# UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Exposição gestacional ao etanol e avaliação de níveis de cortisol salivar em crianças em idade escolar
Isela Iveth González Rodríguez

RIBEIRÃO PRETO 2014

# UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

# Exposição gestacional ao etanol e avaliação de níveis de cortisol salivar em crianças em idade escolar

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Toxicologia

Orientada: Isela Iveth González Rodríguez

Orientador: Prof. Dr. Erikson Felipe Furtado

\*Versão corrigida da Tese de Doutorado Direto apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia no dia 30/10/2014. A versão original encontrase disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP\*.

Ribeirão Preto 2014 AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Rodríguez, Isela Iveth González

Exposição gestacional ao etanol e avaliação de níveis de cortisol salivar em crianças em idade escolar. Ribeirão Preto, 2014.

136 p.: il.; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Toxicologia.

Orientador: Furtado, Erikson Felipe.

- 1. Cortisol salivar. 2. Etanol. 3. Gestação.
- 4. Exposição gestacional. 5. Idade escolar.

## **FOLHA DE APROVAÇÃO**

Nome do aluno: Isela Iveth González Rodríguez

Título do trabalho: Exposição gestacional ao etanol e avaliação de níveis de cortisol salivar em crianças em idade escolar

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Toxicologia

Orientador: Prof. Dr. Erikson Felipe Furtado

Aprovado em:

#### Banca Examinadora

Prof. Dr.:	
	_Assinatura:
Prof. Dr.:	
	_Assinatura:
Prof. Dr.:	
	_Assinatura:
Prof. Dr.:	
	_Assinatura:
Prof. Dr.:	
Instituição:	_Assinatura:

# Dedicatória

Dedico este trabalho: A minha mãe, Dilcia.

## Agradecimentos

Agradeço a Deus por brindar-me a oportunidade de continuar estudando e dar-me fortaleza para superar todas as dificuldades que tive no caminho para chegar até aqui.

A meu orientador, Prof. Dr. Erikson Felipe Furtado pela oportunidade, disponibilidade, e por acreditar em mim, alem do incentivo e acima de tudo pelo apoio e orientação que sempre me brindou para as atividades acadêmicas e cientificas. Serei sempre grata a você.

A toda a equipe do PAI-PAD, em especial à enfermeira Caline pelo auxílio no desenvolvimento do projeto INFANTO-ALCOOL II, especialmente na cuidadosa tarefa do primeiro contato com as mães das crianças envolvidas na pesquisa e a organização das informações dos sujeitos que formam parte da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Sonir Antonini do Departamento de Puericultura e Pediatria da Faculdade de Medicina da USP de Ribeirão Preto por ter cedido espaço e equipamento no laboratório de Endocrinologia e Metabologia sob sua responsabilidade, colaborando para a realização das análises do cortisol salivar.

Ao técnico de laboratório, José Roberto da Silva do Laboratório de Endocrinologia e Metabología do Hospital das Clinicas, pelo auxílio técnico-científico fundamental para a realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia da FCFRP pelo apoio e ajuda que sempre me ofereceram para realizar atividades relacionadas com a pesquisa (congressos, cursos, etc).

## **Epígrafe**

"As coincidências deverão me levar àquelas pessoas que me trarão lições a aprender, e também a quem poderei ensinar lições"

Richard Bach

#### **RESUMO**

RODRÍGUEZ, I. I. G. Exposição gestacional ao etanol e avaliação de níveis de cortisol salivar em crianças em idade escolar. 2014.136f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto — Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

INTRODUÇÃO: Consumo de álcool na gestação é um sério problema de saúde pública envolvendo grande risco de embriotoxicidade e teratogenicidade fetal. Exposição fetal ao álcool causa liberação de glicocorticóides (GC) pela suprarrenal como consequência da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA). Cortisol é o principal glicocorticóide endógeno capaz de interferir na atividade orgânica, influenciando a retroinibição do eixo HPA. Álcool consumido na gravidez pode alterar indiretamente o desenvolvimento fetal ao perturbar as interações hormonais normais dos eixos hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), hipotálamo-hipófise-tireoidal (HPT), hipotálamo-hipófise-gonadal (HPG), entre mãe e feto. OBJETIVOS: Comparar dosagens de cortisol salivar em crianças em idade escolar, com e sem histórico prévio de exposição intrauterina ao álcool, e sua relação com risco materno para Fetal Alcohol Spectrum Disorder (FASD) e intensidade do uso de álcool na gestação. METODOLOGIA: Amostra foi constituída de 76 pares de crianças e mães, de doze a treze anos de idade. Para análise do cortisol, foi coletada saliva e feitas análises por radioimunoensaio. RESULTADOS: Em relação à caracterização da amostra em função do risco materno se obteve significância para "mãe praticante de religião" (X2: 5,60; p=0,01). Associação significativa foi observada entre T-ACE positivo (Tolerance, Annoyed, Cut Down e Eye-Opener) na produção do Cortisol Awaking Response (CAR) e ritmo circadiano em função do sexo da criança (F: 9,26; p=0,003). Diferença significativa foi observada nas análises de níveis de cortisol em função do risco materno para FASD onde as análises de variância (t-tests) do cortisol ao despertar foram encontradas para "CID positivo" (Clasificação Internacional de doenças) (t:-2,659; p=0,01) e para cortisol aos 30 minutos depois de despertar em função de uso de álcool na gestação (t: -2,03; p=0,05). Em relação aos níveis de cortisol em função do uso de álcool na gestação, se obteve diferenças significativas para o cortisol aos 30 minutos depois de despertar (t: -2,03; p=0,05). Foram observadas diferenças significativas (p<0,01) para seguintes variáveis: níveis de cortisol em função do risco materno para FASD, álcool na gestação versus escore AUDIT (Alcohol Use Disorder Identification Test); Álcool na gestação versus T-ACE; Níveis de cortisol ao despertar versus Níveis de cortisol aos 30 min depois de despertar; Níveis de cortisol aos 30 min depois do despertar versus níveis de cortisol aos 60 min depois de despertar e Níveis de cortisol aos 60 min depois de despertar versus escore do AUDIT. As variáveis, álcool na gestação versus diagnóstico pelo CID, níveis de cortisol ao despertar versus escore do T-ACE, apresentaram significância (p=0,01). As análises com níveis de cortisol ao despertar versus níveis de cortisol aos 60 min depois de despertar; níveis de cortisol ao despertar versus escore do AUDIT-total; níveis de cortisol aos 30 min depois do despertar versus escore do T-ACE apresentaram significância estatística (respectivamente, p=0,03, p=0,04 e p=0.05). Em relação à avaliação da qualidade do sono em crianças com exposição pré-natal ao álcool por sexo, obteve-se significância para resistência em ir para a cama, para as meninas (p=0,01) e nas análises de correlação se observou diferenças significativas para ansiedade do sono versus níveis de cortisol salivar às 23 horas (p=0,01) e escore do SRQ total versus perturbação respiratória do sono (p=0,02). DISCUSSÃO: Se obteve uma associação entre uso de álcool na gestação e produção de cortisol salivar nos filhos, porém outras variáveis inerentes às mães podem influenciar no desenvolvimento do HPA e na produção de cortisol na pré-adolescência. CONCLUSÃO: Estes resultados podem contribuir para o melhor entendimento da fisiopatologia subjacente às manifestações clínicas de crianças expostas ao álcool durante a gestação e a fundamentar planos de prevenção para evitar que mulheres grávidas consumam álcool na gestação.

**Palavras-chave**: Álcool, gestação, exposição fetal ao etanol, idade escolar, cortisol salivar, HPA, diagnóstico psiquiátrico, alterações neuroendócrinas, radioimunoensaio (RAI).

#### **ABSTRACT**

RODRÍGUEZ, I. I. G. **Gestational exposure to ethanol and assessment of salivary cortisol levels in school age children**. 2014. 136p. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

INTRODUCTION: Alcohol consumption during pregnancy is a serious public health problem, as it involves great risk related to fetal embryotoxicity and teratogenicity. Fetal alcohol exposure causes the release of glucocorticoids (GC) by the adrenal as consequence of activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. Cortisol is the major endogenous glucocorticoid able to interfere with the organic activity, influencing retroinhibition of HPA axis. Furthermore, alcohol consumed during pregnancy can alter fetal development indirectly by disrupting the normal hormonal interactions of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA), hypothalamic-pituitarytireoidal (HPT), and hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) between mother and fetus. OBJECTIVES: The objective of this research was to compare the measurements of salivary cortisol in school age children with and without previous history of intrauterine exposure to alcohol, and their relationship to maternal risk for Fetal Alcohol Spectrum Disorder (FASD) and the intensity of alcohol use during pregnancy. METHODOLOGY: The study sample consisted of 76 pairs of children and their mothers, between twelve and thirteen years old. For analysis of cortisol, saliva was collected and analyzes were made by radioimmunoassay method. RESULTS: Results show that, in relation to the characterization of the sample as a function of maternal risk for FASD, significance was obtained for the variable mother religious practice versus score of T-ACE (Tolerance, Annoyed, Cut Down e Eye-Opener) (X2: 5.60, p=0.01). Statistically significant association was observed between the covariate T-ACE and production of CAR (Cortisol Awaking Response) and circadian rhythm versus sex of the child (F: 9.26, p=0.003). Significant differences were also observed in the analysis of cortisol levels as a function of maternal risk for FASD for the test analysis of variance (t-tests) of cortisol after awakening versus "negative CID" and "positive CID" (International Clasification of Diseases) (t:-2.659; p=0.01) and cortisol at 30 minutes after awakening versus alcohol use during pregnancy (t:-2.03, p=0.05). In relation to cortisol levels due to the use of alcohol during pregnancy, significant differences were obtained for cortisol at 30 minutes after awakening versus alcohol use during pregnancy (t:-2.03, p=0.05). Significant differences (p<0.01) were found for variables: - cortisol levels as a function of maternal risk for FASD; - alcohol during pregnancy versus score of AUDIT (Alcohol Use Disorder Identification Test); - alcohol in pregnancy versus T-ACE; - cortisol levels after awakening versus cortisol levels at 30 min after awakening; - cortisol levels at 30 min after awakening versus cortisol levels at 60 min after awakening and cortisol levels at 60 min after awakening versus score of AUDIT. Analyses of alcohol during pregnancy versus mother diagnose CID (harmful use or dependence), and cortisol levels after awakening versus score of T-ACE showed significance (p=0.01). The analyses of cortisol levels at 60 min after awakening; cortisol levels after awakening versus AUDIT-total; cortisol levels at 30 min after awakening versus score of T-ACE were significant (respectively, p=0.03, p=0.04 and p=0.05). Regarding the assessment of sleep quality in children with prenatal exposure to alcohol by sex, significance was obtained for resistance to going to bed for female children (p=0.01) and through the analysis of correlation was observed significant results for anxiety sleep versus salivary cortisol levels at 23 hours (p=0.01) and score of mother SRQ total versus respiratory sleep disorder (p=0.02). DISCUSSION: An association was found between alcohol use during pregnancy and salivary cortisol in children of women who consumed alcohol during pregnancy, however other variables inherent to mothers could act in the development of the HPA and the production of cortisol in preadolescence. CONCLUSION: These results can contribute to a better understanding of the pathophysiology underlying the clinical manifestations of children exposed to alcohol during pregnancy and to establish a prevention plan to ensure that pregnant women do not consume alcohol during pregnancy.

**Keywords**: Alcohol, pregnancy, fetal ethanol exposure, school age, salivary cortisol, HPA, psychiatric diagnosis, neuroendocrine changes, radioimmunoassay (RAI).

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1.	Valores das concentrações de cortisol salivar ao despertar, 30 minutos depois de acordar, 1 hora depois de acordar e às 23 horas, em crianças em idade escolar expostas ao álcool na gestação.	56
Figura 2.	Resposta do cortisol salivar ao despertar e ritmo circadiano em crianças do sexo masculino e sexo feminino	60
Figura 3.	Avaliação do Cortisol Awaking Response (CAR) e ritmo circadiano em crianças do sexo masculino e feminino	62
Figura 4.	Média do incremento absoluto dos níveis de cortisol salivar ao acordar (CAR) e ritmo circadiano em crianças filhos de mães T-ACE negativo e T-ACE positivo.	64
Figura 5.	Concentrações de Cortisol Salivar ao despertar e ritmo circadiano em crianças que foram expostas ao álcool na gestação	68
Figura 6.	Avaliação do Cortisol Awakening Response (CAR) e ritmo circadiano em crianças cujas mães mostram qualquer diagnostico de dependência de álcool segundo o CID	70

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Critérios diagnósticos para FASD segundo CDC	12
Tabela 2.	Caracterização da amostra total	45
Tabela 3.	Médias das análises do cortisol ao despertar, cortisol depois de 30 minutos do despertar, cortisol depois de 1 hora do despertar e cortisol das 23 horas, em crianças em idade escolar.	56
Tabela 4.	Médias das concentrações de cortisol salivar observadas para cada horário de coleta de cortisol salivar, em crianças do sexo masculino e do sexo feminino	58
Tabela 5.	Diferenças de médias, erro padrão e nível de confiança (95 %) observados para cada horário de coleta de cortisol salivar.	58
Tabela 6.	Análises multivariadas (GLM) de medidas repetidas de diferentes variáveis que influenciam a produção do CAR e ritmo circadiano por sexo da criança	61
Tabela 7.	Análises de GLM da variável Índice de Massa Corporal versus Cortisol Salivar	63
Tabela 8.	Análise de GLM para SRQ total versus Cortisol Salivar	63
Tabela 9.	Análise de GLM das variáveis total versus Cortisol Salivar	63
Tabela 10.	Análise de GLM das variáveis T-ACE versus Cortisol Salivar	64
Tabela 11.	Análise de GLM das variáveis CID total versus Cortisol Salivar	64
Tabela 12.	Análises de variância (t-tests) para o grupo "T-ACE negativo" e "T-ACE positivo"	66
Tabela 13.	Análises de variância (t-tests) para o grupo "CID negativo" e "CID Positivo"	67
Tabela 14.	Análises multivariadas (GLM) de medidas repetidas - sexo da criança.	67
Tabela 15.	Análises de variância (t-tests) com relação ao uso de àlcool na gestação	69
Tabela 16.	Análise multivariada (GLM) com relação ao uso de álcool na gestação	70

Tabela 17.	Correlação entre o cortisol ao despertar, 30 minutos depois de acordar, uma hora depois de acordar e às 23 h com os parâmetros de álcool na gestação, AUDIT total, T-ACE, e CID.	73
Tabela 18.	Médias dos componentes do questionário de qualidade do sono (CHSQ) observados em crianças do sexo masculino e do sexo feminino	75
Tabela 19.	Síntese dos resultados estatisticamente significativos das análises quantitativas sobre as variáveis estudadas e o seu respectivo teste estatístico	77
Tabela 20.	Detalhamento das características dos estudos em animais com exposição pré-natal ao álcool	80
Tabela 21.	Detalhamento das características dos estudos em humanos com exposição pré-natal ào álcool	82

#### **LISTA DE SIGLAS**

**ADH** Álcool desidrogenase

ARBD Do inglês, Alcohol-Related Birth Defects

**ARND** Do inglês, Alcohol-Related Neurodevelopmental Disorder

AUDIT Do inglês, Alcohol Use Disorders Identification Test

**CAR** Cortisol Awakening Response

**CHSQ** Children's Sleep Habits Questionnaire

CBG Corticosteroide Globulina

DLMO Dim Light Melatonin Onset

**Eixo L-HPA** Eixo límbico hipofisario adrenal

**EFA** Efeitos Fetais do Álcool

**EPN** Estresse pré-natal

**FASD** Do inglês, Fetal Alcohol Spectrum Disorder

**HCFMRP** Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

HPA Eixo hipotálamo-hipófise-AdrenalHPG Eixo hipotálamo-hipófise-gonadalHPT Eixo hipotálamo-hipófise-tireoidal

IMC Indice de Massa Corporal

NPCP Núcleo de Pesquisa em Psiquiatria Clínica e Psicopatologia

PAI-PAD Programa de Ações Integradas para Prevenção e Atenção ao Uso

de Álcool e Drogas na Comunidade

PQI ÁLCOOL Ambulatório de Psiquiatria INFANTO ÁLCOOL

**QMPA** Questionário de Morbidade Psiguiátrica

RAI Radioinmunoensaio

**REM** Do inglês, Rapid Eye Movement

RM Ressonância Magnética

SFA Síndrome Fetal do Álcool

SNC Sistema Nervoso Central

SRQ Self Reporting Questionaire

**T-ACE** Do inglês, *Tolerance, Annoyed, Cut down e Eye-opener* 

**TEAF** Transtorno do espectro alcoólico fetal

**USP** Universidade de São Paulo

## **LISTA DE ANEXOS**

Anexo 1: Termo de Consentimento livre e esclarecido	.114
Anexo 2: Questionário entrevista materna	.117
Anexo 3: Guia de Coleta de Saliva	.129
Anexo 4: Instrumento de Coleta de dados	.131
Anexo 5: Diário de Registro de Atividades	.132
Anexo 6: Questionário de hábitos do sono nas crianças "The Children's Sleep Habits Questionnaire (CHSQ)"	.134

## SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE SIGLAS	vi
LISTA DE ANEXOS	vii
I. INTRODUÇÃO	2
1 Exposição gestacional ao etanol	2
1.1 Farmacologia do etanol	2
1.1.1 Absorção e metabolismo	2
1.1.2 Ação farmacológica	3
1.1.2.1 Sistema nervoso central	3
1.1.2.2 Sistema Digestivo	4
1.1.3 Farmacologia comportamental:	4
1.1.4 Mecanismo de ação	5
2 Transtornos do espectro alcoólico fetal (TEAF)	7
2.1 Sistemas diagnósticos atuais	9
2.1.1 Diagnósticos relacionados à Síndrome Fetal do Álcool na CID-10	11
3 Efeitos no eixo HPA da exposição gestacional ao etanol	19
4 Cortisol salivar em crianças em idade escolar	26
II. OBJETIVOS	30
1 Objetivo geral	30
2 Objetivos específicos	30
III. MATERIAIS E MÉTODOS	32
1 Delineamento do estudo	32
2 Amostra - sujeitos do estudo	33
3 Local do estudo	33
4 Entrevista com questionários	33
4.1 Dados colhidos na gestação	33
4.2 Questionário da entrevista materna	34

4.3 Questionário de Hábitos do Sono nas Crianças "The children's Sleep H Questionnaire (CHSQ)"	
5 Determinação de cortisol salivar	38
5.1 Coleta e preparação da amostra salivar	38
5.2 Método Radioimunoensaio (RIA)	39
6 Fatores antropométricos	40
7 Coleta dos dados	40
8 Análise estatística	42
9 Aspectos éticos	43
VI. RESULTADOS	45
1 Características da amostra total	45
2 Caracterização da amostra em função do risco materno para "FASD"	46
2.1 Sexo da criança	46
2.2 Estado civil da mãe	46
2.3 Número de filhos	47
2.4 Ordem de nascimento da criança	48
2.5 Mãe vive com pai biológico	49
2.6 Renda Familiar	49
2.7 Mãe trabalha fora	50
2.8 Mãe praticante de alguma religião	50
2.9 Escolaridade Paterna	51
2.10 Escolaridade Materna:	52
2.11 Nascimento da criança prematura (Ig< 37s).	53
2.12 Baixo peso da criança (PN < 2,500 g)	54
2.13 Malformações congênitas	54
3 Análise das variações dos níveis de cortisol salivar	55
3.1 Distribuição dos níveis de cortisol para a amostra total	55
3.2 Distribuição dos níveis de cortisol em função do sexo da criança	57
3.2.1 Análises de variância (t-tests)	57
3.2.2 Análise multivariada (GLM) de medidas repetidas – Variável Sexo	60
3.3 Níveis de cortisol em função do risco materno para FASD	65
3.3.1 Análises de variância (t-tests)	65
3.3.2 Análise multivariada (GLM) de medidas repetidas – Variável T-ACE	67
3.4 Níveis de cortisol em função do uso de álcool na gestação	69

3.4.1 Análises de variância (t-tests)	69
3.4.2 Análise multivariada (GLM) de medidas repetidas – Variável "Uso de a na gestação"	
3.4.3 Análises de Correlação	71
3.5 Avaliação da qualidade do sono em crianças com exposição pré-nat álcool por sexo	
3.5.1 Analises de variância (t-test)	74
3.5.2 Análises de correlação	75
3.6 Síntese dos dados quantitativos com significância estatística	76
VII. DISCUSSÃO	79
1 Características da amostra	84
2 Variáveis clínicas	84
2.1 Saúde mental materna	84
2.2 Saúde da criança	85
2.3 Uso do álcool materno	87
3 Cortisol salivar (CAR e ritmo circadiano)	88
4 Análises de correlação	90
5 Avaliação da qualidade do sono em crianças com exposição pré-natal ao a por sexo	
X. CONCLUSÕES	95
XI. CONSIDERAÇÕES FINAIS	98
XII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
ANEXOS	114



## I. INTRODUÇÃO

## 1 Exposição gestacional ao etanol

### 1.1 Farmacologia do etanol

### 1.1.1 Absorção e metabolismo

O álcool é uma pequena molécula solúvel em água que é, rapidamente e eficientemente, absorvida dentro da corrente sanguínea, através do estômago, intestino delgado e cólon. Uma vez na corrente sanguínea, o álcool e rapidamente distribuído através do corpo e ganha acesso a todos os tecidos, incluindo aí o feto na mulher grávida (WOODWARD, 2003).

O álcool é metabolizado primeiramente no citoplasma dos hepatócitos do fígado por ação da enzima álcool desidrogenase (ADH). Uma segunda enzima, catalase, que utiliza H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, é improvável que seja responsável por mais que 10% do metabolismo do álcool etílico. As enzimas oxidases de funções mistas como P450IIE1 (CYP2E1) são o principal componente do sistema oxidante hepático microssomal do etanol (SOHME). Os níveis de CYP2E1 podem ser aumentados em bebedores crônicos. A enzima ADH converte álcool a acetaldeído, o qual pode ser convertido em acetato pela ação da acetaldeído desidrogenase (ALDH) (KLAESSEN, 2001; WOODWARD, 2003).

A porcentagem de álcool metabolizado por ADH é relativamente constante quando a enzima está saturada em níveis relativamente baixos de álcool no sangue e, portanto, apresenta a cinética zero (valor constante oxidado por unidade de tempo) (WOODWARD, 2003).

#### 1.1.2 Ação farmacológica

#### 1.1.2.1 Sistema nervoso central

O álcool atua profundamente como depressor do sistema nervoso central (SNC). Com níveis de álcool no sangue mais elevados, ele atua como um sedativohipnótico, embora a qualidade de sono, muitas vezes, seja reduzida após a ingestão de álcool. O álcool potencializa as propriedades hipnóticas-sedativas dos benzodiazepínicos e barbituratos, provavelmente refletindo um mecanismo de ação comum para estas substâncias.

Dano cerebral fetal: Teratógenos como o álcool, causam danos primários durante a vida pré-natal; este pode ser amplificado por uma cascata de efeitos secundários após o nascimento (WOODWARD, 2003).

A exposição neurotóxica de populações de células neuronais durante a fase de desenvolvimento estrutural do cérebro pode resultar em lesões localizadas. A principal consequência é a microcefalia ou uma redução permanente no número total de células no cérebro maduro. Na vida pós-natal, além do dano cerebral contínuo, durante a fase de organização neurológica, existe tambem uma redução primária da densidade das células nervosas o que reduz a rede normal de possíveis transmissões sinápticas e a ligação a outros domínios, dependentes do alvo, do cérebro (WOODWARD, 2003).

Além disso, a concentração do neurotransmissor nos locais anormais de transmissão sináptica pode iniciar uma cascata de efeitos secundários. No transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH), por exemplo, os níveis de dopamina subliminares são responsáveis por uma cascata de efeitos múltiplos e heterogêneos secundários, in fine-tuning, de funções espalhadas por todo o córtex

cerebral. Assim, como um resultado do crescimento cerebral primário pré-natal, um ciclo de auto-reforço da lesão secundária se inicia em um ou mais sistemas-alvo dependentes, controlando a cognição, comportamento, sensação somática, visão e movimento, em crianças (POLLARD, 2007).

### 1.1.2.2 Sistema Digestivo

Ingestão aguda do álcool usualmente produz uma sensação de calor e o fluxo de sangue cutâneo aumenta, seguido por uma redução da temperatura do corpo. Também acontece aumento das secreções gástricas, dependendo da quantidade de álcool ingerida, por exemplo, altas concentrações g/L (>20 %) inibem a produção de secreções.

Uma continua ingestão de altas concentrações de álcool pode levar a gastrites erosivas, o que pode limitar a absorção de nutrientes e vitaminas. Estas deficiências nutricionais são associadas com desordens mentais e neurológicas severas, incluindo dano cerebral, perda de memória, distúrbios do sono e psicoses de Wernicke e Korsakoff.

#### 1.1.3 Farmacologia comportamental:

As substâncias que causam dependência, por definição, geram ações que promovem ainda mais o comportamento da procura da droga.

Estudos em humanos e animais têm sugerido que os substratos bioquímicos para as propriedades de reforço de álcool e de outras drogas de abuso envolvem vias neuronais distintas no cérebro, incluindo as projeções dopaminérgicas para os domínios mesolímbicos do cérebro anterior. Esses neurônios são originários da área tegmental ventral (VTA) e estão projetados para áreas distintas do cérebro anterior,

incluindo o núcleo accumbens, tubérculo olfatório, córtex frontal, amígdala e área septal. Estas áreas do córtex, acredita-se, estão envolvidas em traduzir a emoção na ação através da ativação das vias motoras. Assim, elas podem ser importantes para iniciar e sustentar o comportamento de procura de droga.

#### 1.1.4 Mecanismo de ação

Dependendo do estágio do desenvolvimento embriológico, pode-se especular quais são os mecanismos pelos quais o etanol pode danificar o sistema nervoso central. No momento da concepção e durante as primeiras semanas do desenvolvimento pré-natal, o etanol pode agir como um agente citotóxico ou mutagênico, causando aberrações por morte celular ou cromossômica. Estas evidências provêm de experimentos que examinaram os efeitos do etanol em cultura de tecido embrionário e da alta taxa de aborto espontâneo em mulheres alcoolistas (NICCOLS, 2007).

Dois fatores confirmam a participação do álcool na gênese das alterações: a) a capacidade do álcool de provocar lesão em praticamente todos os sistemas do organismo; b) a passagem livre do álcool pela barreira placentária (SCIVOLETTO; MALBERGIER, 2003).

Durante a gravidez, a placenta desempenha um papel central na manutenção da gravidez afetando o desenvolvimento fetal. Até que o sistema endócrino fetal torne-se funcional, a placenta age como um sistema endócrino em miniatura, produzindo hormônios como a gonadotrofina coriônica humana, a tireotropina coriônica, e a corticotropina coriônica. Através de sua produção hormonal, a placenta regula o crescimento fetal, e a maturação e utilização de nutrientes. Além disso, a placenta age como uma barreira parcial, ou filtro, entre o sangue materno e

fetal, permitindo a transferência de alguns hormônios maternos e outras substâncias (por exemplo, álcool) a partir da mãe para o feto, e evitando a transferência de outros. Como resultado destas funções da placenta, o feto é exposto a três conjuntos de hormônios: (1) aqueles secretados pela placenta, (2) aqueles produzido pela mãe, e (3) secreções hormonais próprias do feto. Alterações no funcionamento da placenta, incluindo a produção e atividade de hormônios placentários, podem afetar o crescimento e o desenvolvimento fetal e aumentar o risco de aborto espontâneo (GABRIEL, et al. 1998).

O álcool ingerido pela gestante atravessa a barreira placentária, devido ao seu pequeno tamanho e as suas propriedades de dissociação e polarização do álcool, que é solúvel em água e em solventes não polares, o que faz que possa atravessar as membranas celulares e difundir-se em todos os líquidos e tecidos do organismo (RIBEIRO MARQUEZ; GONZALEZ, 1995). Esta condição causa que o feto obtenha concentrações iguais à da mãe e aumente a vaso constriçção no cordão umbilical e na placenta, isto provoca um incremento na duração da exposição fetal ao álcool devido à redução do fluxo sanguíneo (FIORENTIN; VARGAS, 2006; GRINFELD, 2009). A difusão passiva do álcool acontece por gradiente de concentração de tal forma que após a ingestão do álcool os níveis maternos e fetais são parecidos até que todo o etanol seja metabolizado (RIBEIRO MARQUEZ; GONZALEZ, 1995).

A exposição fetal ao álcool é mas prolongada, já que as mulheres absorvem o álcool muito mais rápido que o homem, porque elas têm menos quantidades da enzima álcool desidrogenase em seu estômago; isto provoca que as mulheres metabolizem o álcool mais lentamente que os homens mantendo-o por mais tempo no fluxo sanguíneo. Deste modo a metabolização do álcool é mais lenta, fazendo com que o líquido amniótico permaneça impregnado de álcool não modificado (etanol) e acetaldeído (metabólito do etanol) (FREIRE; MACHADO; MELO, 2005; DA SILVA; RUIZ, 2010). Essa situação é agravada devido a que o feto não possui a quantidade de enzimas em quantidades necessárias para biodegradar tais substâncias (FIORENTIN; VARGAS, 2006). Deste modo, aumenta a exposição do feto e favorece a incidência da SFA (Síndrome Fetal do Álcool).

Além disso, os efeitos do álcool durante a gravidez variam de acordo com diversos fatores como: momento da exposição, níveis de alcoolemia atingidos, padrão de consumo, susceptibilidade de espécie e individual, entre outros (BRITO et al., 2006).

Os efeitos pré-natais do álcool variam também com os níveis de alcoolemia atingidos, tendo efeitos mais nefastos os níveis mais elevados. O padrão de consumo é muito importante, sendo o consumo episódico excessivo importante e com supostamente piores consequências para o desenvolvimento fetal (BRITO et al., 2006).

