

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO
ALEGRE – UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM
PEDIATRIA: ATENÇÃO À SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE**

Gabriela da Cruz Campelo



Porto Alegre

2023

Gabriela da Cruz Campelo

**NÍVEIS DE ESTRESSE E FUNCIONALIDADE EM UMA
AMOSTRA DE PACIENTES DO TRANSTORNO DO
ESPECTRO AUTISTA**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Pediatria: Atenção à Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Doutora.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Amantea

Prof. Dr. Ricardo Halpern (*in memoriam*)

Porto Alegre

2023

Catálogo na Publicação

Campelo, Gabriela

Níveis de Estresse e Funcionalidade em uma amostra de pacientes do transtorno do espectro autista / Gabriela Campelo. -- 2023.

91 p. : 30 cm.

Tese (doutorado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Pediatria, 2023.

Orientador(a): Sergio Amantea ; coorientador(a): Ricardo Halpern.

1. Autismo. 2. Cortisol. 3. Funcionalidade. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Dedico este trabalho ao meu pai (*in memoriam*), o qual sempre disse que eu seria uma 'doutora de nenês'. E ao querido professor Ricardo Halpern (*in memoriam*), meu querido orientador, que me fez ter paixão pela pediatria e sempre foi uma grande inspiração para mim, a quem sempre admirei e tive o prazer de adquirir um pouco do seu imenso conhecimento.

Agradecimentos

Meus sinceros agradecimentos ao professor Doutor Sérgio Amantea, que mesmo com adversidades ao longo do doutorado me deu apoio, acreditou que eu era capaz e aceitou me orientar na reta final. O senhor é uma inspiração para mim. Agradecer também a minha família, por todo o apoio ao longo dessa trajetória, em especial a minha mãe, Paula Campelo e ao meu marido Vinícius Padilha. Obrigadapor todo incentivo de vocês. Queria também prestar um agradecimento às famílias que aceitaram participar da pesquisa e dos profissionais do Centro de Autismo Danilo Rolim, em Pelotas. Sempre muito amoros e solícitos.

À todos, o meu muito obrigada!

RESUMO

Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma condição do neurodesenvolvimento que acomete a interação e a comunicação social, caracterizado por comportamentos, interesses ou atividades restritas e repetitivas. A sintomatologia pode variar de paciente para paciente, e de acordo com a faixa etária, comunicação e habilidades cognitivas. Padrões repetitivos e estereotipados de comportamento podem incluir resistência a mudanças, insistência em algumas rotinas e grande apego a objetos. Mudanças repentinas e fora dos padrões esperados pela criança podem gerar um nível de estresse elevado, interferindo ainda mais nas suas funcionalidades³. Um estudo de 2020 mostrou que os níveis de cortisol foram positivamente relacionados com a presença de comportamentos estereotipados e repetitivos em crianças com autismo⁸. Recentemente, a determinação dos níveis de cortisol capilar tem sido reconhecida como um bom biomarcador quantitativo, capaz de se elevar no estresse crônico. Estudos têm demonstrado que a determinação desta substância no tecido capilar pode representar a síntese e a secreção de cortisol a longo prazo, com a vantagem de se constituir num método pouco invasivo de avaliação^{3,4}.

Palavras chaves: Autismo, cortisol, funcionalidade

ABSTRACT

Autistic Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental condition that affects interaction and social communication, characterized by restricted and repetitive behaviors, interests or activities. Symptomatology may vary from patient to patient, and according to age, communication and cognitive skills. Repetitive and stereotyped patterns of behavior can include resistance to change, insistence on certain routines, and strong attachment to objects. Sudden changes outside the patterns expected by the child can generate a high level of stress, further interfering with their functionality³. A 2020 study showed that cortisol levels were positively related to the presence of stereotyped and repetitive behaviors in children with autism⁸. Recently, the determination of capillary cortisol levels has been recognized as a good quantitative biomarker, able to increase in chronic stress. Studies have shown that the determination of this substance in capillary tissue can represent the synthesis and secretion of cortisol in the long term, with the advantage of being a less invasive method of evaluation.^{3,4}.

Keywords: Autism, cortisol, functionality

Lista de Figuras

Figura 1 – Resposta do corpo ao estresse	25
---	-----------

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	12
	2.1 Transtorno do Espectro Autista	12
	2.2 Etiologia e Características	12
	2.3 Diagnóstico.....	13
	2.4 Tratamento	15
	2.5 Tratamento não farmacológico.....	15
	2.6 Tratamento farmacológico.....	15
	2.7 Estresse Tóxico.....	16
	2.8 Consequencia do Estresse Tóxico.....	17
	2.9 Estratégias para a Prevenção de Estresse Tóxico.....	17
	2.10 Cortisol	18
	2.11 Mecanismo de ação.....	19
	2.12 Cortisol e suas respostas.....	21
	2.13 Cortisol como biomarcador.....	22
	2.14 Funcionalidade.....	23
3	OBJETIVOS	25
4	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
5	ARTIGO CIENTÍFICO.....	36
5.1	Abstract.....	37
5.2	Introduction	39

5.3 Conclusion	47
5.4 Key points	47
5.5 References.....	48
6 ANEXOS	59
ANEXO A - Normas da revista: Journal of Child Psychology and Psychiatry	59
ANEXO B - Comprovante de submissão do artigo a revista.....	64
ANEXO C - Parecer consubstanciado do CEP.....	65
ANEXO D - Pediatrics Evaluation of Disability Inventory (PEDI).....	70
ANEXO E - Childhood Autism Rating Scale (CARS).....	76
7 APÊNDICE.....	84
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Menores de Idade ou pessoas Incapazes (TCLE).....	84
APÊNDICE B - Questionário Infantil	89

1 INTRODUÇÃO

Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma condição do neurodesenvolvimento que acomete a interação e a comunicação social, caracterizado por comportamentos, interesses ou atividades restritas e repetitivas¹. Podem apresentar como sintomatologia comum: comportamentos repetitivos e restritos, déficits na reciprocidade socioemocional, déficits nos comportamentos comunicativos não verbais e déficits para desenvolver, manter e compreender relacionamentos².

Outra manifestação comportamental que define o autismo incluem déficits qualitativos na interação social.⁷⁷.

As dificuldades na interação social no TEA podem apresentar-se como isolamento ou comportamento social impróprio; um pobre contato visual; dificuldade em participar de atividades em grupo; indiferença afetiva ou demonstrações inapropriadas de afeto; falta de empatia social ou emocional. Conforme esses indivíduos vão entrando na fase adulta, há, em geral, uma melhora em relação ao isolamento social, mas a pobre habilidade social e a dificuldade em estabelecer amizades podem seguir acompanhando-os ^{76,77}.

Padrões repetitivos e estereotipados de comportamento podem incluir, resistência a mudanças, insistência em algumas rotinas e grande apego a objetos. Embora algumas crianças pareçam brincar, elas estão mais preocupadas em alinhar ou manusear os brinquedos do que em usá-los para sua funcionalidade. Estereotípias tanto motoras e/ou verbais, como balançar-se, bater palmas, andar sem parar ou repetir determinadas palavras, frases ou canções sem contexto apropriado, também são manifestações frequentes nessa população ^{2,25}.

Além disto, mudanças repentinas e fora dos padrões esperados pela criança podem gerar um nível de estresse elevado, interferindo nas suas funcionalidades ³. No estresse tóxico, a criança é exposta a um elevado nível de estresse à sua capacidade de auto-regulação, por um período demasiadamente longo de tempo. Ou seja, é a exposição da criança a adversidades ou experiências negativas, de forma acentuada ou duradoura a qual ultrapassa a capacidade dos mecanismos protetores em restabelecer a homeostasia ⁶⁶,

fazendo com que sua capacidade funcional de atividades do dia a dia também seja afetada.

Escalas ou questionários têm sido amplamente usados para capturar níveis subjetivos de estresse de curto prazo³. Entre os métodos, o nível de cortisol capilar tem sido proposto como um novo biomarcador de estresse crônico.

Estudos que se referem a ativação do eixo do cortisol no autismo são conflitantes, tendo sido descritos nessa população níveis mais elevados de cortisol¹⁰¹, níveis basais de cortisol normais, níveis basais de ACTH (cortrosina) aumentados e ausência de resposta à supressão no teste da dexametasona^{84,85} identificaram pico de cortisol significativamente mais alto e com duração mais prolongada em crianças com autismo após estímulo estressor, sugerindo aumento da reatividade do eixo hipotálamo-hipófise adrenal ao estresse nesses pacientes. Recentemente, a determinação dos níveis de cortisol capilar tem sido reconhecida como um bom biomarcador quantitativo, capaz de se elevar no estresse crônico. Estudos têm demonstrado que a determinação desta substância no tecido capilar pode representar a síntese e a secreção de cortisol a longo prazo, com a vantagem de se constituir num método pouco invasivo de avaliação^{3, 4}. O cortisol se liga ao cabelo em crescimento, portanto, as concentrações de cortisol no cabelo (HCCs) são cada vez mais aceitas como medidas cumulativas de estresse experimentadas nos últimos 3-6 meses em adultos e crianças. Supõe-se que o cabelo cresça cerca de 1 cm por mês e incorpora o cortisol não ligado a proteínas circulante¹⁰⁶.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Transtorno do Espectro Autista

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é um transtorno do neurodesenvolvimento caracterizados por déficits em três grandes áreas: interação social, comunicação e comportamento repetitivo ou estereotipado. O grau de comprometimento entre pessoas com TEA é variável, mas o efeito sobre os indivíduos afetados e suas famílias é universalmente alterado para a vida. A condição foi descrita inicialmente na literatura médica americana e europeia em meados da década de 1940⁵. Até a década de 1980 acreditava-se que o TEA era raro, com uma prevalência não superior a 5 por 10.000 pessoas (6) e foram considerados mais um dilema clínico intrigante do que um grande problema de saúde pública. Hoje, dados do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) os Estados Unidos apontam que 1 a cada 44 crianças apresentam TEA¹.

