuantes em contextos comunitários e de atenção primária. A participação foi voluntária, e todos os

participantes estavam envolvidos em atividades relacionadas à saúde da criança e/ou à saúde mental.

O programa foi estruturado com base no modelo ToT combinado à CBL, com carga horária total de 72 horas, distribuída em atividades síncronas (aulas on-line, discussões em grupo e cenários clínicos simulados) e assíncronas (leitura de materiais educacionais, análise de casos e reflexões orientadas). O conteúdo abrangeu três domínios centrais: reconhecimento de sinais e sintomas precoces do TEA; uso de instrumentos de triagem e organização de fluxos de encaminhamento; e estratégias de comunicação com famílias. Os participantes foram capacitados a implementar vigilância do desenvolvimento e triagem estruturada durante consultas de rotina de saúde da criança, incluindo o uso do M-CHAT-R/F para crianças de 16 a 30 meses, com ênfase no reconhecimento de déficits em comunicação social, comportamentos restritos e repetitivos e atrasos do desenvolvimento, bem como na organização dos fluxos de encaminhamento dentro da RAPS, incluindo a articulação com Centros de Atenção Psicossocial Infantojuvenil (CAPSi) e equipes multidisciplinares de diagnóstico. Os participantes também foram estimulados a desenvolver estratégias de disseminação do conhecimento em seus contextos locais, reforçando o modelo de formação em cascata.

Dado o caráter exploratório deste relato de experiência, a avaliação do programa baseou-se no desenvolvimento percebido de competências relacionadas à detecção precoce do TEA e à disseminação do conhecimento. As evidências de impacto foram inferidas a partir do engajamento dos participantes nas atividades síncronas, das contribuições às discussões de casos e da confiança reportada no reconhecimento de sinais precoces, na tomada de decisões clínicas e na atuação como formadores em suas comunidades. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Londrina sob o número 78296724.0.0000.5231, e os participantes forneceram consentimento informado de acordo com a Declaração de Helsinque.

RESULTADOS

Os 47 profissionais participantes, representando uma força de trabalho multiprofissional da atenção primária, apresentaram elevado engajamento durante as atividades síncronas e assíncronas, particularmente nas discussões baseadas em casos, que favoreceram participação ativa e aprendizagem colaborativa. Observou-se melhora progressiva na identificação de sinais precoces do TEA, especialmente no reconhecimento de déficits em comunicação social, comportamentos restritos e repetitivos e atrasos do desenvolvimento.

A integração da CBL contribuiu para o desenvolvimento do raciocínio clínico, permitindo aos participantes aplicar o conhecimento teórico a cenários práticos. Durante as discussões de casos, os participantes demonstraram maior capacidade de diferenciar padrões de desenvolvimento típico e atípico, identificar sinais de alerta precoce e determinar o momento apropriado para triagem e encaminhamento.

Os participantes relataram, ainda, maior confiança na tomada de decisão clínica, particularmente no uso do M-CHAT-R/F e na organização dos fluxos de encaminhamento dentro do sistema de saúde. Um resultado relevante da abordagem ToT foi a prontidão percebida dos participantes para atuarem como multiplicadores do conhecimento em seus contextos locais. Adicionalmente, o programa favoreceu maior compreensão dos fluxos assistenciais na RAPS, apoiando abordagens mais estruturadas de encaminhamento e acompanhamento.

DISCUSSÃO

Este relato de experiência sugere que a integração entre o modelo ToT e a CBL, articulada a ferramentas de decisão clínica, representa estratégia promissora para o fortalecimento da detecção precoce do TEA na atenção primária. Ao equipar profissionais da linha de frente com conhecimentos estruturados e habilidades práticas, essa abordagem contribui para a capacitação e apoia a descentralização do conhecimento especializado, alinhando-se a princípios centrais da ciência da implementação, como o *task-shifting* e a tradução do conhecimento — princípios cuja eficácia é sustentada por revisões sistemáticas recentes sobre capacitação de profissionais para diagnóstico e triagem do TEA^{9,10}.

Uma contribuição deste estudo reside na articulação entre estratégia pedagógica e organização do sistema de saúde. Enquanto modelos de *task-shifting* e de capacitação de multiplicadores já haviam sido aplicados a intervenções relacionadas ao TEA, frequentemente com resultados positivos em acesso ao diagnóstico e confiança clínica^{10,11}, sua integração com metodologias ativas como a CBL e com fluxos estruturados de cuidado permanece pouco explorada. O uso de casos clínicos reais permitiu aos participantes contextualizar o conhecimento teórico, fortalecendo o raciocínio clínico e os processos de tomada de decisão, particularmente na identificação de sinais precoces e na determinação do momento adequado para triagem e encaminhamento.

Para sistemas de saúde universais como o SUS, nos quais o acesso a especialistas em neurodesenvolvimento é heterogêneo entre regiões, modelos de capacitação em cascata como

o aqui descrito oferecem uma via escalável e de baixo custo para ampliar a capacidade diagnóstica sem depender exclusivamente da expansão de serviços especializados. A articulação do programa com a RAPS é particularmente relevante nesse sentido, por conectar a triagem realizada na atenção primária aos serviços especializados de saúde mental e aos CAPSi, reduzindo potencialmente a fragmentação do cuidado observada em muitos territórios brasileiros. A relevância da identificação precoce nesse processo é reforçada por evidências recentes sobre biomarcadores e alvos terapêuticos vinculados à neuroplasticidade¹², cujo aproveitamento depende, em parte, do acesso oportuno a serviços especializados viabilizado pela triagem na atenção primária: capacitar profissionais para reconhecer o TEA precocemente é, também, uma forma de preservar a janela biológica em que intervenções têm maior capacidade de modificar o curso do desenvolvimento.

Apesar dessas contribuições, o presente estudo possui limitações. Como relato de experiência, descreve uma implementação única, conduzida em um período determinado, e pode não ser generalizável a todos os contextos do território nacional. Adicionalmente, o impacto de longo prazo do treinamento sobre as taxas diagnósticas e os desfechos dos pacientes não foi avaliado, e a avaliação do programa baseou-se em medidas percebidas de competência e confiança, sem instrumentos padronizados de pré e pós-testagem. Estudos futuros devem incorporar avaliações estruturadas pré e pós-intervenção, assim como delineamentos longitudinais multicêntricos, para avaliar a sustentabilidade e o impacto real de programas de capacitação sobre a detecção precoce e o acesso ao cuidado no SUS.

Em conclusão, a integração entre *Training of Trainers* e *Case-Based Learning* mostrou-se, neste relato de experiência, estratégia viável e potencialmente escalável para fortalecer a detecção precoce do TEA na atenção primária brasileira. Ao combinar capacitação, desenvolvimento do raciocínio clínico e integração com os fluxos da RAPS, o modelo proposto apoia a descentralização do conhecimento especializado e amplia o papel dos profissionais da atenção primária na identificação e no encaminhamento precoce de crianças com suspeita de TEA — dimensão particularmente relevante em um sistema de saúde universal e territorialmente extenso, no qual o acesso a serviços especializados permanece desigual. Estudos prospectivos com delineamento pré e pós-intervenção e alcance multicêntrico são necessários para confirmar o impacto do modelo sobre os desfechos diagnósticos e assistenciais.

REFERÊNCIAS

1. Maenner MJ, Warren Z, Williams AR, Amoakohene E, Bakian AV, Bilder DA, et al. Prevalence and Characteristics of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2020. *MMWR Surveill Summ.* 2023;72(2):1-14. doi:10.15585/mmwr.ss7202a1
2. Zwaigenbaum L, Bauman ML, Choueiri R, Fein D, Kasari C, Pierce K, et al. Early Identification and Interventions for Autism Spectrum Disorder: Executive Summary. *Pediatrics.* 2015;136(Suppl 1):S1-S9. doi:10.1542/peds.2014-3667B
3. van 't Hof M, Tisseur C, van Berckelaer-Onnes I, van Nieuwenhuyzen A, Daniels AM, Deen M, et al. Age at autism spectrum disorder diagnosis: A systematic review and meta-analysis from 2012 to 2019. *Autism.* 2021;25(4):862-873. doi:10.1177/1362361320971107
4. Buescher AV, Cidav Z, Knapp M, Mandell DS. Costs of autism spectrum disorders in the United Kingdom and the United States. *JAMA Pediatr.* 2014;168(8):721-728. doi:10.1001/jamapediatrics.2014.210
5. Dawson G, Rogers S, Munson J, Smith M, Winter J, Greenson J, et al. Randomized, controlled trial of an intervention for toddlers with autism: The Early Start Denver Model. *Pediatrics.* 2010;125(1):e17-e23. doi:10.1542/peds.2009-0958
6. Cidav Z, Munson J, Estes A, Dawson G, Rogers S, Mandell D. Cost Offset Associated With Early Start Denver Model for Children With Autism. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2017;56(9):777-783. doi:10.1016/j.jaac.2017.06.007
7. Zuckerman KE, Lindly OJ, Sinche BK. Parental concerns, provider response, and timeliness of autism spectrum disorder diagnosis. *J Pediatr.* 2015;166(6):1431-1439.e1. doi:10.1016/j.jpeds.2015.03.007
8. American Psychiatric Association. Manual Diagnostico e Estatistico de Transtornos Mentais. 5a ed. Revisao de Texto (DSM-5-TR). Washington (DC): American Psychiatric Publishing; 2022. doi:10.1176/appi.books.9780890425596
9. Clarke L, Fung LK. The impact of autism-related training programs on physician knowledge, self-efficacy, and practice behavior: A systematic review. *Autism.* 2022;26(7):1626-1640. doi:10.1177/13623613221102016

10. Guan X, Zwaigenbaum L, Sonnenberg LK. Building Capacity for Community Pediatric Autism Diagnosis: A Systemic Review of Physician Training Programs. *J Dev Behav Pediatr.* 2022;43(1):44-54. doi:10.1097/DBP.0000000000001042
11. Montiel-Nava C, Montenegro MC, Ramirez AC, Villarreal V, Murillo Chacko L, Dixon P, et al. Scoping review: Facilitators, barriers, and cultural adaptations in the caregiver skills training program for children with developmental concerns. *Autism.* 2026;30(3). doi:10.1177/13623613251406399
12. Laguna GGC, Gusmao ABF, Marques BO, Bragas NBDS, Rodrigues IB, Melo RS, et al. Neuroplasticity in autism spectrum disorder: a systematic review. *Dement Neuropsychol.* 2025;19:e20240182. doi:10.1590/1980-5764-DN-2024-0182

Carta de apresentação

Londrina, 31 de Julho de 2026

À Secretaria Editorial

Revista de Saúde Pública

Prezados(as) Editores(as),

Submetemos para avaliação e possível publicação na Revista de Saúde Pública o manuscrito intitulado “Modelo de capacitação para detecção precoce do autismo na atenção primária” (título corrido: “Capacitação para detecção precoce do TEA”), na categoria Artigo Original.

O manuscrito descreve a implementação de um programa piloto de capacitação de profissionais de saúde da atenção primária para a detecção precoce do Transtorno do Espectro Autista (TEA) no Brasil, estruturado a partir dos modelos Training of Trainers (ToT) e Case-Based Learning (CBL). Os principais achados indicam elevado engajamento dos 47 profissionais participantes, melhora percebida na identificação de sinais precoces do TEA e maior confiança na organização dos fluxos de encaminhamento dentro da Rede de Atenção Psicossocial (RAPS). Concluimos que a integração entre ToT e CBL constitui estratégia viável e potencialmente escalável para o Sistema Único de Saúde (SUS), com relevância direta para a saúde pública ao oferecer uma via de baixo custo para ampliar a capacidade diagnóstica em regiões com acesso limitado a especialistas em neurodesenvolvimento.

Como novidade, este trabalho é, ao que sabemos, o primeiro relato de experiência a articular explicitamente o modelo Training of Trainers com a Aprendizagem Baseada em Casos (Case-Based Learning) para a detecção precoce do TEA em um sistema de saúde universal como o SUS, integrando essa capacitação aos fluxos assistenciais da RAPS. Escolhemos a Revista de Saúde Pública por seu escopo dedicado a temas relevantes de saúde pública no Brasil e por sua tradição em publicar avaliações de estratégias de capacitação de força de trabalho em saúde.

Não há, até o momento, outros artigos publicados pelos autores nesta mesma linha de pesquisa.

Contribuição de cada autor(a): Concepção, delineamento do estudo, interpretação dos dados clínicos e genéticos e redação do manuscrito: autoras 1 e 10; coleta de dados: autores 2, 3, 4, 7, 8 e 9; análise estatística: autora 5; revisão crítica do conteúdo: autora 6. Todos os autores aprovaram a versão final submetida.

Declaramos que este manuscrito é original, não foi publicado anteriormente e não está sob avaliação simultânea em nenhum outro periódico, em parte ou em sua totalidade. Todos os autores listados contribuíram substancialmente para a concepção do estudo, a análise e a interpretação dos dados, e revisaram e aprovaram a versão final deste manuscrito, responsabilizando-se por seu conteúdo.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Londrina (UEL), e todos os participantes forneceram consentimento informado de acordo com a Declaração de Helsinque.