#### 2 Transtornos do espectro alcoólico fetal (TEAF)

O uso do álcool é reconhecido como um importante problema de saúde pública, tornando-se muito grave quando acontece em mulheres gestantes e lactantes. O álcool por ser de fácil obtenção era consumido desde os tempos primitivos (BERNARDEZ DA SILVA; RUIZ SCHLICHTING, 2010) e foi a primeira droga relacionada a distúrbios fetais, abortamentos e distúrbios em filhos de mulheres alcoolistas relatados durante o século XVIII e XIX (SILVA, 2000).

Embora haja evidências na antiguidade sobre o conhecimento a respeito do risco de consumir álcool (JONES; SMITH, 1973; ABEL, 1999; CALHOUN; WARREN, 2007), só em 1700 que médicos ligados ao Royal College of Physicians (Inglaterra) ou à Academia de Medicina de Paris (França) iniciaram pesquisas nessa área. No entanto, só no século XX é que se iniciaram os alertas e chamadas de atenção para a frequência de esterilidade, abortos e mortalidade infantil das mulheres alcoolistas (CALHOUN; WARREN, 2007).

Ainda no século XIX, na década de 1840, considerava-se que o desenvolvimento de anormalidades de filhos de mães alcoolistas era inerente ao ambiente. Nas duas décadas seguintes, autores franceses descreveram sintomas típicos da síndrome fetal do álcool (SFA), mas não foram considerados importantes e foram deixados de lado (NICCOLS, 2007). Só em 1899 é que surgem estudos relacionados ao risco de beber durante a gestação e se mostram cifras do aumento das taxas de mortalidade infantil em crianças de mulheres alcoolistas (SULLIVAN, 1899).

Embora já houvesse registros de nascimentos de crianças doentes, só no ano 1968 que Lemoine, um pediatra francês, publicou um artigo intitulado "O encontro de anomalias observadas em filhos de mulheres alcoolistas" onde diagnostica 127 casos de crianças com características típicas da exposição pré-natal ao álcool, porém a maioria dos pediatras mostrou pouco interesse e não levaram muito a sério (LEMOINE, 1968).

De fato, foi apenas em 1973, que pediatras "dismorfologistas", Keneth L. Jones e David W. Smith, juntamente com os seus colegas do Harborview Hospital em Seattle, Washington, identificaram um conjunto de malformações específicas, observáveis em filhos de mães alcoolistas, que se caracterizavam por retardo de crescimento pré e pós-natal, alterações faciais (nos olhos, nariz, maxilar, lábio) e disfunções do sistema nervoso central (SNC). Este conjunto de defeitos congênitos foi considerado como resultante da exposição intraútero ao álcool e foi proposto por Jones e Smith como uma entidade clínica denominada Síndrome Fetal do Álcool (SFA) (JONES, et al, 1973; BERNARDEZ; RUIZ SCHLICHTING, 2010; CALHOUN; WARREN, 2007; NICCOLS, 2007; TAYLOR et al., 2006).

Ainda que conhecessem os danos que causava o álcool para o feto, o uso do álcool só começou a ser mais discutido no meio médico a partir da década de 1980. Desde então, desenvolveu-se uma melhor conceituação da doença, criando-se programas para detectar mulheres dependentes do álcool, enfatizando estudos neurológicos, chegando até o momento atual de se colocar uma nova categoria de classificação diagnóstica chamada fetal alcohol spectrum disorders (FASD), caracterizada por anormalidades do neurodesenvolvimento do SNC ou padrões complexos do comportamento ou déficits cognitivos (MANN, 2000; TAYLOR et al., 2006). A versão Beta da 11ª edição da Classificação Internacional de Doenças já inclui o diagnóstico "Neurodevelopmental disorder due to prenatal alcohol exposure" (Transtorno do neurodesenvolvimento devido à exposição pré-natal ao álcool) (conforme: http://id.who.int/icd/entity/640391183).

#### 2.1 Sistemas diagnósticos atuais

Atualmente existem quatro diferentes sistemas diagnósticos propostos para FASD. Estes são: Diagnóstico IOM (Institute of Medicine), Diagnóstico CDC (Centers for Disease Control) (ver tabela 1), Código de diagnóstico de quatro dígitos e Canadian FASD Guidelines. Os critérios de diagnóstico do IOM são um guia para identificação e cuidados de crianças com exposicao fetal ao álcool: um guia para atenção básica que inclui uma ferramenta de triagem de FAS para crianças de 5 anos de idade ou menos segundo os critérios de diagnóstico do Institute de Medicine

(IOM). Este guia ajuda aos provedores a identificar as crianças com retardo do crescimento, anomalias faciais, déficits de desenvolvimento, e exposição pré-natal ao álcool que necessitam de avaliação diagnóstica com acompanhamento. No entanto, a ferramenta não foi validada e é recomendado neste momento apenas para uso clínico.(CHUDLEY et al. 2005).O código de diagnóstico de quatro dígitos é um código de diagnóstico que reflete a magnitude da expressão das quatro características principais de diagnóstico de SFA, na seguinte ordem: (1) a deficiência de crescimento, (2) SFA fenótipo facial, (3) as anormalidades do sistema nervoso central, e (4) exposição pré-natal ao álcool. Existem 256 possíveis códigos de diagnóstico de quatro dígitos, variando de 1111 a 4444, cada um dos códigos de diagnóstico de quatro dígitos cai em uma das 22 categorias de diagnóstico clínico únicas. Oito das 22 categorias diagnósticas podem repartir-se sob a designação de SFA. O código de quatro dígitos 3444, que é inserido na grade é um dos códigos que correspondem a critérios diagnósticos para FAS (ASTLEY, S. J. 2006).

Os critérios de diagnóstico oriundos do "Canadian FASD Guidelines", apresentam diretrizes que foram organizadas em sete categorias: triagem e encaminhamento: exame físico diagnóstico diferencial: avaliação neurocomportamental; e tratamento e acompanhamento; história de uso de álcool materno durante a gravidez; critérios diagnósticos para a síndrome fetal do álcool (SFA), FAS parcial e distúrbio neurológico do álcool; e se aproxima de uma harmonização dos critérios do Instituto de Medicinae com o sistema de 4 dígitos de código de diagnóstico. O diagnóstico requer uma história abrangente e avaliações físicas e neurocomportamentais; é necesario uma abordagem multidisciplinar. Estas são as primeiras diretrizes canadenses para o diagnóstico de SFA e suas deficiências relacionadas, desenvolvido por uma ampla consulta entre os especialistas em diagnósticos (HOYME, et al. 2005).

2.1.1 Diagnósticos relacionados à Síndrome Fetal do Álcool na CID-10

São os seguintes:

P00-P04 Feto e recém-nascido afetados por fatores maternos e por complicações da gravidez, do trabalho de parto e do parto

**P04.3** Feto e recém-nascido afetados pelo uso de álcool pela mãe Exclui:

Síndrome fetal alcoólico (Q86.0)

Q86 Síndromes com malformações congênitas devidas a causas exógenas conhecidas, não classificadas em outra parte

#### Exclui:

- efeitos não-teratogênicos de substâncias transmitidas por via transplacentária ou pelo leite materno (P04.-)
- hipotireoidismo ligado à carência de iodo (E00-E02)

**Q 86.0** Sindrome fetal alcoólico (dismórfico)

Tabela 1. Critérios diagnósticos para FASD segundo CDC

Dismorfia facial	Baseado em exposições ind três caracte	lividuais e	todas as	Filtro liso (University of Washington Guia Lip-Philtrum classificação 4 ou 5) Linha fina do lábio superior (University of Washington Guia Lip-Philtrum classificação 4 ou 5). Fissuras palpebrais pequenas (igual ou abaixo do percentil 10).		
Problemas de crescimento	Confirmação de altura ou peso pré-natal ou pós-natal, ou ambos, igual ou inferior ao percentil 10, documentada em qualquer ponto no tempo (ajustado para idade, sexo, idade gestacional e raça ou etnia).					
	1. Estrutural	O perímetro cefálico (OFC) igual ou inferior ao percentil 10 ajustado para idade e sexo.  Anormalidades cerebrais significantes clinicament observáveis através de imagens.  Problemas neurológicos não devidos a um insulto pós				clinicamente
	2. Neurológico	dos limites normais.				
Anormalida-	3. Funcional  Desempenho substancialmente abaixo do esperado para idade, que afeta a escolaridade, ou circunstâncias outras, como evidenciado por:					
des do Sistema Nervoso Central	Déficits cognitivos ou intelectuais globais que representam vários domínios de déficit (ou atrasos significativos de desenvolvimento em crianças menores) com desempenho abaixo do terceiro percentil (2 desvios-padrão abaixo da média para o teste padronizado), ou funcional déficits abaixo do percentil 16 (um desvio padrão abaixo da média para testes padronizados) em pelo menos três dos seguintes domínios:					
	a. I Déficits ou I discrepâncias f cognitivas ou I	b. Déficits do funciona- mento executivo	c. Atraso do funciona- mento motor	d. Problemas de atenção ou hiperativi- dade	e. Habilidades sociais	f. outros, como problemas sensoriais, problemas da linguagem pragmática, déficits de memória, etc
Exposição maternal ao	Exposição pré-natal ao álcool confirmada					
álcool	Evnaciaão prá potal ao álagol decembracida					
Critérios para Diagnóstico FAS		1.Documentação de três anomalias faciais (filtro suave, labio fino e fendas palpebrais pequenas);				
		2.Documentação de déficits de crescimento				
	3.Documentação de anormalidades do CNS					

Adaptado de: BERTRAND, J.; FLOYD, R.L.; WEBER, M.K (2005).

O consumo do álcool na gestação está relacionado, de maneira dosedependente, com redução do crescimento fetal, anomalias cognitivas, aumento da morbidade e da mortalidade, desenvolvimento da Síndrome Fetal do Álcool (SFA) e outros transtornos tardios do desenvolvimento e comportamento infantil (formas incompletas da SFA, usualmente conhecidas como Efeitos Fetais do Álcool - EFA) (KODITUWAKKU, 2007).

Nos Estados Unidos, por exemplo, estima-se que a SFA acomete 1000-6000 casos entre os mais de quatro milhões de nascimentos registrados todo o ano, levando a um custo adicional ao sistema de saúde acima de US\$ 800.000 por criança afetada pela SFA (BLOSS, 1994). Estima-se que a SFA acomete cerca de 0,02 a 0,2 % das crianças norte-americanas e de outros países do ocidente e calcula-se que 4-10% dos recém-nascidos que vem ao mundo, são filhos de mães dependentes de álcool (AMERICAN, 2000; MAY; GOSSAGE, 2001; GEMMA, VICHI; TESTAI, 2007).

No Brasil, as estimativas mencionadas na literatura oscilam entre 0,4 a 3,1 casos por 100 nascimentos (CORRÊA; FERREIRA; LEMONICA, 2000). Em um estudo para avaliar a freguência dos efeitos do álcool no feto de gestantes de uma maternidade pública da cidade de São Paulo, de 1964 recém-nascidos participantes da pesquisa, 76 apresentaram o espectro de desordens fetais alcoólicas (Fetal alcohol spectrum disorders-FASD), que incluem alterações físicas, mentais, comportamentais e/ou de aprendizado. Dessas 76 crianças, três tiveram o diagnóstico da SFA, seis poderiam apresentar os defeitos congênitos relacionados ao álcool (Alcohol-related birth defects- ARBD), e 67 poderiam apresentar desordens de neurodesenvolvimento relacionadas ao álcool (Alcohol-related neurodevelopmental disorders - ARND) (MESQUITA; SEGRE, 2009).

Uma das razões para o problema ser tão recorrente é ainda a falta de preparo e conhecimento da população sobre a teratogenia do etanol (SOUZA; RODRIGUEZ; CIAVAGLIA, 1996; BUNDUKI et al. 1996)

Nos países da América Latina, o consumo de bebidas alcoólicas pelo sexo feminino vem aumentando dramaticamente nos últimos 10-20 anos. Somente a partir de 1990 é que estudos sobre alcoolismo feminino passaram a ser frequentes nas publicações científicas (MANN, 2000).

Embora a prevalência do alcoolismo seja significativamente menor nas mulheres (5,7 %) que nos homens, mesmo assim, o consumo abusivo e a dependência alcoólica causam consequências negativas sobre a saúde física, psíquica e social da mulher (ZILBERMAN; TAVARES; ANDRADE, 2003; ZIBELMAN; BLUME, 2005). Estas prevalências podem observar-se em um estudo feito em São Paulo por Kaup; Merighi; Tsunechiro (2001) onde 17,8% de 445 mulheres no puerpério relataram ter consumido álcool durante a gestação. Outro estudo feito por Moraes e Reichenheim (2007) no Rio de Janeiro, identificou 21,1% de consumo nocivo de álcool na gestação em 537 mulheres no puerpério, através de instrumentos de rastreamento, como o T-ACE e o CAGE. Além desses estudos, o estudo de Mesquita e Segre (2009) que avaliou 1964 recém-nascidos, identificou três crianças com a síndrome completa (1,52/1000), e 76 crianças (38,69/1000) com alterações do espectro de exposição fetal ao álcool, identificou 33,29% das mães que consumiram álcool na gestação. O consumo semanal de álcool variou entre 21,2% (primeiro trimestre), 17,5% (segundo trimestre) e 17,1% no terceiro trimestre (MESQUITA; SEGRE, 2009).

Em Ribeirão Preto, Pinheiro, Laprega e Furtado (2005), conduziram um estudo observacional, transversal, denominado GESTA-ÁLCOOL, com 449

gestantes de uma maternidade pública, onde se investigou a relação entre consumo de álcool e problemas emocionais em gestantes e encontraram 41 gestantes (9,1%) com diagnósticos CID-10 de problemas relacionados ao consumo de álcool, das quais 27 (6,0%) apresentaram diagnóstico de uso nocivo e 14 (3,1%) síndrome de dependência ao álcool. Essas gestantes apresentaram maior intensidade de problemas emocionais, e uma média maior de pontuação nas subescalas de ansiedade, depressão e álcool do QMPA, quando comparadas às gestantes que não tiveram diagnóstico. Foi verificado ainda, em outro artigo do mesmo projeto, o padrão de consumo de álcool, por um questionário estruturado; o consumo de álcool de risco, através do instrumento T-ACE. Nesse estudo, verificou-se uma prevalência de consumo de álcool de risco de 22,1% entre as gestantes que foram detectadas como positivas no rastreamento do T-ACE (FABBRI; FURTADO; LAPREGA, 2007).

Isto é um fator de grande impacto sobre a saúde materno-infantil e mostra a relevância do ponto de vista da prevenção de problemas relacionados ao uso de álcool na mulher para a proteção do feto e complicações do desenvolvimento infantil. As crianças nascidas em 2001, filhos das 449 mães do projeto GESTA ÁLCOOL, compõem o estudo INFANTO ÁLCOOL, de onde se origina a presente tese, cujo objetivo é investigar as relações entre os fatores biológicos de risco para o embrião durante a gestação, para o processo de desenvolvimento infantil e para a ocorrência de psicopatologia, pelo seguimento longitudinal dos filhos.

O trabalho de Kaup, Merighi e Tsunechiro (2001) mostrou dados muito similares aos obtidos por Fabbri, Furtado e Laprega (2007). A pesquisa incluiu 445 gestantes, em que 17,8% relataram ter consumido bebidas alcoólicas durante toda a gravidez e 15,9% até a confirmação da mesma que ocorreu em média com 9,6 semanas. A maior parte das gestações era espontânea (não planejada).

O álcool é muito utilizado pela sociedade como uma bebida de consumo regular, ademais há crenças populares infundadas, de que o álcool pode melhorar a amamentação, que suplementa calorias e fluidos. Tudo isto expõe a gestante a um alto risco de se alcoolizar em algum momento da gestação, principalmente no início do período gestacional (FABBRI; FURTADO; LAPREGA, 2007).

A assistência pré-natal no Brasil ainda carece do desenvolvimento de rotinas e instrumentos confiáveis que auxiliem os profissionais de saúde nas ações de prevenção e diagnóstico precoce para esses problemas relacionados ao consumo de álcool, já que ainda não tem elucidado a quantidade definida que possa ocasionar a SFA, e por isso recomenda-se a abstinência total durante toda a gravidez, já que não existe um valor mínimo definido do uso de álcool durante a gestação (BRITO et al., 2006; BERNARDES DA SILVA; RUIZ SCHLICHTING, 2010). Estudos comprovam que o consumo de 20 gramas de álcool já é suficiente para provocar supressão da respiração e dos movimentos fetais observados por meio de ultrassonografia (DE MELO FREIRE et al., 2005; BERNARDEZ DA SILVA; RUIZ SCHLICHTING, 2010).

Os EFA (efeitos fetais do álcool) durante a gravidez variam de acordo com diversos fatores como: tempo da exposição, níveis de alcoolemia atingidos, padrão de consumo, susceptibilidade de espécie e individual, entre outros (GABRIEL, et al.1998).

Furtado e Fabbri em 1999, fazem referência aos termos EFA e ARND, e os consideram como pontos diferentes de uma frequência de déficit clínicos. Além disso, realçam que, estudos comparativos entre grupos submetidos a exames físicos, psicológicos e aplicação da Griffiths Mental Developmental Scale em crianças entre um e meio e sete anos, assim como a aplicação da Wechsler

Inteligence Scale em crianças de sete e nove anos, apresentaram evidências de dificuldades de concentração, fácil distração com curto período de tempo para manter a atenção fixa, graves distúrbios de percepção visual, diminuição da captação de informações, hiperatividade, decréscimo do desempenho intelectual e instabilidade emocional.

Os indivíduos com seguelas da exposição fetal ao álcool apresentam também todo um conjunto de características comportamentais que fazem deles um "grande custo para a sociedade" (calcula-se, nos EUA, que os cuidados para cada indivíduo destes, no decurso total da sua vida, custará cerca de quatro milhões de dólares) (ZHANG; SLIWOSKA; WEINBERG, 2005; NGUYEN; COPENS; RILEY, 2011). Além disso, os indivíduos com FASD sofrem de muitos problemas físicos, mentais, comportamentais e educacionais que afetam sua vida diária e têm implicações ao longo da vida. Em consequência, segundo Streissguth et al. (2004); Murkherjee, Hollin e Turk (2006) e Weinberg et al. (2008) as pessoas com transtornos da síndrome fetal do álcool (FASD) são vulneráveis a eventos de vida. Noventa por cento têm uma grande variedade de alterações comportamentais e cognitivas, assim como alguma forma de transtorno mental diagnosticável. Estes podem ser tão diversos como TDAH (Transtorno de déficit da atenção e hiperatividade), problemas sociais em ambientes escolares e de trabalho, deficiência comunicativa, transtorno de personalidade, esquizofrenia, e depressão. Cinquenta por cento teve alguma experiência escolar perturbadora, alguma forma de confinamento em instituições de saúde mental, situações que envolvem justiça criminal, prisão, abuso de drogas e cinquenta por cento possuem algumas forma de comportamento sexualmente inapropriado e dificuldades da vida particular (WEINBERG, et al.2008). Black, (2014), conforme informação verbal (em conferência proferida durante o IV Simpósio

de Atualização em Saúde Mental e Psiquiatria da Infância e Adolescência do HC-FMRP-USP, em 06/09/2014), afirma que "...alguns casais que têm adotado crianças com FASD, relatam que estas crianças incitariam a conflitos e violência na família e por sua causa muitos casais se divorciariam..."; além disto, recomenda que "...pais que têm crianças com FASD devem estar sempre vigilantes, e não deixar que estas crianças que tem uma sexualidade precoce chequem a molestar sexualmente a crianças mais jovens.

Muitos destes transtornos podem ser relacionados com: sua incapacidade para controlar e manter o comportamento, hiperresponsividade a estressores, déficits na inibição da resposta, e os déficits na adequada utilização de estímulos ambientais, os quais são atribuíveis a danos causados a suas habilidades das funções executivas combinado com dificuldades de linguagem receptiva e incapacidade de consolidar memórias por causa de danos temporais no hipocampo. Além disso, estudos fisiológicos têm relatado alterações na função hormonal e anormalidades imunológicas. Esses déficits podem prejudicar a capacidade do organismo em seu ambiente (por exemplo, para reconhecer e agir de acordo com estímulos significativos, para inibir as respostas a estímulos irrelevantes para adaptar-se a novas condições ambientais) (WEINBERG, et al.2008).

Franklin et al. (2008), chegaram a resultados que demonstram a correlação entre problemas de comportamento e prejuízos no processamento sensorial em crianças de 5 a 10 anos que preenchem critérios para transtornos do espectro fetal do álcool. Crianças com altos níveis de exposição ao álcool durante a gestação apresentam mais sintomas psiquiátricos externalizáveis (PALEY et al., 2005).

Diferenças de sexo ocorrem nas prevalências dos transtornos mentais em populações FASD: as mulheres têm taxas mais altas de depressão (50%) e ansiedade (50%) do que os homens (40% e 0%), respectivamente. Estes dados indicam que nessas populações a depressão em mulheres é até três vezes mais prevalente do que em homens (HELLEMANS et al., 2008). Além disso, deficiências secundárias são frequentemente associadas com FASD em crianças e adultos. Essas deficiências incluem uma elevada incidência de problemas de saúde mental, como a depressão e a ansiedade constituindo uma grande proporção destes problemas (WEINBERG, et al., 2008). Acredita-se que estes problemas podem ser o resultado do dano no neurodesenvolvimento que o álcool causa ao feto causando alterações no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e danos na função do eixo hipotálamo-hipófise-tireoidal (HPT) (RAMADOSS et al., 2008).

#### 3 Efeitos no eixo HPA da exposição gestacional ao etanol

A hiperatividade do HPA é mais frequentemente observada durante um episódio depressivo maior e pode ser manifestada de várias maneiras, o que sugere o HPA aumentado e déficits nos mecanismos normais de regulação da hipófisehipotálamo (HELLEMANS et al., 2008). Em estudos feitos com animais expostos ao álcool no período pré-natal foram observadas, hiperatividade e desregulação do eixo HPA. Também foram relatadas anormalidades fisiológicas, tais como a alteração da função hormonal e imunológica, bem como uma ampla gama de alterações cognitivas e comportamentais, incluindo hiperatividade, hiperresponsividade aos estímulos estressores, déficits na inibição da resposta, e os déficits na utilização adequada de estímulos ambientais (WEINBERG et al., 2008). Estas descobertas podem sugerir uma relação com as anormalidades cognitivas e comportamentais observadas em humanos especificamente em crianças com FASD.

Na literatura existem poucos trabalhos em humanos, relacionados ao álcool, mas os que existem afirmam que tanto a mãe e o feto, expostos ao álcool podem ser prejudicados no funcionamentodo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, que regula a resposta do corpo ao estresse, o eixo hipotalâmico-hipófise-gonadal, que controla as funções reprodutivas, o eixo hipotálamo-hipófise-tireóide, que regula o metabolismo de quase todos os tecidos. Além disso, o álcool pode interferir com as atividades do hormônio de crescimento semelhante à insulina e fatores de crescimento que influenciam no crescimento da criança (GABRIEL, et al., 1998).

O etanol atua como um estressor materno causando a ativação do eixo HPA levando a elevações do fator de liberação da corticotropina, hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) no plasma e nas concentrações de glicocorticóides e cortisol, em ovelhas e humanos, e de corticosterona no rato. Estresse pré-natal pode permanentemente programar mudanças neuroendócrinas e comportamentais na vida pós-natal. Em particular a degeneração neuronal no hipocampo e diminuição do peso do cérebro pode ser induzida na descendência por administração materna de pequenas doses repetidas de glicocorticóides sintéticos durante a gestação (ZHANG; SLIWOSKA; WEINBERG, 2005).

A hipótese que o cortisol pode causar mudanças comportamentais e neuroendócrinas foi investigada por Kanitz, Otten e Tuchscherer (2006), que observaram que níveis elevados de cortisol materno desempenham um papel crucial como um fator de programação durante o desenvolvimento pré-natal. Ademais, observaram que o cortisol materno aumentou no eixo HPA e nos sistemas neurotransmissores centrais da prole. A influência do cortisol materno no meio e final da gestação afeta o crescimento do eixo HPA e os sistemas de neurotransmissores no cérebro da prole de uma forma específica para cada sexo, já que observaram

maior aumento no plasma da CBG (corticosteróide globulina) na prole masculina do que na feminina.

Estudos feitos em humanos sugerem que a ingestão de álcool está associada a um eixo hipotálamo-hipófise-adrenal ativado por um aumento do fator de corticotropina (CRF) no sistema nervoso central (SNC) e os níveis de cortisol plasmáticos subsequentemente elevados. Os efeitos agudos parecem ocorrer tardiamente, após a ingestão e/ou principalmente após doses mais elevadas (1,0-1,75 g/kg) em homens e mulheres, sugerindo uma ligação com a "ressaca" ou abstinência induzida por estresse (SARKOLA et al., 1999).

Adicionalmente, outros estudos demonstraram que uma maior exposição fetal ao álcool estava relacionada a uma maior ativação dos sistemas biológicos de resposta ao estresse. Seus achados sugerem que a exposição fetal ao álcool afeta o desenvolvimento destes sistemas levando à ativação do eixo límbico-hipotálamohipófise-adrenal e sistemas autonômicos como também a efeitos negativos no funcionamento cognitivo, emocional e social que, por sua vez, são achados comuns em indivíduos expostos ao álcool na gestação (HALEY; HANDMAKER; LOWE, 2006).

Kim et al. (1999), observaram efeitos diferenciais de exposição pré-natal a etanol na capacidade de resposta dos descendentes do sexo masculino e feminino sobre o HPA, e sugerem que os machos podem ser mais vulneráveis para os efeitos do estresse do que as mulheres. No sexo masculino observa-se aumento tanto em CORT (Cortisol) e ACTH, enquanto que nas fêmeas só se observa aumento nos níveis de ACTH em comparação com controles. Apesar do ACTH estimular a liberação de CORT diretamente, alterações nos níveis de ACTH e CORT não são sempre diretamente proporcionais.

Um estudo feito por Ramsay et al. (1996) mostrou que crianças expostas ao álcool e/ou cigarros durante a gravidez apresentaram maiores níveis de cortisol basal aos dois meses, com uma tendência para aumento dos níveis basais aos seis meses. Também foi observado que aos dois meses de idade, crianças com exposição pré-natal ao álcool e cigarros, mostraram hiperreatividade do sistema adrenocortical ao estresse, porém este efeito não se apresentou aos seis meses de idade.

Jacobson et al. (1999), mostraram que tanto as usuárias de álcool de alto risco quanto as moderadas, ambas com baixo nível socioeconômico e consumo associado com pós-estresse, não apresentaram aumento basal nas concentrações sanguíneas de cortisol em crianças de 13 meses de idade. É provável que isto se deva a uma adaptação da glândula adrenocortical, como resposta ao estresse nesta idade. Além disso, Haley et al. (2006) constataram que meninos de cinco a seis meses de idade expostos ao álcool durante o período fetal, apresentaram maiores alterações de cortisol do que as meninas, indicando que as diferenças sexuais ocorrem em crianças humanas, e podem ocorrer mesmo antes da puberdade (HELLEMANS et al., 2008; WEINBERG et al., 2008).

Pesquisas substanciais, em animais, mostraram que a exposição pré-natal ao álcool tornaram-os hipersensíveis aos fatores de estresse e às drogas tais como etanol e morfina. Ademais, a exposição pré-natal ao álcool alterou o desenvolvimento do eixo L-HPA (Eixo límbico hipofisario adrenal), dando como consequência a recuperação lenta de hormônios do estresse em ratos (IQBAL et al., 2005), e macacos (SCHNEIDER et al., 2004; WEINBERG, 2008). Também se observou que a administração do etanol na mãe conduz a uma concentração de cortisol materna excessivamente maior que pode ter impacto negativo no

desenvolvimento cerebral do feto, levando a déficits persistentes na regulação pósnatal de glicocorticoides e sinalização do glutamato no hipocampo adulto (IQBAL et al., 2005).

Lee et al. (1990) observaram resultados interessantes em ratos onde a segunda semana de gestação corresponde ao tempo de desenvolvimento máximo do eixo HPA fetal, assim como o tempo durante o qual o álcool altera a atividade do eixo HPA da prole, que também corresponde ao período mais perceptível, durante o qual, o álcool induz mudanças bioquímicas e neurológicas.

A administração de álcool tem uma influência significativa quando é exposto conjuntamente ao estresse, já que a exposição de álcool durante a primeira semana ou terceira de gestação, altera a resposta hipotálamo-pituitária-adrenal e se observa um aumento significativo no CRF (biossíntese e expressão), que pode ser em parte consequência de elevados níveis do corticosterona circulante (LEE et al., 1990).

Um grande número de estudos relata que estímulos como o estresse, a exposição ao EtOH, ou alterações no milieu glicocorticóide, alteram os níveis de mRNA de CRF no hipotálamo em ratos machos adultos. Observou-se que filhotes nascidos de mães expostas a álcool ou ao estresse têm uma liberação anormal de ACTH e CORT em resposta a uma variedade de estímulos, sugerindo a possibilidade que a descendência pode apresentar alterações patológicas na biossíntese de CRF no hipotálamo (LEE et al., 1990). Estes dados são confirmados por Vásquez (1998) que relata que uma maior exposição a hormônios de estresse pode alterar o desenvolvimento do cérebro e aumentar o risco de desenvolvimento de psicopatologia.

O termo "stress" foi proposto por Hans Selye em 1936, que o definiu como "uma resposta não específica do corpo para qualquer exigência de mudança". Selye em suas investigações, principalmente com ratos, notou que estes animais submetidos a estímulos estressores físicos e psicológicos (como um ruído forte, extremos de calor e frio ou uma frustração) exibem um conjunto de resultados recorrentes fisiológicos e patológicos: ulcerações de estômago, comprometimento imunológico e alteração fisiológica, hipertrofia da glândula suprarrenal, e atrofia dos órgãos linfáticos (SELYE, 1950; GUILLIAMS, 2000; JOCA et al., 2003).