Baseados nas informações de Kanner²³, inúmeros estudos envolvendo classificação, epidemiologia e identificação do autismo se seguiram. Esses estudos contribuíram de forma positiva para a elucidação dos aspectos biológicos envolvendo o transtorno, mas ao mesmo tempo demonstraram que o autismo não é uma patologia simples, pelo contrário, é uma desordem comportamental complexa, com etiologias múltiplas e variáveis graus de severidade ⁷.

Etiologia e Características

O TEA é apontado como um transtorno multifatorial que resulta de diversos fatores de risco genéticos e não genéticos³⁷. Existem evidências para a compreensão dos fatores genéticos na etiologia do TEA, uma vez que irmãos nascidos em famílias com TEA têm um risco 35-40% maior de desenvolver o transtorno³⁸. Além disso, estudos genéticos revelaram que alterações nas vias de desenvolvimento de estruturas neuronais e axonais que estão fortemente envolvidas na sinaptogênese surgem de mutações genéticas únicas^{39,40,41}. É provável que as interações entre múltiplos genes e a variabilidade na expressão como resultado de fatores epigenéticos e a exposição a fatores ambientais sejam responsáveis pelo TEA⁴². Em um estudo clínico envolvendo um gêmeo, foi

avaliado que o risco de desenvolver TEA foi de 35% a 40% devido à variabilidade genética, e os 60% restantes foram contribuídos por fatores ambientais pré-natais, perinatais e pós-natais⁴³. Nesse sentido, fatores ambientais inclusos no TEA incluíram complicações pré-natais e perinatais ^{44, 45}, complicações neonatais e no nascimento⁴⁶, infecção viral, doenças auto-imunes e exposição a teratógenos^{47,48}. Logo, um maior entendimento da interface entre fatores genéticos e ambientais na patogênese pode levar a uma estratégia terapêutica otimizada⁴⁸.

Os indivíduos com TEA podem apresentar dificuldades de como iniciar e responder a uma conversa, podem apresentar dificuldade em acompanhar o ritmo de comunicação social, déficit no brincar lúdico, e podem não apresentar bons níveis de funcionalidade, comprometendo suas atividades de vida diária (AVD) e atividades instrumentais de vida diária (AIVD) ⁸.

Vários estudos demonstraram que pacientes com TEA, apresentam déficits de flexibilidade comportamental⁹, bem como foram demonstrados que funções cognitivas são afetadas por fatores ambientais, como o estresse, em especial quando o estresse é severo e cronicamente administrado¹⁰. Essa alteração cognitiva causada pelo estresse provavelmente está relacionada a hormônios de estresse elevados, entre esses o cortisol, pois aplicações exógenas agudas e crônicas de hormônios do estresse induzem déficits cognitivos semelhantes aos induzidos pelo estresse¹¹. Devido à dificuldade em lidar com a mudança, a antecipação, os estímulos sensoriais e os eventos desagradáveis em sua vida diária, acredita-se que indivíduos com TEA experimentem mais do que indivíduos normais¹², podendo acarretar em dificuldade de organização e queda dos seus níveis de funcionalidade, embora indivíduos com TEA também desenvolvam habilidades adaptativas.

Diagnóstico

Os critérios utilizados atualmente para diagnosticar o Autismo, são aqueles descritos no Manual Estatístico e Diagnóstico da Associação Americana de Psiquiatria, o DSM V. Hoje descrito no mesmo como, Transtorno do Espectro Autista, termo que passou a substituir todas as subclassificações anteriormente utilizadas no DSM IV- R ^{2, 27}.

Muitos biomarcadores têm sido estudados e propostos no que tange o TEA, entre esses os morfológicos, bioquímicos, imunológicos e os hormonais. Os biomarcadores, ou seja, medidores biológicos de uma condição que podem diferir ou associar grupos^{29,30}. Os biomarcadores poderiam auxiliar no diagnóstico, no prognóstico, na caracterização de alguns sinais e sintomas e no estabelecimento de grupos de pacientes que responderiam positivamente a tratamentos mais próprios^{30,31}.

Na ausência de um marcador biológico, exames laboratoriais e de imagem, o diagnóstico do autismo permanece como uma decisão clínica²⁸. Testes, instrumentos e escalas são com frequência utilizados para auxiliar no diagnóstico do transtorno. Essas avaliações incluem anamnese com os pais, observação do paciente, avaliações que englobam outros transtornos de desenvolvimento e histórico familiar, bem como pareceres da equipe que atendem o paciente²⁵.

Dentre essas está a Escala de Observação para o Diagnóstico de Autismo 2 (ADOS-2), é uma avaliação padronizada e semiestruturada da comunicação, interação social e jogo ou uso criativo de materiais para pessoas suspeitas de Transtorno do Espectro Autista. A escala está estruturada em cinco módulos, cada um específico para determinada idade e nível de linguagem. O ADOS é um protocolo padronizado de observação e avaliação dos comportamentos sociais e da comunicação da criança e do adulto autista, originalmente planejado para pessoas com idade mental de 3 anos ou mais. O propósito deste roteiro é fornecer uma série de contextos padronizados, objetivando a observação do comportamento social e comunicativo de indivíduos com autismo e transtornos relacionados. A observação comportamental visa satisfazer duas finalidades. A primeira delas, diagnóstica, distingue autismo de outros portadores de deficiência e de funcionamento normal. A segunda, de investigação, estuda diretamente a qualidade dos comportamentos sociais e comunicativos associados com o autismo⁶¹.

Tratamento

Ainda que se tenha tido muitos avanços nos diagnósticos precoces e intervenções, nenhum tratamento é completamente eficaz para tratar o autismo e seus principais sintomas. Terapias comportamentais e adaptativas continuam sendo os principais recursos utilizados no tratamento do TEA ³².

Apesar de não haver nenhum fármaco específico para o tratamento do autismo, algumas medicações são usadas para redução de sintomas e melhora na qualidade de vida do indivíduo. Entre estas, para hiperatividade, irritabilidade e melhora da qualidade do sono ²⁵.

Tratamento não farmacológico

Disponíveis para o tratamento do TEA hoje existem diferentes abordagens, como as educativas, comportamentais, parentais, fonoaudiológicas, sociais e de diferentes áreas, como Terapia Ocupacional, Psicologia e Pedagogia ³³. Um número expressivo de crianças com TEA são estimuladas com a combinação de varias dessas terapias. Contudo, os respaldos científicos sobre a eficácia das mesmas ainda é um grande problema ²⁵. Poucos estudos que comprovem a eficácia são publicados, aliados a metodologias científicas precárias e poucas diretrizes clínicas sobre o autismo ^{25, 34}.

Terapias com grande carga horária de sessões e de início precoce (antes dos 3 anos de idade)³⁵, levam a uma melhora considerável. Entre estas estão, *Applied Behavior Analysis (ABA)*, *Treatment and Education of Autistic and Related Communication Handicapped Children (TEACCH)* e *Early Start Denver Model (ESDM)*³⁶.

Tratamento farmacológico

Nos dias de hoje não existem medicações para tratar especificamente o autismo, o que se tem são fármacos que tratam os principais sintomas do TEA, como interação social e comunicação. A heterogeneidade das características clínicas e comportamentais em indivíduos TEA contribui para a complexidade em compreender a fisiopatologia deste espectro, e por consequência, não haver

nenhum tratamento específico para todos os indivíduos⁴⁹. Entretanto, entorno de 45 a 75% das crianças com TEA são medicadas com drogas psicotrópicas⁵⁰. Entre as prescrições farmacológicas utilizada hoje incluem, antidepressivos, psicoestimulantes, anticonvulsivante, fármacos para o sono e antipsicóticos³⁷.

Atualmente, os antipsicóticos: risperidona e aripiprazol são os dois únicos fármacos que foram aprovados pelo Food and Drugs Administration (FDA) para melhorar os sintomas comportamentais associados ao autismo^{37, 51}.

Estresse Tóxico

Recentemente, alguns modelos teóricos colaboraram para afirmar que o estresse precoce na infância pode acarretar grande prejuízo ao desenvolvimento e à saúde do indivíduo⁶². O primeiro desses novos modelos⁶⁹ assegura que as experiências de estresse tóxico no início do desenvolvimento da criança constituem-se fator de alto risco para a saúde na fase adulta. Existem três tipos de estresse: o positivo, o tolerável e o tóxico ^{63,64}. O estresse positivo equivale a um estado psicológico de duração curta e com intensidade de leve à moderada. É finito, desde que a criança possua suporte, o qual opere um efeito protetor para auxiliar seu sistema de resposta ao estresse a retornar ao seu nível basal. O segundo tipo, o estresse tolerável, consiste na exposição a experiências atípicas as quais manifestam um elevado nível de adversidade ou ameaça ao indivíduo, como, por exemplo, a morte de um membro da família, uma doença grave. Entretanto, se a criança tiver um ambiente protetor, poderá enfrentar os eventos adversos, com redução do estresse fisiológico do organismo e promoção de respostas de enfrentamento adaptativo com senso de autorregulação^{64, 65}. O último tipo, o estresse tóxico, é o mais nocivo ao desenvolvimento, com implicações negativas em muitas áreas da vida do indivíduo, tanto a curto quanto a longo prazo

⁶⁵.