Os autores declaram não haver conflitos de interesse relacionados a este trabalho.

Fonte de financiamento: Os autores declaram não ter recebido financiamento específico para esta pesquisa.

Segue abaixo a relação completa de autores, em ordem de autoria, com respectivos ORCID iD, conforme exigido pelas normas da revista:

Nome completo	Afiliação institucional	ORCID iD
Ana Cecília Novaes de Oliveira Roldan	Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0000-0002-5066-8143
Bárbara Ponciano Costa	Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0009-0009-3266-1018
Luiza Tacci Biolo de Abreu	Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0009-0006-6257-6031
Antonio Fernando Zabini	Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0009-0005-8331-4316

Mariana Ragassi Urbano	Departamento de Estatística, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0000-0002-5411-5554
Regina Célia Bueno Rezende Machado	Departamento de Enfermagem, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0000-0001-5531-7345
Gustavo Aliano Gâmbaro	Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0000-0003-0115-0898
Isabella Cristina Chagas Rocha	Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0000-0001-5096-2089
Lucian Carlos Cardoso Machado	Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0009-0004-1662-1992
Sandra Odebrecht Vargas Nunes	Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil.	0000-0003-4851-6121

Agradecemos antecipadamente a atenção e permanecemos à disposição para quaisquer esclarecimentos adicionais.

Atenciosamente,

Ana Cecília Novaes de Oliveira Roldan
anacecilianovaes@outlook.com

6 DISCUSSÃO

6.1 Braço 1 — MTHFR, biomarcadores metabólicos e gravidade clínica do TEA

Neste estudo piloto, as características clínicas e sociodemográficas, bem como os níveis de suporte e a gravidade dos sintomas mensurados pela CARS, foram comparados entre indivíduos com TEA com atividade enzimática do MTHFR preservada e reduzida. Não foram identificadas associações estatisticamente significativas entre atividade enzimática do MTHFR e qualquer desfecho clínico avaliado. A distribuição dos níveis de suporte do DSM-5 apresentou padrão distinto entre os grupos, porém essa diferença não atingiu significância estatística ($p = 0,56$) e não deve ser interpretada como evidência de associação direcional, dado que o grupo de atividade reduzida era composto por apenas 5 indivíduos, tornando cada paciente responsável por 20% das proporções grupais.

Sobre a diferença de tamanho amostral entre as Tabelas 1 e 2: Como explicitado na seção 5.1, a Tabela 2 ($n = 22$) inclui três participantes com avaliação clínica pela CARS completa, mas sem genotipagem do *MTHFR* disponível no fechamento da coleta, e por isso não integraram a Tabela 1 ($n = 19$). Essa diferença é uma limitação metodológica genuína — decorrente da falta de kit de coleta laboratorial para um subconjunto da amostra — e não um erro de tabulação. Ela reforça a recomendação de que estudos futuros garantam a coleta de todas as variáveis clínicas, bioquímicas e genéticas, de modo a permitir análises estratificadas sobre uma única amostra coesa.

Poder estatístico, tamanho de efeito e erro tipo II: Em estudos experimentais e observacionais, o poder estatístico ($1-\beta$) é definido como a probabilidade de que um teste estatístico rejeite corretamente a hipótese nula quando ela é de fato falsa. Com $n = 19$ participantes distribuídos entre dois grupos de tamanhos desiguais ($n = 14$ e $n = 5$), o poder estatístico era inevitavelmente baixo para a detecção de efeitos de magnitude pequena a moderada. Assumindo um tamanho de efeito moderado (d de Cohen = 0,5) e $\alpha = 0,05$,⁴⁹ seria necessário um total de aproximadamente 128 participantes (64 por grupo) para atingir poder de 80% em um teste bicaudal. Com o tamanho amostral disponível, o poder alcançado era inferior a 20% para efeitos moderados — tornando substancial o risco de erro tipo II (concluir que “não há efeito” quando, na verdade há um efeito, mas o estudo não teve condições de captá-lo devido ao tamanho amostral).

A correlação entre ácido fólico e homocisteína: A correlação negativa e estatisticamente significativa observada entre as concentrações séricas de ácido fólico e homocisteína ($p = -0,52$;

$p = 0,032$) constitui um dos achados mais relevantes do presente estudo. Essa associação reflete diretamente a bioquímica do ciclo do carbono-1: o folato, ao fornecer grupos metila para a remetilação da homocisteína em metionina — reação catalisada pela metionina sintase com coenzima vitamina B12 —, é um determinante central das concentrações de homocisteína circulante. Assim, maiores concentrações de ácido fólico sérico estão biologicamente associadas à maior capacidade de remetilação e, portanto, a menores concentrações de homocisteína. O fato de que essa correlação foi observada de forma consistente ao longo dos diferentes níveis de suporte do DSM-5 reforça a relevância sistêmica dessa via metabólica no TEA, independentemente da gravidade clínica.

Esses achados corroboram diretamente os resultados da revisão sistemática de Roufael et al.,²¹ que descreveu, de forma recorrente, embora não uniforme entre os estudos incluídos, níveis séricos de folato e vitamina B12 reduzidos e de homocisteína elevados em indivíduos com TEA em comparação com controles saudáveis. Conforme discutido por Roufael et al.,²¹ essas alterações metabólicas são influenciadas tanto por polimorfismos genéticos no *MTHFR* quanto por uma alimentação inadequada — frequentemente associada à seletividade alimentar característica do transtorno. A convergência entre os achados do presente estudo e os da literatura reforça que a avaliação conjunta das concentrações séricas de ácido fólico, vitamina B12 e homocisteína deveria integrar a rotina de investigação metabólica de pacientes com TEA. Estudos futuros com amostras maiores e dosagens bioquímicas sistematicamente coletadas são necessários para testar se intervenções nutricionais — por suplementação dirigida de folato e vitamina B12 ou por estratégias de educação alimentar — modificam os desfechos clínicos em indivíduos com TEA, especialmente naqueles portadores de variantes do *MTHFR*.

Esses achados também são consistentes com os de Li et al.,³⁷ que demonstraram que a homocisteína sérica elevada está significativamente associada ao diagnóstico de TEA ($\beta = 0,370$; $p < 0,001$). São também corroborados pela metanálise de Avram et al.,²⁶ que confirmou elevação significativa da homocisteína e redução do folato e vitamina B12 em crianças com TEA em comparação com controles com desenvolvimento típico. No presente estudo, a análise bioquímica disponível fornece, portanto, suporte empírico direto à hipótese de que a disfunção do ciclo do carbono-1 — potencialmente amplificada por variantes do *MTHFR* — contribui para o perfil metabólico e, possivelmente, para a neurobiologia do TEA.

É importante destacar que os presentes achados do **Braço 1** não reproduzem a associação identificada por Iannuzzelli et al.,³⁶ que, em uma coorte de 78 indivíduos com TEA, identificaram correlação negativa significativa entre atividade do *MTHFR* e gravidade do TEA pelo

DSM-5 ($p < 0,05$). A divergência é mais plausível como resultado do tamanho amostral insuficiente no presente trabalho do que como contradição biológica, dado que o poder estatístico estimado era inferior a 20%.

O papel do polimorfismo *MTHFR* C677T e o TEA foi elucidado por vários estudos caso-controle e metanálises. Em uma população Han chinesa, Guo et al.²⁸ constataram que a frequência do genótipo 677TT foi significativamente maior em crianças com autismo (16,1%) em comparação com controles (8,6%) (OR = 2,04; IC 95% = 1,07–3,89; $p = 0,03$). El-Baz et al.⁵⁰ investigaram os genótipos polimórficos C677T e A1298C do gene *MTHFR*, demonstrando associação significativa entre gravidade e ocorrência de autismo. A hipótese de que a disfunção do *MTHFR* possa influenciar a gravidade do TEA permanece biologicamente plausível e merecedora de investigação em estudos futuros com amostras adequadas.

A homogeneidade das características basais entre os grupos — sem diferenças significativas em idade, sexo, etnia, renda familiar, escolaridade, idade parental, peso ao nascer, tipo de parto ou intercorrências gestacionais (todos $p > 0,05$; Tabela 1) — constitui um resultado positivo sob a perspectiva da validade interna do estudo. Essa comparabilidade basal é um pré-requisito essencial para qualquer comparação entre grupos. Adicionalmente, a convergência observada na Tabela 2 entre as pontuações da CARS e os níveis de suporte do DSM-5 (com maior proporção de Nível 3 no grupo de sintomas mais graves) representa um achado de validade convergente dos instrumentos utilizados, fortalecendo a credibilidade metodológica do estudo.

6.2 Braço 2 — Capacitação profissional para detecção precoce do TEA na atenção primária

Este relato de experiência sugere que a integração entre o modelo de Formação de Multiplicadores (ToT) e a Aprendizagem Baseada em Casos (CBL), articulada com ferramentas de decisão clínica, representa uma estratégia promissora para o fortalecimento da detecção precoce do TEA na atenção primária. Ao equipar profissionais de saúde da linha de frente com conhecimentos estruturados e habilidades práticas, essa abordagem contribui para a capacitação e apoia a descentralização do conhecimento especializado, alinhando-se com princípios-chave da ciência da implementação, como o *task-shifting* e a tradução do conhecimento — princípios cuja eficácia é sustentada por revisões sistemáticas recentes sobre capacitação de profissionais para diagnóstico e triagem do TEA.^{41,42}

A relevância da identificação precoce nesse processo é reforçada por evidências recentes de que alterações em *SHANK2*, α -sinucleína, β -sinucleína, *NCAM1* e *BDNF* no TEA sugerem

biomarcadores e alvos terapêuticos vinculados à neuroplasticidade, cujo aproveitamento depende, em parte, do acesso oportuno a serviços especializados viabilizado pela triagem na atenção primária.⁵¹ Esse ponto retoma a articulação já anunciada anteriormente: capacitar profissionais para reconhecer o TEA precocemente é, também, uma forma de preservar a janela biológica em que intervenções — comportamentais, mas potencialmente também metabólicas — têm maior capacidade de modificar o curso do desenvolvimento.

Uma contribuição central deste estudo reside na articulação entre estratégia pedagógica e organização do sistema de saúde. Enquanto modelos de *task-shifting* e de capacitação de multiplicadores têm sido previamente aplicados em intervenções relacionadas ao TEA — frequentemente demonstrando resultados positivos em termos de acesso ao diagnóstico e confiança clínica^{42,43} —, sua integração com metodologias ativas como a CBL e com fluxos estruturados de cuidado permanece menos explorada. O uso de casos clínicos reais permitiu aos participantes contextualizar o conhecimento teórico, fortalecendo o raciocínio clínico e os processos de tomada de decisão, particularmente na identificação de sinais precoces e na determinação do momento adequado para triagem e encaminhamento.

Apesar dessas contribuições, o Braço 2 possui limitações. Como relato de experiência, descreve uma implementação única e pode não ser generalizável a todos os contextos. Adicionalmente, o impacto de longo prazo do treinamento sobre as taxas diagnósticas e os desfechos dos pacientes não foi avaliado. Estudos futuros devem incorporar avaliações pré e pós-intervenção, assim como delineamentos longitudinais para avaliar a sustentabilidade e o impacto real dos programas de capacitação sobre a detecção precoce e o acesso ao cuidado.

6.3 Articulação entre os dois braços: uma visão multidimensional do TEA

A articulação entre o Braço 1 e o Braço 2 reflete a premissa epistemológica central deste projeto de mestrado: o enfrentamento do TEA exige abordagens simultâneas em diferentes dimensões — da caracterização etiológica e bioquímica à formação da força de trabalho de saúde — porque ambas competem pelo mesmo recurso escasso, que é o tempo dentro da janela de neuroplasticidade em que o cérebro em desenvolvimento responde melhor à intervenção. A correlação negativa e significativa entre ácido fólico e homocisteína ($\rho = -0,52$; $p = 0,032$) evidenciada pelo Braço 1 reforça que o manejo clínico especializado do TEA deve incorporar a avaliação de biomarcadores metabólicos, particularmente nos pacientes portadores de variantes do *MTHFR*.

Ao mesmo tempo, o Braço 2 demonstra que o acesso a esse manejo especializado depende, em parte, da capacidade dos profissionais da atenção primária de identificar precocemente indivíduos com TEA e articular fluxos de encaminhamento adequados. Esses dois eixos se complementam de forma bidirecional: a identificação precoce promovida pelo Braço 2 aumenta a chance de que pacientes com TEA sejam avaliados oportunamente para alterações metabólicas como as investigadas pelo Braço 1; por sua vez, a compreensão das bases biológicas e metabólicas do TEA, provida pelo Braço 1, pode informar e enriquecer os programas de capacitação profissional descritos pelo Braço 2 — por exemplo, ao incluir, nos módulos de capacitação, orientações sobre quando suspeitar de alterações do metabolismo do folato e encaminhar para investigação bioquímica complementar.