Há um interesse crescente no papel do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal nas desordens neuropsiquiátricas (KARIYAWASAM; ZAW; HANDLEY, 2002). O sistema HPA (Eixo hipotálamo-hipófise adrenal) tem sido objeto de muita pesquisa no campo da psiconeuroendocrinología, desde que foi reconhecido que o hipercortisolismo é uma consequência do estresse e um acompanhante frequente da depressão (DEMORANVILLE; JACKSON, 1996).

O cortisol é considerado o principal indicador ou marcador de alterações fisiológicas devido a estímulos estressantes e está indicada a sua medição na suspeita de uma hiper ou hipoprodução pelo córtex da adrenal ou também em algumas doenças psiquiátricas (p. ex. transtornos afetivos). Há evidências que este eixo tenha um funcionamento subnormal em crianças com distúrbios de comportamento. A redução do cortisol salivar poderia refletir uma subexcitação, um elevado limiar para detectar estressores ou uma hipossensibilidade ao próprio eixo HPA (KARIYAWASAM; ZAW; HANDLEY, 2002; WEERTH; ZIJL; BUITELAAR, 2003).

Schneider, Moore e Kraemer (2004) encontraram em macacos, que os filhotes que tiveram exposição ao álcool, mostraram variação nos níveis do hormônio ACTH ao longo do tempo durante os episódios de estresse. Estes resultados contrastam com os apresentados com ratos, onde se encontrou que a ativação

LHPA induzida por alguns "estressores" em ratos adultos é incrementada por exposição fetal ao álcool. Além disso, observou-se que o consumo de etanol materno exerce efeitos em longo prazo sobre o hipotálamo e/ou hipófise ou sobre os processos centrais que mediam a ativação do eixo HPA na prole adulta (TAYLOR et al., 1982; WEINBERG; GALLO, 1982).

Por sua vez, Schneider et al. (2002) encontraram em uma pesquisa feita com porcas em período de gestação e expostas ao álcool e ao estresse que durante os primeiros meses de vida da prole houve uma redução da capacidade de atenção. Além disso, observou-se que macacos estressados no período pré-natal, mostraram comportamentos mais perturbados e locomoção reduzida, assim como alteração por estresse e aumento da atividade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA).

O estresse influencia o dimorfismo sexual na descendência quanto à atividade do eixo HPA. Os resultados variam dependendo da natureza do estressor, do tempo e da medida dos pontos finais hormonais. Estudos que compararam respostas de filhotes machos e fêmeas com duração curta ou estressores agudos, muitas vezes mostraram alterações maiores em mulheres do que em homens (WEINBERG et al., 2008). Além disso, tanto os descendentes do sexo masculino quanto do sexo feminino exibiram aumento das respostas de corticosterona e/ou ACTH a desafios (challenges) imunológicos tais como os relacionados à interleucina-1b ou lipopolissacárido (LPS; uma endotoxina usado para estimular a infecção ou inflamação) (WEINBERG et al., 2008).

Em ratos machos e fêmeas expostos ao controle de estresse pré-natal (EPN), estes efeitos incluem uma resposta hiperativa de HPA em longo prazo, associada com um ritmo circadiano alterado com relação à secreção de cortisol. Além disso, ratos machos expostos a EPN exibem perturbações de sono e de comportamento.

Ratos em EPN depois da exposição a um intenso evento estressor exibem uma acentuada resposta de secreção de cortisol. Ratos machos e fêmeas em EPN mostram níveis de ansiedade altos e depressão como comportamento durante a maioridade, apesar de alguns estudos sugerirem que ratos em EPN apresentem baixos níveis de ansiedade (DARNAUDÉRY; MACCARI, 2008).

Os mecanismos básicos dos efeitos de EPN na descendência permanecem desconhecidos. Entretanto, estudos prévios demonstraram que a produção de glicocorticóides maternos durante a gravidez representa um papel importante nos distúrbios do eixo HPA na descendência masculina (DARNAUDÉRY; MACCARI, 2008). Tumor adrenal ou hipofisário, produção ectópica de ACTH, cirurgia, sepse, trauma, doença de Addison e, especialmente, corticoterapia exógena são alguns dos fatores que podem interferir no eixo HPA, alterando o ritmo circadiano (SILVA; MALLOZI; FERRARI, 2007).

#### 4 Cortisol salivar em crianças em idade escolar

O cortisol é um importante biomarcador adrenal que pode ser medido na urina, soro ou saliva. Além da avaliação da função adrenocorticotrófica e monitorização terapêutica é um analito importante na pesquisa do estresse. Na rotina clínica, cortisol total do soro (CTS) é a medida padrão quando se avalia níveis de cortisol diurno ou basal (POLL et al., 2007).

Durante a última década, tem havido um aumento dramático nos estudos utilizando o cortisol salivar como um biomarcador de estresse e/ ou ritmos circadianos. A coleta da saliva minimiza algumas das dificuldades associadas com a coleta de sangue, tais como respostas ao estresse associadas com a coleta de sangue (NEU, et al. 2007).

Os primeiros ensaios de esteróides salivares foram descritos nos anos de 1959-1960, com trabalhos pioneiros que identificaram corticosteróides no fluído da parótida. No entanto, este método não ganhou aceitação na época, já que as técnicas eram pouco sensíveis, exigindo volumes de saliva impraticáveis (NICOLSON, 2007; SILVA; MALLOZI; FERRARI, 2007).

Foi muito tempo depois que se desenvolveram ensaios confiáveis para esteróides em pequenos volumes de saliva total. A partir dessa conquista, nos últimos 20 anos, houve um crescimento explosivo no número de estudos usando medições em saliva para detectar cortisol em vários níveis com uma ampla variedade de aplicações na psicologia, psiquiatria, e endocrinologia, entre outros (NICOLSON, 2007).

Alterações no plasma e na saliva dos níveis de cortisol estão intimamente sincronizadas. Após a produção de cortisol, os níveis salivares aumentam depois de um minuto e as concentrações no sangue são vistas dois a três minutos mais tarde (NICOLSON, 2007). Isto é devido a que o cortisol é uma molécula que entra por difusão passiva e outros meios independentes de transporte ativo; os níveis do cortisol na saliva não são afetados pela taxa de fluxo salivar, o que facilita a avaliação da fração livre de cortisol basal, sem necessitar de métodos de extração pela capacidade dialítica da membrana basal das glândulas salivares. Isto é importante, porque aumenta a confiabilidade técnica, independente da existência de hipoproteinemia (SILVA, 2007).

Os investigadores desenvolveram métodos para a coleta de cortisol na saliva em crianças, e técnicas de laboratório recentes têm podido detectar concentrações muito pequenas de cortisol no plasma e na saliva. Duas vantagens que o cortisol salivar tem sobre o cortisol do plasma em investigação pediátrica, são que as amostras podem ser recolhidas por meio de técnicas simples, relativamente não invasivas, livre de estresse, e que podem ser cronometrados sem depender da disponibilidade de um laboratório, na própria residência do paciente, ou por pessoas não treinadas em ambulatório com ou sem o auxilio de profissionais de cuidados da saúde. Estas amostras podem ser coletadas muitas vezes ao dia, permitindo a avaliação dinâmica da secreção de cortisol livre. Além disso, segundo uma pesquisa feita por Clements e Parker (1998) as amostras de saliva tanto congeladas, assim como as deixadas na temperatura ambiente, são estáveis ate por uma semana e podem ser transportadas ao laboratório pelo correio ou pelo portador, sem nenhuma perda da atividade do cortisol. Por causa dessas vantagens, o cortisol salivar tornou-se uma medida popular para medida do cortisol para avaliar estresse, e para pesquisa em saúde com crianças.

No entanto, a coleta e medição de cortisol salivar em crianças apresentam desafios únicos (NICOLSON, 1992; CASTRO; MOREIRA, 2003). Os trabalhos de literatura mostram a aplicabilidade da dosagem de cortisol salivar para o estudo do ritmo circadiano (SANTIAGO, JORGE; MOREIRA, 2006; LEVINE et al, 2007), das alterações da função cognitiva e da interferência do estresse sobre o eixo, desencadeado por ansiedade, depressão, síndrome do pânico e privação do sono (CASTRO; MOREIRA, 2003).

Sem embargo, os níveis de cortisol salivar são influenciados por drogas como prednisona, dexametasona e outros esteróides administrados oralmente ou por via intravenosa. Enquanto a prednisona, geralmente, possui interação com o anti-soro usado no ensaio de cortisol (produzindo valores falsamente altos), a dexametasona inibe significativamente o eixo HPA (resultando em níveis baixos de cortisol) (MACEDO; OLIVEIRA, 2006).



#### **II. OBJETIVOS**

## 1 Objetivo geral

Comparar as concentrações de cortisol salivar em crianças em idade escolar, com e sem histórico prévio de exposição intrauterina ao álcool, e sua relação com risco materno para FASD e a intensidade do uso de álcool na gestação.

## 2 Objetivos específicos

- ➤ Caracterizar a amostra em relação a variáveis sociodemográficas
- ➤ Avaliar a relação entre níveis de cortisol salivar e sexo da criança
- ▶ Investigar a relação entre o risco materno para FASD da mãe e dosagens de cortisol salivar em crianças em idade escolar.
- ➤ Avaliar a relação entre intensidade do uso de álcool na gestação e níveis de cortisol salivar das crianças.



## III. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 1 Delineamento do estudo

O estudo é transversal, com definição de grupos comparativos, utilizando dados de amostra de estudo longitudinal de uma coorte de crianças seguidas desde o nascimento, com observação atual de variáveis de desfecho em idade escolar.

Este projeto tem sua origem no projeto "GESTA-ÁLCOOL", desenvolvido entre 1999 e 2001, com 449 gestantes no último trimestre de gestação, para avaliação do consumo de álcool durante a gestação sob responsabilidade do Prof. Dr. Erikson Felipe Furtado. Prospectivamente, um segundo projeto foi delineado, onde se estabeleceu um estudo observacional longitudinal, cuja amostra foi formada por crianças em idade escolar e suas mães, como seguimento ou "follow-up" da amostra realizada entre 1999 e 2001. O projeto temático foi intitulado "CONSUMO" DE ÁLCOOL NA GESTACAO E SUA RELACAO COM DESENVOLVIMENTO, SAUDE GERAL E PSICOPATOLOGIA NOS FILHOS", sob o nome abreviado de "INFANTO-ÀLCOOL", que foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com o Processo HCRP nº 8609/2009. O "INFANTO-ÁLCOOL" incluiu a dosagem e análise de amostras de cortisol salivar, que compõem o estudo aqui apresentado. Neste projeto foram utilizadas informações sobre fatores individuais, psicossociais e biológicos colhidas na gestação e forem coletados dados atuais mediante a aplicação de instrumentos sistematizados de registro de uso atual de álcool, uso de medicamentos, eventos estressores e intercorrências médicas.

## 2 Amostra - sujeitos do estudo

Trata-se de uma amostra que foi constituída por 74 mães e seus filhos entre 11 e 12 anos de idade, recrutadas a partir da coorte do "GESTA-ÁLCOOL".

#### 3 Local do estudo

As coletas de saliva foram realizadas nas casas das crianças pelas mães. As entrevistas e medidas antropométricas foram realizadas no ambulatório do HC-FMRP-USP.

## 4 Entrevista com questionários

## 4.1 Dados colhidos na gestação

Os dados da gestação foram coletados no ano de 2001, em gestantes de uma maternidade pública da cidade de Ribeirão Preto (MATER), em seu 3º trimestre de gestação, entre as 31ª e 32ª semanas, como parte do estudo GESTA ÁLCOOL.

Foram utilizados os dados colhidos relativos a informações sociodemográficas e de saúde (dados sociodemográficos, saúde materna geral, história gestacional e saúde mental materna) e informações sobre consumo de álcool na gestação (coletados por meio do questionário T-ACE, de questionário para avaliação do padrão do uso por quantidade, frequência e período gestacional, e da avaliação de uso nocivo ou dependência ao álcool de acordo com a Classificação Internacional de Doenças – CID-10).

O T-ACE (Tolerance, Annoyed, Cut down e Eye-opener) é um questionário breve semelhante ao CAGE (Cut down, Annoyed, Guilty e Eye-opener). Está estruturado em quatro questões, cuja duração de aplicação é de apenas dois minutos. Foi desenvolvido por Sokol e colaboradores, em 1989, e sua versão brasileira foi validada em 2002 (FABBRI, FURTADO e LAPREGA, 2007).

As quatro questões do T-ACE avaliam: informações sobre a tolerância aos efeitos do álcool (Tolerance - T); existência de aborrecimento com relação às críticas de familiares e terceiros sobre o modo de beber da gestante (Annoyed – A); percepção da necessidade de redução do consumo (Cut Down - C); informações sobre a persistência do consumo e dependência, por meio de forte desejo e compulsão para beber durante a manhã (*Eye-opener* – E).

As quatro questões possuem pontuações que variam de zero a dois pontos (primeira questão), e de zero a um ponto (segunda à quarta questão). Foi utilizado como ponto de corte para positividade do teste um escore maior ou igual a 2 para consumo de risco (FABBRI, FURTADO e LAPREGA, 2007).

Se utilizou um questionário para a entrevista materna atual (em 2012-2013), que trata-se de um conjunto de questões para coleta de dados de aproximadamente 15 páginas, que consiste em cinco partes principais: Questionário de dados sociodemográficos maternos, anamnese estruturada sobre dados perinatais e de desenvolvimento infantil, anamnese estruturada sobre dados de saúde geral materna e infantil, rastreamento de saúde mental materna atual e dados sobre tratamento psiquiátrico atual e um rastreamento de problemas relacionados ao consumo de álcool atual (AUDIT).

#### 4.2 Questionário da entrevista materna

A) Questionário de dados sociodemográficos maternos (idade, nacionalidade, naturalidade, cor da pele referida, status conjugal, número de filhos, renda familiar, realização de atividade remunerada atual, escolaridade, prática de religião);

- B) Anamnese estruturada sobre dados perinatais e de desenvolvimento infantil (número de gestações, abortos, prematuridade, baixo peso, informações sobre presença de doenças genéticas e malformações nos filhos, dados desenvolvimento motor, de linguagem expressiva, controles de esfíncteres);
- C) Anamnese estruturada sobre dados de saúde geral materna e infantil (Doenças atuais, tratamento médico atual e uso atual de medicações);
- D) Rastreamento de saúde mental materna e dados sobre tratamento psiguiátrico atual; o instrumento utilizado para o rastreamento de saúde mental materna é o Self-Reporting Questionaire (SRQ total); trata-se de questionário que foi desenvolvido por Harding et al. (1980) validado e adaptado para a população brasileira por Mari e Willians (1986), e apresenta uma sensibilidade de 83% e especificidade de 80%. O questionario consiste de 20 questões que rastreiam sintomas de transtornos mentais não-psicóticos, divididos em quatro grupos de sintomas: humor depressivo-ansioso, sintomas somáticos, decréscimo de energia vital, pensamentos depressivos e com estudos de validação para a população brasileira que sugerem um ponto de corte de 7/8 (GONÇALVES; STEIN; KAPCZINSKI, 2008).
- E) Rastreamento de problemas relacionados ao consumo de álcool atual (AUDIT); o AUDIT (Alcohol Use Disorder Identification Test) é um instrumento de rastreamento que foi desenvolvido pela Organização Mundial de Saúde e apresenta uma sensibilidade de 90% e uma especificidade de 80% (BABOR et al., 1992). Este questionário avalia o consumo excessivo de álcool, e que consiste de dez questões, com pontuações que variam de zero a quatro pontos; produz escores de risco, e que avaliam: Uso de risco de álcool (questões 1, 2 e 3); Sintomas de dependência de álcool ( questões 4, 5 e 6); Uso nocivo de álcool (questões 7, 8, 9 e 10); os escores produzidos permitem a identificação de uso de baixo risco (pontuação: 0-7), uso de

risco (pontuação de 8 a 15), uso nocivo (pontuação de 16 a 19), e sintomas de dependência, com pontuação acima de 20 (BOHN, BABOR e KRANZLER, 1995).

# 4.3 Questionário de Hábitos do Sono nas Crianças "The children's Sleep Habits Questionnaire (CHSQ)".

Para avaliar os hábitos de sono nas crianças foi aplicado a todos os participantes o questionário "The children's sleep habits questionnaire (CHSQ)" (Anexo 5). Este questionário é utilizado em vários países para avaliar padrões de sono e problemas de sono em crianças e tem sido previamente traduzido ao português e aplicado e validado na população portuguesa (SILVA, et al., 2014).

As perguntas no CHSQ caracterizam oito componentes e avaliam os sintomas do sono que ocorrem: Resistência á hora de dormir, atraso na hora de dormir, duração do sono, ansiedade do sono, sonambulismo, parassonias, distúrbios respiratórios do sono e sonolência diurna. Os itens são classificados em uma escala de três pontos: "geralmente" se o comportamento do sono ocorreu 5-7 vezes / semana vale 3 pontos; "Às vezes" para duas a quatro vezes / semana, cujo valor e 2 pontos e "raramente" para zero a um tempo / semana com valor zero. Alguns itens foram revertidos em ordem para fazer de forma consistente uma pontuação maior indicativo do sono perturbada (GOODLIN-JONES et al., 2008; OWENS; SPIRITO; MCGUINN, 2000a; OWENS, J.A; SPIRITO, A.; MCGUINN, M., 2000b).

O questionário CSHQ é útil tanto para fins de rastreio quanto de acompanhamento do tratamento. Além disto, recentemente o CSHQ foi usado para avaliar a presença de distúrbios do sono em crianças com desordens no desenvolvimento neurológico (GOODLIN-JONES et al., 2008; OWENS; SPIRITO; MCGUINN, 2000a; OWENS, J.A; SPIRITO, A.; MCGUINN, M., 2000b). Também foi usado para avaliar problemas do sono em crianças com FASD (CHEN, et al. 2012). O questionário forneceu aos pesquisadores informação confiável e padrão, permitindo determinar a qualidade do sono, classificando os participantes em "bons" e "maus" dormidores, alem de proporcionar informação sobre a presença de múltiplos distúrbios de sono que possam afetar a qualidade de sono noturno.

O questionário (CHSQ) inclui itens relativos a um número de domínios importantes do sono que englobam os que apresentam maiores queixas de sono e sintomas clínicos neste grupo: comportamento de deitar e início do sono, duração do sono, ansiedade em torno do sono, comportamentos que ocorrem durante o sono e despertares noturnos, distúrbios respiratórios durante o sono, parassonias, e acordar de manha/ sonolência diurna. Os pais são convidados para lembrar os comportamentos do sono que ocorrem ao longo de uma "típica" semana recente.

O questionário tem uma pontuação, a qual é feita por itens; os valores mais elevados correspondem a comportamentos problemáticos mais frequentes. Assim, para a maior parte dos itens a pontuação é: "Habitualmente" = 3, "Às vezes" = 2, "Raramente" = 1. Os itens assinalados com (PI) - itens 1, 2, 3, 10, 11, 26 - têm uma pontuação inversa: "Habitualmente" = 1, "Às vezes" = 2, "Raramente" = 3. Nos itens 32 e 33 (sonolência) a pontuação é: "Não ficou"=1, "Ficou muito"=2, "Adormeceu"=3

Cotação das subescalas: soma das pontuações dos itens da subescala. Em crianças de 2 e 3 anos, o item 12 não é aplicado e deve ser cotado com "Às vezes" = 2. Um valor mais elevado corresponde a mais problemas.

Cotação total (Índice de Perturbação do Sono): soma das pontuações dos 33 itens. Um valor mais elevado corresponde a mais problemas.

Nota: este índice não é equivalente à soma das cotações das subescalas, uma vez que 2 itens aparecem em 2 subescalas (itens 5 e 8).

Também foi utilizado um questionário para o levantamento das informações sobre atividades das crianças antes da coleta do cortisol (ver anexo 1) (Considerações gerais durante a coleta das amostras de saliva); Além destes questionários foi entregue junto com o kit de coleta de amostras de saliva o "diário de registro de atividades" (Anexo 4), o qual foi preenchido pela mãe do participante.

## 5. Determinação de cortisol salivar

## 5.1 Coleta e preparação da amostra salivar

Para a determinação da concentração de cortisol salivar e avaliação do ritmo circadiano (RC) e cortisol ao acordar (CAR) se usou um tubo de propileno conhecido como Salivette ® (Sarsted, Alemanha). Este dispositivo é composto por um cilindro de algodão similar ao tubo de algodão dental, contido dentro de um recipiente plástico para posterior centrifugação e decantação da amostra de saliva. Para cada amostra de saliva se utilizou um Salivette. Este contém uma almofada absorvente de fibra sintética que se coloca na face interna da bochecha, evitando cuspir e mastigando pelo menos por um minuto. Os sujeitos envolvidos no estudo foram orientados a não escovar os dentes, ingerir alimentos e líquidos exceto água, no período de 1 hora que precede as coletas da saliva, assim como realizar qualquer tipo de atividade física intensa durante as 48 horas prévias ao inicio da avaliação (HANRAHAN, et al. 2006).

A coleta das amostras de saliva foi feita pela mãe, na casa onde mora a criança. As mães foram orientadas a realizar a coleta da saliva durante os finais de semana, no período da manhã até às 10h00min, em estado de jejum. Entregou-se um kit de coleta das amostras de saliva, junto com um quia onde se explicava como deveria ser realizada a coleta da saliva (Anexo 2); se explicou às mães como fazer as coletas e se esclareceu qualquer duvida que poderiam ter com relação à coleta de saliva. Além da guia de coleta de saliva, se entregou uma folha com um diário de registro de atividades, que a mãe da criança deveria ler e preencher com detalhes. Se realizaram as seguintes coletas:

No período da manhã em jejum até as 10:00h:

- Uma coleta ao acordar, ainda estando deitado na cama (Salivette cor amarelo)
- Uma coleta aos 30 minutos depois de acordar (Salivette cor azul)
- Uma coleta aos 60 minutos depois de acordar (Salivette cor verde)

À noite, ao deitar, evitando comer 1 hora antes da coleta:

• Uma coleta às 23:00 horas (Salivette cor preto)

Uma vez coletadas as amostras, foram mantidas em refrigeração doméstica até serem recolhidos pela pesquisadora. Os tubos de Salivette® contendo as amostras foram centrifugados por dez minutos a 1000xg. Durante a centrifugação, a saliva passa da forma cilíndrica do swab através da cavidade no fundo do tubo suspendido para o tubo de centrífuga limpo. Muco e partículas em suspensão são captados na ponteira cônica do tubo de centrífuga permitindo a fácil obtenção da saliva clarificada.

## 5.2 Método Radioimunoensaio (RIA)

Para as análises do cortisol salivar foi utilizado o método padronizado no laboratório de Endocrinologia do HCFMRP-USP, cuja sensibilidade e de 60 ng/dL.

As amostras de um mesmo sujeito e de um mesmo experimento foram ensaiadas por duplicata em um mesmo RIA.

O principio deste método baseia-se na competição entre determinado antígeno (hormônio) marcado isotopicamente e não marcado pelos sítios de ligação específicos de uma proteína com capacidade ligante (anticorpo), formando complexo antígeno-anticorpo. Esta reação de competição obedece à lei de ação das massas. A formação do complexo antígeno-anticorpo é proporcional à concentração de hormônio marcado presente no sistema. Uma vez que as quantidades de hormônio marcado e anticorpo específico são mantidas constantes a adição de hormônio não marcado ao sistema acarreta maior formação do complexo antígeno não marcadoanticorpo e consequente diminuição do complexo radioativo (BORGUI, 1982).

## 6 Fatores antropométricos

As características clínicas foram coletadas no dia do agendamento do acolhimento. Os fatores antropométricos: Peso (kg), altura (cm) e IMC - Índice de massa corporal, foram obtidos com a balança Welmy, modelo W200/5 dispositivo que tem integrado o estadiómetro, escala de medição 1-200 kg; 50-200 cm. Estes aparelhos estão disponíveis nas enfermarias do HCFMRP-USP e são calibrados semanalmente.

#### 7 Coleta dos dados

O estudo INFANTO ÁLCOOL II iniciou os seguintes procedimentos em 2012-2013: Recrutamento; Acolhimento e Entrevista materna; Avaliação psiquiátrica; Avaliação neuropsicológica; Avaliação do cortisol salivar (CAR, circadiano) e pré- e pós-estresse; Avaliação de neuroimagem. Cada sujeito do estudo foi identificado com um número interno da pesquisa ao qual se adicionou um novo número a cada paciente, o numero do registro HC.

O recrutamento dos pares mãe-criança (estudo INFANTO ÁLCOOL-fase II), provenientes da pesquisa realizada em 2001 (estudo GESTA ÁLCOOL) foi feito a partir de uma base de dados de endereços e telefones de 2001 e que havia sido parcialmente atualizado em 2009 (estudo INFANTO ÁLCOOL-fase I).

Houve algumas dificuldades no recrutamento feito através desse banco de dados, devido a um grande número de telefones desatualizados, que não existiam mais ou que não pertenciam mais ao mesmo assinante, exigindo um grande esforço de atualização do banco de dados, realizado por uma enfermeira treinada para a pesquisa.

Diversos meios foram utilizados para a atualização, como base de dados de serviços de saúde, listas de telefone impressas e listas de telefone pela internet. Uma vez identificado, o par mãe-criança era convidado a comparecer para um primeiro atendimento, identificado como de "Acolhimento". O Acolhimento ocorreu semanalmente, às quintas feiras, no Ambulatório de Psiquiatria INFANTO ÁLCOOL (PQIÁLCOOL), no corredor 5 dos ambulatórios do Hospital das Clínicas da FMRP-USP, como parte do Serviço de Psiquiatria da Infância e Adolescência.

Os procedimentos realizados no acolhimento foram: relembrar a participação da mãe no estudo GESTA ÁLCOOL no ano de 2001; esclarecer o objetivo do estudo INFANTO ÁLCOOL-fase II; explicar todos os procedimentos envolvidos na pesquisa e obter o consentimento da mãe e da criança. Em seguida, era realizada a Entrevista Materna, cuja aplicação teve a duração média de 30 minutos. Foram agendados aproximadamente 6 pares recrutados para cada semana no acolhimento, com uma média de comparecimento de 3 pares. As principais justificativas para as faltas foram: a impossibilidade de faltar ao trabalho, impedimentos de saúde, dificuldades de transporte (como p. ex., precisar de vários ônibus para chegar ao local da avaliação), e achar indesejável que o filho faltasse à escola.

#### 8 Análise estatística

Foram analisadas, a caracterização da amostra em função do risco materno para "FASD" com o teste chi-quadrado, comparando as mães que eram consideradas do grupo "T-ACE negativo" e "T-ACE positivo" com diversas variáveis como: sexo da criança, estado civil das mães, número de filhos, ordem de nascimento da criança, se mãe vive com o pai biológico da criança, renda familiar, se mãe trabalha fora, se mãe é praticante de alguma religião, escolaridade paterna, escolaridade materna, nascimento da criança prematura, baixo peso da criança, e presença de malformações congênitas.

Foram analisadas também as variações dos níveis de cortisol salivar em função do sexo da criança com análises de variância (t-tests); além disto foram feitas análises multivariadas (GLM) de medidas repetidas.

Para avaliar os níveis de cortisol em função do risco materno para FASD, foram feitas análises de variância (t-test) e análises multivariadas (GLM) de medidas repetidas associando com a variável dicotômica T-ACE.

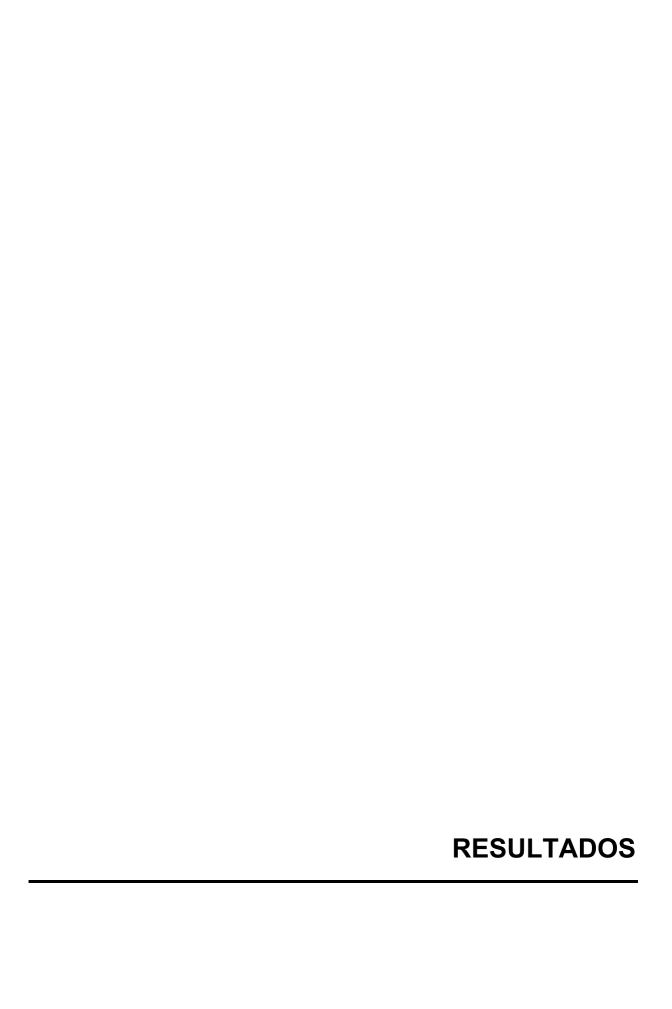
Para analisar os níveis de cortisol em função do uso do álcool na gestação foram feitas análises de variância (t-test) e análises multivariada (GLM) de medidas repetidas para o uso de álcool na gestação.

Foram feitas análises de correlação de Spearman, avaliando as variáveis: álcool na gestação, nível de cortisol ao despertar, nível de cortisol aos 30 min. depois de despertar, nível de cortisol aos 60 min. depois de despertar, nível de cortisol as 23 h, escores do AUDIT e T-ACE, e diagnóstico pela CID 10.