O estresse tóxico (ET) é definido como um estresse elevado e contínuo, capaz de gerar danos irreversíveis ao desenvolvimento neuropsicomotor da criança, bem como elevar os riscos para desenvolvimento de doenças ao longo dos anos do indivíduo⁶⁷. É uma adversidade a qual pode afetar crianças de qualquer classe social e, apesar de sua elevada prevalência, o ET é muito pouco conhecido e estudado. No ET, a criança é exposta a um elevado nível de

estresse à sua capacidade de auto-regulação, por um período demasiadamente longo de tempo. Ou seja, é a exposição da criança a adversidades ou experiências negativas, de forma acentuada ou duradoura a qual ultrapassa a capacidade dos mecanismos protetores em restabelecer a homeostasia⁶⁶. Os fatores de risco estudados pelo Adverse Childhood Experiences Study incluem múltiplos estressores, como abuso infantil ou negligência, abuso de substâncias dos pais e depressão materna, sendo esses capazes de provocar a indução de uma resposta ao estresse tóxico ^{71, 72}.

Consequências do Estresse Tóxico

A exposição da criança de forma contínua e precoce ao ET está associada a liberação de forma constante do cortisol, este provocando alterações nas ligações sinápticas reduzindo a capacidade de estruturação do cérebro⁶⁶. Alterações neuropsicoimunológicas observadas a longo prazo, demonstram que o estresse deixa de ser circunstancial e passa a ser crônico. Concomitante com os processos biológicos, o processamento de emoções também pode apresentar prejuízos⁶⁸, assim como o desencadeamento de doenças crônicas na fase adulta, como diabetes mellitus, cardiopatias e doenças autoimunes ⁶⁶. Doenças neuropsiquiátricas e comportamentais do desenvolvimento também tem um aumento significativo quando falamos em elevação de ET, entre estas, ansiedade generalizada, transtorno do espectro autista e maior risco a dependência química

^{66, 69, 70}.

Estratégias para a Prevenção do Estresse Tóxico

Apesar da importância e da alta prevalência do estresse tóxico e sua consequência na distribuição global de patologias, pouco se fala sobre estratégias de intervenções psicossociais na infância. A prevenção do estresse tóxico deve ser priorizada por políticas públicas sociais e de saúde, devido à gravidade das suas consequências. As estratégias de prevenção devem ser pensadas individualmente, para cada caso e para cada criança, uma vez que os eventos estressores variam de acordo com cada criança, cada situação familiar e onde a mesma encontra-se

⁷⁰.

Profissionais que frequentemente acompanham a criança, como pediatras, enfermeiros e professores, devem estar atento a situação que são fatores estressantes e podem estar presente na vida da criança, como abusos, pobreza, fome, afim de garantirem a proteção do desenvolvimento físico, mental e social das crianças acometidas ⁷⁴.

Para, além disto, estratégias de prevenção primárias devem ser adotadas, afim de prevenir o ET. Primeiro pelo rastreamento das crianças com maior risco e predisposição ao ET e estratégias secundárias como orientação aos pais ou responsáveis. Ademais, cabe aos profissionais orientar os pais sobre os cuidados com os filhos, orientação de como estimular as crianças em cada etapa do desenvolvimento, facilitação do relacionamento pais-filhos, aconselhamento dos pais quanto ao manejo comportamental adequado na educação dos filhos e preparação dos pais para identificação de comportamentos indevidos dos filhos ⁷⁰⁻⁷⁵.

Cortisol

Os dois tipos essenciais de hormônios adrenocorticais, os mineralocorticoides e os glicocorticoides, são liberados pelo córtex adrenal.

Os glicocorticoides têm esse nome pelos seus relevantes efeitos, os quais elevam a concentração sanguínea de glicose. Ambos manifestam efeitos adicionais nos metabolismos proteicos e lipídicos que são tão relevantes para a função corporal quanto seus efeitos no metabolismo dos carboidratos ^{64,65}.

Mais de 30 esteroides foram isolados do córtex adrenal, contudo dois deles apresentam, notável importância para a função endócrina normal do corpo humano: a aldosterona, que é o principal mineralocorticoide, e o cortisol, o principal glicocorticoide. ^{64,66}

O cortisol é conhecido como o hormônio do estresse, sendo secretado tanto em uma ocasião de estresse físico quanto psicológico, sob o comando do eixo hipotálamo- hipófise- adrenal (HPA)⁵². Com intensidade sendo influenciada pelo ciclo circadiano ⁵³.

Estresse é uma resposta adaptativa do corpo a uma perturbação, gerada por algum evento estressor ¹³. Essas alterações resultam em condições adaptativas, realizadas em prol da manutenção da homeostase corporal, e estão

ligadas a inúmeras alterações, chamadas de carga alostática ¹⁴. Entre tais mudanças encontram-se a redução da função imunológica, dificultando a cura, e por consequência prolongando o tempo de recuperação; déficit no crescimento físico infantil, aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca, tanto em adultos quanto em crianças, e relação com questões psicológicas, como depressão e ansiedade⁵⁹. Por conseguinte, as concentrações hormonais, com ênfase ao cortisol, o qual tem sido de grande interesse para o entendimento das respostas ao estresse¹⁴

Mecanismo de ação

A hidrocortisona, conhecida como cortisol, é um glicocorticoide liberado através da estimulação do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HPA) ⁵³.

O eixo HPA é um conjunto complexo de influências diretas e interações de feedback entre o hipotálamo, a glândula pituitária e da glândula adrenal ou supra-renal. As interações homeostáticas finas entre estes três órgãos constituem o eixo HPA, uma parte essencial do sistema neuroendócrino que controla as reações ao estresse ⁵⁹.

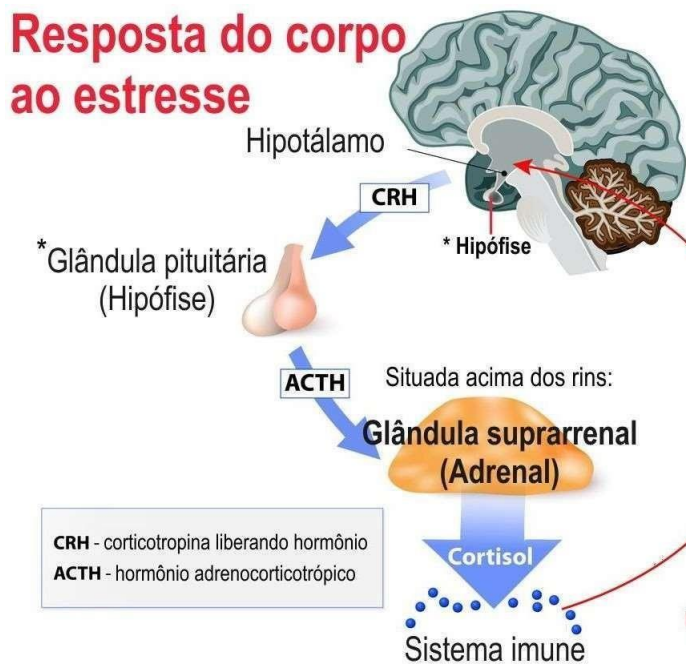
Os glicocorticoides são sintetizados na zona fasciculada do córtex adrenal pela ação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). O ACTH é o principal hormônio estimulador da síntese e secreção do cortisol, sendo sintetizado na hipófise anterior a partir de um percurso denominado pró-opiomelanocortina (POMC). A POMC cliva, dando origem a hormônios peptídicos menores, com formação de ACTH, hormônios melanócitos-estimulantes e beta endorfina. Um importante local de regulação da secreção do ACTH está localizada nos neurônios hipotalâmicos do núcleo paraventricular onde o hormônio liberador da corticotrofina (CRH) e a arginina vasopressina (AVP) são produzidos e posteriormente liberados nos vasos portais hipofisários, de onde atingem a hipófise anterior ^{65, 66}.

Os glicocorticoides inibem a transcrição do gene POMC na hipófise e também a síntese e secreção do CRH e AVP no hipotálamo. Esta retroalimentação negativa é dependente da dose, potência, meia-vida e duração da administração dos glicocorticóides e tem consequências fisiológicas importantes. A retroalimentação negativa depende, também, de variações

individuais de sensibilidade aos glicocorticóides, diferenças entre os sexos e idades 60, 66.

A secreção pulsátil de ACTH e a secreção do cortisol obedecem a um ciclo circadiano endógeno. O ritmo circadiano é gerado no núcleo supraquiasmático cujos sinais, por meio de vias eferentes, modulam a secreção do CRH. O ritmo circadiano do glicocorticoide é caracterizado por um pico que ocorre no horário ou pouco antes do despertar, coincidindo com o início de atividades das pessoas e com declínio no restante das 24 horas. Assim, no homem, as concentrações basais de ACTH e cortisol são mais elevadas pela manhã (6h as 9h) com queda progressiva ao longo do dia (23h as 03h) 60, 64, 65.