Nesse contexto, a neuroplasticidade — já introduzida como fio condutor deste trabalho — emerge como a dimensão biológica que concretiza essa articulação: o diagnóstico precoce e as terapias adequadas são fundamentais para aproveitar a janela crítica de plasticidade cerebral no TEA, e abordagens terapêuticas focadas na neuroplasticidade têm o potencial de modular os circuitos neurais afetados pelo transtorno, proporcionando perspectivas promissoras para intervenções mais eficazes e direcionadas.⁵¹ É precisamente por essa razão que os dois braços deste projeto não podem ser lidos como iniciativas paralelas, mas como duas frentes de uma mesma estratégia: uma que caracteriza o que pode estar acontecendo no nível molecular de um paciente individual, e outra que garante que esse paciente seja visto, reconhecido e encaminhado a tempo de essa caracterização fazer diferença.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Braço 1 não identificou associação estatisticamente significativa entre atividade enzimática predita do MTHFR e gravidade clínica do TEA. Os padrões distribucionais observados nos níveis de suporte do DSM-5 são explicáveis pela variabilidade amostral inerente ao grupo de atividade reduzida ($n = 5$), sem sustentação estatística ou clínica para interpretação direcional.

Entretanto, a análise de correlação de Spearman entre as concentrações séricas de ácido fólico e homocisteína ($n = 17$) revelou uma correlação negativa e estatisticamente significativa ($\rho = -0,52$; $p = 0,032$), confirmando a relevância clínica da via metabólica do carbono-1 em pacientes com TEA, em consonância com os achados da literatura, que descreveram, de forma recorrente, ainda que heterogênea entre estudos, níveis séricos de folato e vitamina B12 reduzidos e de homocisteína elevados em indivíduos com TEA em comparação com controles saudáveis. Esse achado é consistente com a plausibilidade biológica de que variantes do *MTHFR*, ao

comprometer o metabolismo do folato e elevar a homocisteína, podem contribuir para o perfil neurobiológico do transtorno — hipótese que requer investigação em estudos futuros com maior poder amostral e medidas bioquímicas sistematicamente coletadas.

Cabe reconhecer as limitações principais deste trabalho:

- o delineamento transversal impossibilita a inferência causal;
- o tamanho amostral do grupo de atividade enzimática reduzida ($n = 5$) gera poder estatístico insuficiente para inferências;
- a indisponibilidade de dosagens bioquímicas sistemáticas de folato, vitamina B12 e homocisteína para todos os participantes limitou a exploração mecanística completa;
- e a diferença de tamanho amostral entre a análise estratificada por *MTHFR* ($n = 19$) e a análise estratificada por gravidade da CARS ($n = 22$), decorrente da falta de kit de coleta laboratorial para um subconjunto de participantes.

Estas são limitações que devem ser combatidas em estudos futuros para que os achados aqui reportados possam ser analisados com maior robustez estatística. Some-se a essas limitações metodológicas o contexto material em que a pesquisa foi conduzida: a ausência de financiamento dedicado ao projeto e a consequente necessidade de realizá-lo em ambiente físico inadequado — sem consultório clínico próprio e com recursos estruturais limitados para a coleta de dados e para o atendimento dos participantes — também devem ser reconhecidas como limitações práticas relevantes, com potencial impacto sobre a padronização das condições de avaliação e sobre a capacidade de ampliação da amostra.

O Braço 2 demonstrou que a integração entre *Training of Trainers* (ToT) e *Case-Based Learning* (CBL) representa uma estratégia viável e potencialmente escalável para fortalecer a detecção precoce do TEA na atenção primária. Ao combinar capacitação, desenvolvimento do raciocínio clínico e integração com os fluxos do sistema de saúde, o modelo proposto apoia a descentralização do conhecimento e amplia o papel dos profissionais da atenção primária na identificação e no encaminhamento precoce de crianças com suspeita de TEA — dimensão particularmente relevante em contextos onde o acesso a serviços especializados é limitado, e sustentada por evidências independentes de que a capacitação de profissionais melhora conhecimento, autoeficácia e comportamento de rastreio.

Tomados em conjunto, os dois braços articulam a visão multidimensional do TEA, que recusa tratar a genética molecular e a organização dos serviços de saúde como problemas

separados. Afinal, na prática clínica, eles não são. A correlação negativa entre ácido fólico e homocisteína — observada de forma consistente ao longo dos diferentes níveis de suporte do DSM-5 — reforça a importância de que os profissionais capacitados pelo Braço 2 estejam aptos a reconhecer e encaminhar pacientes que se beneficiariam de avaliação bioquímica específica. A identificação precoce fortalecida pelo Braço 2, por sua vez, amplia a janela de oportunidade para intervenções como as investigadas pelo Braço 1, maximizando o potencial terapêutico das abordagens nutricionais e farmacológicas direcionadas ao metabolismo do folato, dentro do período de maior neuroplasticidade cerebral.

Para além dos números, este trabalho parte da convicção de que compreender o TEA em suas múltiplas dimensões não é um exercício acadêmico abstrato, mas uma resposta a uma necessidade concreta: a de famílias que esperam, muitas vezes por anos, por um diagnóstico e por respostas sobre o que está acontecendo com seus filhos, e a de profissionais de atenção primária que, diante do primeiro sinal de alerta, precisam se sentir preparados para agir — e não apenas encaminhar e esperar. Um exame de *MTHFR* ou uma dosagem de homocisteína só têm valor clínico real quando existe, na ponta do sistema, alguém capacitado a reconhecer que aquele paciente precisa desses exames a tempo de fazer diferença. É essa integração entre o rigor da bancada e o cuidado da prática clínica cotidiana que este projeto buscou defender.

Estudos prospectivos futuros devem incorporar poder amostral adequado, garantir medidas bioquímicas diretas e estimular a avaliação do impacto de intervenções voltadas à via do folato em indivíduos com TEA portadores de variantes do *MTHFR*; bem como delinear metodologias longitudinais para avaliar a sustentabilidade e o impacto real dos programas de capacitação profissional na detecção precoce e nos desfechos do TEA. É nessa convergência entre o rigor da investigação molecular e o compromisso cotidiano do cuidado em saúde que reside a esperança deste trabalho: a de que cada avanço na compreensão biológica do TEA se traduza, cada vez mais cedo, em mãos capacitadas para reconhecê-lo, acolhê-lo e transformá-lo em oportunidade real de desenvolvimento para cada criança e cada família que dele dependem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. American Psychiatric Association. Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais. 5ª ed. Revisão de Texto (DSM-5-TR). Washington (DC): American Psychiatric Publishing; 2022. doi:10.1176/appi.books.9780890425596
2. Tick B, Bolton P, Happé F, Rutter M, Rijsdijk F. Heritability of autism spectrum disorders: a meta-analysis of twin studies. *J Child Psychol Psychiatry*. 2016;57(5):585–595. doi:10.1111/jcpp.12499
3. Havdahl A, Niarchou M, Starnawska A, Uddin M, van der Merwe C, Warrier V. Genetic contributions to autism spectrum disorder. *Psychol Med*. 2021;51(13):2260–2273. doi:10.1017/S0033291721000192
4. Maenner MJ, Warren Z, Williams AR, Amoakohene E, Bakian AV, Bilder DA, et al. Prevalence and Characteristics of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2020. *MMWR Surveill Summ*. 2023;72(2):1–14. doi:10.15585/mmwr.ss7202a1
5. Shaw KA, Williams S, Patrick ME, Valencia-Prado M, Durkin MS, et al. Prevalence and Early Identification of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 4 and 8 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 16 Sites, United States, 2022. *MMWR Surveill Summ*. 2025;74(2):1–22. doi:10.15585/mmwr.ss7402a1
6. Eicher T, Quackenbush J, Ne'eman A. Challenging Claims of an Autism Epidemic — Misconceptions and a Path Forward. *N Engl J Med*. 2026;394(4):313.
7. Dawson G, Rogers S, Munson J, Smith M, Winter J, Greenson J, et al. Randomized, controlled trial of an intervention for toddlers with autism: The Early Start Denver Model. *Pediatrics*. 2010;125(1):e17–e23. doi:10.1542/peds.2009-0958
8. van 't Hof M, Tisseur C, van Berckelaer-Onnes I, van Nieuwenhuyzen A, Daniels AM, Deen M, et al. Age at autism spectrum disorder diagnosis: A systematic review and meta-analysis from 2012 to 2019. *Autism*. 2021;25(4):862–873. doi:10.1177/1362361320971107
9. Buescher AV, Cidav Z, Knapp M, Mandell DS. Costs of autism spectrum disorders in the United Kingdom and the United States. *JAMA Pediatr*. 2014;168(8):721–728. doi:10.1001/jamapediatrics.2014.210

- 10.** Zuckerman KE, Lindly OJ, Sinche BK. Parental concerns, provider response, and timeliness of autism spectrum disorder diagnosis. *J Pediatr.* 2015;166(6):1431–1439.e1. doi:10.1016/j.jpeds.2015.03.007
- 11.** Bryson SE, Rogers SJ, Fombonne E. Autism spectrum disorders: early detection, intervention, education, and psychopharmacological management. *Can J Psychiatry.* 2003;48(8):506–516. doi:10.1177/070674370304800802
- 12.** Zwaigenbaum L, Bauman ML, Choueiri R, Fein D, Kasari C, Pierce K, et al. Early Identification and Interventions for Autism Spectrum Disorder: Executive Summary. *Pediatrics.* 2015;136(Suppl 1):S1–S9. doi:10.1542/peds.2014-3667B
- 13.** Sandbank M, Bottema-Beutel K, Crowley LaPoint S, Feldman JI, Barrett DJ, Caldwell N, et al. Autism intervention meta-analysis of early childhood studies (Project AIM): updated systematic review and secondary analysis. *BMJ.* 2023;383:e076733. doi:10.1136/bmj-2023-076733
- 14.** Hickey EJ, Feinberg E, Kuhn J, Cabral HJ, Broder-Fingert S. Family Impact During the Time Between Autism Screening and Definitive Diagnosis. *J Autism Dev Disord.* 2022;52(11):4908–4920. doi:10.1007/s10803-021-05354-5
- 15.** Prando MLC, Leão KA. TEA e diagnóstico precoce no Brasil: desafios na rede de atenção à saúde. *RECIMA21.* 2025;6(7):e676539. doi:10.47820/recima21.v6i7.6539
- 16.** Rossignol DA, Frye RE. Cerebral folate deficiency, folate receptor alpha autoantibodies and leucovorin (folinic acid) treatment in autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis. *J Pers Med.* 2021;11(11):1141. doi:10.3390/jpm11111141
- 17.** Hoxha B, Hoxha M, Domi E, Gervasoni J, Persichilli S, Malaj V, et al. Folic acid and autism: a systematic review of the current state of knowledge. *Cells.* 2021;10(8):1976. doi:10.3390/cells10081976
- 18.** Rylaarsdam L, Guemez-Gamboa A. Genetic causes and modifiers of autism spectrum disorder. *Front Cell Neurosci.* 2019;13:385. doi:10.3389/fncel.2019.00385
- 19.** Herrera ML, Paraíso-Luna J, Bustos-Martínez I, Barco Á. Targeting epigenetic dysregulation in autism spectrum disorders. *Trends Mol Med.* 2024;30(11):1028–1046. doi:10.1016/j.molmed.2024.06.004
- 20.** Saeli T, Yuwattana W, Poolcharoen C, van Erp ML, Kanlayaprasit S, Vanwong N, et al. Genome-Wide DNA Methylation Profiling of Peripheral Blood Mononuclear Cells Reveals

Epigenetic Signatures in Autism Spectrum Disorder. *Int J Mol Sci.* 2026;27(10):4161. doi:10.3390/ijms27104161

21. Roufael M, Bitar T, Sacre Y, Andres C, Hleihel W. Folate-methionine cycle disruptions in ASD patients and possible interventions: a systematic review. *Genes (Basel).* 2023;14(3):709. doi:10.3390/genes14030709

22. Frye RE, Slattery JC, Quadros EV. Folate metabolism abnormalities in autism: potential biomarkers. *Biomark Med.* 2017;11(8):687–699. doi:10.2217/bmm-2017-0109

23. Goyette P, Sumner JS, Milos R, Duncan AM, Rosenblatt DS, Matthews RG, et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat Genet.* 1994;7(2):195–200. doi:10.1038/ng0694-195

24. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet.* 1995;10(1):111–113. doi:10.1038/ng0595-111

25. van der Put NMJ, Gabreëls F, Stevens EMB, Smeitink JAM, Trijbels FJM, Eskes TKAB, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet.* 1998;62(5):1044–1051. doi:10.1086/301825

26. Avram OE, Bratu EA, Curis C, Moroianu LA, Drima E. Modifiable nutritional biomarkers in autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis of vitamin D, B12, and homocysteine exposure spanning prenatal development through late adolescence. *Int J Mol Sci.* 2025;26(9):4410. doi:10.3390/ijms26094410

27. Tisato V, Silva JA, Longo G, Gallo I, Singh AV, Milani D, Gemmati D. Genetics and Epigenetics of One-Carbon Metabolism Pathway in Autism Spectrum Disorder: A Sex-Specific Brain Epigenome? *Genes.* 2021;12(5):782. doi:10.3390/genes12050782