Finalmente foram feitas análises de variância (t-test) e de correlação para os componentes do questionário de sono em crianças.

#### 9 Aspectos éticos

Os responsáveis da criança foram consultados e informados sobre a pesquisa. Foram selecionados somente os que concordaram em participar da mesma, expresso através da assinatura de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, redigido conforme os princípios da Resolução nº. 466/2012 sobre pesquisa envolvendo seres humanos - Aprovada por o Conselho Nacional de Sáude em dezembro 12 e publicada no Diario oficial da União em 13/06/2013.



#### **VI. RESULTADOS**

## 1 Características da amostra total

A amostra total da pesquisa correspondeu a 76 pares de mães-crianças (apenas uma criança por mãe, da criança nascida na coorte do GESTA-ÁLCOOL).

Em relação à renda familiar, de um total de 74 indivíduos devido a dois missings, obteve-se um mínimo de um e máximo de cinco salários-mínimos, uma média de 2,54 e desvio padrão 0,83. Para os dados de IMC, para uma totalidade de 68 crianças (oito missings), observou-se o valor de 13, 56 como mínimo e 31,44 como máximo; a média foi de 19,78 e o desvio padrão de 3,74.

A idade atual da criança, com uma amostra de 74, apresentou 12,78 para o mínimo e 13,41 para o máximo, com uma média de 13,06, e um desvio padrão de 0,16. Com relação à idade da mãe, a amostra total foi de 74, registrando um mínimo de 24,77 e máximo de 55,77 e média de 37,97, com um desvio padrão de 6,11.

A tabela dois apresenta a descrição das características da amostra, por meio de informações como número de filhos, renda familiar, índice de massa corporal, idade atual da criança e idade atual da mãe.

Tabela Z. Caracienzacao da amostra ior	Tabela 2:	Caracterização	da amostra total
--	-----------	----------------	------------------

Características	N	Media	Desvio padrão	Mínimo	Maximo
Número de filhos	74	2,64	1,13	1,00	5,00
Renda fam. (xR\$500)	74	2,54	0,83	1,00	5,00
IMC [IMC = $kg / (m^2)$ ]	68	19,78	3,74	13,56	31,44
Idade atual da	74	13,06	0,16	12,78	13,41
criança					
ldade atual da mãe	74	37,97	6,11	24,77	55,77

## 2 Caracterização da amostra em função do risco materno para "FASD"

## 2.1 Sexo da criança

Para caracterizar a amostra em função do risco materno para FASD, foram feitas provas estatísticas com o teste Chi-quadrado, com uma amostra total de 76 crianças. Deste total de crianças, 36 (47,4%) são do sexo masculino e 40 (52,6%) do sexo feminino. As análises com Chi-quadrado, compararam o sexo da criança com os valores do T-ACE da mãe obtidos na gravidez. Estas análises mostraram que 29 crianças do sexo masculino (45,3 %) são filhos de mães do grupo "T-ACE negativo"; observando-se uma diferença com proporção de crianças (sete - 58,3 %) filhos de mães registradas como do grupo "T-ACE positivo". Com relação às crianças do sexo feminino, filhas de mães identificadas como grupo "T-ACE negativo" se registrou valores de 35 (54,7 %), diferentes dos valores registrados para as filhas das mães do grupo "T-ACE positivo" cujo total foi de cinco crianças (41,7 %). A análise estatística, comparando os grupos de crianças do sexo masculino e feminino, com as mães dos grupos "T-ACE negativo" e "T-ACE positivo" não apresentou diferenças significativas (X<sup>2</sup>: 3,67; df: 1; p: 0,407).

#### 2.2 Estado civil da mãe

Foram analisados também os dados sociodemográficos: estado civil (solteira ou separada, casada, viúva, união estável) e as variáveis T-ACE (positivo versus negativo). Os resultados obtidos foram para a variável solteira ou separada, onde se registrou um total de 18 mães, sendo 14 mães (22,6%) no grupo "T-ACE negativo" e quatro mães (33,3 %) no grupo do "T-ACE positivo".

Com relação às mães com estado civil casada, se obteve um total de 26 mães (35,1%), dividindo-se em 23 mães (37,1 %) no grupo "T-ACE negativo", e três mães (25,0 %) no grupo T-ACE positivo. Para o estado civil viúva foi registrado um total de quatro mães (5,4 %), distribuindo-se três mães (4,8 %) para o grupo "T-ACE negativo" e uma mãe (8,3 %) para o grupo "T-ACE positivo".

As mães denominadas com o estado civil união estável, somaram um total de 26 (35,1%), dividindo-se em 22 (35,5 %) para as mães registradas com o grupo "T-ACE negativo" e quatro (33,3 %) para as mães "T-ACE positivo". A análise estatística (X<sup>2</sup>: 1,137; df:3; p: 0,768), não indicou significância estatística para as diferenças observadas destas variáveis.

#### 2.3 Número de filhos

Também foram analisadas as variáveis número de filhos versus o grupo "T-ACE negativo" e "T-ACE positivo". Encontrou-se que de uma amostra total de 76 mães, 10 mães tinham um filho, representando (13,5 %) da amostra. Deste total, oito mães (12,9%) eram do grupo "T-ACE negativo", e duas mães (16,7%) do grupo "T-ACE positivo".

Na amostra apresentou-se um total de 30 mães com dois filhos. Desta quantidade, encontrou-se que 25 mães (40,3 %) eram consideradas do grupo "T-ACE negativo" e cinco mães (41,7 %) do grupo "T-ACE positivo". Para as mães que tinham três filhos, se registrou um total de 16 mães (21,6 %). Destas 16 mães, 15 mães (24,2 %) correspondiam a mães do grupo "T-ACE negativo" e uma mãe (8,3 %) considerada do grupo"T-ACE positivo". As mães que tiveram quatro filhos, são representadas por 13 mães (17,6 %). Para as mães consideradas do grupo "T-ACE

negativo", se registrou nove mães (14,5 %) e para as mães consideradas do grupo "T-ACE positivo", são representadas por quatro mães (33,3 %).

O total de mães com cinco filhos foi de cinco mães (6,8 %). Deste numero de mães, só para o grupo "T-ACE negativo" se registraram cinco mães (8,1 %). Não se encontrou mães consideradas do grupo "T-ACE positivo" nesta categoria.

A prova estatística do Chi-quadrado para o número de filhos versus T-ACE não revelou diferenças significativas (X<sup>2</sup>: 4,274 ; df: 4; p: 0,370).

## 2.4 Ordem de nascimento da criança

Foram avaliadas as variáveis ordem de nascimento da criança versus T-ACE negativo e T-ACE positivo. Para essas análises encontrou-se, de um total de 73 indivíduos, 32 filhos primogênitos (43,8 %), 22 como segundo filho (30,1 %), 11 como terceiro filho (15,1 %) e 8 na quarta posição ou acima (11.0 %). Ao comparar a ordem de nascimento dos filhos versus as variáveis dicotômicas "T-ACE negativo" e "T-ACE positivo", encontrou-se para a categoria primogênita, um total de 27 crianças (44,3 %) filhos das mães consideradas do grupo "T-ACE negativo" e cinco crianças (41,7 %) filhos das mães consideradas do grupo "T-ACE positivo". Para a categoria segundo filho encontrou-se um total de 19 crianças (31,1 %) filhos das mães consideradas do grupo "T-ACE negativo" e cinco crianças (21,0 %) filhos das mães consideradas do grupo "T-ACE positivo". Para a categoria terceiro filho encontrou-se um total de sete crianças (11,5 %) filhos das mães consideradas do grupo "T-ACE negativo" e quatro crianças (33,3 %) filhos das mães consideradas do grupo "T-ACE positivo". Para a categoria guarto filho ou acima, obteve-se um total de oito crianças (13,1 %) filhos das mães consideradas do grupo "T-ACE negativo" e não se registrou nenhuma criança filho das mães consideradas do grupo "T-ACE positivo".

## 2.5 Mãe vive com pai biológico

Além destas variáveis, foram avaliadas as variáveis: mãe vive com pai biológico versus T-ACE. Foi encontrado um total de 33 mães (44,6 %) que não vivem com o pai biológico da criança e um total de 41 mães (55,4 %) que vivem com o pai biológico da criança. Com relação às mães que não vivem com o pai biológico da criança, encontrou-se 27 mães (43,5 %) catalogadas como do grupo "T-ACE negativo" e uma mãe (50,0 %) no grupo "T-ACE positivo". Para a categoria de mães que vivem com o pai biológico da criança, encontrou-se 35 mães (56,5 %) consideradas no grupo "T-ACE negativo" e seis mães (50,0 %) consideradas no grupo"T-ACE positivo". As análises estatísticas de Chi-quadrado registraram diferenças não significativas entre as variáveis (X2: 0,169; df: 1; p: 0,681).

#### 2.6 Renda Familiar

Separando a amostra por renda familiar, observou-se um total de cinco famílias (6,8 %) com uma renda de até 500 reais. Deste grupo se registrou quatro mães (6,5 %) classificadas no grupo "T-ACE negativo" e uma mãe (8,3 %) considerada do grupo "T-ACE positivo". Para as mães com uma renda familiar até 1.500 reais, obteve-se 34 mães (45,9 %). Deste grupo, 29 mães (46,8 %) eram do grupo "T-ACE negativo" e cinco mães (41,7 %) do grupo "T-ACE positivo".

As famílias com uma renda ate 3.000 reais, obteve-se um total de 26 famílias, registrando valores de 35,1 %. Dentro deste grupo 21 mães (33,9 %) foram registradas como do grupo "T-ACE negativo" e cinco mães (41,7 %) como do grupo"T-ACE positivo".

As famílias com uma renda de até 5.000 reais, somaram um total de oito famílias (10,8 %), incluindo nestas famílias sete mães (11,3 %) consideradas do grupo "T-ACE negativo" e uma mãe (8,3 %) considerada do grupo "T-ACE positivo". Diferente da categoria anterior, o grupo de renda superior a 5.000 reais, registrou apenas uma família (1.4 %), só uma mãe do grupo "T-ACE negativo".

#### 2.7 Mãe trabalha fora

As variáveis, mãe trabalha fora versus T-ACE, foram avaliadas e encontrouse que 18 mães (24,3 %) não trabalham fora e 56 mães (75,7 %) sim trabalham fora. Do grupo de mães que não trabalham fora se observou 16 mães (25,8 %) avaliadas como do grupo "T-ACE negativo" e duas mães (16,7 %) consideradas do grupo "T-ACE positivo". Contrariamente ao grupo anterior, avaliou-se as mães que trabalham fora e se registraram 46 mães (74,2 %) avaliadas como do grupo "T-ACE negativo" e 10 mães (83,3 %) consideradas do grupo "T-ACE positivo".

A estatística feita para essas variáveis não apresentou diferenças significativas (X<sup>2</sup>: 0,456; df: 1; p:0,499) ao comparar os dois grupos envolvidos.

#### 2.8 Mãe praticante de alguma religião

Outra variável avaliada foi se a mãe era praticante de alguma religião versus T-ACE. Observou-se uma totalidade de 22 mães (29,7 %) que não praticam nenhuma religião, contra 52 mães (70,3 %) que sim praticam uma religião. Dentro do grupo de mães que não praticam nenhuma religião registrou-se que 15 mães (24,2 %) são consideradas do grupo "T-ACE negativo", contra sete mães (58,3 %) que foram consideradas do grupo "T-ACE positivo". As mães que praticam alguma religião registraram 47 mães (75,8 %) avaliadas como do grupo "T-ACE negativo" e cinco mães (41,7%) consideradas do grupo "T-ACE positivo".

A análise estatística encontrou diferença significativa entre as mães que praticam alguma religião com as variáveis dicotômicas "T-ACE negativo" e "T-ACE positivo" (X<sup>2</sup>: 5,609 ; df: 1; p: 0,018), com menor proporção de praticantes no grupo de risco (T-ACE positivo).

Embora a comparação das mães praticantes da religião versus T-ACE, tivesse diferença significativa, a análise feita sobre o tipo de religião versus T-ACE não encontrou diferença significativa (X2: 1,619; df: 4; p: 0,445). As comparações de tipo de religião mostraram os seguintes resultados: para as mães que praticam a religião católica se registrou um total de 30 mães (58,8 %) que praticam esta religião. Dentro desta religião se pode observar que 28 mães (60,9 %) foram consideradas do grupo "T-ACE negativo" e duas mães (40,0 %) do grupo "T-ACE positivo". Para a religião evangélica, observou-se uma totalidade de 18 mães (35,3 %), distribuídas em 15 mães (32,6 %) consideradas do grupo "T-ACE negativo" e três mães (60,0 %) consideradas do grupo "T-ACE positivo". Para a categoria "outras religiões", registrou-se um número reduzido de três mães (5,9 %), e todas três mães (6,5 %) pertenciam ao grupo "T-ACE negativo" e não se encontrou nenhuma mãe considerada do grupo "T-ACE positivo".

#### 2.9 Escolaridade Paterna

Outra característica sociodemográfica avaliada foi a escolaridade paterna e materna versus T-ACE. Com relação à escolaridade paterna, se pode observar que de uma amostra total de 73 indivíduos da pesquisa, 61 (83,6 %) são pais de crianças cujas mães foram avaliadas como T-ACE negativo e 12 (16,4 %) são pais de crianças cujas mães foram avaliadas como do grupo "T-ACE positivo". Ao fazer as análises estatísticas com os dados do T-ACE para pais sem escolaridade, se pode

constatar que um pai (1,6 %), teve a criança com uma mulher classificada no grupo "T-ACE negativo" e nenhum pai sem escolaridade teve filho com alguma mãe situada no grupo "T-ACE positivo".

No nível de escolaridade do ensino fundamental, se obteve uma amostra total de 54 pais (74,0 %). Deste total, pode-se observar que 46 pais (75,4 %), tiveram um filho com mulheres que foram categorizadas dentro do grupo "T-ACE negativo" e oito pais (66,7 %) tiverem filho com mulheres categorizadas no grupo "T-ACE positivo".

No nível de escolaridade média, deu um total de 17 pais (23,3 %). Dividindo este numero, se pode dizer que 13 pais (21,3 %) tiveram filhos com mulheres consideradas no grupo "T-ACE negativo" e quatro (33,3 %) tiveram filhos com mulheres do grupo "T-ACE positivo".

Para o nível de educação superior, pode-se perceber uma amostra total de apenas um pai (14,0 %), restando, portanto, só um pai com um filho cuja mãe foi classificada no grupo "T-ACE negativo". Neste nível não se encontrou nenhum pai com criança cuja mãe foi considerada no grupo "T-ACE positivo".

#### 2.10 Escolaridade Materna:

Também foi avaliado o nível de escolaridade para as mães. Ao se fazer as análises estatísticas se encontraram duas mães (2,7 %) sem escolaridade; 39 mães (53,4 %) com nível fundamental; 29 mães (39,7 %) com nível médio e 3 mães (4,1 %) com nível superior. Para as mães sem escolaridade, se tem um total de duas mães (2,7 %); deste total uma mãe (1,6 %) foi considerada do grupo "T-ACE negativo" e uma mãe (8.3 %) foi catalogada dentro do grupo "T-ACE positivo".

Para o nível fundamental de escolaridade, se obteve uma amostra total de 39 mães (53,4 %). Esta amostra, apresentou 33 mães (54,1 %) consideradas no grupo

"T-ACE negativo" e seis mães (50 %) T-ACE positivo. A escolaridade média foi representada por um total de 29 mães (39,7 %), dividindo-se esse total em 24 mães (39,3 %) categorizadas como T-ACE negativo e 5 mães (41,7 %) denominadas T-ACE positivo.

Para o nível de escolaridade superior, se obteve uma amostra total de 3 mães (representando 4,1 % da amostra total). Deste numero de mães, 3 mães (4,1 %) foram consideradas no grupo "T-ACE negativo" e não se encontrou nenhuma mãe para ser colocada no grupo"T-ACE negativo".

Ao fazer a estatística e comparar o nível de escolaridade do pai com as variáveis dicotômicas "T-ACE negativo" e "T-ACE positivo" das mães, não se encontraram diferenças significativas (X<sup>2</sup>: 1,119; df: 3; p:0,072). Quanto ao nível de escolaridade das mães, igualmente nenhuma associação significativa (X2: 2,275; df: 3; p. 0,517) foi encontrada entre esta variável e a variável dicotômicas T-ACE (T-ACE negativo x T-ACE positivo).

#### 2.11 Nascimento da criança prematura (Ig< 37s).

Foram analisadas as variáveis clinicas como, o nascimento da criança prematura (Ig< 37s) e nascimento da criança com baixo peso (PN < 2,500 g) e se compararam com os grupos "T-ACE negativo" e "T-ACE positivo". Os resultados obtidos para o nascimento da criança prematura foi de 66 crianças (90,4 %) não consideradas prematuras e sete crianças (9,6 %) consideradas prematuras. As crianças não consideradas prematuras ao serem analisadas para a variável "T-ACE" negativo ou positivo das mães, se observou 54 crianças (88,5 %) filhos de mães consideradas no grupo "T-ACE negativo" e 12 crianças (100 %) filhos de mães consideradas no grupo "T-ACE positivo". Para as crianças consideradas prematuras encontrou-se um total de sete crianças (9,6 %). Deste total de sete crianças, as sete (11,5 %) foram consideradas filhos de mães classificadas no grupo "T-ACE negativo" e não se encontrou nenhuma criança filho de mãe classificada no grupo "T-ACE positivo".

Ao realizar as análises estatísticas, não se encontraram diferenças estatísticas significativas (X<sup>2</sup>: 1,523 ;df: 1; p.0,217).

## 2.12 Baixo peso da criança (PN < 2,500 g).

Para a avaliação do baixo peso da criança (PN < 2,500 g), foi encontrado um total de 60 crianças (82,2 %) sem risco de peso baixo ao nascer e 13 crianças (17,8 %) com peso baixo ao nascer. Com relação às crianças sem risco de peso baixo ao nascer ao fazer as analises das variáveis dicotômicas das mães classificadas como "T-ACE negativo"e "T-ACE positivo", encontrou-se que 50 crianças (82,0 %) eram filhos de mães consideradas no grupo "T-ACE negativo" e 10 crianças (83,3 %) filhos de mães consideradas no grupo "T-ACE" positivo".

Para as crianças que tiveram peso baixo ao nascer, encontrou-se 11 crianças (18,0 %) que são filhos de mães classificadas no grupo "T-ACE negativo" e duas crianças (16,7 %) consideradas filhos de mães classificadas no grupo "T-ACE positivo".

Ao realizar as análises estatísticas, não se encontraram diferenças estatísticas significativas (X<sup>2</sup>: 0,013; df: 1; p.0,910).

## 2.13 Malformações congênitas

Outra variável clinica avaliada foi a presença de filhos com malformações congênitas versus a variável dicotômica "T-ACE" (T-ACE negativo e T-ACE positivo).

Nestas análises encontrou-se 68 crianças que não apresentaram malformações congênitas (93,2 %) e cinco que apresentaram malformações congênitas (6,8 %). Separando a amostra por grupo de crianças que não apresentaram malformações e comparando os grupos "T-ACE negativo" e "T-ACE positivo" obteve-se 57 crianças (93,4 %) filhos de mães classificadas no grupo "T-ACE negativo" e 11 crianças (91,7 %) filhos de mães consideradas no grupo "T-ACE positivo".

Para as crianças que apresentaram malformações congênitas, se observou um total de quatro crianças (6,6 %) filhos de mães consideradas no grupo "T-ACE negativo" e uma criança (8,3 %) filho de mãe considerada no grupo "T-ACE positivo".

A análise estatística para estas variáveis não apresentou diferenças significativas (X<sup>2</sup>: 0,050; df: 1; p: 0,824).

## 3 Análise das variações dos níveis de cortisol salivar

## 3.1 Distribuição dos níveis de cortisol para a amostra total

Na tabela 3 pode se observar as médias de análises para cada tempo de coleta do cortisol, observando-se que ao fazer as análises de médias para a amostra total de crianças (idade média = 13 anos; N = 74) registrou-se para o cortisol coletado ao acordar valor médio de 25,44 nmol/L; incrementando aos 30 minutos depois de acordar (36,87 nmol/L), continuando com um leve decrescimento depois de 1 hora ao despertar (29,63 nmol/L ), e por último observando-se uma queda do nível de cortisol às 23 horas (7,38 nmol/L).

Tabela 3: Médias das análises do cortisol ao despertar, cortisol depois de 30 minutos do despertar, cortisol depois de 1 hora do despertar e cortisol das 23 horas, em crianças em idade escolar (valores expressos em nmol/L).

Variáveis	Média	Mediana	DP	Mínimo	Máximo
Cortisol ao despertar	25,44	24,65	13,98	1,68	68,50
Cortisol depois de 30 minutos ao despertar	36,87	36,05	18,10	1,70	96,70
Cortisol depois de 1 hora ao despertar	29,63	28,15	15,59	1,68	63,30
Cortisol às 23 horas	7,38	2,24	10,28	1,68	46,60

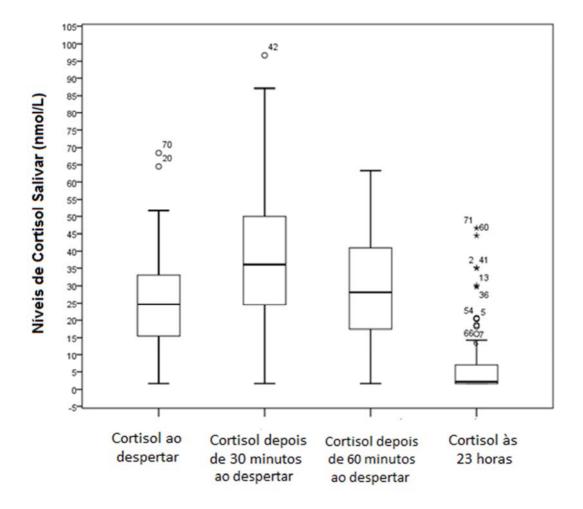


Figura 1. Valores das concentrações de cortisol salivar ao despertar, 30 minutos depois de acordar, 1 hora depois de acordar e às 23 horas, em crianças em idade escolar.

Na Figura 1 se apresentam os valores médios do cortisol salivar coletado ao despertar, onde se registram valores médios de 25,44 nmol/L, registrando-se um máximo de 68,50 e um mínimo de 1,68 e o desvio padrão de 13,98. Embora que a maioria dos pacientes se mantenha em um valor médio, na coleta do cortisol ao despertar, tem dois pacientes que caem fora dos valores médio, mínimo e máximo. Para o cortisol depois de 30 minutos ao acordar, se aprecia no gráfico, valores médios de 36,87 nmol/L, com um desvio padrão de 18,10 e valores máximos de 96,70 e mínimo de 1,70. Muito semelhante à medida do cortisol ao acordar, nesta coleta, se observa um indivíduo que cai fora dos valores médios, mínimo e máximo chegando a atingir concentrações de mais de 95 nmol/L. Por último, as medições de cortisol depois de 1 hora ao acordar, apresenta valores médios de 29,63 nmol/L, máximo de 63,30, um mínimo de 1,68 e um desvio padrão de 15,59. Nesta medição os valores se mantêm constantes, observando-se só uma pequena queda na produção do cortisol, para os valores médios. O cortisol às 23 horas apresentou o comportamento típico que é a diminuição dos níveis de cortisol ao deitar. Embora esta seja a resposta normal de um individuo saudável, no gráfico se pode observar seis crianças que caem fora do padrão comum, atingindo níveis de até 45 nmol/L.

## 3.2 Distribuição dos níveis de cortisol em função do sexo da criança

### 3.2.1 Análises de variância (t-tests)

Na tabela 4 e 5, se podem observar as diferenças de médias para cada avaliação do cortisol salivar, tanto para crianças do sexo masculino (n=36) como feminino (n=40). Para o cortisol ao despertar obteve-se para o grupo masculino (M=25,62; DP=13,91) e para o grupo feminino (M=25,28; DP=14,23) e um t= -0,105.

Para o cortisol salivar aos 30 minutos depois de acordar se registrou para o grupo de crianças masculinas: M=34,72 nmol/L (DP=17,24) e para as femininas: M=38,81 nmol/L (DP=18,85), com valores de t=0,983. Com relação ao cortisol salivar aos 60 minutos depois de acordar, obteve-se para as crianças masculinas: M=27,95 nmol/L (DP=15,23) e femininas: M=31,14 nmol/L (DP=15,94), com t= 0.890. Finalmente para o cortisol das 23 h, obtiveram-se os seguintes valores para crianças masculinas: M=7,83 nmol/L (DP=11,93), e crianças femininas: M=6,96 nmol/L (DP=8,66), e um t=-0,366. Para nenhum dos grupos as diferenças observadas alcançaram significância estatística.

Tabela 4: Médias das concentrações de cortisol salivar observadas para cada horário de coleta de cortisol salivar, em crianças do sexo masculino e do sexo feminino (valores expressos em nmol/L).

Horário de coleta do cortisol		Masculino (N = 36)		nino 40)	Análise de Variância	Significância
	Média	DP	Média	DP	t	Р
Cortisol ao despertar	25,62	13,91	25,28	14,23	-0,105	Ns
Cortisol 30 minutos depois de despertar	34,72	17,24	38,81	18,85	0,983	Ns
Cortisol 60 minutos depois de despertar	27,95	15,23	31,14	15,94	0,890	Ns
Cortisol as 23 h	7,83	11,93	6,96	8,66	-0,366	Ns

**Tabela 5:** Diferença de médias, erro padrão e nível de confiança (95 %) observados para cada horário de coleta de cortisol salivar.

Horário de coleta do cortisol	N	Diferença	Erro padrão	Nível de confiança (95 %)
Cortisol ao Despertar	74	-0,34	3,235	-6,785 a 6,105
Cortisol 30 minutos depois de despertar	74	4,09	4,16	-4,198 a 12,378
Cortisol 60 minutos depois de despertar	74	3,19	3,586	-3,955 a 10,335
Cortisol as 23 h	74	-0,87	2,375	-5,602 a 3,862

Na figura 2 observa-se a resposta do cortisol salivar ao acordar e ritmo circadiano em crianças do sexo masculino e sexo feminino. No gráfico se pode perceber que há alguma diferença entre os grupos masculino e feminino, notando-se que no grupo de crianças do sexo masculino o CAR começa aumentando, e ligeiramente cresce, ate chegar a estabilizar e decrescer quando chega às 23 horas. Neste mesmo gráfico também se pode observar que existe diferença entre os limites mínimo e máximo e alguma dispersão na distribuição dos dados de oito indivíduos na coleta às 23 horas. Com relação ao grupo de crianças do sexo feminino pode-se observar uma dispersão ligeiramente diferente do grupo masculino, registrando-se valores menores de cortisol ao despertar, mantendo-se uma produção quase com os mesmos valores para a segunda coleta, e decrescendo quando se chega à terceira coleta. O gráfico para a coleta das 23 h se comporta quase igual ao grupo de crianças masculinas, observando-se alguma dispersão na distribuição dos dados de quatro indivíduos. Comparando os dois grupos masculino e feminino, se pode observar que no grupo feminino a produção de cortisol é maior no cortisol das 23 h, diferentemente das crianças masculinas, cuja produção de cortisol é menor. Nesta análise não houve valores estatisticamente significativos.

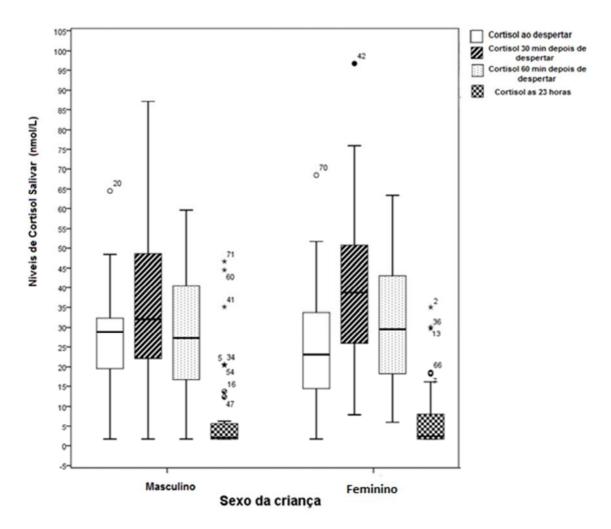


Figura 2. Resposta do cortisol salivar ao despertar e ritmo circadiano em crianças do sexo masculino e sexo feminino.

## 3.2.2 Análise multivariada (GLM) de medidas repetidas - Variável Sexo

Para a análise GLM o N foi de 67 (masculino = 31; feminino = 36). Foram colocadas como covariáveis, as variáveis: a) escore total do AUDIT atual da mãe; b) escore total do T-ACE da mãe na gestação; c) escore total do SRQ atual da mãe; d) escore total do QMPA da mãe na gestação; e) valor do IMC atual da criança e f) sexo da criança.

Observa-se influência da covariável T-ACE, indicando a importância do consumo de risco de álcool pela mãe na gestação na comparação entre sexos dos níveis de cortisol salivar do ciclo circadiano.

Na tabela seis, pode-se observar de todas as variáveis analisadas só o T-ACE tem associação significativa (F= 9,26; P=0,003). A variável SRQ total da mãe (F= 3,38; P= 0,071) e IMC (F= 3,36; P=0,072) da criança apresentaram um valor tendencial. As restantes variáveis não apresentaram associações significativas.

**Tabela 6:** Analises multivariada (GLM) de medidas repetidas de diferentes variáveis que influenciam a produção do CAR e ritmo circadiano por sexo da criança

Variável	Soma de quadrados	Df	Media	F	Р
Intercept	8731,20	1	8731,20	25,27	< 0,001
Audit-total	122,22	1	122,22	0,35	0,554
T- ACE	3200,134	1	3200,13	9,26	0,003
Srqtot	1169,70	1	1169,70	3,38	0,071
QMPA-TM	556,66	1	556,66	1,61	0,209
IMC	1162,33	1	1162,33	3,36	0,072
Sexo criança	336,64	1	336,64	0,97	0,328
Erro	20727,23	60	345,45		
N	67				

A figura três mostra a produção de cortisol salivar ao despertar e o ritmo circadiano, tanto para as crianças do sexo masculino como crianças do sexo feminino. No gráfico percebe-se claramente que no grupo feminino, a produção de cortisol é maior em comparação com o grupo masculino; as medidas de cortisol ao acordar no grupo feminino é relativamente maior que no grupo masculino, porém, começa a diminuir na coleta 30 minutos depois de acordar, até diminuir relativamente na última coleta das 23 horas.