A secreção dos glicocorticoides é regulada, também, por fatores como estresse e citocinas inflamatórias. Estresses físicos também aumentam a secreção de cortisol e ACTH, por meio de ações centrais mediadas pelo CRH e pela AVP. 54, 55.



Cortisol e suas repostas

Com diversas funções em respostas imunes e inflamatórias, é considerado o hormônio do estresse, por ser liberado em grande quantidade sob condições estressantes ¹³. Por meio das consequências do estresse, vê-se a importância do processo neuropsicoimunológico. As respostas de defesa do estresse (luta ou fuga) estão relacionadas a alterações autonômicas, cognitivas, emocionais e comportamentais. Após o desafio ser solucionado, os níveis de cortisol volta aos padrões basais; caso não estabilize sua secreção, o nível de cortisol torna-se nocivo ¹⁴.

Embora a secreção de cortisol, frequentemente, aumente muito em situações de estresse, não se sabe ao certo por que isso apresenta benefícios significativos para os seres. Uma possibilidade é que os glicocorticoides causam rápida mobilização de aminoácidos e gorduras a partir de suas reservas celulares, tornando-os disponíveis para a geração de energia e para a síntese de novos compostos, incluindo a glicose, necessários aos diferentes tecidos do organismo. Entretanto, isso ainda é suposição. Essa hipótese é corroborada apenas pelo fato de que o cortisol, em geral, não mobiliza as proteínas funcionais básicas das células, até que praticamente todas as demais proteínas tenham sido liberadas. Esse efeito preferencial do cortisol na mobilização das proteínas lábeis poderia disponibilizar aminoácidos para as células que precisam sintetizar substâncias necessárias à vida ^{65,66}.

A relação entre o funcionamento do eixo HPA e comportamentos em crianças em diferentes contextos foram descritas. Na faixa etária de 4 a 5 anos, um aumento moderado do cortisol seguido de *down regulation* foi correlacionado com mais auto-regulação, enquanto um cortisol basal maior seguido da diminuição do mesmo foi associado a mais agressividade ⁵⁵.

Maior reatividade ao cortisol foi relacionado com menos envolvimento escolar, menos competência acadêmica e mais comportamento externalizante (somente meninos) em crianças de 5 a 6 anos ⁵⁶. Em crianças de 11 anos, a

menor reatividade ao cortisol foi associada a mais comportamentos externalizantes e à delinquência, enquanto a maior reatividade ao cortisol estava relacionada a convivências positivas entre estudantes e professores⁵⁷. Outros não encontraram associação entre a reatividade do cortisol e a impulsividade⁵⁸.

Em síntese, o que se sabe, até o momento, são que os achados referentes às associações entre as respostas ao estresse do cortisol infantil e o funcionamento comportamental são variadas e de certa forma inconsistentes.

Cortisol como biomarcador

O cortisol capilar tem sido proposto como um novo biomarcador de estresse crônico que tem sido recentemente reconhecido como o meio mais promissor de medir a síntese e a secreção de cortisol a longo prazo por períodos de vários meses. A coleta de pelos é simples e não invasiva para os participantes, e as concentrações de cortisol no cabelo não são influenciadas pelas variações momento a momento, em comparação com outras medidas de cortisol do sangue, saliva ou urina.¹⁷ Concomitante a isto, o método possui diversas vantagens como a facilidade na coleta, fácil armazenagem e não dependência da aderência da amostra para realização da pesquisa¹³.

Os níveis de cortisol em humanos são com frequência determinados a partir do sangue, amostras salivares ou urina. Embora estes sejam técnicas bem definidas, é importante enfatizar que os mesmos representam os níveis de cortisol circulantes agudos (plasma ou saliva), geralmente não excedendo 24 horas (urina). Um problema considerável quando pretende-se obter informações sobre a secreção de cortisol a longo prazo¹⁵. Como consequência, avaliações únicas de cortisol são afetada pelo contexto agudo da situação de medição (horário do dia da coleta, circunstâncias específicas) e pode fornecer um resultado pobre sobre a secreção de cortisol normal a longo prazo. Uma opção iminente para solucionar essas limitações metodológicas seria na amostragem repetida em diferentes momentos do dia e mais vários dias para cada participante. No entanto, para ser eficaz, isso tem a ser realizado utilizando um grande número de pontos de amostragem e dias¹⁶. Quando falamos em crianças autista, acredita-se que esse não seria a melhor forma para realizar o exame.

Uma vez que a própria coleta já seria um fator estressante, podendo comprometer o resultado do mesmo.

Funcionalidade

A funcionalidade de uma pessoa é concebida como uma interação dinâmica entre os estados de saúde (doenças, distúrbios, lesões, traumas, etc.) e os fatores contextuais. Para a Classificação Internacional de Funcionalidade Incapacidade e Saúde (CIF), funcionalidade e incapacidade estão relacionadas às condições de saúde, caracterizando o que uma pessoa “pode ou não pode fazer na sua vida diária”, tendo em vista as funções dos órgãos ou sistemas e estruturas do corpo, assim como as limitações de atividades e da participação social no meio ambiente onde a pessoa vive (18). Para a Organização Mundial da Saúde (OMS), a CID e a CIF são complementares: a informação sobre o diagnóstico acrescido da funcionalidade provê um quadro mais geral sobre a saúde do indivíduo ou populações. A isto podemos dizer que, duas pessoas com a mesma doença podem apresentar diferentes níveis de funcionalidade, e duas pessoas com o mesmo nível de funcionalidade não têm necessariamente a mesma condição de saúde. O termo do modelo da CIF é a funcionalidade, que cobre os componentes de funções e estruturas do corpo, atividade e participação social ¹⁹.

Para alguns autores, as medidas de funcionalidade, que focam em habilidades de vida diária, são necessárias para o planejamento de programas apropriados para a criança, além das avaliações que registram os avanços e as dificuldades que ocorrem no processo de cuidado e de desenvolvimento da criança; e de desempenho funcional são de suma importância. Avaliar a qualidade de vida de crianças concomitante com seu nível de funcionalidade bem como os mais diversos acometimentos é fundamental, para que possa haver um maior desenvolvimento infantil ¹⁹.

A classificação surgiu através da necessidade de se avaliar questões que a Classificação Internacional de Doenças (CID) não contemplava, contemplando uma visão biopsicossocial que o modelo médico anterior não trazia, começando então a se preocupar com questões da vida dos indivíduos, os quais devem passar pela avaliação de uma equipe multidisciplinar ⁷⁸. A CIF é assim

denominada, pois coloca o enfoque sobretudo na saúde e na funcionalidade e não na incapacidade. Anteriormente, a incapacidade tinha início onde a saúde acabava; uma vez que o indivíduo era incapacitado, o mesmo era colocado numa categoria à parte. A criação da CIF constituiu uma mudança radical. Ao invés de enfatizar a incapacidade da pessoa, agora foca-se no seu nível de saúde ^{78, 79}. A CIF tem, também, como um de seus objetivos padronizar informações a respeito de um mesmo sujeito para que distintos profissionais padronizem informações e estes sejam utilizados em diversas áreas, como saúde, educação e previdência social, entre outras ⁸⁰.

O padrão multidimensional da CIF surge como uma nova forma de se visualizar a deficiência e/ou os transtornos do desenvolvimento a partir da perspectiva da funcionalidade, objetivando à avaliação de condições ambientais, estruturas físicas, aspectos externos, além da atuação do indivíduo no contexto social o qual ele se encontra ⁷⁹. Cabe ainda destacar que, em todo o mundo, a CIF vem sendo cada vez mais empregada e protocolos e instrumentos de avaliação de funcionalidade têm sido realizados ou adaptados para que seja viável qualificar e quantificar diferentes e integrantes funções dos sujeitos, incluindo as dimensões de corpo, atividade e participação e fatores contextuais e do ambiente ⁸¹.

Particularmente, a CIF possibilita ao profissional da saúde uma extensa visão a respeito da funcionalidade do indivíduo, considerando o desempenho e capacidade, possibilitando ser um instrumento adicional que pode ser empregado no programa de indivíduos com TEA ⁸².