28. Guo T, Chen H, Liu B, Ji W, Yang C. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms C677T and risk of autism in the Chinese Han population. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2012;16(8):968–973. doi:10.1089/gtmb.2012.0091

29. Pan Y, McDill B, Mooney M. The contribution of ethnicity to the association of *MTHFR* variants C677T and A1298C with autism spectrum disorder: a meta-analysis. *Brain Sci.* 2026;16(1):93. doi:10.3390/brainsci16010093

30. Li Y, Qiu S, Shi J, Guo Y, Li Z, Cheng Y, et al. Association between *MTHFR* C677T/A1298C and susceptibility to autism spectrum disorders: a meta-analysis. *BMC Pediatr*. 2020;20:449. doi:10.1186/s12887-020-02330-3
31. Pu D, Shen Y, Wu J. Association between *MTHFR* gene polymorphisms and the risk of autism spectrum disorders: a meta-analysis. *Autism Res*. 2013;6(5):384–392. doi:10.1002/aur.1300
32. Razi B, Imani D, Hassanzadeh Makoui M, Rezaei R, Aslani S. Association between *MTHFR* gene polymorphism and susceptibility to autism spectrum disorders: systematic review and meta-analysis. *Res Autism Spectr Disord*. 2020;70:101473. doi:10.1016/j.rasd.2019.101473
33. Sener EF, Oztop DB, Ozkul Y. *MTHFR* gene C677T polymorphism in autism spectrum disorders. *Genet Res Int*. 2014;2014:698574. doi:10.1155/2014/698574
34. Fang Y, Cui Y, Yin Z, Hou M, Guo P, Wang H, et al. Comprehensive systematic review and meta-analysis of the association between common genetic variants and autism spectrum disorder. *Gene*. 2023;887:147723. doi:10.1016/j.gene.2023.147723
35. Castro K, Klein LS, Baronio D, Gottfried C, Riesgo R, Perry IS. Folic acid and autism: what do we know? *Nutr Neurosci*. 2016;19(7):310–317. doi:10.1179/1476830514Y.0000000142
36. Iannuzzelli CC, Iannuzzelli AL, Cunha B, Venkataraman V, Aita W. Exploring the impact of methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) gene variations on autism spectrum disorder severity. *J Osteopath Med*. 2026;126(3):113–117. doi:10.1515/jom-2025-0004
37. Li B, Xu Y, Pang D, Zhao Q, Zhang L, Li M, et al. Interrelation between homocysteine metabolism and the development of autism spectrum disorder in children. *Front Mol Neurosci*. 2022;15:947513. doi:10.3389/fnmol.2022.947513
38. Frye RE, McCarty PJ, Werner BA, Scheck AC, Collins HL, Adelman SJ, et al. Binding folate receptor alpha autoantibody is a biomarker for leucovorin treatment response in autism spectrum disorder. *J Pers Med*. 2024;14(1):62. doi:10.3390/jpm14010062
39. Vinci Lab. FRAT® Test: autoanticorpos do receptor de folato na investigação do transtorno do espectro autista [Internet]. São Paulo: Vinci Lab; 2026 [citado 2026 set 6]. Disponível em: <https://vincilab.com.br/products/frat-test-autoanticorpos-receptor-folato>
40. Cidav Z, Munson J, Estes A, Dawson G, Rogers S, Mandell D. Cost Offset Associated With Early Start Denver Model for Children With Autism. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2017;56(9):777–783. doi:10.1016/j.jaac.2017.06.007

- 41.** Clarke L, Fung LK. The impact of autism-related training programs on physician knowledge, self-efficacy, and practice behavior: A systematic review. *Autism*. 2022;26(7):1626–1640. doi:10.1177/13623613221102016
- 42.** Guan X, Zwaigenbaum L, Sonnenberg LK. Building Capacity for Community Pediatric Autism Diagnosis: A Systemic Review of Physician Training Programs. *J Dev Behav Pediatr*. 2022;43(1):44–54. doi:10.1097/DBP.0000000000001042
- 43.** Montiel-Nava C, Montenegro MC, Ramirez AC, Villarreal V, Murillo Chacko L, Dixon P, Dababnah S. Scoping review: Facilitators, barriers, and cultural adaptations in the caregiver skills training program for children with developmental concerns. *Autism*. 2026;30(3). doi:10.1177/13623613251406399
- 44.** Conselho Federal de Medicina. Ministério da Saúde atualiza cronograma para uso da CID 11 no Brasil [Internet]. Portal Médico; 2025 fev 6 [citado 2026 set 6]. Disponível em: <https://portal.cfm.org.br/noticias/cid-11-ministerio-da-saude-atualiza-cronograma-para-utilizacao-no-brasil/>
- 45.** Kamp-Becker I. Autism spectrum disorder in ICD-11—a critical reflection of its possible impact on clinical practice and research. *Mol Psychiatry*. 2024;29(3):633–638. doi:10.1038/s41380-023-02354-y
- 46.** FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource [Internet]. Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US); Bethesda (MD): National Institutes of Health (US); 2016 [atualizado 2025 jan 7; citado 2026 set 6]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/>
- 47.** Zhang YX, Yang LP, Gai C, Cheng CC, Guo Z, Sun HM, Hu D. Association between variants of MTHFR genes and psychiatric disorders: a meta-analysis. *Front Psychiatry*. 2022;13:976428. doi:10.3389/fpsy.2022.976428
- 48.** Pereira AM, Riesgo RS, Wagner MB. Childhood autism: translation and validation of the Childhood Autism Rating Scale for use in Brazil. *J Pediatr (Rio J)*. 2008;84(6):487–494. doi:10.2223/JPED.1828
- 49.** Cohen J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*. 2nd ed. Hillsdale (NJ): Lawrence Erlbaum Associates; 1988.

- 50.** El-Baz F, El-Aal MA, Kamal TM, Sadek AA, Othman AA. Study of the C677T and 1298AC polymorphic genotypes of *MTHFR* gene in autism spectrum disorder. *Electron Physician*. 2017;9(5):5287–5293. doi:10.19082/5287
- 51.** Laguna GGC, Gusmão ABF, Marques BO, Bragas NBDS, Rodrigues IB, Melo RS, de Azevedo KRM. Neuroplasticity in autism spectrum disorder: a systematic review. *Dement Neuropsychol*. 2025;19:e20240182. doi:10.1590/1980-5764-DN-2024-0182

APÊNDICES

Texto na íntegra dos resultados desta pesquisa, o qual foi base e fonte para elaboração dos artigos científicos

RESULTADOS

1. Braço 1 — Variantes do *MTHFR*, biomarcadores metabólicos e gravidade clínica do TEA

Um total de 19 pacientes com TEA, com genotipagem completa do *MTHFR*, foi incluído na análise estratificada por atividade enzimática predita. Com base nessa atividade enzimática, 14 foram classificados como tendo atividade preservada (>50%) e 5 como tendo atividade reduzida ($\leq$ 50%). O predomínio do sexo masculino em ambos os grupos (85,7% e 80,0%, respectivamente) é consistente com o bem estabelecido predomínio masculino no TEA, com razão masculino:feminino de aproximadamente 4:1 relatada em estudos de base populacional.¹

Nota metodológica sobre os tamanhos amostrais das Tabelas 1 e 2: Como detalhado na seção 4.1.2, a avaliação pela CARS foi realizada em 22 participantes que compareceram à segunda visita clínica estruturada, ao passo que a análise estratificada por atividade enzimática do *MTHFR* (Tabela 1) restringiu-se aos 19 participantes que, adicionalmente, possuíam genotipagem completa. Por essa razão, a Tabela 1 (estratificada por atividade do *MTHFR*) e a Tabela 2 (estratificada por gravidade da CARS) descrevem subamostras que se sobrepõem, mas não são idênticas — a Tabela 2 inclui 3 participantes adicionais que completaram a avaliação clínica, porém não a genotipagem, no momento do fechamento da coleta de dados. Essa distinção é reportada de forma transparente para evitar a impressão equivocada de que ambas as tabelas descrevem exatamente a mesma amostra, e é retomada na Discussão (seção 6.1) como uma limitação a ser endereçada em estudos futuros com coleta simultânea e completa de todas as variáveis.

Quanto à distribuição genotípica, para a variante *MTHFR* 677C>T, as seguintes frequências foram observadas na amostra de 19 participantes com genotipagem completa: genótipo CC em 8 indivíduos (42,1%), CT em 9 (47,4%) e TT em 2 (10,5%), correspondendo a frequências alélicas de 65,8% para o alelo C e 34,2% para o alelo T. Para a variante *MTHFR* 1298A>C, o genótipo AA esteve presente em 10 indivíduos (52,6%), AC em 6 (31,6%) e CC em 3 (15,8%), com frequências alélicas de 68,4% para o alelo A e 31,6% para o alelo C. Ambas as variantes estavam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW): $\chi^2 = 0,052$ para 677C>T ($p > 0,05$)

e $\chi^2 = 1,377$ para 1298A>C ($p > 0,05$), indicando ausência de evidência de erro de genotipagem ou estratificação populacional.

O genótipo combinado mais frequente foi 677CT/1298AA ($n = 6$; 31,6%), seguido por 677CC/1298AC ($n = 3$; 15,8%), 677CT/1298AC ($n = 3$; 15,8%), 677CC/1298CC ($n = 3$; 15,8%), 677TT/1298AA ($n = 2$; 10,5%) e 677CC/1298AA ($n = 2$; 10,5%), totalizando os 19 participantes. Estratificado por grupo funcional, o grupo de atividade reduzida ($n = 5$) foi composto exclusivamente por indivíduos portadores dos genótipos combinados 677CT/1298AC ($n = 3$; 60,0%) ou 677TT/1298AA ($n = 2$; 40,0%), enquanto o grupo de atividade preservada ($n = 14$) apresentou predomínio das combinações 677CT/1298AA ($n = 6$; 42,9%) e dos genótipos CC para ambos os loci. O alelo T do 677C>T foi substancialmente mais frequente no grupo de atividade reduzida (70,0%) em comparação com o grupo de atividade preservada (21,4%), e o alelo C do 1298A>C foi similarmente mais frequente no grupo de atividade reduzida (30,0% vs. 32,1%), embora esta última diferença tenha sido de menor magnitude.

A Tabela 1 resume a análise comparativa das variáveis demográficas, socioeconômicas e gestacionais entre os grupos estratificados pela atividade do MTHFR. Os resultados demonstram uma distribuição amplamente homogênea das características basais entre indivíduos com atividade enzimática preservada e reduzida, sem diferenças estatisticamente significativas observadas para nenhuma variável (todos $p > 0,05$).

Quanto à gravidade do TEA, os participantes com atividade enzimática reduzida do MTHFR exibiram proporção numericamente maior classificada no Nível 1 do DSM-5 (requer suporte; 60,0% vs. 28,6%), enquanto os participantes com atividade preservada foram mais frequentemente classificados no Nível 2 (requer suporte substancial; 42,9% vs. 20,0%). Essas diferenças não atingiram significância estatística ($p = 0,56$). Importa destacar que a interpretação desses padrões proporcionais é severamente limitada pelo tamanho do grupo de atividade reduzida ($n = 5$): nesse contexto, cada indivíduo representa 20% das proporções grupais, de modo que qualquer distribuição observada pode refletir variação individual aleatória e não uma tendência clínica associada ao genótipo. Os escores médios da CARS foram semelhantes entre os grupos estratificados por atividade do MTHFR (preservado: $30,73 \pm 6,37$; reduzido: $29,7 \pm 9,38$; $p = 0,79$).

Tabela 1. Características sociodemográficas, clínicas e gestacionais da amostra estratificada conforme o perfil de atividade enzimática do MTHFR (n = 19).