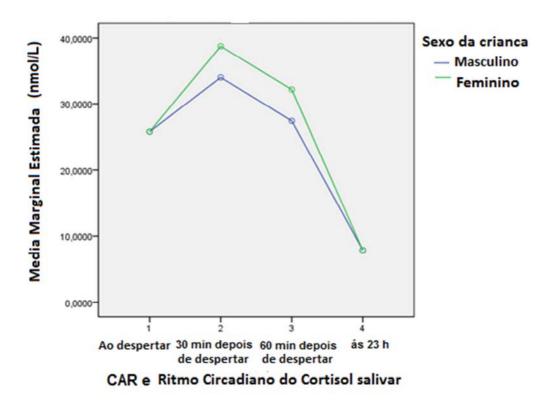


Figura 3. Avaliação do Cortisol Awakening Response (CAR) e ritmo circadiano em crianças do sexo masculino e feminino.

Além das análises de covariança foram feitas análises de GLM comparando o sexo da criança (ver Tabela 7), Índice de massa Corporal (Tabela 8), SRQ total (Tabela 9), T-ACE (Tabela 10) e CID (Tabela 11) com o CAR e Ritmo circadiano. Nessas análises encontrou-se os seguintes resultados para as variáveis: sexo da criança (F: 0,44; P: 0,505), Índice de massa corporal (F: 2,22; P: 0,141), SRQ total (F: 1,17; P: 0,282) e T-ACE (F:5,70; P: 0,19). Com exceção de sexo as demais não apresentaram diferenças significativas. Na avaliação do CID versus CAR e ritmo circadiano do cortisol foram encontradas diferenças significativas (F: 3,267; P: 0,042).

Ao analisarmos as concentrações de cortisol salivar do grupo CID negativo e positivo com o teste estatístico GLM (Ver Fig. 4) mostram-se diferenças significativas da produção do cortisol ao despertar (CAR) e ritmo circadiano entre crianças filhos de mães consideradas do grupo "CID negativo" e filhos de mães consideradas do grupo "CID positivo". O gráfico mostra os filhos de mães do grupo CID positivo apresentando níveis de cortisol salivar maiores ao despertar, mantendo-se com quase os mesmos valores depois de 30 minutos e 60 minutos ao despertar, diminuindo só às 23 horas. Contrário aos valores do grupo CID positivo, os filhos de mães CID negativo, apresentaram valores normais para a produção dos níveis de cortisol ao despertar (CAR) e ritmo circadiano.

Tabela 7: Análises de GLM da variável sexo da criança versus Cortisol Salivar

Variável	Soma de quadrados	Df	Media	F	Р
Intercept	186285,83	1	186285,83	479,11	< 0,001
Sexo da criança	174,10	1	174,10	0,44	0,505
Erro	28771,88	74	388,80		

Tabela 8: Análises de GLM da variável Índice de Massa Corporal versus Cortisol Salivar

Variável	Soma de quadrados	df	Media	F	Р
Intercept	11077,25	1	11077,25	28,70	< 0,001
IMC	857,77	1	857,76	2,22	0,141
Erro	25470,13	66	385,91		

Tabela 9: Analise de GLM das variáveis SRQ total versus Cortisol Salivar

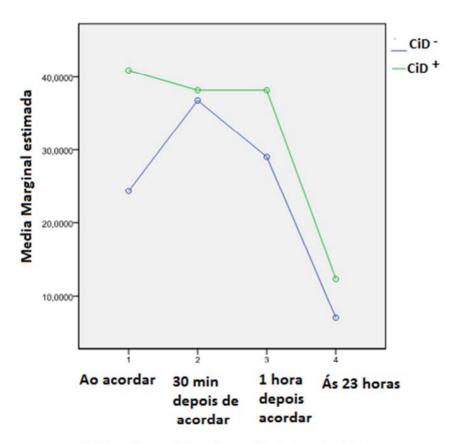
Variável	Soma de quadrados	df	Media	F	Р
Intercept	48053,15	1	48053,15	122,78	< 0,001
SRQ total	459,29	1	459,29	1,17	0,282
Erro	28176,90	72	391,34		

Tabela 10: Análise de GLM das variáveis T-ACE versus Cortisol Salivar

Variável	Soma de quadrados	df	Media	F	Р
Intercept	99474,92	1	99474,92	273,91	< 0,001
T-ACE	2072,38	1	2072,38	5,70	0,19
Erro	26873,59	74	363,15		

Tabela 11: Análise de GLM das variáveis CID versus Cortisol Salivar

Variável	Soma de quadrados	df	Media	F	Р
Intercept	60038,44	1	60038,44	160,26	0,684
CID	1223,99	1	1223,99	3,26	0,042
Erro	27721,99	74	374,62		



CAR e Ritmo Circadiano do Cortisol salivar

Figura 4. Avaliação do Cortisol Awakening Response (CAR) e ritmo circadiano em crianças cujas mães mostram qualquer diagnostico de uso nocivo ou dependência de álcool segundo a CID-10.

## 3.3 Níveis de cortisol em função do risco materno para FASD

A fim de verificar a relação entre os níveis de cortisol e a variável dicotômica "T-ACE" (positivo ou negativo) foi realizado um teste comparativo de médias com um total de 76 crianças através da análise de variância (t-tests), onde se identificaram diferenças para o cortisol ao acordar entre o grupo T-ACE negativo, com valor menor (N = 64; M = 24,20; dp = 13,06), e T-ACE positivo (N = 12; M = 37,40; dp = 17,88). A diferença observada não alcançou significância estatística, mas foi tendencial (t= -1,807; p = 0,075). Para o cortisol salivar aos 30 minutos depois de acordar, encontrou-se valor médio maior para o grupo T-ACE negativo (N = 64; M = 37,40; dp = 17,88) comparado com T-ACE positivo (N = 12; M = 34,04; dp = 19,84), registrando-se um t= 0.588. Para a variável cortisol salivar aos 60 minutos depois de acordar, encontrou-se valores próximos entre os grupos T-ACE negativo (N = 64; M = 29,77; dp = 15,17) e T-ACE positivo (N = 12; M = 28,91 dp = 18,36), registrando-se um t= 0,174. O cortisol às 23 horas apresentou valores médios menores para os filhos de mães do grupo T-ACE negativo (N = 64; M = 6,82; dp = 10,24) comparando com T-ACE positivo (N = 12; M =10,33; dp = 10,40), registrando-se um t=-1,086. Não se encontraram diferenças estatísticamente significativas.

### 3.3.1 Análises de variância (t-tests)

Na tabela 12 apresentam-se as análises de variância das médias dos valores de cortisol salivar para o grupo T-ACE negativo e T-ACE positivo. Deste grupo de valores só a variável cortisol ao acordar (M=24,40; DP=13,06; t=-1,807) apresenta um valor tendencial que se acerca a uma significância p=0,075. As demais variáveis não alcançaram diferenças significativas.

Tabela 12: Análises de variância (t-tests) para o grupo "T-ACE negativo" e "T-ACE positivo".

Horário de coleta cortisol	T-ACE	N	Media	Desvio Padrão	t	Р
Cortisol ao	Negativo	64	24,20	13,06	1 907	n = 0.075
despertar	Positivo	12	32,03	17,32	-1,807	p = 0,075
Cortisol 30	Negativo	64	37,40	17,88	0.500	no
minutos depois de despertar	Positivo	12	34,04	19,84	0,588	ns
Cortisol 60	Negativo	64	29,77	15,17	0.174	no
minutos depois de despertar	Positivo	12	28,91	18,36	0,174	ns
Cortisol às 23	Negativo	64	6,82	10,24	-1,086	ns
horas	Positivo	12	10,33	10,40		

Foi verificada também pela análise de variância (t-test) a associação entre os escores do sistema da classificação internacional de doenças (Grupo CID positivo e grupo CID negativo) para qualquer diagnostico de uso nocivo ou dependência de álcool com os níveis de cortisol (ao despertar, 30 minutos depois de despertar, 60 minutos depois de despertar e às 23 horas). Nessa análise encontrou-se que das quatro amostras, só o cortisol ao despertar apresentou diferenças significativas (t= -2,659; p=0,010), registrando valores menores para o grupo CID negativo (Media= 24,35; DP= 12,97) comparando com CID positivo (Media= 40,90; DP= 20,05) (ver Tabela 13).

Tabela 13: Análise de variância (t-test) para o grupo "CID negativo" e "CID Positivo".

Horário de coleta cortisol	CID	N	Media	Desvio Padrão	t	Р
Cortisol ao	Negativo	71	24,35	12,97	-2,659	0,010
despertar	Positivo	5	40,90	20,05	-2,059	0,010
Cortisol 30 minutos	Negativo	71	36,77	17,48	0.166	0,868
depois de despertar	Positivo	5	38,18	28,20	-0,166	
Cortisol 60 minutos	Negativo	71	29,02	15,44	4 074	
depois de despertar	Positivo	5	38,16	16,80	-1,271	0,208
Cortisol às 23	Negativo	71	7,02	10,02	-1,115	0,268
horas	Positivo	5	12,32	13,76	.,	

## 3.3.2 Análise multivariada (GLM) de medidas repetidas - Variável T-ACE

Na tabela 14 se apresenta uma análise multivariada de medidas repetidas para a variável T-ACE.

Tabela 14: Análise multivariada (GLM) de medidas repetidas para a variável T-ACE.

Variável	Soma de quadrados	df	Media	F	Р
Intercept	104619,671	1	104619,67	268,64	<0,001
T-ACE	127,97	1	127,97	0,32	0,568
Erro	28818,00	74	389,43		

A figura quatro mostra a média do valor do nível de cortisol ao despertar (CAR) e dos níveis do ritmo circadiano, durante diferentes tempos após acordar, em crianças filhos de mães classificadas como T-ACE negativo e T-ACE positivo. Os valores de cortisol no grupo de crianças filhos de mães T-ACE negativo, são maiores ao acordar e chegam a um valor alto de concentração durante os primeiros 30 minutos depois de acordar, para posteriormente decrescer depois de 60 minutos ao acordar e decrescer totalmente às 23 h da noite. O níveis de cortisol (CAR e ritmo circadiano) para as crianças filhos de mães classificadas como grupo T-ACE positivo, são maiores ao acordar, e se mantém constantes aos 30 minutos depois de acordar, para posteriormente ir decrescendo aos 60 minutos depois de acordar, até chegar a diminuir totalmente ás 23 horas.

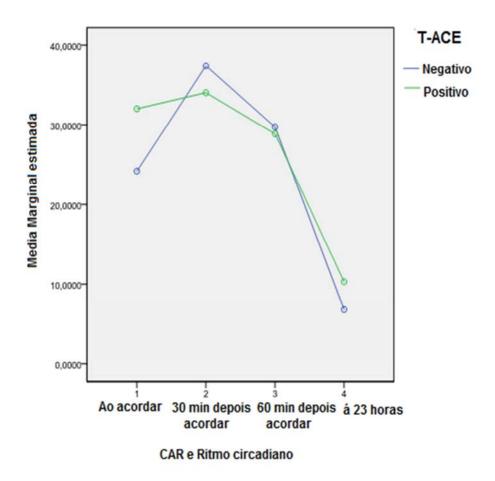


Figura 5. Médias do incremento absoluto dos níveis de cortisol salivar ao acordar (CAR) e ritmo circadiano em crianças filhos de mães T-ACE negativo e T-ACE positivo.

## 3.4 Níveis de cortisol em função do uso de álcool na gestação

## 3.4.1 Análises de variância (t-tests)

Na tabela 15 se apresentam os dados de cortisol salivar analisados quanto ao uso ou não uso de álcool na gestação e se pode afirmar que para as diferentes coletas de cortisol salivar: Cortisol ao acordar (p= 0,08); cortisol 30 minutos depois ao acordar (p= 0,05); cortisol 60 minutos depois ao acordar (p= 0,66); e cortisol às 23 h (p= 0,64), se encontrou diferença significativa para o cortisol 30 minutos após despertar e tendencial para o cortisol ao despertar. Para as demais medidas não se apresentaram diferenças significativas.

**Tabela 15:** Análise de variância (t-tests), com relação ao uso de álcool na gestação.

Horário de coleta de cortisol	Uso de álcool na gestação	N	Media	Desvio Padrão	t	Р
	Não	31	24,82	12,86	1 70	0.00
Cortisol ao acordar	Sim	26	30,95	12,84	-1,79	0,08
Cortisol 30 minutos depois de acordar	Não	31	35,30	15,18	2.02	0.05
	Sim	26	45,21	21,49	-2,03	0,05
Cortisol 60 minutos depois de acordar	Não	31	31,63	16,51	0.45	0.66
	Sim	26	33,44	13,75	-0,45	0,66
Cortisol às 23 horas	Não	31	7,56	10,59	-0,47	0,64
	Sim	26	8,98	12,13	-0,47	0,04

# 3.4.2 Análise multivariada (GLM) de medidas repetidas - Variável "Uso de álcool na gestação"

Na tabela 16 se apresenta uma análise multivariada de medidas repetidas do uso de álcool na gestação, observando-se que foi observada associação significativa ao comparar a variável do uso de álcool na gestação com os valores de cortisol (ao despertar, 30 minutos depois de acordar, 60 minutos depois de acordar e as 23 horas). O valor de significância foi de 0,049.

Tabela 16: Análise multivariada de medidas repetidas no uso de álcool na gestação

Variável	Suma de quadrados	df	Media	F	Р
Intercept	167832,69	1	167832,69	518,94	p < 0,001
Uso de álcool na gestação	1312,84	1	1312,84	4,05	0,049
Erro	17787,65	55	323,41		

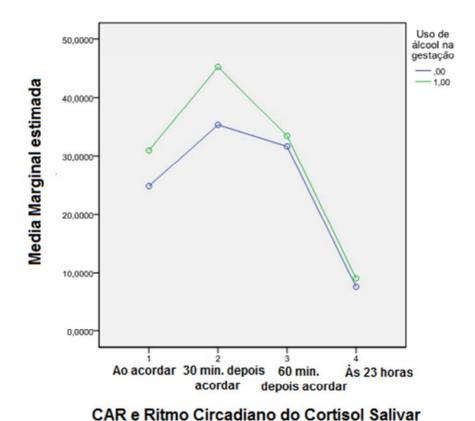


Figura 6. Concentrações de Cortisol Salivar ao despertar e ritmo circadiano em crianças que forem expostas ao álcool na gestação

Na figura seis observa-se que para as crianças que são filhos das mães que usaram álcool na gestação, os valores de cortisol ao acordar, 30 minutos depois de acordar, 60 minutos depois de acordar e as 23 horas, tiveram um aumento relativo em comparação com as crianças filhos de mães que não consumiram álcool na gestação. A análise GLM confirma o efeito de uso de álcool na gestação sobre a curva circadiana de níveis de cortisol salivar (p < 0,05).

## 3.4.3 Análises de Correlação

Ao serem correlacionados os valores obtidos de cortisol ao despertar, cortisol aos 30 minutos depois de despertar, cortisol após 1 hora do despertar e cortisol das 23h, com uso de álcool na gestação, AUDIT total, T-ACE, e CID-10, se obtiveram correlações significantes para os seguintes casos: teve correlação positiva para álcool na gestação com escore total do AUDIT, indicando que o escore maior do AUDIT se correlaciona com o consumo de álcool na gestação (r=0,48; p=<0,01); correlação positiva para álcool na gestação com T-ACE, indicando que quanto mais a mãe e considerada positiva para T-ACE, mas probabilidade de consumir álcool na gestação (r=0,88; p=<0,01); correlação positiva para álcool na gestação com CID, indicando que as mães que são consideradas, dentro da classificação internacional de doenças com diagnóstico de uso nocivo ou dependência, são consumidoras de álcool na gravidez (r=0,36; p=<0,01); correlação positiva para o nível de cortisol ao despertar com nível de cortisol aos 30 minutos depois de despertar, indicando que quanto maior o nível de cortisol ao despertar maior o nível de cortisol aos 30 minutos depois de despertar (r=0,51; p=0,01); correlação positiva para o nível de cortisol ao despertar com nível de cortisol aos 60 minutos indicando que quanto maior o nível de cortisol ao despertar maior o nível de cortisol aos 60 minutos depois de despertar (r=0,23; p=0,03); correlação positiva para o nível de cortisol ao despertar com AUDIT total, indicando que quanto maior a pontuação do AUDIT maiores os níveis de cortisol ao despertar (r=0,23;

p=0,04); correlação positiva para o nível de cortisol ao despertar com T-ACE, indicando que quanto maior o risco de FASD medido pelo T-ACE maiores os níveis de cortisol ao despertar (r=0,26; p=0,01); correlação positiva para o nível de cortisol aos 30 minutos depois de acordar com níveis de cortisol aos 60 minutos depois de despertar, indicando que quanto maior os níveis de cortisol aos 30 minutos depois de despertar maior os níveis de cortisol aos 60 minutos depois de despertar (r=0,56; p=0,01); correlação positiva para o nível de cortisol aos 60 minutos depois de acordar com a pontuação do T-ACE, indicando que quanto maior o risco de FASD indicado pelo T-ACE maiores os níveis de cortisol das crianças aos 60 minutos depois de despertar (r=0,22; p=0,05); correlação positiva para o nível de cortisol aos 60 minutos depois de acordar com a pontuação do AUDIT, indicando que quanto mais problemático o padrão de beber medido pelo AUDIT maiores níveis de cortisol das crianças aos 60 minutos depois de despertar (r=0,17; p=0,01).

Ao fazer a correlação dos seguintes parâmetros não se encontraram diferenças significativas: variável dicotômica de uso de álcool na gestação por nível de cortisol ao despertar (r=0,14; p=0,21); por nível de cortisol aos 30 m depois de despertar (r=0,09; p=0,40); por nível de cortisol aos 60 m depois de despertar (r=0,02; p=0,86); e por nível de cortisol às 23 horas (r=0,06; p=0,22). Idem para nível de cortisol ao despertar com nível de cortisol às 23 h (r=0,14; p=0,22); nível de cortisol ao despertar com a variável dicotômica de presença de diagnóstico CID-10 (r=0,20; p=0,08), embora tendencial; nível de cortisol aos 30 m depois de despertar por CID (r=0,03; p=0,75); Nível de cortisol aos 30 m depois de despertar por nível de cortisol aos 23 h (r=0,14; p=0,21); Nível de cortisol aos 60 m depois de despertar por T-ACE (r=0,13; p=0,26); Nível de cortisol aos 30 m depois de despertar por AUDIT Total (r=0,09; p=0,44); Nível de cortisol aos 60 m depois de despertar por CID (r=0,14; p=0,22).

**Tabela 17**:Correlação entre o cortisol ao despertar, 30 minutos depois de acordar, uma hora depois de acordar e às 23 h com os parâmetros de álcool na gestação, AUDIT total, T-ACE, e CID.

Correlações entre:	N	Rho	Р
Álcool na gestação x nível de cortisol ao despertar	72	0,14	0,21
Álcool na gestação x nível de cortisol aos 30 m depois de despertar	72	0,09	0,40
Álcool na gestação x nível de cortisol aos 60 m depois de despertar	72	0,02	0,86
Álcool na gestação x nível de cortisol as 23 horas	72	0,06	0,22
Álcool na gestação x Audit Total	70	0,48**	< 0,01
Álcool na gestação x T-ACE	72	0,88	< 0,01
Álcool na gestação x CID	72	0,36**	0,01
Nível de Cortisol ao despertar x nível de cortisol aos 30 m depois de	76	0,51**	<0,01
despertar  Nível de Cortisol ao despertar x nível de cortisol aos 60 m depois de despertar	76	0,23*	0,03
Nível de Cortisol ao despertar x nível de cortisol aos 23 h	76	0,14	0,22
Nivel de Cortisol ao despertar x Audit Total	74	0,23*	0,04
Nivel de Cortisol ao despertar x T-ACE	76	0,26*	0,01
Nivel de Cortisol ao despertar x CID	76	0,20	0,08
Nível de cortisol aos 30 m depois de despertar x nível de cortisol aos 60 m depois dedespertar	76	0,56**	<0,01
Nível de cortisol aos 30 m depois de despertar x nível de cortisol aos 23 h	76	0,14	0,21
Nível de cortisol aos 30 m depois de despertar x Audit Total	74	0,09	0,44
Nível de cortisol aos 30 m depois de despertar x T-ACE	76	0,22	0,05
Nível de cortisol aos 30 m depois de despertar x CID	76	0,03	0,75
Nível de cortisol aos 60 m depois de despertar x Audit Total	74	0,17	<0,01
Nível de cortisol aos 60 m depois de despertar x T-ACE	76	0,13	0,26
Nível de cortisol aos 60 m depois de despertar x CID	76	0,14	0,22
Nível de cortisol aos 23 h x nível de cortisol aos 30 m depois de despertar	76	0,14	0,21
Nível de cortisol aos 23 h x nível de cortisol aos 60 m depois de despertar	76	0,23 *	0,40
Nível de cortisol aos 23 h x Audit Total	74	0,01	0,89
Nível de cortisol aos 23 h x T-ACE	76	0,06	0,58
Nível de cortisol aos 23 h x CID	76	0,11	0,33

## 3.5 Avaliação da qualidade do sono em crianças com exposição pré-natal ao álcool por sexo

## 3.5.1 Analises de variância (t-test)

As análises com o questionário do sono foram feitas para fornecer à pesquisa uma noção da qualidade do sono das crianças, classificando-as como "bons" e "maus" dormidores e garantindo que os participantes não tiveram algum problema de distúrbio do sono que pudesse dar um falso positivo ao fazer as análises de cortisol.

Na tabela 18 se podem observar as diferenças de médias para cada um dos componentes do questionário de hábitos do sono nas crianças "The Children's Sleep Habits Questionnaire (CHSQ)", tanto para crianças do sexo masculino (n=36) como feminino (n=40). Observa-se que ao fazer as análises de variância relacionando os componentes do sono com o sexo das crianças expostas ao álcool na gestação, só se observaram diferenças significativas para resistência em ir para cama (p=0,01) e a duração do sono que mostrou um valor tendencial (0,06).

**Tabela 18:** Médias dos componentes do questionário de qualidade do sono (CHSQ) observados em crianças do sexo masculino e do sexo feminino.

Componentes do questionário de qualidade	Masculino (N = 36)		Feminino (N = 40)		Análise de Variância	Signifi- cância
do sono (CHSQ)	Média	DP	Média	DP	t	P
Resistência em ir para a cama	7,69	1,72	6,75	1,23	2,72	0,01
Inicio do sono	2,00	0,95	2,30	0,93	-1,37	0,17
Duração do sono	4,61	1,91	5,45	1,93	-1,89	0,06
Ansiedade associada ao sono	5,42	1,42	5,08	1,47	1,02	0,30
Despertares noturnos	3,28	0,65	3,33	0,82	-0,27	0,78
Parassônias	8,47	1,81	8,53	1,84	-0,12	0,90
Perturbação respiratória do sono	4,50	1,964	3,88	1,68	1,48	0,143
Sonolência diurna	14,08	3,589	14,95	3,88	-1,00	0,315
Escore total do Sono	47,53	6,814	48,00	7,61	-0,285	0,776

## 3.5.2 Análises de correlação

Foram feitas análises de correlação de Spearman com os componentes do questionário do sono (Resistência em ir para a cama, Inicio do sono, Duração do sono, Ansiedade associada ao sono, Despertares noturnos, Parassonias, Perturbação respiratória do sono, Sonolência diurna e Escore total do Sono) fazendo comparações com IMC, cortisol ao despertar, cortisol 30 minutos depois de despertar, cortisol 60 minutos depois de despertar e cortisol às 23 horas. Os resultados obtidos para este teste estatístico foram significativos só a associação entre Ansiedade do sono e níveis de cortisol salivar às 23 horas, registrando valores estatísticamente significantes de rho= 0,260 (p=0,02).

Também foram feitas análises de correlação com os componentes do questionário do sono: Resistência em ir para a cama, Inicio do sono, Duração do sono, Ansiedade associada ao sono, Despertares noturnos, Parassonias, Perturbação respiratória do sono, Sonolência diurna e Escore total do Sono e as variáveis SRQ total, AUDIT, CID-10 e QMPA-TM. Destas correlações, só se encontrou correlação positiva entre as variáveis, SRQ total e perturbação respiratória do sono, observando-se valor de rho= 0,277 (p= 0,017).

## 3.6 Síntese dos dados quantitativos com significância estatística

A Tabela 19 apresenta um panorama simplificado e abrangente dos resultados estatisticamente significativos das análises quantitativas.

**Tabela 19:** Síntese dos resultados estatisticamente significativos das análises quantitativas sobre as variáveis estudadas e o seu respectivo teste estatístico

Variáveis analisadas	N	Teste estatístico	Dado	s estatísticos		Р
Caracterização da amostra em função	do risc	o materno para "FASD"				
Mãe pratica religião versus T-ACE negativoe T-ACEpositivo	74	Chi-quadrado	:	X²: 5,609 df: 1		0,02
Distribuição dos níveis de cortisol em	função	do sexo das crianças				
Covariável T-ACE na produção do CAR e ritmo circadiano versus Sexo	67	Analises multivariada de medidas repetidas (GLM)		F: 9,264		0,003
Covariável Srq totalna produção do CAR e ritmo circadiano versus Sexo	67	Analises multivariada de medidas repetidas (GLM)		F: 3,38		0,07
Covariável IMC na produção do CAR e ritmo circadiano versus Sexo	67	Analises multivariada de medidas repetidas (GLM)		F: 3,36		0,07
Níveis de cortisol em função do r	isco ma	aterno para FASD				
Cortisol ao despertar versus T-ACE negativo e T-ACE positivo	76	Analises de variância (t- tests)	T-ACE Negativo T-ACE Positivo	Media: 24,20	t: 1,80	0,07
Cortisol ao despertar versus "CID	76	Analises de variância (t-	CID negativo	Media: 32,03 Media: 24,35		
negativo" e "CID Positivo".		tests)	CID positivo	Media: 40,90	t: -2,65	0,01
Níveis de cortisol em função do u Cortisol ao despertar versus uso de álcool na gestação Cortisol 30 minutos depois de despertar versus uso de álcool na gestação	76 76	álcool na gestação Analises de variância (t- tests) Analises de variância (t-tests)	Uso de álcool Não uso de álcool Uso de álcool Não uso de	Media: 24,82 Media: 30,95 Media: 35,30	t: -1,79 t:-2,03	0,08 <b>0,05</b>
		, ,	álcool	Media: 45,21		
Níveis de cortisol em função do r	isco ma	aterno para FASD		Db 0 40		- 0.04
Álcool na gestação versus AUDIT total	76	Correlação		Rho: 0,48		< 0,01
Álcool na gestação versus T-ACE	76	Correlação		Rho: 0,88		< 0,01
Álcool na gestação versus CID Níveis de cortisol ao despertar versus	76	Correlação		Rho: 0,36		0,01
Níveis de cortisol aos 30 min depois de despertar	76	Correlação		Rho: 0,51		< 0,01
Níveis de cortisol ao despertar versus Níveis de cortisol aos 60 min depois de despertar	76	Correlação		Rho: 0,23		0,03
Níveis de cortisol ao despertar versus AUDIT-total	76	Correlação		Rho: 0,23		0,04
Níveis de cortisol ao despertar versus T-ACE Níveis de cortisol aos 30 min depois	76	Correlação		Rho: 0,26		0,01
despertar versus níveis de cortisol aos 60 min depois de despertar	76	Correlação		Rho: 0,56		< 0,01
Níveis de cortisol aos 30 min depois despertar versus T-ACE	76	Correlação		Rho: 0,22		0,05
Níveis de cortisol aos 60 min depois despertar versus AUDIT Total	76	Correlação		Rho: 0,17		< 0,01
Avaliação da qualidade do sono em cria	anças c	om exposição pré-natal				
ao álcool por sexo			Resis-	Media		
		Analises de variância (t-test)	tência Ĉ em ir	7,69	2,72	0,01
Avaliação da qualidade do sono em crianças com exposição pré-natal	76	(t test)	para a p	Media 25,28	2,12	0,01
aoálcool por sexo		Analises de variância (t-test)	Duraçã o do sono ♀	Media 5,45 Media 4,61	· 1.89	0,06
Ansiedade do sono versus níveis de cortisol salivar às 23 horas,	76	Correlação		Rho: 0,260		0,02
SRQ total versus perturbação respiratória do sono	76	Correlação		Rho: 0,277		0,01

**DISCUSSÃO** 

## VII. DISCUSSÃO

O presente estudo é longitudinal e prospectivo, o qual é importante salientar que é um delineamento complexo, que parte de um projeto iniciado em 2001 sobre exposição fetal ao álcool durante a gestação.

Nosso estudo é um trabalho original, pioneiro, cujos estudos relacionados a este tema são poucos e a maioria dos que existem foram feitos com experimentos em modelos animais (KIM et al., 1999a; KIM et al., 1999b; SCNHIEDER et al., 2002; PARK et al., 2004; SCHENEIDER; MOORE; KRAEMER, 2004; IQBAL et al., 2005; TAYLOR et al., 2006; HANDA; ZULOAGA; MCGIVERN, 2007; KRAEMER et al., 2008; RAMADOS et al., 2008; SLIWOSKA et al., 2008; HELLEMANS et al., 2010; HEWITT et al., 2010; LIANG et al., 2011) (Ver Tabela 20).