3 OBJETIVOS

Objetivo primário

Determinar os níveis de cortisol capilar numa série de pacientes com Transtorno do Espectro Autista

Objetivo secundário

Verificar a associação entre o nível de cortisol e a funcionalidade dos pacientes com Transtorno do Espectro Autista no município de Pelotas - Rio Grande do Sul.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baio J, Wiggins L, Christensen DL, et al. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2014, MMWR SurveillSumm 2018.
2. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5. 5. American Psychiatric Association; Arlington, VA: 2013.
3. Vicki S, Christopher S, Linda M, Agnew L. Background cortisol versus social anxiety as correlates of HPA-axis recovery from stress in boys with Autism Spectrum Disorder. International Journal of Developmental Neuroscience. December, Pages 52-60, 2018.
4. Xiaolin C, Bizu G, Velez J, Barsosa C, Micah P. Caregivers' hair cortisol: a possible biomarker of chronic stress is associated with obesity measures among children with disabilities. BMC Pediatr. Fev. 2015.
5. Posar, A.; Visconti, P. J Pediatr (Rio J) Mar-Apr;93(2):111-119, 2017.
6. Gomes, P.; Lima, L.; Bueno, M.; Araújo, L.; Souza, N. Autismo no Brasil, desafios familiares e estratégias de superação: revisão sistemática. Jornal de Pediatria, vol. 91, núm. 2, março-abril, pp. 111-121, 2015.
7. Gilbert, J.; Man, H. Fundamental Elements in Autism: From Neurogenesis and Neurite Growth to Synaptic Plasticity. Front Cell Neurosci. Nov 20;11:359, 2017.
8. Sacrey, L.; Bennett, J.; Zwaigenbaum, L. Early Infant Development and Intervention for Autism Spectrum Disorder. J Child Neurol. Dec;30(14):1921-9. 2015.
9. Yasuda et al., Executive dysfunction in autism. Trend Cogn Sci, 8, p. 26- 32, 2014.

10. Ramamoorthy,S.; Cidlowski, JA. Corticosteroids: Mechanisms of Action in Health and Disease.RheumDisClin North Am. Feb;42(1):15-31, 2016.
11. Numakawa T, Odaka H, Adachi N, Actions of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Glucocorticoid Stress in Neurogenesis.Int J Mol Sci.Nov 2;18(11), 2017.
12. Gillott,A.; Standen,P.; Levels of anxiety and sources of stress in adults with autism J Intellect Disabil. pp. 359-370. 2007.
13. Paza, Diego Leonardo Stammet al . Cortisol capilar como medida de análise do estresse crônico. Psic., Saúde&Doenças, Lisboa, v. 18, n. 3, p. 773- 788, dez. 2017.
14. Silva; A. Enumo, S. Estresse em um fio de cabelo: revisão sistemática sobre cortisol capilar. Aval. psicol., Itatiba , v. 13, n. 2, p. 203- 211, ago. 2014.
15. Stalder,T.&Kirschbaum, C. Analysis of cortisol in hair - State of the art and future directions. Brain, Behavior, andImmunity, 26(7), 1019-1029. 2002.
16. Blair, J.; Adaway, J.; Keevil, B.; Ross, R.Salivary cortisol and cortisone in the clinical setting.CurrOpinEndocrinol Diabetes Obes. Jun;24(3):161- 168, 2017.
17. Chen, X. et al, Caregivers' hair cortisol: a possible biomarker of chronic stress is associated with obesity measures among children with disabilities. BMC Pediatr. 2015.
18. Organização Mundial da Saúde, CIF: Classificação Internacional de Funcionalidade, Incapacidade e Saúde [Centro Colaborador da Organização Mundial da Saúde para a Família de Classificações Internacionais, org.; coordenação da tradução Cassia Maria Buchalla. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo - EDUSP; 2003.
19. World Health Organization.The WHO Family of International Classifications.Disponível em: URL<<http://www.who.int/classifications/en>>[2005 - Janeiro 2019.
20. Santos PD. Silva FC. Sousa BA. Pires GKW. Iop RR. Ferreira EG. et al. Functionality and quality of life of children with disability. J Hum Growth Dev.; 28(2):154-164, 2018.

21. Pereira, A. Riesgo, R. Wagner, M. Childhood Autism: The Brazilian version of the Childhood Autism Rating Scale (CARS) 2007.
22. Mancini MC. Inventário de Avaliação Pediátrica de Incapacidade (PEDI). Belo Horizonte: Editora UFMG; 2005.
23. KannerL.. Autistic disturbances of affective contact. *NervousChild*, 2, 217-250, 1943.
24. Maygar, C,I. Pandolfi, V. Factor structure evaluation of the childhood autism rating scale. *JournalofAustismandDevelopmentalDisorder*, 37, 1787-1794. 2007.
25. Tchaconas, A. Adesman, A. Autism spectrum disorders: a pediatric overview and update. *Currentopinion in pediatrics*, v.25, n.1, 2013.
26. Ghaleiha, A. *et al.* A pilot double-blind placebo- controlled trial of pioglitazone as adjunctive treatment of risperidone: Effects on aberrant behavior in children with autism. *Psychiatryresearch*, v. 229, 2015.
27. King, B.H *et al.* Update on diagnostic classification in autism.*Current Opinion in Psychiatry*, v. 27, n.2, p. 105-109, 2014.
28. Benvenuto, A. *et al.* Pharmacotherapy of autism spectrum disorders. *Brain and development*, v.35,n.2, p. 119-127, 2013.
29. Ahamad, S. *et al.* Imbalance between the anti- and pro- inflammatory milieu in blood leukocytes of autistic children. *Molecular Immunology*,v. 82, p. 57-65, 2017.
30. Parellada, M. *et al.*The neurobiology of autism spectrum disorders.*European Psychiatry*, v. 29, n.1, p. 11-19, 2014.
31. Anderson, G.M. Autism Biomarkers: Challenges, Pitfalls and Possibilities.*Journal of Autism and Development Disorders*, v. 45, n. 4, p. 1103-1113, 2015.
32. Goel, R. *et al.* An Update on pharmacotherapy of autism spectrum disorder in children and adolescents.*International Review of Psychiatry*, v. 30, n. 1, p. 78-95, 2018.
33. Rossignol, D. A. Novel and emerging treatment for autism spectrum disorders: A systematic review. *Annals of Clinical Psychiatry*, v. 21, n. 4, p. 213-236, 2009.

34. Anagnostou, E. *et al.* Autism spectrum disorder: advances in evidence-based practice. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal*, v. 186, n. 7, p. 509-519, 2014.
35. Halpen, R. *et al.* Fatores de risco para suspeita de atraso no desenvolvimento neuropsicomotor aos 12 meses de vida. *Revista Chilena de Pediatria*, v. 73, n. 5, 2002.
36. Warren, Z. *et al.* A systematic Review of Early Intensive Intervention for Autism Spectrum Disorders. *Pediatrics*, v. 127, n. 5, p. 1303- 1311, 2011.
37. Eissa, N. *et al.* Current Enlightenment About Etiology and Pharmacological Treatment of Autism Spectrum Disorder. *Frontiers in Neuroscience*, v. 12, p. 304, 2018.
38. Stubbs G., Henley K., Green J. Autism: will vitamin D supplementation during pregnancy and early childhood reduce the recurrence rate of autism in newborn siblings? *Med. Hypotheses*, v. 88, p. 74-78, 2016.
39. Geschwind D. H. Genetics of autism spectrum disorders. *Trends Cogn.Sci.* V. 15, p. 409-416, 2011.
40. Voineagu I., Wang X., Johnston P., Lowe J. K., Tian Y., Horvath S., *et al.* Transcriptomic analysis of autistic brain reveals convergent molecular pathology. *Nature* v. 474, p. 380-384, 2011.
41. Chang J., Gilman S. R., Chiang A. H., Sanders S. J., Vitkup D. Genotype to phenotype relationships in autism spectrum disorders. *Nat. Neurosci.* V. 18, p. 191-198, 2015.
42. Yin, J.; Schaaf, C.; Autism genetics - an overview. *PrenatDiagn. Jan;37(1):14-3*, 2017.
43. Hallmayer J., Cleveland S., Torres A., Phillips J., Cohen B., Torigoe T., *et al.* Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. *Arch. Gen. Psychiatry*, V. 68, P. 1095-1102, 2011.
44. Glasson E. J., *et al.* Perinatal factors and the development of autism: a population study. *Arch. Gen. Psychiatry*, v. 61, p. 618-627, 2004.
45. Maramba L. A., He W., Ming X. Pre- and perinatal risk factors for autism spectrum disorder in a New Jersey cohort. *J. Child Neurol*, v. 29, p. 1645-1651, 2014.

46. Gardener H., Spiegelman D., Buka S. L. Perinatal and neonatal risk factors for autism: a comprehensive meta-analysis. *Pediatrics*, v. 128, p.344-355, 2011.
47. Guinchat V., *et al.* Pre-, peri- and neonatal risk factors for autism. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, v. 91, p. 287-300, 2012.
48. Wang, C.; Geng, H.; Liu, W.; Zhang, G. Prenatal, perinatal, and postnatal factors associated with autism: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. May;96(18):e6696, 2017.
49. James, S. *et al.* Efficacy of methylcobalamin and folic acid treatment on glutathione redox status in children with autism. *J. Clin. Nutr.*, v. 89, p. 425-430, 2009.
50. Brentani, H. *et al.* Autism spectrum disorders: an overview diagnosis and treatment. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, v. 35, n. 1, p. S62- S72, 2013.
51. Matson J. L., Sipes M., Fodstad J. C., Fitzgerald M. E. Issues in the management of challenging behaviours of adults with autism spectrum disorder. *CNS Drugs*, v. 25, p. 597-606, 2011.
52. Couto-Moraes, R. *et al.* The immune pineal axis: stress as a modulator of pineal gland function. *Annals of New York Academy of Science*, v. 1153, p. 193-202, 2009.
53. Porter, J.; Blair, J.; Ross, J.; Is physiological glucocorticoid replacement important in children? *Arch Dis Child*. Feb;102(2):199-205, 2017.
54. Morris, J. Circadian system, sleep and endocrinology. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 349, n. 1, p. 91-104, 2012.
55. Blair C., Granger D., & Razza R. P.. Cortisol reactivity is positively related to executive function in preschool children attending Head Start. *Child Development*, v. 76, p. 554-567, 2005.
56. Obradović J., Bush N. R., Stamperdahl J., Adler N. E., & Boyce W. T. Biological sensitivity to context: The interactive effects of stress reactivity and family adversity on socioemotional behavior and school readiness. *Child Development*, v. 81, p. 270-289, 2010.
57. Conradt E., Abar B., Lester B. M., LaGasse L. L., Shankaran S., Bada H. Hammond J. A. Cortisol reactivity to social stress as a mediator of early