Variável	MTHFR > 50% (n=14)	MTHFR ≤ 50% (n=5)	valor de p*
Idade; média (d.p.)	12,86 (7,41)	8,80 (4,76)	0,08
Sexo; n(%)			0,99
Feminino	2 (14,3%)	1 (20,0%)	
Masculino	12 (85,7%)	4 (80,0%)	
Raça/Etnia; n(%)			0,79
Asiática	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Branca	7 (50,0%)	4 (80,0%)	
Parda/Mista	5 (35,7%)	1 (20,0%)	
Preta	2 (14,3%)	0 (0,0%)	
Nível de escolaridade; n(%)			0,99
Educação Infantil (Pré-escola/Creche)	4 (28,6%)	2 (40,0%)	
Ensino Fundamental Incompleto	7 (50,0%)	2 (40,0%)	
Ensino Médio Incompleto	2 (14,3%)	1 (20,0%)	
Ensino Médio Completo	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Ensino Superior Completo	1 (7,1%)	0 (0,0%)	
Frequenta atualmente escola ou instituição de ensino; n(%)			0,73
Não frequenta	1 (7,1%)	0 (0,0%)	
Sim, educação especial (ex.: sala especializada em escola regular)	3 (21,4%)	1 (20,0%)	
Sim, escola regular (com acompanhante terapêutico/profissional de apoio)	5 (35,7%)	3 (60,0%)	

Sim, escola regular (sem acompanhante terapêutico/profissional de apoio)	1 (7,1%)	1 (20,0%)	
Sim, instituição especializada	4 (28,6%)	0 (0,0%)	
Renda familiar mensal (em salários-mínimos); n(%)			0,89
Até 1 salário-mínimo	3 (21,4%)	0 (0,0%)	
De 1 a 3 salários-mínimos	6 (42,9%)	2 (40,0%)	
De 3 a 5 salários-mínimos	2 (14,3%)	1 (20,0%)	
De 5 a 10 salários-mínimos	3 (21,4%)	2 (40,0%)	
Há outros casos de Transtorno do Espectro Autista (TEA) na família?; n(%)			0,28
Não	1 (7,1%)	2 (40,0%)	
Não sabe / Não soube informar	4 (28,6%)	1 (20,0%)	
Sim	9 (64,3%)	2 (40,0%)	
Idade materna no momento da concepção; n(%)	33,07 (4,16)	31,60 (5,77)	0,55
A mãe tomou suplementos de ácido fólico ANTES de engravidar?; n(%)			0,48
Não	8 (57,1%)	2 (40,0%)	
Não sabe / Não soube informar	2 (14,3%)	0 (0,0%)	
Sim	4 (28,6%)	3 (60,0%)	
A mãe tomou suplementos de ácido fólico DURANTE a gravidez?; n(%)			0,74
Não	1 (7,1%)	1 (20,0%)	
Não sabe / Não soube informar	2 (14,3%)	0 (0,0%)	
Sim	11 (78,6%)	4 (80,0%)	

A mãe tomou polivitamínicos pré-natais durante a gravidez?; n(%)			0,69
Não	3 (21,4%)	2 (40,0%)	
Não sabe / Não soube informar	1 (7,1%)	0 (0,0%)	
Sim	10 (71,4%)	3 (60,0%)	
Idade paterna no momento da concepção	37,0 (6,46)	36,6 (5,41)	0,9
Peso ao nascer (gramas); média (d.p.)	3228,62 (781,21)	3379,00 (504,46)	0,7
Tipo de parto; n(%)			0,53
Cesariana (eletiva)	6 (42,9%)	3 (60,0%)	
Cesariana (de emergência)	4 (28,6%)	0 (0,0%)	
Parto vaginal (normal)	4 (28,6%)	2 (40,0%)	
Complicações durante o parto ou logo após o nascimento; n(%)	6 (42,9%)	2 (40,0%)	0,99
Icterícia com necessidade de tratamento (fototerapia); n(%)	4 (66,7%)	0,00%	0,43
Internação em UTI neonatal; n(%)	3 (50,0%)	1 (50,0%)	0,99
Sofrimento fetal; n(%)	3 (50,0%)	2 (100,0%)	0,46
Hipóxia (privação de oxigênio); n(%)	3 (50,0%)	2 (100,0%)	0,46
Atraso ou regressão do desenvolvimento; n(%)	11 (78,6%)	4 (80,0%)	0,99
Nível de suporte necessário, de acordo com o DSM-5; n(%)			0,56
Nível 1 (Requer suporte)	4 (28,6%)	3 (60,0%)	
Nível 2 (Requer suporte substancial)	6 (42,9%)	1 (20,0%)	
Nível 3 (Requer suporte muito substancial)	4 (28,6%)	1 (20,0%)	

Escala CARS (Childhood Autism Rating Scale); média (d.p.)	30,73 (6,37)	29,7 (9,38)	0,79
--	--------------	-------------	-------------

* Os valores de p foram obtidos por meio do teste t de Student para amostras independentes ou do teste de Wilcoxon–Mann–Whitney para variáveis contínuas, e do teste qui-quadrado de Pearson ou do teste exato de Fisher para variáveis categóricas, conforme apropriado de acordo com os pressupostos estatísticos. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Fonte: Elaborada pela autora, com base nos dados da pesquisa.

A Tabela 2 apresenta os resultados das análises comparativas estratificadas pela gravidade dos sintomas do TEA pela CARS ($\leq 30,5$ vs. $> 30,5$) na subamostra de 22 participantes com avaliação clínica completa (seção 4.1.2 e nota metodológica acima). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos para nenhuma variável sociodemográfica, perinatal ou gestacional, embora uma proporção numericamente maior de indivíduos com sintomas graves necessitasse de suporte muito substancial (Nível 3: 40,0% vs. 8,3%), consistente com validade convergente entre o escore da CARS e os níveis de suporte do DSM-5. Um participante do grupo $CARS \leq 30,5$ não possuía informação registrada sobre o nível de suporte do DSM-5 no momento da coleta (categoria "Não sei / Sem informação" na Tabela 2), o que não compromete a comparação estatística das demais categorias.

Tabela 2. Características sociodemográficas, clínicas e gestacionais da amostra estratificada conforme a gravidade dos escores da CARS ($\leq 30,5$ vs. $> 30,5$; $n = 22$).

Variável	CARS $\leq 30,5$ (n=12)	CARS $> 30,5$ (n=10)	valor de p*
Idade; média (d.p.)	11,17 (7,96)	10,90 (4,41)	0,57
Sexo; n(%)			0,22
Feminino	3 (25,0%)	0 (0,0%)	
Masculino	9 (75,0%)	10 (100,0%)	
Raça/Etnia; n(%)			0,9
Asiática	0 (0,0%)	1 (10,0%)	
Branca	7 (58,3%)	5 (50,0%)	
Parda/Mista	4 (33,3%)	3 (30,0%)	

Preta	1 (8,3%)	1 (10,0%)	
Nível de escolaridade; n(%)			0,27
Educação Infantil (Pré-escola/Creche)	3 (25,0%)	4 (40,0%)	
Ensino Fundamental Incompleto	8 (66,7%)	4 (40,0%)	
Ensino Médio Incompleto	0 (0,0%)	2 (20,0%)	
Ensino Médio Completo	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Ensino Superior Completo	1 (8,3%)	0 (0,0%)	
Frequenta atualmente escola ou instituição de ensino; n(%)			0,25
Não frequenta	1 (8,3%)	0 (0,0%)	
Sim, educação especial (ex.: sala especializada em escola regular)	1 (8,3%)	2 (20,0%)	
Sim, escola regular (com acompanhante terapêutico/profissional de apoio)	4 (33,3%)	5 (50,0%)	
Sim, escola regular (sem acompanhante terapêutico/profissional de apoio)	4 (33,3%)	0 (0,0%)	
Sim, instituição especializada	2 (16,7%)	3 (30,0%)	
Renda familiar mensal (em salários-mínimos); n(%)			0,93
Até 1 salário-mínimo	1 (8,3%)	2 (20,0%)	
De 1 a 3 salários-mínimos	6 (50,0%)	4 (40,0%)	
De 3 a 5 salários-mínimos	2 (16,7%)	2 (20,0%)	
De 5 a 10 salários-mínimos	3 (25,0%)	2 (20,0%)	
Há outros casos de Transtorno do Espectro Autista (TEA) na família?; n(%)			0,99
Não	2 (16,7%)	1 (10,0%)	
Não sabe / Não soube informar	3 (25,0%)	2 (20,0%)	

Sim	7 (58,3%)	7 (70,0%)	
Idade materna no momento da concepção; n(%)	31,33 (4,23)	33,50 (4,86)	0,28
A mãe tomou suplementos de ácido fólico ANTES de engravidar?; n(%)			0,81
Não	8 (66,7%)	6 (60,0%)	
Não sabe / Não soube informar	1 (8,3%)	0 (0,0%)	
Sim	3 (25,0%)	4 (40,0%)	
A mãe tomou suplementos de ácido fólico DURANTE a gravidez?; n(%)			0,48
Não	2 (16,7%)	0 (0,0%)	
Não sabe / Não soube informar	0 (0,0%)	1 (10,0%)	
Sim	10 (83,3%)	9 (90,0%)	
A mãe tomou polivitamínicos pré-natais durante a gravidez?; n(%)			0,8
Não	3 (25,0%)	3 (30,0%)	
Não sabe / Não soube informar	0 (0,0%)	1 (10,0%)	
Sim	9 (75,0%)	6 (60,0%)	
Idade paterna no momento da concepção	34,08 (5,68)	37,80 (7,20)	0,19
Peso ao nascer (gramas); média (d.p.)	3155,0 (653,35)	3257,20 (728,95)	0,74
Tipo de parto; n(%)			0,38
Cesariana (eletiva)	6 (50,0%)	5 (50,0%)	
Cesariana (de emergência)	1 (8,3%)	3 (30,0%)	
Parto vaginal (normal)	5 (41,7%)	2 (20,0%)	
Complicações durante o parto ou logo após o nascimento; n(%)	6 (50,0%)	5 (50,0%)	0,99

Icterícia com necessidade de tratamento (fototerapia); n(%)	3 (50,0%)	1 (20,0%)	0,55
Internação em UTI neonatal; n(%)	1 (16,7%)	3 (60,0%)	0,24
Sufrimento fetal; n(%)	3 (50,0%)	3 (50,0%)	0,99
Hipóxia (privação de oxigênio); n(%)	3 (50,0%)	3 (50,0%)	0,99
Atraso ou regressão do desenvolvimento; n(%)	7 (58,3%)	8 (80,0%)	0,38
Nível de suporte necessário, de acordo com o DSM-5; n(%)			0,27
Não sabe	1 (8,3%)	0 (0,0%)	
Nível 1 (Requer suporte)	5 (41,7%)	2 (20,0%)	
Nível 2 (Requer suporte substancial)	5 (41,7%)	4 (40,0%)	
Nível 3 (Requer suporte muito substancial)	1 (8,3%)	4 (40,0%)	

* Os valores de p foram obtidos por meio do teste t de Student para amostras independentes ou do teste de Wilcoxon–Mann–Whitney para variáveis contínuas, e do teste qui-quadrado de Pearson ou do teste exato de Fisher para variáveis categóricas, conforme apropriado de acordo com os pressupostos estatísticos. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Fonte: Elaborada pela autora, com base nos dados da pesquisa.

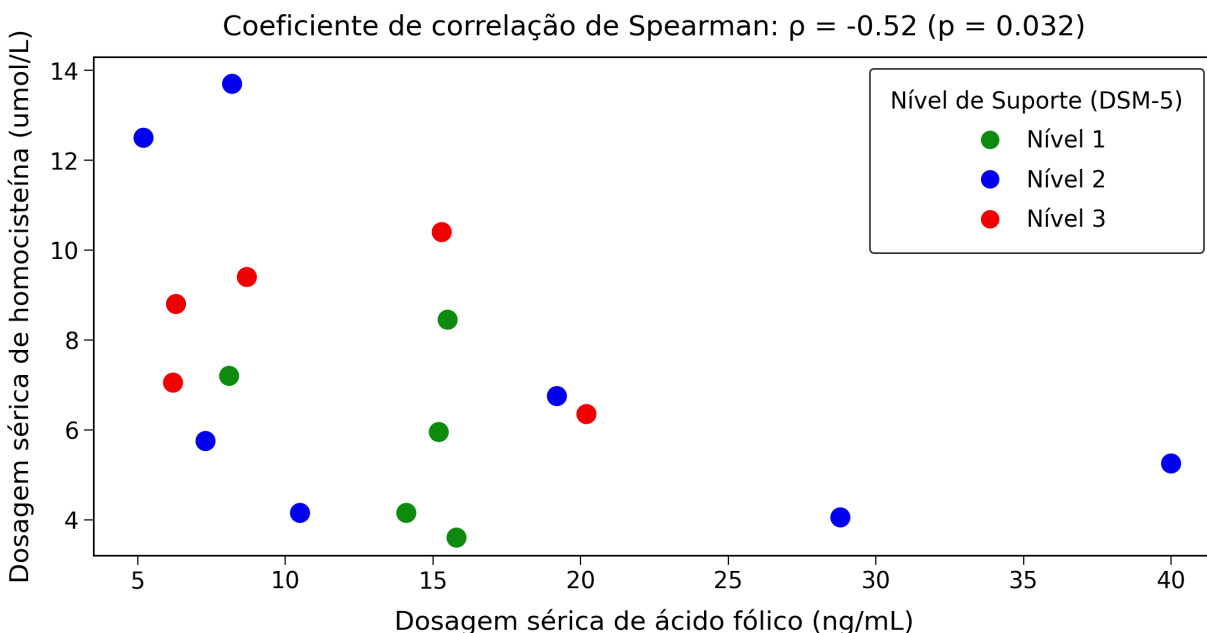
1.1. Correlação entre ácido fólico sérico e homocisteína sérica

Entre os 19 participantes do Braço 1, 17 possuíam dosagens pareadas de ácido fólico e homocisteína séricos disponíveis. O gráfico de dispersão evidenciou uma correlação negativa entre as concentrações séricas de ácido fólico e homocisteína nesses 17 pacientes (Figura 1). A análise de correlação de Spearman demonstrou uma correlação negativa e estatisticamente significativa entre essas variáveis ($\rho = -0,52$; $p = 0,032$; $n = 17$), indicando que maiores concentrações séricas de ácido fólico estão correlacionadas a menores concentrações séricas de homocisteína. Essa tendência foi observada considerando-se os diferentes níveis de suporte estabelecidos pelo DSM-5, com os pontos de dispersão coloridos por nível de suporte (Nível 1, Nível 2 e Nível 3) demonstrando que a relação inversa entre ácido fólico e homocisteína transcende os grupos de gravidade clínica, podendo se correlacionar com a simples presença do

diagnóstico de TEA. Esses achados são consistentes com o papel estabelecido do folato como substrato essencial para a remetilação da homocisteína no ciclo do carbono-1, e corroboram a plausibilidade biológica da hipótese de que alterações nessa via metabólica contribuem para o perfil clínico de indivíduos com TEA.^{26,37}

Esses resultados alinham-se diretamente com os achados da revisão sistemática de Roufael et al.,²¹ que identificou, de forma recorrente, ainda que heterogênea entre os estudos revisados, níveis séricos de folato e vitamina B12 reduzidos e de homocisteína elevados em indivíduos com TEA em comparação com controles saudáveis, e que essas alterações metabólicas são influenciadas tanto por polimorfismos genéticos no *MTHFR* quanto por uma alimentação inadequada — reflexo da seletividade alimentar característica do transtorno. O achado do presente estudo de que maiores concentrações de ácido fólico estão associadas a menores concentrações de homocisteína, de forma independente do nível de suporte do DSM-5, fornece suporte empírico direto à hipótese central desse referencial teórico e reforça a relevância clínica da avaliação dos biomarcadores do ciclo folato-metionina em pacientes com TEA.