Poucos estudos relacionados a crianças expostas durante a gravidez têm sido feito em humanos (RAMSAY, et al. 1996; JACOBSON, et al. 1999; ELLIS E COLE-HARDING, 2001;ZHANG; SLIWOWSKA; WEINBERG, 2005; HALEY, et al. 2006; HELLEMANS, et al. 2010; ALVIK, et al. 2010; OUELLET-MORIN, et al. 2011; REYNOLDS, et al. 2011; BOSCH, et al. 2012) (Ver tabela 21). Nosso estudo tem pontos fortes, já que a amostra é homogênea quanto a faixa etária (12 anos), e se tem uma ampla base de dados com informações sociodemográficas e de saúde (dados sociodemográficos, saúde materna geral, história gestacional e saúde mental materna) além de informações sobre consumo de álcool na gestação (coletados por meio do questionário T-ACE, de questionário para avaliação do padrão do uso por quantidade, frequência e período gestacional, e da avaliação de uso nocivo ou dependência ao álcool de acordo com a Classificação Internacional de Doencas - CID-10); foram ainda obtidas informações sobre tabagismo e uso de outras substâncias psicoativas. A complexidade e o banco completo da amostra torna relevante o nosso estudo pois oferece vantagem ao fazer comparações, já que reduz vieses na curva de distribuição normal de uma população ao fazer as análises estatísticas.

**Tabela 20:** Detalhamento das características dos estudos em animais com exposição pré-natal ào álcool.

Autores	Tipo de amostra	Descrição	Principais resultados
Kim et al., 1999	Ratos adultos macho e fêmea (150-180 dias de idade)	Hipótese de que a deficiência do feedback negativo do eixo HPA que ocorre após a exposição ao etanol pré-natal pode ser devido a uma diminuição da densidade de receptores de corticosteróides em sitios do feedback HPA.	Em ratos machos e fêmeas foi encontrado aumentos nos níveis (TRH) de mRNA de hormônio liberador de tireotrofina núcleo para ventricular após estresse causado pelo frio.
Schneider et al., 2002	Macacos Rhesus	Avaliouse o estresse psicossocia Idurante a gravidez (sozinho ou em combinação com exposição fetal ao álcool) tem consequências negativas para prole.	O aumento da atividade do eixo HPA em resposta a condições de estresse e exposição ao álcool prénatal, reduz a atenção e capacidades neuromotoras da prole durante oprimeiro mês de vida.
Schneider; Moore; Kraemer et al. 2004	41macacosrhesus( <i>Macac amulatta</i> ) de seis meses de idade	Examinou-se a relação entre nível de exposição prénatal moderada ao álcool, estresse pré-natal e resposta pós-natal a um evento de SFA em macacos rhesus de seis meses de idade	A prole expostaao álcoolpré-natal, o estresse pré- natal, ou ambas variaveisapresentaram redução na adaptação comportamental ao estresse.
Iqbal et al.,2005	Porcas de guinea grávidas	A hipótese de que a exposição pré-natal crônica ao álcool provoca mudanças de longa duração na sinalização do glicocorticóides na prole no periodo pós-natal	Incremento excessivo da concentração de cortisolmaternopela administração do etanol causa um impacto negativo no cérebro do feto em desenvolvimento, levando a déficits pós-natais persistentes na regulação do glicocorticóide da sinalização glutamato no hipocampo de adultos.
Glavas et al.,2006	Ratos Sprague–Dawley macho e fêmea	Examinou o papel dos déficits do feedback do CORTna mediação da hyperresponsividade examinando a função HPA, mineralocorticóide(MR) e o bloqueio do receptor glicocorticóide(GR)	Incremento dos receptores mineralocorticóides(MRS) do HPAeosreceptores de glicocorticóides(GRS) em ratas expostas ao álcool.
Taylor et al., 2006	Ratos	Tem a hipótese que a ativaçãodo eixo HPA materno pode desempenhar um papel no desenvolvimento em longo prazo dos efeitos do etanol.	O etanol atual sobre o eixo HPA materno, causando no feto um efeito tóxico direto durante períodos críticos de desenvolvimento, os efeitos em longo prazo, ou por causa da resposta de stress que e induzida na mulher grávida.

## Continuação (Tabela. 20)

Autores	Tipo de	Descrição	Principais resultados
Autores	Amostra	Descrição	1 Thicipais Tesuitados
Handa; Zuloaga;	Ratos de idade de	Examinaram-se as possíveis conseqüências funcionais	A exposição ao etanol durante o período de
Mcgivern., 2007	quatro, oito e vinte meses	da interferência do etanol com a diferenciação do hipotálamo e os efeitos em longo prazo da exposição pré-natal ao etanol em ritmos circadianos basais da temperatura corporal e da frequência cardíaca.	desenvolvimento do hipotálamo pode alterar a regulação em longo prazo de ritmos circadianos em sistemas fisiológicos específicos
Kraermer et al.,2008	41 filhotes, 23 fêmeas, 18 macacos machos	Determinar se a exposição fetal ao álcool moderada interage com polimorfismos do gene transportador de 5-HT para aumentar a incidência ou severidade dos efeitos de álcool fetal em macacos rhesus	Portadores do alelo <b>s</b> expostos ao álcool na gestação apresentaram maior irritabilidade neonatal e aumento do ACTH e níveis de cortisol
Ramados et al., 2008	Ovelhas prenhas	Caracterizou as respostas hormonais maternos do HPA eHPTem ovelhas prenhas com exposição de álcool "binge drinking" durante todos os três trimestres da gravidez.	O consumo de álcool materno em qualquer momento durantea gestação estimula o eixo HPA; alterações na função da tireóide fetal em resposta à exposição ao álcool não acontecem como resultado da contribuição de hormônio tireoidiano maternodiminuída
Sliwoska et al., 2008	Ratas prenhas	Examinou os efeitos moduladores dos hormônios sexuais sobre a regulação basal HPA basal e receptor Tipo 1A da serotonina(5-HT1A), níveis de RNAm em ratas adultas expostos ao etanol pré-natal em relação às fêmeas em exposição ao álcool	Os níveis basais de cortisol foram maiores nas ratas adultas com pré-natal exposição ao etanol. Encontrouse conseqüências de longa duração da exposição prénatal ao etanol para corticosterona basal (CORT) regulamentação e níveis basais de mineralocorticóide hipocampal(MR), glicocorticoides(GR)e serotonina tipo 1A(5-HT1A).
Hewitt et al., 2010	Porcas de guinea prenhas Dunkin– Hartley-strain	A hipótese de que a exposição crônica ao etanol, aumenta a expressao do citocromo P4502E1(CYP2E1) e a atividade do eixo(HPA) no binômio materno-fetal duranteo terceiro trimestre de gestação.	Exposição crônica ao etanol aumenta a atividade do fígado CYP2E1,sem afetara função do eixoHPA, no binômio materno-fetal durante a proximidade do fim da gestação; no entanto aumenta a atividade do fígado CYP2E1 estress oxidativo no binômio materno-fetal.
Liang et al., 2011	32 camundongos prenhas	Investigar os efeitos do exposição pré-natal ao etanol sobre o eixo HPA materno e fetal assim como a deshidrogenase 11-hidroxisteroide tipo2 placental,(11-HSD-2) e para esclarecer o mecanismo IUGR induzida por o etanol	A exposição pré-natal ao etanol induz uma inibição da atividadedo eixo HPA fetal, peso corporal fetal diminuiu significativamente e a redução do crescimento intrauterino aumentou.

**Tabela 21:** Detalhamento das características dos estudos em humanos com exposição pré-natal ào álcool.

Autores	Participantes	Descrição	Principais resultados
Ramsay et al., 1996	Bebês de dois e seis meses de idades 26 bebês (15 meninas, 11 meninos).	Se examinou o efeito de exposição ao álcool e cigarro em bêbes na reatividade adrenocortical ào estresse infantil.	Álcool pré-natal e/ou exposição ao cigarro está associada com o sistema de hiporreatividade adrenocortical ao stress aos 2 meses de idade, mas o efeito não se apresenta àos 6 meses de idade.
Jacobson et al., 1999	83 cidadãos Afro- americanos Criançasde 13meses de idade	Avaliação dos efeitos de exposição pré-natal ao álcool e à droga na reatividade ao estresse infantil.	Crianças com exposição ao álcool apresentaram níveis basais elevados e relacionados com níveis elevados de cortisol poststress.
Ellis e Cole- Harding 2001	7500 mães e filhos	Determinar-se que o stress pré-natal pode ser uma das causas das variações na orientação sexual em seres humanos, individualmente e correlacionando-lo com a exposição pré-natal ao álcool e nicotina.	Efeito sobre a orientação sexual da prole masculina, especialmente quando o estresse ocorreu durante o primeiro trimestre da gravidez.
Zhang et al.,2005	Crianças	Efeitos adversos produto da exposição pré-natal ao álcool na função neuroendócrino e imunológica, com especial ênfase no eixo HPA e o conceito de programação fetal.	Álcool afectou a competência imune e o aumento da vulnerabilidade dos descendentes expostas ao etanol para os efeitos imuno supressores do stress.
Haley et al., 2006	Crianças de cinco a sete meses de idade	Examinou-se os efeitos da exposição pré-natal á álcool na resposta ao estresse pela ativação de (L-HPA) e sistema nervoso autônomo e durante um de SFA sócio-emocional em crianças.	O aumento no nível de cortisol difere para meninos e meninas e causa reatividade, ritmo cardíaco elevado, e efeito negativo em crianças.
Ouellet-Morin et al., 2011	130 crianças 19 meses de idade	Examinar a associação entre a baixa exposição pré- natal ao álcool e a resposta do cortisol em situações pouco familiarese m crianças e determinar se esta associação foi influenciada por sexo e níveis de testosterona.	Os machos expostos ao álcool na gestação apresentaram padrões discontinuo da atividade do cortisol e observou-se que a testosterona tende a estar associada negativamente com a resposta do cortisol, mas isto nao se observou em machos com exposição prenatal ao álcool
Reynolds et al., 2011	Crianças femininas e masculinas de 5 a 18 ano de idade	A hipótese de que disfunções neurocomportamental e neurobiológicas induzidas pela exposição ao álcool gestacional estão correlacionados com a base genética da criança afetada e / ou modificações epigenéticas na expressão gênica	A identificação de marcadores genéticose / ou epigenéticas que são preditivos da gravidade dos déficits cognitivos e comportamentais em crianças afetadas por exposição ao álcool gestacional causam um profundo impacto sobre a nossa capacidade de identificar as crianças sem risco.
Bosch et al., 2012	Adolescentes de 16 anos de idade	Analisou-se a influência da adversidades durante diferentes períodos de tempo (pré/pós-natal, e da interação entre pré/pós-natal e a resposta posterior na producção do cortisol ao estresse em adolescentes.	Adversidades durante as idades de 0-5 não foram associados a resultados de cortisol. Adversidades durante as idades 6-11 foram associados com um alto nível de cortisol, em especial em aqueles expostos a adversidade pré/pós-natal, en quanto adversidades duranteas idades12-13 e 14-15 foram associados com um nível de cortisol baixo.

Com relação às dificuldades, houve algumas dificuldades no recrutamento feito através do banco de dados original, já que tinham se passado 12 anos e grande número de telefones estavam desatualizados, não existiam mais, ou não pertenciam mais ao mesmo assinante. Algumas mães tinham mudado de cidade ou tinham falecido, exigindo um grande esforço por parte do grupo de pesquisa para a atualização do banco de dados.

Diversos meios foram utilizados para a atualização, como o uso de base de dados de serviços de saúde, listas de telefone impressas e pela internet.

As principais justificativas para as faltas foram: a impossibilidade de faltar ao trabalho, impedimentos de saúde, dificuldades de transporte (como p. ex., precisar de vários ônibus para chegar ao local da avaliação), e achar indesejável que o filho falte à escola. Por outro lado, teve momentos em que as mães concordavam participar da pesquisa, mas posteriormente desistiam, exigindo grande esforço de busca e de gerenciamento dos contatos.

A exposição pré-natal ao álcool tem sido associada a prejuízos no desenvolvimento cognitivo do feto e repercute na saúde da criança (TAYLOR et al., 2006). Isto tem sido provado por vários pesquisadores, usando modelos animais, os quais servem de referencia como modelo para extrapolar e realizar pesquisa em humanos relacionados ao uso de álcool durante a gravidez e as possíveis sequelas que começam a aparecer em filhos, quando entram no período da puberdade.

Esta pesquisa é um estudo pioneiro, que mostra como o álcool na gestação, pode causar sequelas, que na maioria dos casos para os pacientes denominados FASD, só se torna perceptível quando a criança entra na puberdade e começa a mostrar problemas de concentração, déficits de atenção, problemas de comportamento, depressão infantil, ansiedade, e outras condições de saúde mental,

que também são comuns e podem ser ou manifestações das alterações cerebrais primárias ou podem ser secundárias às alterações neurocomportamentais cumulativas com outras deficiências ambientais. A combinação desses déficits funcionais leva a problemas graves de adaptação em casa, na escola, no trabalho e na sociedade (REYNOLDS et al. 2011).

#### 1 Características da amostra

Em relação à amostra em estudo, verificou-se que ao fazer as análises estatísticas de Chi-quadrado e comparando se existem diferenças significativas para as mães que praticam religião versus mães classificadas nos grupos "T-ACE negativo" e "T-ACE positivo", encontrou-se diferenças significativas entre estes dois grupos (p=0,01). Um estudo feito por Michalak, Trocki e Bond (2007), examina o fato de porque as mães praticantes de religião não consumem álcool na gestação. O estudo avaliou se a religião influía no consumo de álcool, e chegou à conclusão que a religião é importante para comportamentos normativos quanto ao uso de bebidas, especialmente favorecendo a abstenção.

#### 2 Variáveis clínicas

### 2.1 Saúde mental materna

Também foram realizados testes multivariados, onde se avaliou a influência dos escores das seguintes covariáveis: escore total do AUDIT atual da mãe; escore total do T-ACE da mãe na gestação; escore total do SRQ atual da mãe; escore total do QMPA da mãe na gestação, escore do IMC atual da criança em função do sexo da criança, na produção do cortisol salivar e ritmo circadiano. Nesses testes, só o

sexo da criança apresentou significância (0,03) e as variáveis Índice de massa corporal e SRQ atual das mães (indicativo da presença de sintomas emocionais), forneceram um valor tendencial de significância, respectivamente, 0,071 e 0,0072. Para a variável SRQ atual das mães é possivel que a amostra que avaliamos tenha sido muito pequena para poder ter obtido um valor significativo; provavelmente, se a amostra avaliada fosse maior, é provável que tivéssemos obtido significância ao analisar estas variáveis, já que alguns autores (AZAR, et al. 2007; BRENNAN et al., 2008; LUPIEN et al., 2000; YOUNG ET AL., 2006) verificaram que a depressão materna afetou tanto os níveis de cortisol diurnos quanto sua reatividade, nos filhos.

Além desses estudos, O'Donnell et al. (2013), informam que num estudo feito com 889 adolescentes de 15 anos de idade, encontrou-se que a ansiedade pré-natal e depressão pré-natal materna foi associada com uma alteração modesta do nível de cortisol diurno, observando-se uma redução da resposta do cortisol ao despertar. Outro estudo feito por Luijk et al. (2010), não observou relação entre sintomas psiquiatricos com incremento nos niveis de cortisol, porém observou-se no entanto, um efeito de interação das crianças com uma relação de apego resistente em mães deprimidas com uma reatividade maior do cortisol.

#### 2.2 Saúde da criança

A saúde da criança exposta ao álcool na gestação tem sido avaliada e foi observado num estudo feito por Sood et al. (2001), crianças de 6-7 anos de idade que mostraram problemas de comportamento (agressão e deliquência) com níveis médios de exposição pré-natal e mesmo tão baixos quanto uma bebida por semana. Apenas alguns estudos em humanos têm examinado os efeitos do consumo de álcool durante a gravidez sobre o eixo HPA, para o desenvolvimento da criança.

Estudos como o de Root et al. (1975) sugeriram que as concentrações de cortisol plasmático estariam dentro da normalidade em crianças com SFA. Outros estudos feitos por Jacobson et al. (1999) em crianças de poucos meses de idade (13 meses) mostrou que o beber na gravidez está associado a concentrações superiores basais (coleta de sangue) de cortisol. Outro estudo encontrou resultados similares onde se observou que níveis de cortisol basal também foram maiores em crianças de 2 meses de idade, expostos in utero ao etanol ou ao tabaco (RAMSAY et al., 1996).

Recentemente, Haley, Handmaker e Lowe (2006) examinaram bebês de cinco a sete meses de idade, quanto a, cortisol, frequência cardíaca e afeto negativo. Eles descobriram que a maior parte das criancas avaliadas com exposição ao etanol tiveram resultados elevados de maior reatividade ao cortisol, fregüência cardíaca, e afeto negativo elevado.

De forma diferente ao observado em nosso estudo, esse autor encontrou que os meninos mostraram maiores mudanças no cortisol do que as meninas, apresentando resultados diferentes que os encontrados em nossa pesquisa, onde as meninas tiveram niveis de CAR e ritmo circadiano mais elevados em comparação com os meninos. Estes achados mostram que diferenças entre os sexos podem ocorrer mesmo antes da puberdade. Resultados similares aos encontrados por Haley, Handmaker e Lowe (2006) foram achados por Oullet-Morim et al. (2011), onde se encontrou que crianças masculinas expostas ao álcool durante toda a gestação, apresentaram diferenças significativas para os níveis altos de cortisol em comparação com crianças masculinas não expostas ao álcool ou com exposição moderada. Esta associação não estava presente para as meninas.

Oullet-Morim et al. (2011) sugere um mecanismo potencial dependente de esteróides que modifica a atividade do eixo LHPA nas criancas do sexo masculino com exposição pré-natal ininterrupta ao álcool, mas não nas crianças do sexo feminino. Esse estudo demonstrou a associação entre níveis moderados de testosterona, exposição pré-natal ao álcool, sexo e resposta do cortisol em situações desconhecidas.

As possíveis explanações para essas descobertas podem ser por mudanças nos componentes específicos da resposta ao estresse, que podem afetar de forma diferente homens e mulheres (Kelly e Dillingham, 1994). Por exemplo, a exposição aguda ao estresse reduz a norepinefrina cortical e aumenta a epinefrina do hipocampo tanto em machos como fêmeas expostas ao àlcool na gestação, mas está associada com menos norepinefrina hipotalâmica apenas em fêmeas expostas ao àlcool na gestação (Rudeen e Weinberg, 1993). Além disso, os contextos em que as respostas ao estresse são extraídas podem levar a associações entre dimorfismo sexual, exposição prenatal ao álcool e atividade do eixo LHPA.

Estudos feitos por Lumeng et al. (2007), apresentam resultados que guardam alguma similaridade com os encontrados em nosso estudo, já que eles observaram que o consumo diário do álcool se relaciona com o peso e a estatura, e isto poderia estar relacionado com a significância tendencial que mostraram as análises com o índice de massa corporal. Provavelmente, se nossa amostra fosse maior, a comparação destas variáveis teria fornecido resultados significativos.

## 2.3 Uso do álcool materno

Nossos resultados mostraram diferenças significativas no cortisol ao despertar de crianças que foram classificadas como filhos de mães do grupo "CID Positivo" (uso nocivo ou dependência de álcool). Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Netherton et al. (2004) que encontrou que as meninas e os meninos tinham níveis de cortisol comparáveis no início da puberdade mas as meninas tiveram maiores níveis de cortisol que os meninos após a puberdade. Porém, estudos feitos por Rosmalen et al. (2005) apresentam resultados contrastantes, já que ele encontrou na amostra que ele estudou que nem a resposta de cortisol ao despertar, nem nenhuma das medições individuais de cortisol feitas na pesquisa foram influenciadas pela puberdade; esses resultados estão de acordo com os encontrados por Bartels et al. (2003), onde foram avaliadas 360 crianças holandesas na mesma faixa etária e que não apresentaram diferenças de produção de níveis de cortisol por diferenças de desenvolvimento puberal.

Utilizando modelo linear de correlação, nossos resultados encontraram que a variável uso de álcool na gestação versus AUDIT total, versus T-ACE e versus diagnóstico pela CID-10, apresentaram associações estatísticamente significantes.

Os desfechos de nossa pesquisa acerca do uso de álcool na gestação, versus AUDIT, T-ACE e CID tem similaridade com dados apresentados no trabalho de Skagerstrom, Chang & Nilsem (2011) e Goransson et al. (2003), onde se observou que mães que foram avaliadas por consumo de alto risco, tendem a consumir álcool durante a gravidez.

### 3 Cortisol salivar (CAR e ritmo circadiano)

Ao realizar testes estatísticos de análise de variância (t-tests), nossos resultados também mostraram um valor tendencial ao comparar os níveis de cortisol ao despertar em crianças filhos de mães consideradas T-ACE negativo e T-ACE positivo. Observamos resultados similares num estudo realizado por Jacobson, Bihun e Chiodo (1999), com uma amostra total de 86 crianças afro-americanas de área urbana central, de 13 meses de idade. Esse estudo mostrou que estas crianças

apresentavam níveis de cortisol alto. Ramsay et al. (1996) encontraram em seu estudo que crianças de dois meses de idade expostas ao álcool na gestação apresentaram elevados níveis de cortisol basal, porém ao avaliar estas mesmas crianças as seis meses de idade, este efeito não se manteve.

Outros estudos relatam que crianças de 13 meses de idade expostas ao àlcool na gestação apresentaram niveis de cortisol basal elevado (Jacobson et al., 1999). Observou-se uma maior reatividade do cortisol em crianças de cinco a sete meses de idade expostas ao àlcool na gravidez, mas apenas em meninos nascidos de bebedoras de alta frequência versus bebedoras de baixa frequência (Haley et al., 2006).

Em relação às análises de cortisol ao despertar em crianças filhos de mães que consumiram ou não álcool na gestação, encontrou-se diferença tendencial (p=0,08). Porém, para as amostras coletadas 30 minutos depois de despertar se encontrou diferença significativa (p=0,05). Estas diferenças entre estas duas amostras, é possível que sejam devidas a variação de horário, já que o cortisol ao despertar é bem estável (WUST et al., 2000; CLOW et al., 2004). A resposta do cortisol ao despertar parece relativamente pouco afetada pela duração do sono, tempo de despertar, qualidade do sono, método de acordar (espontaneamente ou alarme), por atividades ou rotinas físicas de manhã (se os sujeitos se levantam imediatamente ou se ficam na cama por 15 min) (PRUESSNER et al., 1997; CLOW et al., 2004). A resposta do cortisol ao despertar está significativamente correlacionada com a resposta adrenocortical ao ACTH e parece capaz de revelar diferenças sutis interindividuais na regulação do eixo HPA (SCHMIDT-REINWALD et al., 1999).

A resposta do cortisol ao despertar aparece sob uma influência reguladora muito diferente do perfil diurno. Por exemplo, a resposta do cortisol ao despertar está sob a influência genética, enquanto que os níveis de cortisol à noite são principalmente devido a influências ambientais (WUST et al., 2000; BARTELS et al., 2003).

De fato, foi mostrado que a dinâmica da resposta ao despertar não está relacionada com a média do nível de cortisol subjacente às atividades ao longo do resto do dia (EDWARDS et al., 2001).

### 4 Análises de correlação

Com relação às análises de correlação pode-se observar que os níveis de cortisol ao despertar tiveram correlação altamente significativa (p< 0,01) com os níveis de cortisol aos 30 minutos depois de despertar e correlação positiva com os niveis de cortisol aos 60 minutos depois de despertar (p=0.03). O àlcool pode influenciar num incremento na produção de cortisol já que um estudo feito em crianças pré-escolares normais observou uma produção baixa de cortisol na parte da manhã (DETTLING; GUNNAR; GONZELLA, 1999; LUNDBERG et al., 1993; GUNNAR & GONZELLA, 2002), não se observando aumento dos níveis do cortisol depois de despertar.

Com relação às variáveis, AUDIT Total e T-ACE, observou-se uma correlação positiva com associações significativas tanto para o cortisol ao despertar como também para o cortisol aos 30 minutos depois de despertar, onde percebe-se claramente que quanto maior o consumo excessivo de álcool pela mãe na gestação maiores os níveis de cortisol ao despertar e aos 30 minutos depois de despertar nos filhos. Em geral são poucos os estudos que relacionam a produção de cortisol com a exposição ao álcool, (JACOBSON et al., 1999; RAMSAY, et al., 1996; OULLET-MORIM, et al. 2011). Esses autores relatam que bebês expostos ao álcool pré-natal apresentam níveis de cortisol basal superior a crianças não expostas. Jacobson et al. (1999) verificaram, por exemplo, que em crianças de 13 meses de idade o consumo moderado de álcool esteve relacionado com os níveis de cortisol basal elevados.

Com relação à correlação de aumento do cortisol aos 30 minutos depois de despertar versus cortisol aos 60 minutos depois de despertar, pode se dizer que quanto maiores os níveis de cortisol nas primeiras horas da manhã, maiores serão os níveis de cortisol nas coletas matinais posteriores. Um estudo feito com crianças com TDAH de 10-12 anos de idade (FREITAG et al., 2009) obteve resultados similares à pesquisa feita por Decaro & Worthman (2008) com crianças de 5-7 anos de idade e com nossa pesquisa, já que registrou um aumento dos níveis de cortisol aos 30 minutos depois de despertar. Outros estudos diferem destes resultados já que numa pesquisa com 74 crianças saudáveis de 10 anos de idade, feita por O'Connor et al. (2005), se observou diminuição dos níveis de cortisol, relatando resultados similares ao estudo feito por Rosmalen et al. (2005), quando se avaliou crianças de 10-12 anos idade.

# 5 Avaliação da qualidade do sono em crianças com exposição pré-natal ao álcool por sexo

As análises de variância relacionando os componentes do sono com o sexo das crianças expostas ao álcool na gestação indicaram diferenças significativas quanto a, resistência em ir para cama (p=0,008) e duração do sono (que mostrou um valor tendencial, p=0,062). Matsuoka et al. (2013) encontrou diferenças significativas

em escores totais do questionario CSHQ, num estudo feito em crianças com transtornos de desenvolvimento, assim como diferenças significativas nas médias da ocorrência de parassonias, e perturbação respiratória do sono, em comparação com crianças do grupo controle. Similar á nosso estudo, encontrou-se que a resistência na hora de ir para a cama, apresentou diferenças significativas, porém as outras variáveis como, pontuação total do CSHQ, início do sono e sonolência diurna pioraram com o aumento da idade em crianças com distúrbios do desenvolvimento, observando-se uma não alteração destes parâmetros ou melhoras à medida que as criancas aumentavam de idade.

Por outro lado, é difícil fazer comparações com outros trabalhos já que são poucos os estudos sobre o sono feitos em criancas com exposição pré-natal ao álcool. A maioria dos estudos mencionam relatos dos pais, onde se sugere que crianças com SFA frequentemente têm problemas de sono persistentes, mas a prevalência exata não é clara. Na literatura são citados poucos estudos, como por exemplo, o de Stade et al. (2008), que examinou as crianças com SFA e avaliou o atraso do início do sono, duração do sono e outros distúrbios do sono. Mais recentemente foi feito um trabalho por Goril e Shapiro (2011) onde se encontrou evidências de padrões interrompidos de sono em crianças com SFA, incluindo diminuição da eficiência do sono, aumento de despertares noturnos, aumento da fragmentação do sono e diminuição da fase Rapid Eye Movement (REM) do sono. Os resultados anormais do teste Dim Light Melatonin Onset (DLMO) sugerem possível desregulação do ritmo circadiano.

Não se encontrou diferenças significativas entre as variáveis dos níveis de cortisol e os componentes do sono, provavelmente devido ao tamanho pequeno da amostra e dos componentes do questionário do sono, que podem ter influenciado a

força estatística das análises e contribuído para um viés relacionado aos resultados. Além disto, é possível que as alterações no sono de crianças expostas ao álcool na gestação sejam mais perceptíveis em crianças de menor idade do que em crianças pré-adolescentes. Esta afirmação é baseada em estudos feitos por vários autores (ECHER; RICHARDSON; DAY, 2000; ROSETT et al., 2007; ALVIK et al., 2011) que encontraram que exposição pré-natal ao álcool perturba os mecanismos reguladores do sono infantil, e causa mais problemas de sono em recém-nascidos, crianças de um ano de idade e crianças de oito anos de idade.

CONCLUSÕES

## X. CONCLUSÕES

Neste estudo procurou-se comparar as dosagens de cortisol com histórico de exposição pré-natal ao álcool.

O objetivo geral foi comparar as dosagens de cortisol salivar em crianças em idade escolar, com e sem histórico prévio de exposição intrauterina ao álcool, e sua relação com risco materno para FASD e a intensidade do uso de álcool na gestação.

Quanto ao objetivo geral pode-se dizer que foi alcançado já que se fez uma comparação das dosagens do cortisol salivar nas crianças expostas e não expostas e se obtiveram valores significativos para T-ACE (como medida do risco materno para FASD) e tendencial para a saúde mental da mãe (SRQ total) e IMC que demonstram que estas variáveis estão associadas com a produção do CAR e ritmo circadiano, sobretudo para as crianças do sexo feminino, onde a produção de cortisol é maior em comparação com o grupo masculino.

Foi possível variáveis observar amostra algumas nessa que sóciodemográficas permitiram diferenciar os grupos, como por exemplo, sexo e religião, observando-se que religião influiu no consumo de álcool durante a gravidez, salientando que as mães praticantes da religião mais frequentemente se abstinham de consumir álcool durante a gravidez em comparação com as mães que não praticavam alguma religião.

Quanto ao risco materno para FASD da mãe e dosagens de cortisol salivar em crianças em idade escolar, se obteve um valor tendencial para o cortisol ao despertar tanto em filhos de mães com avaliação de T-ACE positivo, como para mães cuja avaliação de serem portadoras de diagnóstico clínico de uso nocivo ou dependência ao álcool foi feito de acordo com a Classificação Internacional de Doenças (CID10), podendo-se concluir que é possível que o consumo da mãe na gravidez parece afetar os níveis de produção de cortisol de seus filhos.