- adversity on risk and adaptive outcomes. *Child Development*, v. 85, p. 2279-2298, 2014.
58. Alink L. R. A., et al. Cortisol and externalizing behavior in children and adolescents: Mixed meta-analytic evidence for the inverse relation of basal cortisol and cortisol reactivity with externalizing behavior. *Developmental Psychobiology*, v. 50, p. 427-450, 2008.
59. Aguilar Cordero MJ, Sánchez López AM, Mur Villar N, García García I, Rodríguez López MA, OrtegónPiñero A, et al. [Salivary cortisol as an indicator of physiological stress in children and adults; a systematic review]. *Nutr Hosp*;29(5):960-8, 2014.
60. Charmandari, E; Nicolaidis, N; Chrousos, G. Adrenal insufficiency. *Lancet*, 383: 2152, 2014
61. Gotham, K., Pickles, A., & Lord, C. Standardizing ADOS Scores for a Measure of Severity in Autism Spectrum Disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 39(5), 693-705, 2008.
62. Linhares, M, M. Estresse precoce no desenvolvimento: impactos na saúde e mecanismos de proteção *Estudos de Psicologia (Campinas)*, vol. 33, núm. 04, , pp. 587-599, 2016.
63. Shonkoff, J. P. Building a new biodevelopmental framework to guide the future of early childhood policy. *Child Development*, 81(1), 357-367, 2010.
64. Shonkoff, J. P. Leveraging the biology of adversity to address the roots of disparities in health and development. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 109(2), 17302- 17307, 2012.
65. Linhares, M. O processo de autorregulação no desenvolvimento de crianças. *Estudos de Psicologia, Campinas*, 32(2), 281-293, 2015.
66. Araujo, L et al. O papel do pediatra na prevenção e do estresse tóxico na infância. *Manual de Orientação. Sociedade Brasileira de Pediatria*. n.3, 2017.
67. Center for the Study of Social Policy. Resultsbased public policy strategies for promoting children's social, emotional and behavioral health. Washington, DC: Policy Center for the Study of Social; 2012.

68. Boeckel, M. Ambientes familiares tóxicos: impactos da violência conjugal na vinculação entre mães e filhos, no reconhecimento de emoções e nos níveis de cortisol. Porto Alegre, 2013.
69. Flaherty EG, Thompson R, Litrownik AJ, Zolotor AJ, Dubowitz H, Runyan DK, et al. Adverse childhood exposures and reported child health at age 12. *AcadPediatr.* 9(3):150-6, 2009.
70. Brasil. Ministério da Saúde Secretaria de Atenção à Saúde Departamento de Ações Programáticas Estratégicas B. Linha de cuidado para a atenção integral à saúde de crianças, adolescentes e suas famílias em situação de violência: orientações para gestores e profissionais de saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2010.
71. Shonkoff, J. P. Building a new biodevelopmental framework to guide the future of early childhood policy. *Child Development*, 81(1), 357-367, 2010.
72. Shonkoff, J. P. Leveraging the biology of adversity to address the roots of disparities in health and development. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 109(2), 2012.
73. Critério de Classificação Econômica Brasil. - Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP), 2018. <http://www.abep.org/criterio-brasil>.
74. Williams Shanks TR, Robinson C. Assets, economic opportunity and toxic stress: A framework for understanding child and educational outcomes. *Econ Edu Rev J.* 2013;33:154-70, 2010.
75. Center on the Developing Child at Harvard University. A science-based framework for early childhood policy: using evidence to improve outcomes in learning, behavior, and health for vulnerable children. Cambridge: Center on the Developing Child at Harvard University; 2009
76. Gadia, C; etall. Autismo e doenças invasivas de desenvolvimento, *Jornal de Pediatria - Vol. 80, Nº2*, 2004.
77. Fakhoury, M.; Autistic spectrum disorders: A review of clinical features, theories and diagnosis. *Int J Dev Neurosci.* Jun;43:70-7, 2015.
78. Di Nubila H, Buchalla C. O papel das classificações da OMS - CID e CIF nas definições de deficiência e incapacidade. *Rev Bras Epidemiol.*;11(2):324-35, 2009.

79. Miccas, C et al. Avaliação de funcionalidade em atividades e participação de alunos com transtorno do espectro do autismo. *Revista da associação brasileira de psicopedagogia*. v. 31, edição 94, 2014.
80. Vale MC. Classificação Internacional de Funcionalidade (CIF): conceitos, preconceitos e paradigmas. Contributo de um construto para o percurso real em meio natural de vida. *Acta Pediátrica Portuguesa*. 40(5):229-36, 2009.
81. Lavrador, R. A utilidade da classificação internacional de funcionalidade, incapacidade de saúde (CIF) em educação. Dissertação de mestrado. Universidade do Minho, 2009.
82. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Diretrizes de Atenção à Reabilitação da Pessoa com Transtornos do Espectro do Autismo (TEA) / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. - Brasília: Ministério da Saúde, 2014
83. Corbett BA, Key AP, Qualls L, Fecteau S, Newsom C, Coke C, Yoder P. Improvement in Social Competence Using a Randomized Trial of a Theatre Intervention for Children with Autism Spectrum Disorder. *J Autism Dev Disord*. 2016 Feb;46(2):658-72. doi: 10.1007/s10803-015- 2600-9. PMID: 26419766; PMCID: PMC5633031.
84. Lam KS, Aman MG, Arnold LE. Neurochemical correlates of autistic disorder: A review of the literature. *Research in Developmental Disabilities*. 2006;27:254-289
85. Spratt EG, Friedenbergl SL, Swenson CC, Larosa A, De Bellis MD, Macias MM, Summer AP, Hulsey TC, Runyan DK, Brady KT. The Effects of Early Neglect on Cognitive, Language, and Behavioral Functioning in Childhood. *Psychology (Irvine)*. 2012 Feb 1;3(2):175-182. doi: 10.4236/psych.2012.32026. PMID: 23678396; PMCID: PMC3652241.
86. Chiarotti, F.; Venerosi, A. Epidemiology of Autism Spectrum Disorders: A Review of Worldwide Prevalence Estimates Since 2014. *Brain Sci*. 2020
87. Anand KJS, Rovnaghi CR, Rigdon J, Qin F, Tembulkar S, Murphy LE, Barr DA, Gotlib IH, Tylavsky FA. Demographic and psychosocial factors

- associated with hair cortisol concentrations in preschool children. *Pediatr Res.* 2020 May;87(6):1119-1127. doi: 10.1038/s41390-019-0691-2. Epub 2019 Dec 2. PMID: 31791042; PMCID: PMC7196501.
88. Lynch, R. et al. Perceived stress and hair cortisol concentration in a study of Mexican and Icelandic women, 2022
 89. Miot, H. *Análise de correlação em estudos clínicos e experimentais*, 2017
 90. Bardaquim VA, Santos SVM, Dias EG, Dalri RCMB, Mendes AMOC, Gallani MC, et al. Estresse e níveis de cortisol capilar entre a equipe de enfermagem, *Rev Bras Enferm.* 2020;73
 91. Castro, M. Moreira AC. Diagnóstico laboratorial da síndrome de Cushing. *Arq Bras Endocrinol Metab* 46 (1) Fev 2002
 92. Martinelli CE, Sader SL, Oliveira EB, Daneluzzi JC, Moreira AC. Salivary cortisol for screening of Cushing's syndrome in children. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999;51:67-70.
 93. Umeda T, Hiramatsu R, Iwaoka T, Shimada T, Miura F, Sato T. Use of saliva for monitoring unbound free cortisol levels in serum. *Clin Chim Acta* 1981;
 94. Santiago LB, Jorge SM, Moreira AC. Longitudinal evaluation of the development of salivary cortisol circadian rhythm in infancy. *Clin Endocrinol* 1999
 95. Martinelli CE, Sader SL, Oliveira EB, Daneluzzi JC, Moreira AC. Salivary cortisol for screening of Cushing's syndrome in children. *Clin Endocrinol* 1999
 96. Tordjman S, et al, Plasma β -Endorphin, Adrenocorticotropin Hormone, and Cortisol in Autism, 2006.
 97. Herr RM, Almer C, Loerbroks A, Barrech A, Elfantel I, Siegrist J. et al. Associations of work stress with hair cortisol concentrations: initial findings from a prospective study. *Psychoneuroendocrinol* 2018;
 98. Miccas, C. et al, *Avaliação de funcionalidade em atividades e participação de alunos com transtorno do espectro do autismo*, revista da associação brasileira de psicopedagogia, 2014
 99. Schwartzman JS, Araújo CA, org. *Transtornos do espectro do autismo - TEA*. São Paulo: Memnon; 2011