Figura 1. Gráfico de dispersão das concentrações séricas de ácido fólico (ng/mL) e homocisteína (μmol/L) em pacientes com Transtorno do Espectro Autista (n = 17), estratificadas por nível de suporte do DSM-5. Coeficiente de correlação de Spearman: $\rho = -0,52$ ($p = 0,032$).



Fonte: Elaborada pela autora, com base nos dados da pesquisa.

2. Braço 2 — Capacitação de profissionais da atenção primária para detecção precoce do TEA

Um total de 47 profissionais de saúde de diferentes regiões do Brasil participou do programa de capacitação, incluindo médicos, enfermeiros, psicólogos, assistentes sociais e nutricionistas, refletindo uma força de trabalho multiprofissional da atenção primária. Observou-se elevado engajamento durante as atividades síncronas e assíncronas, particularmente nas discussões baseadas em casos, que favoreceram a participação ativa e a aprendizagem colaborativa. Os participantes demonstraram melhora progressiva na identificação de sinais precoces do TEA, especialmente no reconhecimento de déficits em comunicação social, comportamentos restritos e repetitivos e atrasos do desenvolvimento.

A integração da Aprendizagem Baseada em Casos (CBL) contribuiu para o desenvolvimento do raciocínio clínico, permitindo aos participantes aplicar o conhecimento teórico a cenários práticos. Durante as discussões de casos, os participantes demonstraram maior capacidade de diferenciar padrões de desenvolvimento típico e atípico, identificar sinais de alerta precoce e determinar o momento apropriado para triagem e encaminhamento.

Os participantes também relataram maior confiança na tomada de decisão clínica, particularmente no uso de instrumentos de triagem como o M-CHAT-R/F e na organização dos fluxos de encaminhamento dentro do sistema de saúde. Um resultado importante da abordagem ToT foi a prontidão percebida dos participantes para atuarem como multiplicadores do conhecimento em seus contextos locais. Adicionalmente, o programa favoreceu maior compreensão dos fluxos assistenciais na RAPS, apoiando abordagens mais estruturadas de encaminhamento e acompanhamento.

ANEXOS

A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Aplicação de modelos de atenção visual em pacientes com transtorno do espectro autista (TEA) em prol do desenvolvimento de um instrumento diagnóstico e classificatório de TEA.

Pesquisador: Sandra Nunes

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 78296724.0.0000.5231

Instituição Proponente: CCS - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Stricto sensu

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.979.650

Apresentação do Projeto:

PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2254360 (1).pdf

Introdução: O transtorno do espectro autista (TEA) se caracteriza como um grupo complexo e heterogêneo de distúrbios do neurodesenvolvimento cujo diagnóstico viabiliza intervenções que melhoram o prognóstico e trazem maior qualidade de vida ao paciente e seus familiares, principalmente quando realizado de forma precoce. No entanto, a detecção precisa do transtorno ainda envolve dificuldades inerentes à necessidade da avaliação por profissionais especializados que possam traduzir uma análise subjetiva em critérios clínicos específicos, consolidando um diagnóstico e uma classificação de gravidade. O diagnóstico tardio de TEA vem se constituindo também como grande desafio, já que os sintomas do indivíduo adulto frequentemente são atenuados por comportamentos adaptativos aprendidos ao longo da vida ou mesmo confundidos com comorbidades, prejudicando a identificação e consequente intervenção. **Objetivo:** Desenvolver modelos de atenção visual a partir do processamento de dados provenientes de rastreamento ocular (do inglês, eye tracking) capazes de detectar e classificar indivíduos portadores de TEA. **Método:** A pesquisa se constitui como um estudo de acurácia composto por etapas subsequentes: 1) Desenvolvimento de dois modelos de atenção visual a partir do processamento de dados de uma amostra inicial (A1) de indivíduos, entre 2 e

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Telefone: (43)3371-5455

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

E-mail: cep268@uel.br

Continuação do Parecer: 6.979.650

35 anos, com TEA e sem TEA, extraídos de um rastreador ocular (do inglês, eye tracker) enquanto os mesmos assistem a vídeos criados pela pesquisa; 2) Realização do aprendizado de máquina (do inglês, machine learning) e posterior aplicação dos modelos de atenção visual em uma segunda amostra de indivíduos (A2), com e sem TEA, de forma a classificá-los com o diagnóstico ou não; 3) Avaliação das características particulares (Cp_i s) dos modelos de atenção visual de indivíduos com TEA grave (os quais pontuam entre 38 e 60 na Childhood Autism Rating Scale $\hat{CARS}$) e TEA leve-moderado ($CARS$ entre 30 e 37); 4) Comparação das Cp_i s observadas acima com aquelas identificadas em uma amostra de indivíduos (A3) entre 2 e 18 anos, com TEA, de forma a classificá-los segundo a gravidade do quadro; 5) Análise estatística da acurácia, sensibilidade e especificidade dos modelos de atenção visual desenvolvidos de forma a viabilizá-los para diagnóstico e classificação de gravidade de TEA. Resultados esperados: Espera-se que os modelos de atenção visual desenvolvidos a partir do processamento de dados provenientes de rastreamento ocular e apreendidos pelo machine learning sejam capazes de identificar indivíduos portadores de TEA e classificá-los conforme a gravidade de seus respectivos quadros. O estudo também irá realizar o levantamento de um conjunto de dados (do inglês, data set) que poderá contribuir para pesquisas científicas futuras e aprendizado de máquina, influenciando tomadas de decisão clínicas com embasamento tecnológico e objetivo.

Critério de Inclusão:

Os critérios de inclusão para os indivíduos com TEA serão: Preenchimento dos critérios estabelecidos no seguinte grupo diagnóstico, formulado pela Classificação Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde - CID 11 (OMS): 6A02 $\hat{C}$ Transtorno do Espectro Autista; Idade entre 2 e 35 anos; Ter disponibilidade para comparecer à Clínica Psicológica da UEL em dia e horas pré-estabelecidos; Ter o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE $\hat{C}$ para crianças e adolescentes) o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE $\hat{C}$ para responsáveis e adultos) assinados.

Critério de Exclusão:

Os critérios de exclusão dos indivíduos serão: Preenchimento concomitante dos critérios estabelecidos no seguinte grupo diagnóstico, formulado pela Classificação Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde - CID 11 (OMS): 6A00 $\hat{C}$ Transtorno do Desenvolvimento Intelectual; Não permissão do responsável legal à participação da criança

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

CEP: 86.057-970

E-mail: cep268@uel.br

Continuação do Parecer: 6.979.650

e/ou adolescente com TEA ou recusa do próprio paciente.

Objetivo da Pesquisa:

PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2254360 (1).pdf

Objetivo Primário:

Desenvolver modelos de atenção visual a partir do processamento de dados provenientes de rastreamento ocular (do inglês, eye tracking) capazes de detectar e classificar indivíduos portadores de TEA.

Objetivo Secundário:

- 1) Avaliar a acurácia, sensibilidade e especificidade de modelos de atenção visual desenvolvidos a partir do processamento de dados de rastreamento ocular na detecção e classificação de pacientes com TEA;
- 2) Realizar a composição de um conjunto de dados (do inglês, data set) que possa contribuir para pesquisas científicas futuras e aprendizado de máquina, influenciando tomadas de decisão clínicas com embasamento tecnológico e objetivo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2254360 (1).pdf

Riscos:

O estudo considera que os riscos são mínimos e caso algum participante possa apresentar qualquer alteração emocional advinda da participação do estudo, a pesquisadora principal garante uma assistência psicológica de forma voluntária e sem custos.

Benefícios:

Espera-se que os modelos de atenção visual desenvolvidos a partir do processamento de dados provenientes de rastreamento ocular sejam capazes de distinguir indivíduos portadores de TEA (e a gravidade de seus respectivos quadros) de indivíduos sem TEA, auxiliando no diagnóstico e na classificação do transtorno. Espera-se também que o presente estudo realize também o levantamento de um conjunto de dados (do inglês, data set) que possa contribuir para pesquisas científicas futuras e aprendizado de máquina, influenciando tomadas de decisão clínicas com embasamento tecnológico e objetivo

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Telefone: (43)3371-5455

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

E-mail: cep268@uel.br

Continuação do Parecer: 6.979.650

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é relevante para a obtenção de informações que poderão auxiliar na compreensão do assunto proposto. O projeto apresenta relevância social e científica devidamente justificados, os materiais e métodos empregados são pertinentes aos objetivos da pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

QUANTO À FOLHA DE ROSTO:

- A folha de rosto contém a assinatura do pesquisador responsável;
- Contém a assinatura do responsável pela instituição onde se realizará a pesquisa - Coordenação do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde.

QUANTO AO TCLE:

- O TCLE está construído de acordo com as resoluções vigentes.
- A redação está em forma de convite com linguagem clara e acessível apropriada aos participantes;
- Apresenta o título, nome do responsável pela pesquisa, local de realização da pesquisa objetivos, detalhamento dos procedimentos e métodos a serem utilizados, benefícios da pesquisa, riscos e desconfortos decorrentes da participação na pesquisa juntamente com providências de acolhimento e formas de minimizar, reduzir ou evitar os riscos;
- Está garantida a plena liberdade ao participante da pesquisa, de recusar-se a participar ou retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem que isso acarrete em qualquer ônus ou prejuízo ao participante;
- Está garantida a manutenção do sigilo e da confidencialidade dos voluntários preservando a sua identidade durante toda a pesquisa;
- Foi garantido ao voluntário o direito ao ressarcimento das possíveis despesas decorrentes da pesquisa;
- Consta no TCLE informações referentes ao e-mail, telefone pessoal e endereço do responsável pela pesquisa, bem como informações do e-mail, telefone e endereço do CEP-UEL;
- Garantia que TCLE será em duas vias, sendo uma entregue ao participante e a outra que ficará com pesquisador.

TALE

- Apresentado.

QUANTO À DECLARAÇÃO DE AUTORIZAÇÃO DA INSTITUIÇÃO COPARTICIPANTE:

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

CEP: 86.057-970

E-mail: cep268@uel.br

Continuação do Parecer: 6.979.650

- A declaração de autorização foi apresentada;
- Apresenta o título da pesquisa e o nome do pesquisador principal;
- Informa o que será realizado nas instituições co-participantes - Hospital Universitário da UEL; Clínica Psicológica da UEL e Grupo Amigos dos Autistas;
- Informa o período em que os dados serão coletados;
- Apresenta a assinatura do responsável pela instituição;
- Indica que a coleta de dados somente ocorrerá após a aprovação do projeto pelo CEP-UEL.

QUANTO AO CRONOGRAMA:

- Está adequadamente descrito, indicando cada fase do estudo;
- A coleta de dados está prevista para o período de 26/08/2024 a 04/04/25
- Indica que a coleta de dados terá início apenas após aprovação do CEP.

QUANTO AO ORÇAMENTO:

- A pesquisa apresenta o orçamento detalhado com financiamento próprio no valor de R\$ 4.000,00
- Há coerência entre o método e o orçamento apresentados.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Prezado(a) Pesquisador(a),

Este é seu parecer final de aprovação, vinculado ao Comitê de Ética em Pesquisas Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina. É sua responsabilidade apresentá-lo aos órgãos e/ou instituições pertinentes.