A intensidade do uso de álcool na gestação esteve associada a maiores níveis de cortisol salivar das crianças, já que se comprovou que em crianças que são filhos das mães que usaram álcool na gestação, houve incremento da produção de cortisol.



## XI. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pesquisa incluiu o estudo do hormônio cortisol em criancas expostas ao álcool na gestação, o qual é resultado da atividade dixo hipotálamo-pituitárioadrenal, porém, em pesquisas futuras deveriam ser avaliados aspectos não só deste eixo, como também aspectos bioquímicos e hormonais dos eixos hipotálamo-tiroidal e hipotálamo-gonadal. Isto se baseia no fato que existem estudos que comprovam que o álcool não afeta apenas o HPA, pois também parece influir no HPG na produção dos níveis de hormônio do crescimento, testosterona e na formação dos orgãos sexuais em indivíduos masculinos, assim como na produção dos níveis dos hormônios T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> do HPT.

Além disto, no futuro, deveriam ser realizados estudos que contemplem a resposta ao estresse já que os estudos com cortisol são muito sujeitos a variaçõe e influências ambientais e crianças são especialmente suscetíveis a influência de fatores estressores. Isto serviria para comparar a produção do cortisol basal com a produção de cortisol quando o indivíduo é submetido ao estresse, visando a prevenção de erros na coleta das amostras dos sujeitos envolvidos na pesquisa.



## XII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEL, E.L. Was the Fetal alcohol syndrome reconozided by the Greeks and Romans?. Alcohol and Alcoholism, v. 34, p. 860-872, 1999.
- ALVIK, A. et al. Binge alcohol exposure once a week in early pregnancy predicts temperament and sleeping problems in the infant. Early Human **Development**, v. 87, p. 827–833, 2011.
- AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. Committee on Substance Abuse and Committee on Children With Disabilities. Fetal alcohol syndrome and alcohol-related neurodevelopmental disorders. Pediatrics, v.106, p. 358-61. 2000.
- ASTLEY S. J. Comparison of the 4-Digit code and the Hoyme diagnostic guidelines for Fetal Alcohol Spectrum Disorders. Pediatrics, v.118, p. 1532-45. 2006
- AZAR, R. et al. The association of major depression, conduct disorder, and maternal overcontrol with a failure to show a cortisol buffered response in 4-monthold infants of teenage mothers. **Biological Psychiatry**, v. 62, p. 573–579, 2007.
- BABOR, T. F. et al. AUDIT: The alcohol use disorders identification test: guidelines for use in primary health care. Genebra: World Health Organization, 1992. 29 p.
- BARTELS, M. et al. Heritability of daytime cortisol levels in children. Behavior **Genetics**, v. 33, p. 421–433. 2003
- BERNARDEZ DA SILVA, L.; RUIZ SCHLICHTING, C. L. Consequências do álcool na gravidez e lactação: A importância da assistência farmacêutica na prevenção da síndrome alcoólica fetal. UNINGÁ Review, v.2, p. 55-63, 2010.
- BERTRAND J.; FLOYD RL; WEBER, M.K. National task force on FAS/FAE: Guidelines for referral and diagnosis. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention.BMA Board of Science Fetal, 2005.
- BORGUI, V.C. Dosagem hormonais in vitro com radioisótopos. Considerações gerais e análise crítica. Ciência e Cultura, v. 35, p. 1456-1466, 1982.

- BOSCH, N.M. et al. Timing matters: Long term effects of adversities from prenatal period up to adolescence on adolescents' cortisol stress response. The TRAILS study. Psychoneuroendocrinology, v. 37, p. 1439-1447. 2012.
- BOHN, M.J.; BABOR, T.F.; KRANZLER, H.R. The Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT): Validation of a Screening Instrument for Use in Medical Settings. Journal of Studies on Alcohol, v. 56, p. 423-432, 1995.
- BRENNAN, P. A. et al. Maternal depression and infant cortisol: Influences of timing, comorbidity and treatment. Journal of Child Psychology and **Psychiatry**, v. 49, p. 1099–1107, 2008.
- BRITO, N. et al. Síndrome fetal alcoólico e os efeitos fetais do álcool. Revista de **Saúde Infantil**, v. 28, p.11-18, 2006.
- BUNDUKI, V. et al. O consumo de álcool na gestação: efeitos sobre feto. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, v. 7, p. 46-50, 1996.
- CALHOUN, F.; WARREN, K. Fetal Alcohol Syndrome: Historical Perspectives. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, v. 31, p. 168–171, 2007.
- CASTRO, M.; MOREIRA, A. Análise Crítica do Cortisol Salivar na Avaliação do Eixo Hipotálamo- Hipófise-Adrenal. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabología, v. 47, p. 358-367, 2003.
- CHEN, M.L. et al. Sleep problems in children with fetal alcohol spectrum disorders. Journal of Clinical Sleep Medicine, v. 8, p. 421-429.
- CHUDLEY, A.E. et al. Fetal alcohol spectrum disorder: Canadian guidelines for diagnosis. Canadian Medical Association Journal, v. 172, p. s1-s21, 2005.
- CLEMENTS, A.D.; PARKER, C.R. The relationship between salivary cortisol concentrations frozen versus mailed samples. in Psychoneuroendocrinology, v. 23, p. 613–616, 1998.
- CLOW, A. et al. The cortisol awakening response: More than a measure of HPA axis function. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, v.35, p. 97-103, 2010.

- CORRÊA, C. L.; FERREIRA, M. G.; LEMONICA, I. P. Consumo de álcool e gravidez: riscos decorrentes desta associação. Revista Brasileira de Toxicologia, v. 13, p. 5-10, 2000.
- DA SILVA, L.M; RUIZ, C. Consequências do álcool na gravidez e lactação: A importância da assistência farmacêutica na prevenção da Síndrome Alcoólica Fetal. UNINGÁ Review, v. 2, p. 55-63, 2010.
- DARNAUDÉRY, M.; MACCARI, S. Epigenetic programming of the stress response in male and female rats by prenatal restraint stress. Brain Research **Review**, v. 57, p. 571-85, 2008.
- DECARO, J. A.; WORTHMAN, C. M. Return to school accompanied by changing associations between family ecology and cortisol. Developmental **Psychobiology**, v. 50, p. 183-195, 2008.
- DE MELO FREIRE, T. et al. Efeitos do consumo de bebida alcoólica sobre o feto, Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, v. 2, p. 376-81, 2005.
- DETTLING, A.C.; GUNNAR, M.R.; DONZELLA, B. Cortisol levels of young children in full-day childcare centers: relations with age and temperament. Psychoneuroendocrinology, v. 24, p. 505-518, 1999.
- DEMORANVILLE, B. M.; JACKSON, I. M. D. Psychoneuroendocrinology. In: Fogel, B.S. & Schiffer, R.B. Neuropsychiatry, Baltimore: Williams & Wilkins. 1996, p. 177-179.
- EDWARDS, S. et al. Exploration of the awakening cortisol response in relation to diurnal cortisol secretory activity. Life Sciences, v. 68, p. 2093-2103, 2001.
- ELLIS, L.; COLE-HARDING, S. The effects of prenatal stress, and of prenatal alcohol and nicotine exposure, on human sexual orientation. Physiology & **Behavior**. v. 74, p. 213–226, 2001.
- FABBRI, C. E.; FURTADO, E. F.; E LAPREGA, M. R. Consumo de álcool na gestação: desempenho da versão brasileira do questionário T-ACE. Revista de Saúde Pública, v.41, p. 979-84, 2007.
- FIORENTIN, C. F.; VARGAS, D. O uso do álcool entre gestantes e os seus conhecimentos sobre os efeitos do álcool no feto. SMAD. Revista eletrônica saúde mental álcool e drogas, v. 2, p.1-13, 2006.

- FRANKLIN, L. et al. Children with fetal alcohol spectrum disorders: problem behaviors and sensory processing. American Journal of Occupational **Therapy**, v. 62, p. 265–273, 2008.
- FREIRE, T. M.; MACHADO, J. C.; MELO, E. V. Efeitos do consumo de bebida alcoólica sobre o feto. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, v.27, p.376-81, 2005.
- FREITAG. C. M. et al. Cortisol awakening response in healthy children and children with ADHD: Impact of comorbid disorders and psychosocial risk factors. Psychoneuroendocrinology. v. 34, p.1019-1028, 2009
- GABRIEL, K. et al. The Hormonal Effects of Alcohol Use on the Mother and Fetus. Alcohol Health & Research World, v. 22, p. 170-177, 1998.
- GEMMA, S.; VICHI, S.; TESTAI, E. Metabolic and genetic factors contributing to alcohol induced effects and fetal alcohol syndrome. Neuroscience and **Biobehavioral Reviews,** v.31, p. 221–229, 2007.
- GLAVAS, M.M.; WAYNE, Y. K.; WEINBERG, J. Effects of Mineralocorticoid and Glucocorticoid Receptor Blockade on Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Function in Female Rats Prenatally Exposed to Ethanol. Alcoholism: Clinical and Experimental Research, v. 30, p 1916–1924, 2006.
- GOODLIN-JONES, B.L. et al. The Children's Sleep Habits Questionnaire in Toddlers and Preschool Children. Journal of Developmental & Behavioral **Pediatrics**, v.29, p.82-89, 2008.
- GONÇALVES, D.M.; STEIN, A.T.; KAPCZINSKI, F. Avaliação de desempenho do Self-Reporting Questionnaire como instrumento de rastreamento psiguiátrico: um estudo comparativo com o Structured Clinical Interview for DSM-IV-TR. Cadernos de Saúde Pública, v. 24, p. 380-390, 2008.
- GÖRANSSON, M et al. Fetus at risk: prevalence of alcohol consumption during pregnancy estimated with a simple screening method in Swedish antenatal clinics. **Addiction**, v. 98, p. 1513–1520, 2003.
- GORIL, S.; SHAPIRO, G. The prevalence and patterns of sleep disorders and circadian rhythm disruptions in children and adolescents with fetal alcohol spectrum disorders (FASD), Sleep Medicine, v.12, p. S34, 2011, Supplement 1.

- GRINFELD, H. Consumo do alcohol durante el embarazo. In: Andrade, A.G.; Anthony, J.C.; Silveira, C.M. (Ed.). El alcohol y sus consecuencias un enfoque multiconceptual. Barueri, SP: Editora Manole, 2010. p.179-199.
- GUILLIAMS, T. Adrenal Stress: Measuring and Treating. The Standards, v.30, p.1-7, 2000.
- GUILLIAMS T.; EDWARDS, L. Chronic Stress and the HPA Axis: Clinical Assessment and Therapeutic Considerations. The Standards, v. 9, p.1-12, 2010.
- GUNNAR, M.R; DONZELLA, R. Social regulation of the cortisol levels in early human development. Psychoneuroendocrinology, v. 27, p. 199–220, 2002.
- HALEY, D.W.; HANDMAKER, N.S.; LOWE, J. Infant stress reactivity and prenatal alcohol exposure. Alcoholism: Clinical & Experimental Research, v.30, p. 2055-2064, 2006.
- HANDA, R.; ZULOAGA, D.G; MCGIVERN, R.F. Prenatal ethanol exposure alters core body temperature and corticosterone rhythms in adult male rats. **Alcohol**, v.41, p. 567-575, 2007.
- HANRAHAN, K. et al. Strategies for salivary cortisol collection and analysis in research with children. Applied Nursing Research, v. 19, p.95-101. 2006.
- HARDING, T. W. et al. Mental disorders in primary health care: a study of their frequency and diagnosis in four developing countries. Psychological **Medicine**, v. 10, p. 231-241, 1980.
- HELLEMANS, K. M. et al. Prenatal Alcohol Exposure Increases Vulnerability to Stress and Anxiety-Like Disorders in Adulthood. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1144, p. 154–175, 2008.
- HELLEMANS, K. M. et al. Prenatal alcohol exposure: Fetal programming and later life vulnerability to stress, depression and anxiety disorders. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, v, 34, p. 791–807, 2010.
- HEWITT, A. J. et al. Differential effects of chronic ethanol exposure on cytochrome P450 2E1 and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the maternalfetal unit of the guinea pig. Neurotoxicology and Teratology, v. 32., p.164-170, 2010.

- HOYME, H. U. et al. A practical clinical approach to diagnosis of fetal alcohol spectrum disorders: clarification of the 1996 Institute of Medicine Criteria. **Pediatrics**, v. 115, p. 39-47, 2005.
- IQBAL, U. et al. Chronic Prenatal Ethanol Exposure Alters Glucocorticoid Signalling in the Hippocampus of the Postnatal Guinea Pig. Journal of Neuroendocrinology, v. 17, p. 600-608, 2005.
- JACOBSON, S. W.; BIHUN, J.T; CHIODO, L.M. Effects of prenatal alcohol and cocaine exposure on infant cortisol levels. Development and **Psychopathology**, v. 11, p.195–208, 1999.
- JOCA, S.R.L; PADOVAN, C.M.; GUIMARÃES, F.S. Estresse, depressão e hipocampo. Revista Brasileira de Psiguiatria, v.25, p. 46-51, 2003.
- JONES, K.L; SMITH, D.W. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. Lancet, v.2, p. 999-1001, 1973.
- JONES, K.L. et al. Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. **Lancet**, v. 1, p. 1267–1271, 1973.
- KANITZ, E.; OTTEN, W.; TUCHSCHERER, M. Changes in endocrine and neurochemical profiles in neonatal pigs prenatally exposed to increased maternal cortisol. **Journal of Endocrinology**, v. 191, p.207–220, 2006.
- KARIYAWASAM, S.H.; ZAW, F.; HANDLEY, S.L. Reduced salivary cortisol in children with comorbid attention deficit hyperactivity disorder and oppositional defiant disorder. Neuroendocrinology Letter, v.23, p. 45-8, 2002.
- KAUP, Z. O. L.; MERIGHI, M. A. B.; TSUNECHIRO, M. A. Avaliação do consumo de bebida alcoólica durante a gravidez. Revista Brasileira de Ginecologia e **Obstetricia**, v. 23, p. 575-580, 2001.
- KELLY, S.J; DILLINGHAM, R.R. Sexually dimorphic effects of perinatal alcohol exposure on social interactions and amygdala DNA and DOPAC concentrations. Neurotoxicology and Teratology, v. 16, p. 377-384, 1994.
- KIM, C.K. et al. Effects of Prenatal Ethanol Exposure on Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Responses to Chronic Cold Stress in Rats. Alcoholism: Clinical **& Experimental Research**, v.23, p. 301–310, 1999.

- KLAASSEN, C. D. Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons. McGraw-Hill Medical Publishing division. Sexta edição. USA, 1236 p.
- KRAEMER, G. W. et al. Moderate level fetal alcohol exposure and serotonin transporter gene promoter polymorphism affect neonatal temperament and limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation in monkeys, Biological Psychiatry. v. 63, p. 317-24, 2008.
- KODITUWAKKU, P.W. Defining the behavioral phenotype in children with fetal alcohol spectrum disorders. Neuroscience and Biobehavioral Review, v. 31, p.192–201, 2007.
- LEE, S. et al. Effect of prenatal exposure to ethanol on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the offspring: importance of the time of exposure to ethanol and possible modulating mechanisms. Molecular and Cellular Neuroscience, v. 1, p.168–177, 1990.
- LEMOINE P. et al. Les enfants des parents alcooliques: anomalies observees apropos de 127 cas. **Ouest Medical**, v. 21, p.476–482, 1968.
- LEVINE, A. et al. Measuring cortisol in human psychobiological studies. Physiology **& Behavior**, v. 90, p.43-53, 2007.
- LIANG, G. et al. Ethanol-induced inhibition of fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axis due to prenatal overexposure to maternal glucocorticoid in mice. Experimental and Toxicologic Pathology, v. 63, p. 607–611, 2011.
- LUIJK, M.P.C.M. et al. Attachment, depression, and cortisol: Deviant patterns in insecure-resistant and disorganized infants. **Developmental Psychobiology**, v. 52, p. 441-452, 2010.
- LUMENG, J. Pre-natal exposures to cocaine and alcohol and physical growth patterns to age 8 years. Neurotoxicology and Teratology, v. 29, p. 446-457, 2007.
- LUNDBERG, U.; WESTERMARK, O.; RASCH, B. Cardiovascular and neuroendocrine activity in preschool children: comparison between daycare and home levels. Scandinavian Journal of Psychology, v. 34, p. 371–378, 1993.

- LUPIEN, S. J. et al. Child's stress hormone levels correlate with mother's socioeconomic status and depressive state. Biological Psychiatry, v. 48. p. 976–980, 2000.
- MACEDO, J. M. S.; OLIVEIRA, I. R. Corticosteróides. In: Silva, P. (Ed.) Farmacologia, 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, p.824-834.
- MCGIVERN, R.F.; RILEY, E.P. Influence of perinatal alcohol exposure on sexual differentiation. In: Zakhari, S., (Ed.). Alcohol and the Endocrine System. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism Research Monograph No. 23. Bethesda, MD: the Institute, 1993. p. 223-248.
- MANN, K.; HERMANN, D.; HEINZ, A. One hundred years of alcoholism: The twentieth century, Alcohol and Alcoholism, vol. 35, p. 10-15, 2000.
- MARI, J.; WILLIANS, P. A. A validity study of a psychiatric screening questionnaire (SRQ-20) in primary care in the city of São Paulo. British Journal of Psychiatry, v. 148, p. 23-26, 1986.
- MATSUOKA, M. et al. High Incidence of sleep problems in children with developmental disorders: Results of a questionnaire survey in a Japanese elementary school, **Brain & Development**, v. 30, p.1-10, 2013.
- MAY, P.A.; GOSSAGE, J.P. Estimating the prevalence of fetal alcohol syndrome: A summary. Alcohol Research & Health, v. 25, p. 159-67, 2001.
- MESQUITA, M. A.; SEGRE, C. A. M. Frequência dos efeitos do álcool no feto e padrão de consumo de bebidas alcoólicas pelas gestantes de maternidade pública da cidade de São Paulo. Revista Brasileira do Crescimento e Desenvolvimento Humano, v. 19, n. 1, p. 63-67, 2009.
- MICHALAK, L.; TROCKI, BOND, J. Religion and alcohol in the U.S. National Alcohol Survey: How important is religion for abstention and drinking?. Drug and Alcohol Dependence, v. 87, p. 268-280, 2007.
- MORAES, C. L.; REICHENHEIM, M. E. Screening for alcohol use by pregnant women of public health care in Rio de Janeiro, Brazil. Revista de Saúde **Pública**, v. 41, n. 5, p. 695-703, 2007.
- MUKHERJEE, R. A. S.; HOLLIN, S.; TURK, J. Fetal alcohol spectrum disorder: an overview. Journal of the Royal Society of Medicine, v. 99, p.298-302, 2006.

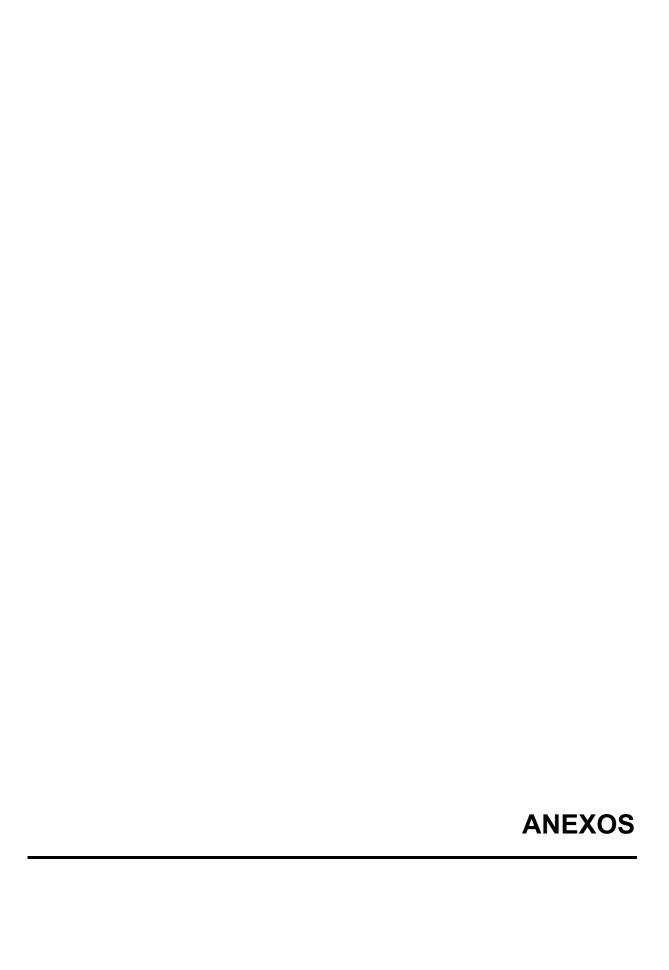
- NEU, M. et al. Salivary cortisol in preterm infants: Validation of a simple method for collecting saliva for cortisol determination. Early Human Development, v. 83, p. 47-54, 2007.
- NETHERTON, C. et al. Salivary cortisol and dehydroepiandrosterone in relation to puberty and gender. Psychoneuroendocrinology, v. 29, 125–140. 2004.
- NICCOLS, A. Fetal alcohol syndrome and the developing socio-emotional brain, **Brain and Cognition**, v. 65, p.135–142, 2007.
- NICOLSON, N. Measurement of Cortisol. In: LUECKEN, L.; GALLO, L.C. (Ed.). The Handbook of Physiological Research Methods in Health Psychology, USA: SAGE Publications, 2007. Cap. 3, p. 37-73.
- NGUYEN, T.; COPPENS, J.; RILEY, E. Prenatal Alcohol Exposure, FAS, and FASD: An Introduction In: RILEY, E. P.; CLARREN, S.; WEINBERG, J.; JONSSON, E. (EDS.), Fetal Alcohol Spectrum Disorder - Management and Policy Perspectives of FASD, Weinheim: Wiley-Blackwell A., 2011. p. 1-13.
- OWENS, J.A; SPIRITO, A.; MCGUINN, M. Sleep habits and sleep disturbance in elementary school-aged children. Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics, v. 21, p. 27-36, 2000a.
- OWENS J.A; SPIRITO, A.; MCGUINN, M. The Children's Sleep Habits Questionnaire (CSHQ): psychometric properties of a survey instrument for school-aged children. Sleep, v. 23, p.1043-51, 2000b.
- PALEY, B. et al. Prenatal Alcohol Exposure, Child Externalizing Behavior, and Maternal Stress. Parenting, v.5, p.29-56, 2005.
- O'CONNOR, T.G. et al. Prenatal Anxiety Predicts Individual Differences in Cortisol in Pre-Adolescent Children. Biological Psychiatry, v. 58, p. 211-217, 2005.
- O'DONNELL, K.J.; GLOVER, V.; JENKINS J.; BROWNE, D.; BEN-SHLOMO, Y.; GOLDING, J.; O'CONNOR, T. G. Prenatal maternal mood is associated with altered diurnal cortisol in adolescence, Psychoneuroendocrinology v. 38, p. 1630—1638, 2013.
- PARK, E. et al. Exposure to alcohol on E9 raises poststress corticosterone in mature but not old mice. Neuroscience Letters, v. 368, p. 345–348, 2004.

- PINHEIRO, S.N.; LAPREGA, M.L; FURTADO, E.F. Morbidade psiguiátrica e uso de álcool em gestantes usuárias do Sistema Único de Saúde. Revista de Saude Pública, v.39, p.593-598, 2005.
- POLL, E-M. et al. Saliva collection method affects predictability of serum cortisol. Clinica Chimica Acta, v. 382, p. 15–19, 2007.
- POLLARD, I. Neuropharmacology of drugs and alcohol in mother and fetus. Seminars in Fetal & Neonatal Medicine, v. 12, p. 106-113, 2007.
- OUELLET-MORIN, I. et al. Prenatal alcohol exposure and cortisol activity in 19month-old toddlers: an investigation of the moderating effects of sex and testosterone. Psychopharmacology, v. 214, p.297–307, 2011.
- RAMADOS, J. et al. Maternal adrenocorticotropin, cortisol, and thyroid hormone responses to all three-trimester equivalent repeated binge alcohol exposure: ovine model. Alcohol, v. 42, p. 199-205, 2008
- RAMSAY, D. S.; BENDERSKY, M. I.; LEWIS, M. Effect of Prenatal Alcohol and Cigarette Exposure on Two- and Six-Month-Old Infants' Adrenocortical Reactivity to Stress, Journal of Pediatric Psychology, v. 21, p. 833–840, 1996.
- REYNOLS, et al. Fetal Alcohol Spectrum Disorders: Gene-Environment Interactions, Predictive Biomarkers, and the Relationship Between Alterations in the Brain and Functional. Seminars in Pediatric **Neurology**, v. 18, p.49-55, 2011.
- RIBEIRO, E.M.; GONZALEZ, C.H. Síndrome Alcoólica Fetal: Revisão. Pediatría, v. 17, p. 48-56,1995.
- ROSE, J.C; MEIS, P.J; CASTRO, M.I. Alcohol and fetal endocrine function. Neurobehavioral Toxicology and Teratology, v. 3, p. 105-110, 1981.
- ROSETT, H.L. et al. Effects of maternal drinking on neonate state regulation. **Developmental Medicine & Child Neurology,** v. 21, p. 464–73, 1979.
- ROSMALEN, J.G. et al. Determinants of salivary cortisol levels in 10-12 year old study children: population-based of individual differences. Psychoneuroendocrinology, v.30, p. 483-495, 2005.

- ROOT, A.W. et al. Hypothalamic-pituitary function in the fetal alcohol syndrome. Journal of Pediatrics, v. 87, p. 585-588, 1975.
- RUDEEN, P.K.; WEINBERG, J. Prenatal Ethanol Exposure: Changes in Regional Brain Catecholamine Content Following Stress. Journal of Neurochemistry, v. 61, p. 1907-1915, 1993.
- SANTIAGO, L.B.; JORGE, S.M.; MOREIRA, A.C. Longitudinal evaluation of the development of salivary cortisol circadian rhythm in infancy. Clinical **Endocrinology**, v. 44, p. 157-61, 1996.
- SARKOLA, T. et al. Acute effect of alcohol on estradiol, estrone, progesterone, prolactin, cortisol, and luteinizing hormone in premenopausal women, Alcoholism, Clinical and Experimental Research, v. 23, p. 976-982 1999.
- SCHER, M.S.; RICHARDSON, G. A.; DAY, N.L. Effects of prenatal cocaine/crack and other drug exposure on electroencephalographic sleep studies at birth and one year. **Pediatrics**, v. 105, p. 39–48, 2000.
- SCHNEIDER, M.L. et al. The impact of prenatal stress, fetal alcohol exposure, or development: perspectives from primate model. both on а Psychoneuroendocrinology, v. 27, p. 285–298, 2002.
- SCHNEIDER M.L.; MOORE, C.F.; KRAEMER, G. W. Moderate level alcohol during pregnancy, prenatal stress, or both and limbic hypothalamic-pituitaryadrenocortical axis response to stress in rhesus monkeys. Children **Development**, v. 75, p. 96–109, 2004.
- SCHMIDT-REINWALD A. et al. The cortisol response to awakening in relation to different challenge tests and a 12-hour cortisol rhythm. Life Sciences, v. 64, p. 1653–60, 1999.
- SCIVOLETTO, S.; MALBERGIER, A. Etanol. In: OGA, S.(Org.). Fundamentos de Toxicologia. 2a ed. 2003, São Paulo. Atheneu Editora, p. 271-285.
- SKAGERSTROM, J.; CHANG, G.; NILSEN, P. Predictors of drinking during pregnancy: a systematic review. Journal of Women's Health, v. 20, p. 901–13, 2011.
- SELYE, H. Stress and the general adaptation syndrome. **British Medical Journal**, v. 1, p. 1383-1392, 1950.

- SILVA, V. A. Ambiente e desenvolvimento: Efeitos do álcool etílico e da desnutrição. Mundo & Vida, v. 2, p. 21-27, 2000.
- SILVA, M. L.; MALLOZI, M. C.; FERRARI, G. F. Cortisol salivar na avaliação do eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal em crianças saudáveis menores de 3 anos. Jornal de Pediatria, v. 83, p. 121-126, 2007
- SILVA, F.G. et al. Portuguese Children's Sleep Habits Questionnaire validation and cross-cultural comparison. **Journal de Pediatria**, v. 90, p. 71-84, 2014.
- SLIWOWSKA, J.H. et al. Effects of prenatal ethanol exposure on regulation of basal hypothalamic—pituitary—adrenal activity and hippocampal 5-HT1A receptor mRNA levels in female rats across the estrous cycle. Psychoneuroendocrinology, v. 33, p. 1111-1123, 2008.
- SOOD, B. et al. Prenatal Alcohol Exposure and Childhood Behavior at Age 6 to 7 Years: I. Dose-Response Effect. **Pediatrics**, v. 108, p.1-9, 2001.
- SOUZA, G.T.; RODRIGUES, M.C.; CIAVAGLIA, M.C. Análise do grau de conhecimento da população sobre a teratogenia do álcool e a conduta de enfermagem. Revista Brasileira de Enfermagem, v. 49, p. 287-304, 1996.
- STADE, B.C. et al. Sleep disturbances in children with fetal alcohol spectrum disorder (FASD). Pediatrics & Child Health, v. 13, p. 1732–1740, 2008.
- STREISSGUTH, A.P. et al. Risk factors for adverse life outcomes in fetal alcohol syndrome and fetal alcohol effects. Journal of Developmental & **Behavioral Pediatrics**, v. 25, p. 228 – 238, 2004.
- SULLIVAN, W.C., A note on the influence of maternal inebriety on the offspring. **Journal of Mental Science**, v. 45, p. 489–503, 1899.
- TAYLOR, A. N. et al. Long-term effects of fetal ethanol exposure on pituitary adrenal response to stress. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, v. 16. p. 585 – 589, 1982.
- TAYLOR, A.N. et al. Fetal alcohol syndrome, fetal alcohol exposure and neuroendocrine-immune interactions. Clinical Neuroscience Research, v. 6, p. 42-51, 2006.