100. Karten YJ, Olariu A, Cameron HA. Stress in early life inhibits neurogenesis in adulthood. *Trends Neurosci.* 2005 Apr;28(4):171-2.
101. Corbett, B.A., Schupp, C.W., Simon, D. *et al.* Elevated cortisol during play is associated with age and social engagement in children with autism. *Molecular Autism* 1, 13 (2010)
102. Squire, L. R. (1992). Memory and the hippocampus: A synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological Review*, 99(2), 195-231
103. Naber FB, Swinkels SH, Buitelaar JK, Bakermans-Kranenburg MJ, van IJzendoorn MH, Dietz C, van Daalen E, van Engeland H. Attachment in toddlers with autism and other developmental disorders. *J Autism Dev Disord.* 2007 Jul;37(6):1123-38
104. Dettling AC, Parker SW, Lane S, Sebanc A, Gunnar MR. Quality of care and temperament determine changes in cortisol concentrations over the day for young children in childcare. *Psychoneuroendocrinology.* 2000;25:819-836.
105. Vaan et al. Associations Between Cortisol Stress Levels and Autism Symptoms in People With Sensory and Intellectual Disabilities. *Sec. Educational Psychology.* Volume 5 - 2020
106. Anand KJS, Rovnaghi CR, Rigdon J, Qin F, Tembulkar S, Murphy LE, Barr DA, Gotlib IH, Tylavsky FA. Demographic and psychosocial factors associated with hair cortisol concentrations in preschool children. *Pediatr Res.* 2020 May;87(6):1119-1127.

5 ARTIGO CIENTÍFICO

Stress and functionality levels in a sample of patients with autism spectrum Disorder

Running Head: Stress and functionality in patients with autism

Gabriela Campelo,¹ Carolina Leães Rech,¹ Sergio Amantea³

1 Graduate Program in Pediatrics, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, RS, Brazil.

2 Medical Clinic Department, UFCSPA, Porto Alegre, RS, Brazil.

Corresponding author

Gabriela Campelo

Rua Sarmento Leite, 245 90050170 - Porto Alegre, RS Brazil

gabrielaccampelo@gmail.com

Tel.: +55-51-91184202

Financial disclosure: The authors have no financial relationships relevant to this article to disclose.

Conflict of Interest: The authors have no conflicts of interest to disclose.

Word count: 1970

ABSTRACT

Background: Over the past decade, most research in autism spectrum disorder (ASD) has emphasized ASD as a neurodevelopmental condition. Changes in routine may generate high levels of stress in children with ASD, further affecting social functioning. A 2020 study showed that cortisol levels were positively associated with the presence of stereotypic behaviors in children with autism. Recently, the determination of hair cortisol levels has been recognized as a good quantitative biomarker. The goal of the study was to correlate the levels of stress and functionality in a sample of patients with ASD.

Keywords: autism, cortisol, functionality

INTRODUCTION

Autism spectrum disorder (ASD) is a neurodevelopmental condition that affects social communication and interaction characterized by repetitive and restricted patterns of behavior, interests, and activities (Baio et al., 2018). Deficits in socioemotional reciprocity, nonverbal communicative behaviors used for social interaction, and skills in developing, maintaining, and understanding relationships have also been observed (APA, 2013). Symptoms vary according to each patient, age group, and cognitive and communication skills. Difficulties in social interaction may manifest as isolation or inappropriate social behavior, poor eye contact, difficulty participating in group activities, affective indifference or inappropriate displays of affection, and lack of social or emotional empathy (Baio et al., 2018). Repetitive and restricted patterns of behavior may include resistance to change, rigid adherence to certain routines, and intense attachment to objects. Sudden changes in routine may generate high levels of stress in children with ASD, further affecting social functioning (Bitsika, Sharpley, McMillan and Agnew, 2018).

Studies referring to activation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in patients with autism are conflicting. Elevated cortisol levels (Corbett et al., 2010), normal baseline cortisol levels, elevated baseline adrenocorticotropin (ACTH) (Cortrosyn®) levels, and abnormal suppression on the dexamethasone suppression test have been observed in these patients (Lam, Aman, and Arnold, 2006; Spratt et al., 2012a). A significantly higher and longer-lasting cortisol peak was identified in children with autism after stressful stimuli, suggesting increased response of the hypothalamic pituitary-adrenal axis to stress in these patients (Sacre, Bennett, and Zwaigenbaum,

2015). In addition, a 2020 study showed that cortisol levels were positively associated with the presence of stereotypic and repetitive behaviors in children with autism (Chiarotti and Venerosi, 2020).

Recently, the determination of hair cortisol levels has been recognized as a good quantitative biomarker, which may be elevated in chronic stress. Studies have shown that determining the concentration of cortisol in hair tissue is a less invasive method for evaluating cortisol synthesis and secretion in the long term (Bitsika et al., 2018; Chen et al., 2015). Cortisol binds to growing hair, therefore hair cortisol concentrations are increasingly accepted as cumulative measures of stress experienced over the last 3-6 months in adults and children. Hair is assumed to grow approximately 1 cm per month, and it incorporates the circulating nonprotein bound cortisol (Anand et al., 2020).

Therefore, the objective of this study was to determine hair cortisol levels in a series of patients with ASD and, if possible, verify its association with functionality.

KEY POINTS

What's known?

Hair cortisol refers to the levels of cortisol present in the hair, which can provide a measure of exposure to chronic stress. Recent studies suggest that elevated hair cortisol levels are associated with autism in children.

What's new?

Research published in 2021 found an association between high hair cortisol concentration

in children with autism and hyperactivity and impulsivity behaviors. Other findings indicate that increased hair cortisol levels in infants with autism are associated with increased severity of autism symptoms.

What's relevant?

Our study provides important information on the pathophysiology of autism and how stress can affect the behavior of people with autism. This may have significant implications for the treatment and management of autism, as well as for improvements in quality of life and functionality.

REFERENCES

American Psychiatric Association (APA). Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5 [Internet]. 2013 [cited 2023 Mar 01]. Available from:

<http://www.institutopebioetica.com.br/documentos/manual-diagnostico-e-estatistico-detranstornos-mentais-dsm-5.pdf>

Anand, K.J.S., Rovnaghi, C.R., Rigdon, J., Qin, F., Tembulkar, S., Murphy, L.E., Barr, D.A., Gotlib, I.H. and Tylavsky, F.A. (2020). Demographic and psychosocial factors associated with hair cortisol concentrations in preschool children. *Pediatric Research*, 87, 1119-1127.

Baio, J., Wiggins, L., Christensen, D.L., Maenner, M.J., Daniels, J., Warren, Z., Kurzius-Spencer, M., Zahorodny, W., Robinson Rosenberg, C., White, T., Durkin, M.S., Imm, P., Nikolaou, L., Yeargin-Allsopp, M., Lee, L.C., Harrington, R., Lopez, M., Fitzgerald, R.T., Hewitt, A., Pettygrove, S., Constantino, J.N., Vehorn, A., Shenouda, J., Hall-Lande, J., Van Naarden Braun, K. and Dowling, N.F. (2018).

Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years - autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2014. *MMWR. Surveillance Summaries*, 67, 1-23.

Bardaquim, V.A., Santos, S., Dias, E.G., Dalri, R., Mendes, A., Gallani, M.C. and Robazzi, M. (2020). Stress and cortisol levels among members of the nursing team. *Revista Brasileira de Enfermagem*, 73 Suppl 1, e20180953.

Bitsika, V., Sharpley, C.F., McMillan, M.E. and Agnew, L.L. (2018). Background cortisol versus social anxiety as correlates of HPA-axis recovery from stress in boys with

Autism Spectrum Disorder. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 71, 52-60.

Chen, X., Gelaye, B., Velez, J.C., Barbosa, C., Pepper, M., Andrade, A., Gao, W., Kirschbaum, C. and Williams, M.A. (2015). Caregivers' hair cortisol: a possible biomarker of chronic stress is associated with obesity measures among children with disabilities. *BMC Pediatrics*, 15, 9.

Chiarotti, F. and Venerosi, A. (2020). Epidemiology of autism spectrum disorders: a review of worldwide prevalence estimates since 2014. *Brain Sciences*, 10.

Corbett, B.A., Key, A.P., Qualls, L., Fecteau, S., Newsom, C., Coke, C. and Yoder, P. (2016). Improvement in social competence using a randomized trial of a theatre intervention for children with autism spectrum disorder. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 46, 658-672.

Corbett, B.A., Schupp, C.W., Simon, D., Ryan, N. and Mendoza, S. (2010). Elevated cortisol during play is associated with age and social engagement in children with autism. *Molecular Autism*, 1, 13.

De Vaan, G., Beijers, R., Vervloed, M.P.J., Knoors, H., Bloeming-Wolbrink, K.A., De Weerth, C. and Verhoeven, L. (2020). Associations between cortisol stress levels and autism symptoms in people with sensory and intellectual disabilities. *Frontiers in Education*, 5.

Dettling, A.C., Parker, S.W., Lane, S., Sebanc, A. and Gunnar, M.R. (2000). Quality of care and temperament determine changes in cortisol concentrations over the day for young children in childcare. *Psychoneuroendocrinology*, 25, 819-836.