Ressaltamos, para início da pesquisa, as seguintes atribuições do pesquisador, conforme Resolução CNS 466/2012 e 510/2016:

A responsabilidade do pesquisador é indelegável e indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais, cabendo-lhe:

- conduzir o processo de Consentimento e de Assentimento Livre e Esclarecido;
- apresentar dados solicitados pelo sistema CEP/CONEP a qualquer momento;

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 6.979.650

- desenvolver o projeto conforme delineado, justificando, quando ocorridas, a sua mudança ou interrupção;
- elaborar e apresentar os relatórios parciais e final;
- manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período mínimo de 5 (cinco) anos após o término da pesquisa;
- encaminhar os resultados da pesquisa para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores e pessoal técnico integrante do projeto;
- justificar fundamentadamente, perante o sistema CEP/CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Coordenação CEP/UEL.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2254360.pdf	15/07/2024 08:33:42		Aceito
Outros	cartaresposta.docx	15/07/2024 08:33:19	Regina Celia Bueno Rezende Machado	Aceito
Outros	carspdf.pdf	15/07/2024 08:30:53	Regina Celia Bueno Rezende Machado	Aceito
Outros	questionariosociodemografico.docx	15/07/2024 08:29:34	Regina Celia Bueno Rezende Machado	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLETEA.docx	15/07/2024 08:27:32	Regina Celia Bueno Rezende Machado	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetofinalanacecilia.docx	15/07/2024 08:27:17	Regina Celia Bueno Rezende Machado	Aceito
Outros	TALETEA.docx	15/07/2024 08:21:51	Regina Celia Bueno Rezende Machado	Aceito
Outros	PARECER_HU.pdf	15/03/2024 19:37:55	Sandra Nunes	Aceito
Outros	CONCORDANCIA_CLINICA_PSICOLO	15/03/2024	Sandra Nunes	Aceito

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 6.979.650

Outros	GICA.pdf	19:37:44	Sandra Nunes	Aceito
Declaração de concordância	CONCORDANCIA_GRUPO_APOIO.pdf	15/03/2024 19:36:38	Sandra Nunes	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rostoassinado.pdf	16/02/2024 15:54:19	Sandra Nunes	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

LONDRINA, 02 de Agosto de 2024

Assinado por:

**Adriana Lourenço Soares Russo
(Coordenador(a))**

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

CEP: 86.057-970

UF: PR

Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br

B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Introdução e Justificativa:

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma condição complexa do neurodesenvolvimento com base multifatorial, envolvendo interações entre fatores genéticos e ambientais. Estudos sugerem uma possível associação com mutações do gene MTHFR, níveis de ácido fólico/homocisteína e a suscetibilidade/gravidade ao TEA. Este questionário visa coletar dados sociodemográficos, clínicos e de estilo de vida de indivíduos com TEA e suas famílias para investigar possíveis correlações do metabolismo do folato e outros fatores de risco.

Objetivos:

1. Traçar um perfil sociodemográfico detalhado de indivíduos com TEA e suas famílias.
2. Coletar informações sobre o histórico clínico, pré-natal, perinatal e de desenvolvimento.
3. Investigar a prevalência de comorbidades e condições associadas e analisar a correlação entre os dados coletados e alterações genéticas e metabolismo do folato

Procedimentos:

Você está sendo convidado(a) a responder este questionário, que levará aproximadamente 20 (vinte) minutos para ser concluído. As perguntas abrangem diversos aspectos da vida do indivíduo com TEA e de sua família. Após, será agendada coleta de exame laboratorial (exame de sangue), seguido de agendamento de um retorno para finalização da avaliação e feedback do exame.

Riscos e Benefícios:

Não há riscos diretos associados à participação. Os benefícios incluem a contribuição para o avanço do conhecimento científico sobre o TEA, o que pode, no futuro, auxiliar no desenvolvimento de estratégias de prevenção e intervenção mais eficazes.

Confidencialidade e Privacidade:

Todas as informações coletadas serão tratadas com o mais absoluto sigilo. Os nomes e quaisquer dados que possam identificar os participantes não serão divulgados. Os dados serão anonimizados e utilizados exclusivamente para fins de pesquisa.

Voluntariedade:

A sua participação é totalmente voluntária. Você pode se recusar a responder qualquer pergunta ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem qualquer tipo de penalidade ou prejuízo.

Contato:

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa, você pode entrar em contato com as pesquisadoras responsáveis: Sandra Odebrecht Vargas Nunes – [REDACTED] | Ana Cecília Novaes de Oliveira Roldan – [REDACTED]

C – QUESTIONÁRIO SOCIODEMOGRÁFICO

1. Identificação

Data de preenchimento: _____

Responsável pelo preenchimento: _____

2. Dados Sociodemográficos

2.1 Idade do participante: _____ anos (completos)

2.2 Sexo:

☐ Feminino ☐ Masculino

2.3 Raça/Etnia:

☐ Branca ☐ Preta
☐ Parda/Mista ☐ Asiática
☐ Indígena

2.4 Nível de escolaridade:

☐ Educação Infantil (Pré-escola/Creche)
☐ Ensino Fundamental Incompleto
☐ Ensino Fundamental Completo
☐ Ensino Médio Incompleto
☐ Ensino Médio Completo
☐ Ensino Superior Incompleto
☐ Ensino Superior Completo

2.5 Frequenta atualmente escola ou instituição de ensino?

☐ Não frequenta
☐ Sim, educação especial (ex.: sala especializada em escola regular)
☐ Sim, escola regular (com acompanhante terapêutico/profissional de apoio)
☐ Sim, escola regular (sem acompanhante terapêutico/profissional de apoio)
☐ Sim, instituição especializada

2.6 Renda familiar mensal (em salários-mínimos):

☐ Até 1 salário-mínimo
☐ De 1 a 3 salários-mínimos
☐ De 3 a 5 salários-mínimos
☐ De 5 a 10 salários-mínimos
☐ Mais de 10 salários-mínimos

2.7 Há outros casos de Transtorno do Espectro Autista (TEA) na família?

☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe / Não soube informar

3. Histórico Gestacional e Perinatal

3.1 Idade materna no momento da concepção: _____ anos

3.2 Idade paterna no momento da concepção: _____ anos

3.3 A mãe tomou suplementos de ácido fólico ANTES de engravidar?

☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe / Não soube informar

3.4 A mãe tomou suplementos de ácido fólico DURANTE a gravidez?

☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe / Não soube informar

3.5 A mãe tomou polivitamínicos pré-natais durante a gravidez?

☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe / Não soube informar

3.6 Peso ao nascer: _____ gramas

3.7 Tipo de parto:

- ☐ Parto vaginal (normal)
- ☐ Cesariana (eletiva)
- ☐ Cesariana (de emergência)

3.8 Houve complicações durante o parto ou logo após o nascimento?

☐ Sim ☐ Não

Se SIM, assinale todas as que se aplicam:

- ☐ Icterícia com necessidade de tratamento (fototerapia)
- ☐ Internação em UTI neonatal
- ☐ Sofrimento fetal
- ☐ Hipóxia (privação de oxigênio)

Outra (especificar): _____

4. Diagnóstico

4.1 Nível de suporte necessário, de acordo com o DSM-5:

- ☐ Nível 1 (Requer suporte)
- ☐ Nível 2 (Requer suporte substancial)
- ☐ Nível 3 (Requer suporte muito substancial)
- ☐ Não sabe

D – CHILDHOOD AUTISM RATING SCALE

I. RELAÇÕES PESSOAIS

Descrição: Avalie como a criança interage com adultos em termos de contato visual, resposta a instruções e apego.

- **1** - Nenhuma evidência de dificuldade ou anormalidade nas relações pessoais: O comportamento da criança é adequado à sua idade. Alguma timidez, nervosismo ou aborrecimento podem ser observados quando é dito à criança o que fazer, mas não em grau atípico.
- **1.5** - (Intermediário entre 1 e 2)
- **2** - Relações levemente anormais: A criança pode evitar olhar o adulto nos olhos, evitar o adulto ou ter uma reação exagerada se a interação é forçada, ser excessivamente tímido, não responder ao adulto como esperado ou agarrar-se ao pai um pouco mais que a maioria das crianças da mesma idade.
- **2.5** - (Intermediário entre 2 e 3)
- **3** - Relações moderadamente anormais: Às vezes, a criança demonstra indiferença (parece ignorar o adulto). Outras vezes, tentativas persistentes e vigorosas são necessárias para se conseguir a atenção da criança. O contato iniciado pela criança é mínimo.
- **3.5** - (Intermediário entre 3 e 4)
- **4** - Relações gravemente anormais: A criança está constantemente indiferente ou inconsciente ao que o adulto está fazendo. Ela quase nunca responde ou inicia contato com o adulto. Somente a tentativa mais persistente para atrair a atenção tem algum efeito.

II. IMITAÇÃO

Descrição: Avalie a capacidade da criança de imitar sons, palavras e movimentos.

- **1** - Imitação adequada: A criança pode imitar sons, palavras e movimentos, os quais são adequados para o seu nível de habilidade.
- **1.5** - (Intermediário entre 1 e 2)

- **2** - Imitação levemente anormal: Na maior parte do tempo, a criança imita comportamentos simples como bater palmas ou sons verbais isolados; ocasionalmente imita somente após estimulação ou com atraso.
- **2.5** - (Intermediário entre 2 e 3)
- **3** - Imitação moderadamente anormal: A criança imita apenas parte do tempo e requer uma grande dose de persistência ou ajuda do adulto; frequentemente imita apenas após um tempo (com atraso).
- **3.5** - (Intermediário entre 3 e 4)
- **4** - Imitação gravemente anormal: A criança raramente ou nunca imita sons, palavras ou movimentos mesmo com estímulo e assistência.

III. RESPOSTA EMOCIONAL

Descrição: Avalie se as respostas emocionais da criança são apropriadas à situação e à sua idade.

- **1** - Resposta emocional adequada à situação e à idade: A criança demonstra tipo e grau adequados de resposta emocional, indicada por uma mudança na expressão facial, postura e conduta.
- **1.5** - (Intermediário entre 1 e 2)
- **2** - Resposta emocional levemente anormal: A criança ocasionalmente apresenta um tipo ou grau inadequados de resposta emocional. As vezes, suas reações não estão relacionadas a objetos ou a eventos ao seu redor.
- **2.5** - (Intermediário entre 2 e 3)
- **3** - Resposta emocional moderadamente anormal: A criança demonstra sinais claros de resposta emocional inadequada (tipo ou grau). As reações podem ser bastante inibidas ou excessivas e sem relação com a situação; pode fazer caretas, rir ou tornar-se rígida até mesmo quando não estejam presentes objetos ou eventos produtores de emoção.
- **3.5** - (Intermediário entre 3 e 4)
- **4** - Resposta emocional gravemente anormal: As respostas são raramente adequadas a situação. Uma vez que a criança atinja um determinado humor, é muito difícil alterá-lo. Por outro lado, a criança pode demonstrar emoções diferentes quando nada mudou.

IV. USO CORPORAL

Descrição: Avalie a coordenação motora, movimentos corporais e presença de comportamentos repetitivos ou incomuns.

- **1** - Uso corporal adequado à idade: A criança move-se com a mesma facilidade, agilidade e coordenação de uma criança normal da mesma idade.
- **1.5** - (Intermediário entre 1 e 2)
- **2** - Uso corporal levemente anormal: Algumas peculiaridades podem estar presentes, tais como falta de jeito, movimentos repetitivos, pouca coordenação ou a presença rara de movimentos incomuns.
- **2.5** - (Intermediário entre 2 e 3)
- **3** - Uso corporal moderadamente anormal: Comportamentos que são claramente estranhos ou incomuns para uma criança desta idade podem incluir movimentos estranhos com os dedos, postura peculiar dos dedos ou corpo, olhar fixo, beliscar o corpo, autoagressão, balanceio, girar ou caminhar nas pontas dos pés.
- **3.5** - (Intermediário entre 3 e 4)
- **4** - Uso corporal gravemente anormal: Movimentos intensos ou frequentes do tipo listado acima são sinais de uso corporal gravemente anormal. Estes comportamentos podem persistir apesar das tentativas de desencorajar as crianças a fazê-los ou de envolver a criança em outras atividades.

V. USO DE OBJETOS

Descrição: Avalie o interesse e a forma como a criança utiliza brinquedos e outros objetos.

- **1** - Uso e interesse adequados por brinquedos e outros objetos: A criança demonstra interesse normal por brinquedos e outros objetos adequados para o seu nível de habilidade e os utiliza de maneira adequada.
- **1.5** - (Intermediário entre 1 e 2)
- **2** - Uso e interesse levemente inadequados por brinquedos e outros objetos: A criança pode demonstrar um interesse atípico por um brinquedo ou brincar com ele de forma inadequada, de um modo pueril (exemplo: batendo ou sugando o brinquedo).
- **2.5** - (Intermediário entre 2 e 3)

- **3** - Uso e interesse moderadamente inadequados por brinquedos e outros objetos: A criança pode demonstrar pouco interesse por brinquedos ou outros objetos, ou pode estar preocupada em usá-los de maneira estranha. Ela pode concentrar-se em alguma parte insignificante do brinquedo, tornar-se fascinada com a luz que reflete do mesmo, repetitivamente mover alguma parte do objeto ou exclusivamente brincar com ele.
- **3.5** - (Intermediário entre 3 e 4)
- **4** - Uso e interesse gravemente inadequados por brinquedos e outros objetos: A criança pode engajar-se nos mesmos comportamentos citados acima, porém com maior frequência e intensidade. É difícil distrair a criança quando ela está engajada nestas atividades inadequadas.