Herr, R.M., Almer, C., Loerbroks, A., Barrech, A., Elfantel, I., Siegrist, J., Gundel, H., Angerer, P. and Li, J. (2018). Associations of work stress with hair cortisol concentrations - initial findings from a prospective study. *Psychoneuroendocrinology*, 89, 134-137.

Hoshino, Y., Yokoyama, F., Watanabe, M., Murata, S., Kaneko, M. and Kumashiro, H. (1987). The diurnal variation and response to dexamethasone suppression test of saliva cortisol level in autistic children. *Jpn J Psychiatry Neurol*, 41, 227-235.

Karten, Y.J., Olariu, A. and Cameron, H.A. (2005). Stress in early life inhibits neurogenesis in adulthood. *Trends in Neurosciences*, 28, 171-172.

Lam, K.S., Aman, M.G. and Arnold, L.E. (2006). Neurochemical correlates of autistic disorder: a review of the literature. *Research in Developmental Disabilities*, 27, 254- 289.

Lynch, R., Flores-Torres, M.H., Hinojosa, G., Aspelund, T., Hauksdóttir, A., Kirschbaum, C., Catzin-Kuhlmann, A., Lajous, M. and Valdimarsdóttir, U. (2022). Perceived stress and hair cortisol concentration in a study of Mexican and Icelandic women. *Plos Global Public Health*, 2, e0000571.

Mancini MC. (2005). *Inventário de Avaliação Pediátrica de Incapacidade (PEDI)*. Belo Horizonte: Editora UFMG.

Miccas, C., Vital, A., Famá, M. and D'Antino, D.A. (2014). Avaliação de funcionalidade em atividades e participação de alunos com transtornos do espectro do autismo. *Revista da Associação Brasileira de Psicopedagogia*, 31.

Miot, H.A. (2018). Correlation analysis in clinical and experimental studies. *Jornal Vascular Brasileiro*, 17, 275-279.

Naber, F.B., Swinkels, S.H., Buitelaar, J.K., Bakermans-Kranenburg, M.J., van, I.M.H., Dietz, C., van Daalen, E. and van Engeland, H. (2007). Attachment in toddlers with autism and other developmental disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 37, 1123-1138.

Pereira, A., Riesgo, R.S. and Wagner, M.B. (2008). Childhood autism: translation and validation of the Childhood Autism Rating Scale for use in Brazil. *Jornal de Pediatria*, 84, 487-494.

Raul, J.S., Cirimele, V., Ludes, B. and Kintz, P. (2004). Detection of physiological concentrations of cortisol and cortisone in human hair. *Clinical Biochemistry*, 37, 1105-1111.

Sacrey, L.A., Bennett, J.A. and Zwaigenbaum, L. (2015). Early infant development and intervention for autism spectrum disorder. *Journal of Child Neurology*, 30, 1921-1929.

Schwartzman, J.S. and Araújo, C. (2011). *Transtornos do espectro do autismo - TEA*. São Paulo: Memnon.

Spratt, E.G., Friedenberg, S.L., Swenson, C.C., Larosa, A., De Bellis, M.D., Macias, M.M., Summer, A.P., Hulse, T.C., Runyan, D.K. and Brady, K.T. (2012a). The effects of early neglect on cognitive, language, and behavioral functioning in childhood. *Psychology (Irvine)*, 3, 175-182.

Spratt, E.G., Nicholas, J.S., Brady, K.T., Carpenter, L.A., Hatcher, C.R., Meekins, K.A., Furlanetto, R.W. and Charles, J.M. (2012b). Enhanced cortisol response to stress in children in autism. *J Autism Dev Disord*, 42, 75-81.

Squire, L.R. (1992). Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological Review*, 99, 195-231.

Tordjman, S., Anderson, G.M., McBride, P.A., Hertzog, M.E., Snow, M.E., Hall, L.M., Thompson, S.M., Ferrari, P. and Cohen, D.J. (1997). Plasma beta-endorphin, adrenocorticotropin hormone, and cortisol in autism. *The Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 38, 705-715.

7 ANEXOS

ANEXO A - Normas da Revista Journal of Child Psychology and Psychiatry

Manuscript preparation and submission

1. The manuscript should be double spaced throughout, including references and tables. Pages should be numbered consecutively. The preferred file formats are MS Word or WordPerfect, and should be PC compatible. If using other packages the file should be saved as Rich Text Format or Text only.

2. Papers should be concise and written in English in a readily understandable style. Care should be taken to avoid racist or sexist language, and statistical presentation should be clear and unambiguous. The Journal follows the style recommendations given in the *Publication manual of the American Psychological Association* (5th edn., 2001).

3. The Journal is not able to offer a translation service, but, authors for whom English is a second language may choose to have their manuscript professionally edited before submission to improve the English. A list of independent suppliers of editing services can be found **here**. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Layout

Title: The first page of the manuscript should give the title, name(s) and short address(es) of author(s), and an abbreviated title (for use as a running head) of up to 60 characters.

Abstract

The abstract should not exceed 300 words and should be structured in the following way with bold marked headings: Background; Methods; Results; Conclusions; Keywords; Abbreviations. The abbreviations will apply where authors are using acronyms for tests or abbreviations not in common usage.

Key points and relevance

All papers should include a text box at the end of the manuscript outlining the four or five key (bullet) points of the paper. These should briefly (80-120 words) outline what's known, what's new, and what's relevant.

Under the 'what's relevant' section we ask authors to describe the relevance of their work in one or more of the following domains - policy, clinical practice, educational practice, service development/delivery or recommendations for further science.

Headings

Articles and research reports should be set out in the conventional format: Methods, Results, Discussion and Conclusion. Descriptions of techniques and methods should only be given in detail when they are unfamiliar. There should be no more than three (clearly marked) levels of subheadings used in the text.

Acknowledgements

These should appear at the end of the main text, before the References.

Correspondence to

Full name, address, phone, fax and email details of the corresponding author should appear at the end of the main text, before the References.

References

The *JCPP* follows the text referencing style and reference list style detailed in the *Publication manual of the American Psychological Association* (5th edn.).i.

References in text

References in running text should be quoted as follows:

Smith and Brown (1990), or (Smith, 1990), or (Smith, 1980, 1981a, b), or (Smith & Brown, 1982), or (Brown & Green, 1983; Smith, 1982).

For up to five authors, all surnames should be cited in the first instance, with subsequent occurrences cited as et al., e.g. Smith et al. (1981) or (Smith et al., 1981). For six or more authors, cite only the surname of the first author followed by et al. However, all authors should be listed in the Reference List. Join the names in a multiple author citation in running text by the word 'and'. In parenthetical material, in tables, and in the References List, join the names by an ampersand (&). References to unpublished material should be avoided.

Reference list

Full references should be given at the end of the article in alphabetical order, and not in footnotes. Double spacing must be used.

References to journals should include the authors' surnames and initials, the year of publication, the full title of the paper, the full name of the journal, the volume number, and inclusive page numbers. Titles of journals must not be abbreviated and should be italicised.

References to books should include the authors' surnames and initials, the year of publication, the full title of the book, the place of publication, and the publisher's name.

References to articles, chapters and symposia contributions should be cited as per the examples below:

Kiernan, C. (1981). Sign language in autistic children. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 22, 215-220.

Thompson, A. (1981). *Early experience: The new evidence*. Oxford: Pergamon Press.

Jones, C.C., & Brown, A. (1981). Disorders of perception. In K. Thompson (Ed.), *Problems in early childhood* (pp. 23-84). Oxford: Pergamon Press.

Use Ed.(s) for Editor(s); edn. for edition; p.(pp.) for page(s); Vol. 2 for Volume 2.

Tables and Figures

All Tables and Figures should appear at the end of main text and references, but have their intended position clearly indicated in the manuscript. They should be constructed so as to be intelligible without reference to the text. Any lettering or line work should be able to sustain reduction to the final size of reproduction. Tints and complex shading should be avoided and colour should not be used unless essential. Authors are encouraged to use patterns as opposed to tints in graphs. Authors will be able to access their proofs via Wiley Online Library. Figures should be originated in a drawing package and saved as TIFF, EPS, or PDF files. Further information about supplying electronic artwork can be found in the Wiley electronic artwork guidelines [here](#).

Nomenclature and symbols

Each paper should be consistent within itself as to nomenclature, symbols and units. When referring to drugs, give generic names, not trade names. Greek characters should be clearly indicated.

Supporting Information

Examples of possible supporting material include intervention manuals, statistical analysis syntax, and experimental materials and qualitative transcripts.

1. If uploading with your manuscript please call the file 'Supporting Information' and reference it in the manuscript.

2. Include only those items that are relevant and ensure that all appendices, figures, tables etc included are referenced in the manuscript in chronological order.
3. Label and cite the items presented in the Supporting Information as - Appendix S1, Figure S1, and Table S1 etc in the order of their appearance.
4. Please note supporting files are uploaded with the final published manuscript as supplied, they are not typeset and not copy edited for style etc. Make sure you submit the most updated and corrected files after revision.
5. On publication, your Supporting Information will be available alongside the final version of the manuscript online.
6. If uploading to a public repository, please provide a link to the Supporting Information and reference it in the manuscript. The materials must be original and not previously published. If previously published, please provide the necessary permissions. You may also display your Supporting Information on your own or an institutional website. Such posting is not subject to the journal's embargo data as specified in the copyright agreement. Supporting Information is made free to access on publication.