VI. RESPOSTA A MUDANÇAS

Descrição: Avalie como a criança reage a mudanças na rotina ou em tarefas.

- **1** - Respostas à mudança adequadas a idade: Embora a criança possa perceber ou comentar as mudanças na rotina, ela é capaz de aceitar estas mudanças sem angústia excessiva.
- **1.5** - (Intermediário entre 1 e 2)
- **2** - Respostas à mudança adequadas à idade levemente anormal: Quando um adulto tenta mudar tarefas, a criança pode continuar na mesma atividade ou usar os mesmos materiais.
- **2.5** - (Intermediário entre 2 e 3)
- **3** - Respostas à mudança adequadas à idade moderadamente anormal: A criança resiste ativamente a mudanças na rotina, tenta continuar sua antiga atividade e é difícil de distraí-la. Ela pode tornar-se infeliz e zangada quando uma rotina estabelecida é alterada.
- **3.5** - (Intermediário entre 3 e 4)
- **4** - Respostas à mudança adequadas à idade gravemente anormal: A criança demonstra reações graves às mudanças. Se uma mudança é forçada, ela pode tornar-se extremamente zangada ou não disposta a ajudar e responder com acessos de raiva.

VII. RESPOSTA VISUAL

Descrição: Avalie como a criança utiliza a visão para explorar e interagir com o ambiente.

- **1** - Resposta visual adequada: O comportamento visual da criança é normal e adequado para sua idade. A visão é utilizada em conjunto com outros sentidos como forma de explorar um objeto novo.

- **1.5** - (Intermediário entre 1 e 2)
- **2** - Resposta visual levemente anormal: A criança precisa, ocasionalmente, ser lembrada de olhar para os objetos. A criança pode estar mais interessada em olhar espelhos ou luzes do que o fazem seus pares, pode ocasionalmente olhar fixamente para o espaço, ou pode evitar olhar as pessoas nos olhos.
- **2.5** - (Intermediário entre 2 e 3)
- **3** - Resposta visual moderadamente anormal: A criança deve ser lembrada frequentemente de olhar para o que está fazendo, ela pode olhar fixamente para o espaço, evitar olhar as pessoas nos olhos, olhar objetos de um ângulo incomum ou segurar os objetos muito próximos aos olhos.
- **3.5** - (Intermediário entre 3 e 4)
- **4** - Resposta visual gravemente anormal: A criança evita constantemente olhar para as pessoas ou para certos objetos e pode demonstrar formas extremas de outras peculiaridades visuais descritas acima.

VIII. RESPOSTA AUDITIVA

Descrição: Avalie como a criança responde a sons e estímulos auditivos.

- **1** - Respostas auditivas adequadas para a idade: O comportamento auditivo da criança é normal e adequado para idade. A audição é utilizada junto com outros sentidos.
- **1.5** - (Intermediário entre 1 e 2)
- **2** - Respostas auditivas levemente anormal: Pode haver ausência de resposta ou uma resposta levemente exagerada a certos sons. Respostas a sons podem ser atrasadas e os sons podem necessitar de repetição para prender a atenção da criança. A criança pode ser distraída por sons externos.
- **2.5** - (Intermediário entre 2 e 3)
- **3** - Respostas auditivas moderadamente anormal: As repostas da criança aos sons variam. Frequentemente ignora o som nas primeiras vezes em que é feito. Pode assustar-se ou cobrir as orelhas ao ouvir alguns sons do cotidiano.
- **3.5** - (Intermediário entre 3 e 4)
- **4** - Respostas auditivas gravemente anormal: A criança reage exageradamente e/ou despreza sons num grau extremamente significativo, independente do tipo de som.

IX. RESPOSTA E USO DO PALADAR, OLFATO E TATO

Descrição: Avalie como a criança responde a estímulos sensoriais de paladar, olfato e tato.

- **1** - Uso e reposta normais do paladar, olfato e tato: A criança explora novos objetos de um modo adequado a sua idade, geralmente sentindo ou olhando. Paladar ou olfato podem ser usados quando adequados. Ao reagir a pequenas dores do dia a dia, a criança expressa desconforto, mas não reage exageradamente.
- **1.5** - (Intermediário entre 1 e 2)
- **2** - Uso e reposta levemente anormais do paladar, olfato e tato: A criança pode persistir em colocar objetos na boca; pode cheirar ou provar/experimentar objetos não comestíveis. Pode ignorar ou ter reação levemente exagerada à uma dor mínima, para a qual uma criança normal expressaria somente desconforto.
- **2.5** - (Intermediário entre 2 e 3)
- **3** - Uso e resposta moderadamente anormais do paladar, olfato e tato: A criança pode estar moderadamente preocupada em tocar, cheirar ou provar objetos ou pessoas. A criança pode reagir demais ou muito pouco.
- **3.5** - (Intermediário entre 3 e 4)
- **4** - Uso e resposta gravemente anormais do paladar, olfato e tato: A criança está preocupada em cheirar, provar e sentir objetos, mais pela sensação do que pela exploração ou uso normal dos objetos. A criança pode ignorar completamente a dor ou reagir muito fortemente a desconfortos leves.

X. MEDO OU NERVOSISMO

Descrição: Avalie se o nível de medo ou nervosismo da criança é apropriado à situação e à idade.

- **1** - Medo ou nervosismo normais: O comportamento da criança é adequado tanto à situação quanto à idade.
- **1.5** - (Intermediário entre 1 e 2)
- **2** - Medo ou nervosismo levemente anormais: A criança ocasionalmente demonstra muito ou pouco medo ou nervosismo quando comparada às reações de uma criança normal da mesma idade e em situação semelhante.
- **2.5** - (Intermediário entre 2 e 3)

- **3** - Medo ou nervosismo moderadamente anormais: A criança demonstra bastante mais ou bastante menos medo do que seria típico para uma criança mais nova ou mais velha em uma situação similar.
- **3.5** - (Intermediário entre 3 e 4)
- **4** - Medo ou nervosismo gravemente anormais: Medos persistem mesmo após experiências repetidas com eventos ou objetos inofensivos. É extremamente difícil acalmar ou confortar a criança. A criança pode, por outro lado, falhar em demonstrar consideração adequada aos riscos que outras crianças da mesma idade evitam.

XI. COMUNICAÇÃO VERBAL

Descrição: Avalie a qualidade, clareza e características da fala da criança.

- **1** - Comunicação verbal normal, adequada a idade e à situação.
- **1.5** - (Intermediário entre 1 e 2)
- **2** - Comunicação verbal levemente anormal: A fala demonstra um atraso global. A maior parte do discurso tem significado; porém, alguma ecolalia ou inversão pronominal podem ocorrer. Algumas palavras peculiares ou jargões podem ser usados ocasionalmente.
- **2.5** - (Intermediário entre 2 e 3)
- **3** - Comunicação verbal moderadamente anormal: A fala pode estar ausente. Quando presente, a comunicação verbal pode ser uma mistura de alguma fala significativa e alguma linguagem peculiar, tais como jargão, ecolalia ou inversão pronominal. As peculiaridades na fala significativa podem incluir questionamentos excessivos ou preocupação com algum tópico em particular.
- **3.5** - (Intermediário entre 3 e 4)
- **4** - Comunicação verbal gravemente anormal: Fala significativa não é utilizada. A criança pode emitir gritos estridentes e infantis, sons animais ou bizarros, barulhos complexos semelhantes à fala, ou pode apresentar o uso bizarro e persistente de algumas palavras reconhecíveis ou frases.

XII. COMUNICAÇÃO NÃO-VERBAL

Descrição: Avalie a capacidade da criança de usar e compreender gestos, expressões faciais e outras formas de comunicação não-verbal.

- **1** - Uso normal da comunicação não-verbal adequado à idade e situação.
- **1.5** - (Intermediário entre 1 e 2)
- **2** - Uso da comunicação não-verbal levemente anormal: Uso imaturo da comunicação não-verbal; a criança pode somente apontar vagamente ou esticar-se para alcançar o que quer, nas mesmas situações nas quais uma criança da mesma idade pode apontar ou gesticular mais especificamente para indicar o que deseja.
- **2.5** - (Intermediário entre 2 e 3)
- **3** - Uso da comunicação não-verbal moderadamente anormal: A criança geralmente é incapaz de expressar suas necessidades ou desejos de forma não verbal, e não consegue compreender a comunicação não-verbal dos outros.
- **3.5** - (Intermediário entre 3 e 4)
- **4** - Uso da comunicação não-verbal gravemente anormal: A criança utiliza somente gestos bizarros ou peculiares, sem significado aparente, e não demonstra nenhum conhecimento dos significados associados aos gestos ou expressões faciais dos outros.

XIII. NÍVEL DE ATIVIDADE

Descrição: Avalie se o nível de atividade da criança é apropriado para sua idade e circunstâncias.

- **1** - Nível de atividade normal para idade e circunstâncias: A criança não é nem mais nem menos ativa que uma criança normal da mesma idade em uma situação semelhante.
- **1.5** - (Intermediário entre 1 e 2)
- **2** - Nível de atividade levemente anormal: A criança pode tanto ser um pouco inquieta quanto um pouco “preguiçosa”, apresentando, algumas vezes, movimentos lentos. O nível de atividade da criança interfere apenas levemente no seu desempenho.
- **2.5** - (Intermediário entre 2 e 3)
- **3** - Nível de atividade moderadamente anormal: A criança pode ser bastante ativa e difícil de conter. Ela pode ter uma energia ilimitada ou pode não ir prontamente para a cama à noite. Por outro lado, a criança pode ser bastante letárgica e necessitar de um grande estímulo para mover-se.

- **3.5** - (Intermediário entre 3 e 4)
- **4** - Nível de atividade gravemente anormal: A criança exibe extremos de atividade ou inatividade e pode até mesmo mudar de um extremo ao outro.

XIV. NÍVEL E CONSISTÊNCIA DA RESPOSTA INTELECTUAL

Descrição: Avalie o funcionamento intelectual geral da criança e a consistência de suas habilidades em diferentes áreas.

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

XV. IMPRESSÕES GERAIS

Descrição: Avaliação geral do nível de autismo apresentado pela criança.

- **1** - Sem autismo: a criança não apresenta nenhum dos sintomas característicos do autismo.
- **1.5** - (Intermediário entre 1 e 2)
- **2** - Autismo leve: A criança apresenta somente um pequeno número de sintomas ou somente um grau leve de autismo.
- **2.5** - (Intermediário entre 2 e 3)

- **3** - Autismo moderado: A criança apresenta muitos sintomas ou um grau moderado de autismo.
- **3.5** - (Intermediário entre 3 e 4)
- **4** - Autismo grave: a criança apresenta inúmeros sintomas ou um grau extremo de autismo.

E - COMPROVAÇÃO DA SUBMISSÃO DOS ARTIGOS NAS REVISTAS CIENTÍFICAS

Artigo 1



Methylenetetrahydrofolate Reductase Variants, Metabolic Biomarkers, and Health Workforce Training for Early Identification of Autism Spectrum Disorder: A Multidimensional Approach

In Screening

Manuscript ID: 7345519 Article type: Original Article Publication: Early Intervention in Psychiatry

This submission is under consideration and cannot be edited. Further information will be emailed to you by the journal editorial office.

[Submission Overview](#)

Submitted 28 July 2026 by Ana Cecília Novaes de Oliveira Roldan

Started 26 July 2026 by Ana Cecília Novaes de Oliveira Roldan

Artigo 2

Submission Confirmation

Thank you for your submission

Submitted to	Revista de Saúde Pública
Manuscript ID	RSP-2026-7889
Title	Modelo de capacitação para detecção precoce do autismo na atenção primária
Authors	Novaes de Oliveira Roldan, Ana Cecília Ponciano Costa, Bárbara Tacci Biolo de Abreu, Luiza Zabini, Antonio Fernando Urbano, Mariana Rezende Machado, Regina Célia Gâmbaro, Gustavo Chagas Rocha, Isabella Cardoso Machado, Lucian Carlos Nunes, Sandra
Date Submitted	31-Jul-2026

Artigo 3

Submission Confirmation

Thank you for your submission

Submitted to Revista de Saúde Pública

Manuscript ID RSP-2026-7888

Title Variantes do MTHFR, biomarcadores metabólicos e gravidade clínica do autismo

Authors Novaes de Oliveira Roldan, Ana Cecília
Ponciano Costa, Bárbara
Tacci Biolo de Abreu, Luiza
Zabini, Antonio Fernando
Urbano, Mariana
Rezende Machado, Regina Célia
Gâmbaro, Gustavo
Chagas Rocha, Isabella
Cardoso Machado, Lucian Carlos
Nunes, Sandra

Date Submitted 31-Jul-2026