- VAZQUEZ, D. M. Stress and the developing limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **Psychoneuroendocrinology**, v.23, p. 663 – 700, 1998.
- WEERTH, C.; ZIJL, R. H.; BUITELAAR, J.K. Development of cortisol circadian rhythm in infancy. **Early Human Development**, v. 73, p.39–52, 2003.
- WEINBERG, J.; GALLO, P. V. Prenatal ethanol exposure: Pituitary-adrenal activity in pregnant dams and offspring. Neurobehavioral Toxicology and **Teratology**, v. 4, p. 515 – 520, 1982.
- WEINBERG, J. Prenatal alcohol exposure: Endocrine function of offspring. In: Zakhari, S., (Ed.) Alcohol and the Endocrine System. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism Research Monograph No. 23. Bethesda, MD: the Institute, 1993. p. 363-382.
- WEINBERG, J. et al. Prenatal Alcohol Exposure: Foetal Programming, the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis and Sex Differences in Outcome, Journal of Neuroendocrinology, v. 20, p. 470-488, 2008.
- WOODWARD, J.J. The Pharmacology of Alcohol. In: GRAHAM, A.; SCHULTZ, T.K. (Senior Editors); MAYO-SMITH, M.F.; RIES, R.K.; WILFORD, B. (Editors). Principles of Addiction Medicine. USA: American Society of Addiction Medicine, Inc. 2003, 101-118p.
- WÜST, S.; et al. Salivary Cortisol Levels after awakening as a new index for adrenocortical activity: normal values findinas. and recent Psychoneuroendocrinology, v. 25, p. 707–720, 2000.
- YOUNG, E. A. et al. Salivary cortisol and response to dexamethasone in children of depressed parents. Biological Psychiatry, v. 60, p. 831–836, 2006.
- ZHANG, X.; SLIWOSKA, J.H.; WEINBERG, J. Prenatal alcohol exposure and fetal programming: effects on neuroendocrine and immune function, Experimental Biology and Medicine, v. 230, p. 376-388, 2005.
- ZILBERMAN, M.L.; TAVARES, H.; ANDRADE, A.G. Discriminating drug-dependent women from alcoholic women and drug-dependent men. Addictive **Behaviors**, v. 28, p.1343-1349, 2003.
- ZILBERMAN M. L.; BLUME, S. B. Violência Doméstica, abuso de álcool e substâncias psicoativas. Revista Brasileira de Psiquiatria, v. 27, p. 51-55, 2005.



## **ANEXOS**

#### Anexo 1: Termo de Consentimento livre e esclarecido

# HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

NOME DA PESQUISA: Avaliação hormonal e metabólica em crianças em idade escolar com história de exposição ao etanol durante a gestação.

PESQUISADORES RESPONSÁVEIS:Dr. Erikson Felipe Furtado e Isela Iveth González Rodriguez

Endereco: Hospital das Clínicas da FMRP-USP. Av. dos Bandeirantes 3900, Campus da USP, Bairro Monte Alegre, Ribeirao Preto, SP-CEP: 14049-900

1. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS DA PESQUISA: O desenvolvimento da criança depende de muitos fatores. Algumas crianças podem te problemas de saúde física ou mental, que irão a dificultar sua integração e desenvolvimento escolar. É importante conhecer e indetificar cedos esses problemas. Algums desse problemas podem ter relação com o período de gestação, ou também com a saúde dos pais. Hábitos comuns podem interferir com a saúde do feto durante a gestação, como p. ex, o uso de alguns remédios, cigarros ou bebidas, assim como provavelmente também o estresse vivido pela mãe durante a gestação, parto e período pos-parto. O nosso objetivo e comparar os parâmetros bioquímicos de atividade hormonal dos eixos HPA, HPT e HPG, em crianças em idade escolar, com e sem histórico prévio de exposição intrauterina ao álcool, e sua relação com parâmetros metabólicos (glicemia, resistência a insulina), antropométricos (peso, altura, IMC, estágio puberal) e comportamentais (diagnósticos psiquiátricos).

#### 2. PROCEDIMENTO A SEREUM UTILIZADOS NA PESQUISA:

Convidamos a você a participar de nossa pesquisa sobre à avaliação hormonal e metabólica em crianças em idade escolar com história de exposição ao etanol durante a gestação.

Para este estudo será necessário que você colha algumas amostras de saliva durante dos dias consecutivos em horários previamente estabelecidos. Estas

amostras de saliva poderão ser colhidas ambulatoriamente na comodidade da sua casa ou eventualmente durante as visitas previamente agendadas para os testes de ressonância magnética nuclear.

Alem das coletas de saliva, se faraó coletas de sangue para determinar certos parâmetros bioquímicos e metabólicos relacionados com os objetivos da nossa pesquisa. As coletas de sangue serão feitas por pessoal de enfermagem no hospital das clinica, em horários previamente agendados.

#### 3.DENCONFORTOS E RISCOS ESPERADOS:

Você não terá nenhum gasto com esta pesquisa, nem causará nenhum desconforto em seu filho. A coleta de saliva e um procedimento indolor e não invasivo, não oferecendo nenhum risco e tendo a garantia de sigilo dos dados pessoais utilizados. As coletas de sangue serão feitas por equipe de enfermagem treinada para este tipo de coleta e o desconforto será o mínimo que se possa causar.

#### 4.BENEFICIOS:

A informações obtidas serão muito uties para podernos conhecer melhor a relação entre o uso do álcool na gravidez e problemas no desenvolvimento mental de crianças pré-escolares e também para mehorar os servicios de saúde.

Sao esse os SEUS DIREITOS ao participar da pesquisa (Cf. Resolucao 196/96 do Conselho Nacional de Saude/Ministerior da Saude).

- 1. A garantia de receber a resposta a qualquer pregunta ou esclarecimento de qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos benefícios e outros relacionados com a pesquisa;
- 2. Aliberdade de retirar o seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo;
- 3.A segurança de não ser identificado e do caráter confidencial de toda informação relacionada com sua privacidade;
- 4.O compromisso de receber informação atualizada durante o estudo, mesmo que esta afete sua vontade de continuar participando;
- 5. A disponibilidade de tratamento médico e indenização a que legalmente tem direito, por parte da instituição de saúde, em caso de danos justificacos, causados diretamente pela pesquisa;
- 6. Se existem gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Quanto aos resultados obtidos neste estudo, meu telefone esta escrito nesta folha, e você poderá me ligar a qualquer hora para tirar as duvidas.

Termo de Consenti	imento
ESCLARECIDO", de e metabólica em cr durante a gestação" Felipe Furtado, e Is	abaixo assinado. Tendo sido esclarecido sobre todas enstam do documento "TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E que trata o Projeto de Pesquisa Intitulado "Avaliação hormonal rianças em idade escolar com história de exposição ao etanol que tem como pesquisadores responsáveis o Prof. Dr. Erikson sela Iveth González Rodríguez, Msc., declaro que tenho pleno direitos e das condições que me foram assegurados, a seguir
<ul> <li>qualquer dúvi</li> <li>A liberdade d qualquer mon</li> <li>A segurança confidencial d</li> <li>O compromis</li> </ul>	e receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento de da durante a realização do estudo; e retirar o meu consentimento e deixar de participar do estudo a nento que não serei identificado e que será mantido o caráter le informação relacionada a minha privacidade. Eso de que serei devidamente acompanhado durante todo o inha participação no projeto e após a conclusão dos trabalhos da
•	e concordo inteiramente com as condições que em foram, livremente, manifesto a minha vontade em participar do referido
Ribeirao Preto,de_	de
	Assinatura da mãe da criança

Comunidade)

Prof. Dr Erikson Felipe Furtado

Fone: (16)36022727

Isela Iveth González Rodríguez

Fone: (16) 36022727

# Anexo 2: Questionário entrevista materna

INFANTO-ÁLCOOL 2012 – ENTREVISTA MÃE  Identificação  1. Número ID  2. Nome do entrevistador:  4. Nome da Mãe:  5. Data de nascimento da Mãe:  6. Qual o nome completo da criança*?  7. Data de nascimento da Criança*?		INFANTO ÁLCO	DL 2012	ENTO	EVICTA	MÃE			
2. NOME DO ENTREVISTADOR:  3. DATA DA ENTREVISTA:  4. NOME DA MÃE:  5. DATA DE NASCIMENTO DA MÃE:  6. QUAL O NOME COMPLETO DA CRIANÇA*?  7. DATA DE NASCIMENTO  7. DATA DE NASCIMENTO  7. DATA DE NASCIMENTO  7. DATA DE NASCIMENTO  7. DATA DE NASCIMENTO	Identific		JL 2012 -	-1=NIIK		- IVI/A\=			
3. DATA DA ENTREVISTA:  4. NOME DA MÃE:  5. DATA DE NASCIMENTO DA MÃE:  6. QUAL O NOME COMPLETO DA CRIANÇA*?  7. DATA DE NASCIMENTO  7. DATA DE NASCIMENTO  7. DATA DE NASCIMENTO  7. DATA DE NASCIMENTO					1.Nún	IERO I	D		
4. NOME DA MÃE:  5. DATA DE NASCIMENTO DA MÃE:  6. QUAL O NOME COMPLETO DA CRIANÇA*?  7. DATA DE NASCIMENTO  7 SEXO	2. Nome do entrevis	STADOR:							
4. NOME DA MÃE:  5. DATA DE NASCIMENTO DA MÃE:  6. QUAL O NOME COMPLETO DA CRIANÇA*?  7. DATA DE NASCIMENTO  7 SEXO		Ш							
5. DATA DE NASCIMENTO DA MÃE:  6. QUAL O NOME COMPLETO DA CRIANÇA*?  7. DATA DE NASCIMENTO / / SEXO P	3. DATA DA ENTREVIS	та: /		/					
6. QUAL O NOME COMPLETO DA CRIANÇA*?  7. DATA DE NASCIMENTO  /	4. Nome da Mãe:	ПП							
MÃE:  6. QUAL O NOME COMPLETO DA CRIANÇA*?  7. DATA DE NASCIMENTO  /		HH	+		H			H	1
MÃE:  6. QUAL O NOME COMPLETO DA CRIANÇA*?  7. DATA DE NASCIMENTO  /			$\overline{\mathbf{H}}$	7, 6			_		
7. DATA DE NASCIMENTO / / SEXO P		ITO DA							
	6. QUAL O NOME COM	PLETO DA CRIANÇA*'	?						
		++++	44			4		Н	
		шш							
DA CRIANÇA":		ITO /		/			SE	XO	7
	DA CRIANÇA":	ш							
		,		,					
PERÍODO DA PESQUISA GESTA-ÁLCOOL (2000-2001)	DADOS SOCIODI	EMOGRÁFICOS							
	8. Nacionalidade	1 Brasileira		Estrange	eira		Estr. Natura	alizado	
DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS	9. Cor da pele	☐ <sub>1 Branca</sub>					п		
DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS  8. Nacionalidade	10. A maior parte de su	Ja vida você viveu no Estad	do de São Pa	ulo?			Não ∏ ∩		
DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS  8. Nacionalidade	11 A maior parte de su	ıa vida você viven em outr	n Estado Bra	sileiro?			Não	Sim	
B. Nacionalidade 1 Brasileira 2 Estrangeira 3 Estr. Naturalizado 9. Cor da pele 1 Branca 2 Parda ou Mulata 10. A maior parte de sua vida você viveu no Estado de São Paulo?	11. A maior parte de St	aa vida voce viveu em outro	O ESIADO BIAS	siieli 0 ?				□ ₁	

	11.1. – Qual? (Informe	a sigla)				
12.	A maior parte de sua vida	você viveu em Ribeirão	Preto?		Não □ <sub>0</sub>	Sim
13.	A maior parte de sua vida	você viveu em outra ci	dade acima de 250.00	00 hab.?	Não	Sim
14.	A maior parte de sua vida	você viveu em meio ru	ral?		Não □ <sub>0</sub>	Sim
15.	Seu estado civil:	☐ <sup>1</sup> Solteira ou Separada	2 Casada	☐ 3 Viúva	<b>-</b> 0	
		П	masiada / Amigada	☐ <sub>5 Outro</sub>		
16.	Informe, quantos filhos vo	ocê tem? :	П	1		
17.	Você reside com o pai de	X (filho ou filha, em ava	lliação nesta pesquis	<b>_</b> 1 a)?	Não	Sim
	Sua renda familiar é:	_				<b>1</b>
10.	Jua renua rammar e.	1 até R\$ 500,00 4 até R\$ 5000,00	2 até R\$ 1500,0	_		
		4 até R\$ 5000,00		□ 5 Acima	de R\$ 5000,00 Não	Sim
19.	Você exerce alguma ativio	lade remunerada (traba	lha fora)?			0 0 <sub>1</sub>
20.	Você é praticante de algui	ma religião?			Não □ <sub>0</sub>	Sim
		20.1.Qual?		11111		
21.	Nível de Escolaridade:					
	21.1.Pai/Padrasto	П	Г	1		
	21.1.F dir durasio	□ <sub>1 Sem esc</sub>	_	2 Ensino Fundar		
		_		4 Ensino Superio	or	
	21.2.Mãe	I 1 Sem esc	olaridade	2 Ensino Fundar	nental	
		☐ 3 Ensino M	Médio/Técnico	] 4 Ensino Superio	or	
<u>Histó</u>	<u>ria Obstétrica:</u>					
22. Nº	gestações (IG > 2	0 SEM):	23. <b>N</b> º AE	BORTOS (IG <	20 SEM):	
24. Nº	GESTAÇÕES GEMELA	ARES:	25. Nº N	ATIMORTOS:		
		<u> </u>				
26. Nº	PREMATUROS (IG <	37 SEM):	27. Nº B⁄	AIXO PESO (< 2	2500 GR):	
28. TE	VE ALGUM FILHO QUE	E FALECEU DEPOIS	S DE NASCER?			Sim Não
28A. É	A CRIANÇA DESTA P	ESQUISA?				] Sim □ Não

28B. CAUSA?													
29. TEVE ALGUM FILHO COM MÁ NASCENÇA?	S-FORM	ΛĄÇÕ	ES O	U DEI	FEITC	OS DE	1					Sim	Não
29a. É a CRIANÇA DESTA PESQI	UISA?											Sim	Não
29B. CAUSA?													
30. TEVE ALGUM FILHO COM DO DOWN)?	ENÇA G	ENÉ <sup>.</sup>	TICA (	(P.EX	í. SÍN	DROM	ME DE	≣				Sim $\Box$	Não
30A. É A CRIANÇA DESTA PESQ	UISA?											Sim	Não
30B. CAUSA?													
<u>Desenvolvimento da cria</u>	ança:												
31. Posição da criança:		] É	PRIN	/IOGÊ	NITO				SEG	GUND	0		
		] т	ERCE	EIRO					Ou <sup>-</sup>	TRA P	POSIÇÃ	0	
32. IDADE EM QUE SORRIU:					A	ANOS				ME	SES		
33. IDADE EM QUE SENTOU SEM	1 APOIO:				A	ANOS				ME	SES		
34. IDADE EM QUE APONTOU OE	BJETOS:				P	ANOS				ME	SES		
35. IDADE EM QUE ANDOU SEM	APOIO:				A	ANOS				ME	SES		
36. IDADE EM QUE FALOU PALA	/RAS:				A	ANOS				ME	SES		
37. IDADE EM QUE FALOU FRAS	ES:				A	ANOS				ME	SES		
38. IDADE EM QUE CONTROLOU	A URINA	۹:			A	ANOS				ME	SES		
39. IDADE EM QUE CONTROLOU	AS FEZ	ES:			A	ANOS	ſ			ME	SES		

Anexos	120
--------	-----

40. A CRIANÇA TEM PRO	). A CRIANÇA TEM PROBLEMAS DE FALA?									Sim	Não	
41. QUAL?												
42. A CRIANÇA FAZ TRA	TAMENTO I	DE FONO	AUDIC	DLOG	IA?						Sim 🗆	Não
43. A CRIANÇA TEM PRO	OBLEMAS D	E SAÚDE	, ATU	ALME	NTE	?					Sim $\Box$	Não
43B. QUAL?												
44. A CRIANÇA FAZ TRA	TAMENTO I	DE SAÚDI	Ξ, ΑΤΙ	JALM	ENTE	?					Sim $\Box$	Não

Assinale abaixo, outras doenças	<u>da criança:</u>	_	
45. IVAS RECORRENTES?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
46. ASMA?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
47. PNEUMONIA?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
48. PROBLEMA DE CORAÇÃO?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
49. Constipação intestinal?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
50. DIARRÉIA?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
51. HEPATITE/ICTERÍCIA?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
52. DOENÇA DE PELE?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
53. DIABETES?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
54. Doença Renal?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
55. ITUS RECORRENTES?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
56.PROBLEMA HORMONAL/TIRÓIDE?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
57. ANEMIAS?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
58. DOENÇAS HEMATOLÓGICAS?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
59. Dores recorrentes?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
60. CEFALÉIA/ENXAQUECA?	Sim	Não	Já foi hospitalizada
61. CONVULSÕES/EPILEPSIA?	Sim	Não	Já foi hospitalizada

62. ACIDENTES/TRAUMATISMOS?

Sim Não Já foi hospitalizada

63. TCE?				Sim	N	ão		Já fo	oi ho	spita	lizada	a	
64. Doenças dos nervo	OS (PSQ)'	?		Sim	N	ão		Já fo	oi ho	spita	lizada	а	
65. Paralisias?				Sim	N	ão		Já fo	oi ho	ospitalizada			
66. TONTURAS/VERTIGEN	ıs?			Sim	N	ão		Já fo	oi ho	spita	lizada	a	
67. TEM PROBLEMAS DE	AUDIÇÃO'	?		Sim	N	ão							
68. TEM PROBLEMAS DE	VISÃO?			Sim	N	ão							
69. ESTÁ TOMANDO REM	ÉDIOS?			Sim	N	ão							
	4)	<u> </u>											
70. 00000	1)												
70. QUAIS?	2)												
	3)												
	4												
	1)			mg		X di	а	Há				me	ses
71. QUE DOSAGEM?	2)	П		mg		X di	а	Há		T		me	ses
	3)	H		mg		X di	а	Há				me	ses
	4)			mg		X di	а	Há				me	ses
Saúde da Mãe:													
72. QUANTOS FILHOS BIO	LÓGICOS	VOCÊ	TEV	E?					Filho	) (s)			
73. TEM PROBLEMAS DE S	SAÚDE?		s	Sim	Não	7	4. Si	E SIM,	QUA	AIS?			
Hipertensão		Diabe	tes			Alergi	] as		Pro		as card		

Δr	nexos	1 1	123

Problemas respiratórios Problemas mentais	Ĺ	astrointestinais		Ts/ AIDS		Problema	
74B. OUTRO QUAL?							
75. VOCÊ TOMA REMÉD	ios?	Sim	Nã	0			
76. QUAIS?	<ol> <li>1)</li> <li>2)</li> <li>3)</li> </ol>	$\prod$		Ŧ	H	$\prod$	
77. QUE DOSAGEM?	1) 2) 3) 4)	mg mg mg mg		X dia X dia X dia X dia	Há Há Há Há		meses meses meses meses
Avaliação atual		nas da M	<u>lãe:</u>				
<ul><li>78. Tem dores de cabeça fro</li><li>79. Tem falta de apetite?</li></ul>	equentes?					Sir	
80. Dorme mal?						Sir	n Não
81. Assusta-se com facilidad	de?					Sir	m Não
82. Tem tremores na mão?						Sir	m Não
83. Sente-se nervosa, tensa	ou preocupada?	,				Sir	m Não
84. Tem má digestão?						Sir	m Não

85.	Tem dificuldade de pensar com clareza?	Sim	Não
86.	Tem se sentido triste ultimamente?	Sim	Não
87.	Tem chorado mais do que de costume?	Sim	Não
88.	Encontra dificuldades para realizar com satisfação suas atividades diárias?	Sim	Não
89.	Tem dificuldades para tomar decisões?	Sim	Não
90.	Tem dificuldades no serviço (seu trabalho é penoso, causa sofrimento)?	Sim	Não
91.	Sente-se incapaz de desempenhar um papel útil em sua vida?	Sim	Não
92.	Tem perdido o interesse pelas coisas?	Sim	Não
93.	Você se sente uma pessoa inútil, sem préstimo?	Sim	Não
94.	Tem tido idéias de acabar com a vida	Sim	Não
95.	Sente-se cansada o tempo todo?	Sim	Não
96.	Tem sensações desagradáveis no estômago?	Sim	Não
97.	Você se cansa com facilidade?	Sim	Não
98	3. VOCÊ FAZ TRATAMENTO DE NERVOS (PSQ)? Sim Não		
99	9. O TRATAMENTO FOI MOTIVADO DEVIDO A ALGUM DOS ITENS A SEGUIR?		
	Ansiedade Depressão Con Problemas com os filhos Transtornos alimentares Outr	flitos conjugais ros	
99	9B. OUTRO QUAL?	$\Box$	

a. b. c. d. e. f.	Pai Mãe Irmãos Marido Filhos Outros	SPONDA SOBRE C	Hibertensão	Diabetes	Ś Ś % O O	m S C C C C C C C C C C C C C	Problemas gastrointestinais	LIARES	Problemas renais	
	<ul><li>a.</li><li>b.</li><li>c.</li><li>d.</li><li>e.</li><li>f.</li></ul>	Pai Mãe Irmãos Marido Filhos Outros	<b>F</b> u	imar	Beber	U	Isar dro	ogas		

	Avaliação	do cons	sumo de álo	cool na ges	tação de X	
	A, ME <i>RESPONDA</i> SOBR E, VINHO, PINGA ,BATID <i>A</i>				,	CERVEJA,
102.	QUANTOS DIAS VOCÊ	CONSUMIL	J BEBIDA ALCO	ÓLICA?		DIAS
103.	QUANTAS DOSES, EM	MÉDIA, VC	OCÊ BEBEU NES	SAS OCASIÕE	s?	DOSES
104.	QUANTAS VEZES VOC	Ê CONSUM	IIU TRÊS OU MA	AIS DOSES?		VEZES
"AGOR	A, ME RESPONDA SOBI	RE O SEU C	CONSUMO DURA	ANTE O SEGUN	IDO TRIMESTRE	". ·
105.	QUANTOS DIAS VOCÊ	CONSUMIL	J BEBIDA ALCO	ÓLICA?		DIAS
106.	06. QUANTAS DOSES, EM MÉDIA, VOCÊ BEBEU NESSAS OCASIÕES?					
107.	07. QUANTAS VEZES VOCÊ CONSUMIU TRÊS OU MAIS DOSES?					
"AGOR	A, ME RESPONDA SOB	RE O SEU C	CONSUMO DURA	ANTE O TERCE	IRO TRIMESTRE	"
108.	QUANTOS DIAS VOCÊ	CONSUMIL	J BEBIDA ALCO	ÓLICA?		DIAS
109.	QUANTAS DOSES, EM	MÉDIA, VC	OCÊ BEBEU NES	SAS OCASIÕE	s?	DOSES
110.	QUANTAS VEZES VOC	Ê CONSUM	IIU TRÊS OU MA	NS DOSES?		VEZES
Pergun	tas	0	1	2	3	4
111.	Com que freqüência cê consome bebidas	Nunca	Mensalmente ou menos	2 a 4 vezes por mês	De 2 a 3 vezes por semana	4 ou mais vezes por semana
	oólicas?					
112.	Quantas doses de	0 ou 1	2 ou 3	4 ou 5	6 ou 7	8 ou mais
cor	oidas alcoólicas você nsome num dia rmal?					
113.	Com que freqüência cê consome cinco ou	Nunca	Menos que 01 vez por mês	Mensalmente	Semanalmente	Quase todos os dias
ma	is doses em uma única asião?					
	Quantas vezes ao go dos últimos 12 ses você achou que	Nunca	Menos que 01 vez por mês	Mensalmente	Semanalmente	Quase todos os dias
não bel	o conseguiria parar de per uma vez tendo meçado?					

	Quantas vezes ao ongo dos últimos 12 neses você não	Nunca	Menos que 01 vez por mês	Mensalmente	Semanalmente	Quase todos os dias
es	onseguiu fazer o que era sperado de você por ausa do álcool?					
116. lo	Quantas vezes ao ongo dos últimos 12	Nunca	Menos que 01 vez por mês	Mensalmente	Semanalmente	Quase todos os dias
po lo be	neses você precisou eber pela manhã para oder se sentir bem ao ongo do dia após ter ebido bastante no dia onterior?					
	Quantas vezes ao ongo dos últimos 12 neses você se sentiu	Nunca	Menos que 01 vez por mês	Mensalmente	Semanalmente	Quase todos os dias
Cl	ulpado ou com remorso epois de ter bebido?					
118. lo	Quantas vezes ao ongo dos últimos 12 neses você foi incapaz	Nunca	Menos que 01 vez por mês	Mensalmente	Semanalmente	Quase todos os dias
a	e lembrar o que conteceu devido à ebida?					
	Você já causou erimentos ou prejuízos a	Nι	unca	Sim, mas não no ano	o último Sim, du	rante o último ano
	ocê mesmo ou a outra essoa após ter bebido?	[				
	Alguém ou algum arente, amigo ou médico i se preocupou com o	Nι	unca	Sim, mas não no ano	o último Sim, du	rante o último ano
SI	ato de você beber ou ugeriu que você arasse?	[				
	rmações da mãe			•	•	correspondente:
Sobr	re sintomas de X			-		; 2 = grave/óbvio
	Avaliação sinais F	AS, SENSC	ÓRIO-MOTORA I	E GLOBAL COG	INITIVA	0 1 2
	<ol> <li>Dificuldade de coordena</li> </ol>	•	brio			
	<ol> <li>Dificuldade de articulaçã</li> </ol>	io da fala				
	3. Mutismo, não fala					
	4. Parece não ouvir bem					
	5. Dificuldades visuais, en	J				
	<ol><li>Estigmas faciais da SFA</li></ol>	•			0)	
12	7. Erra ao nomear objetos	(três: cadeir	a, mesa, sapato)			

128. Erra operações simples de identificar quantidades (um dedo, dois dedos, cinco dedos)		
129. Erra ao falar o próprio nome completo		
130. Não segura um lápis		
131. Não consegue escrever três palavras simples (vovó, bala, picolé)		
132. Erra ao desenhar a figura humana (cabeça, tronco, membros)		
Data:		

## Anexo 3: Guia de Coleta de Saliva

## Como realizar a COLETA DE SALIVA: I. Abra o tubo e retire o algo-

dão.

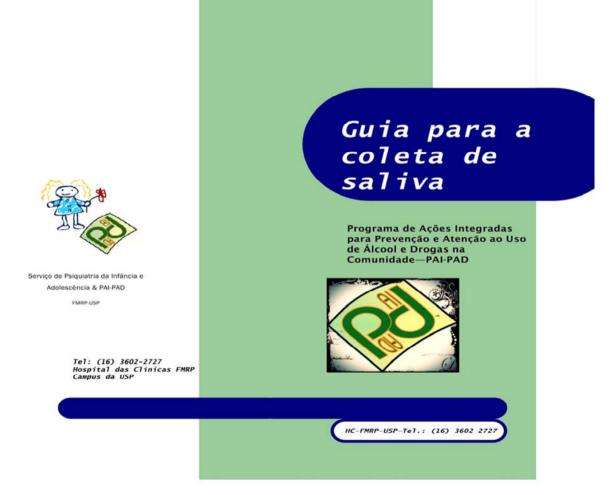
II.Instrua a criança a mastigar o algodão por um pouco mais de um minuto.

III.Coloque algodão com a saliva dentro do tubo Salivette.

IV.Feche o tubo firmemente.

V.Guarde as amostras no congelador até o momento da entrega





## Orientações para a Coleta de Saliva

1. Não realizar atividade física excessiva ou forte (academia, atividade aeróbica, jogar futebol ou outro esporte) durante 24 horas prévias ao início da coleta e durante o período de participação no projeto (visitas agendadas no HC).





2. Não realizar a coleta de amostras de saliva caso a criança tenha apresentado febre, diarréia, coriza ou qualquer outro sintoma de gripe ou virose nas últi-





3. A coleta de saliva deve ser feita nos finais de semanas no período da manhã depois de acordar





4. Acorde seu filho como de costume. Tente ser delicado. Seja o mais tranquilo possível, tente não gritar. Pode usar alarme. É preciso que a criança acorde antes das 10h da manhã.



#### Observações:

- · Não permitir que a criança cochile no intervalo de cada coleta. Mantenha a criança tranquila, impedindo que coma, beba ou realize atividade física forte durante o tempo de coleta.
- · Não permitir que a criança escove os dentes uma hora antes da coleta.
- · Não permitir que a criança coma nenhum tipo de alimento ou bebida (café, suco, leite, refrigerante, chocolate ou chá) durante a hora antes da coleta de saliva.
- · Comer a ultima refeição às 21h00min horas do dia anterior
- · Não realizar atividade física excessiva ou forte (Atividade aeróbica, jogar futebol ou outro esporte) durante 24 horas prévias ao início da

#### Serão feitas a seguintes coletas:

#### NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS:

A.Uma amostra 20 minutos ANTES da criança entrar na Ressonância Magnética.



Tubo Salivette vermelho

B.Uma amostra 20 minutos APÓS o exame de Ressonância Magnética. (Tubo Salivette laranja)



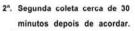


#### Serão feitas a seguintes coletas:

NA RESIDÊNCIA DA CRIANCA: Sábado ou Domingo até às 10h:

1°. Primeira coleta logo ao acordar, ainda deitado na cama.





(Tubo Salivette azul)





3º. Terceira coleta cerca de 60 minutos depois de acordar.

(Tubo Salivette verde)





4º. Quarta e última coleta À NOI-TE, cerca de 23 horas.

(Tubo Salivette preto)





#### Muito Obrigado por sua Colaboração !!!

Em caso de dúvidas, entre em contato conosco através do nosso telefone:

Tel: (16) 3602-2727 Hospital das Clinicas FMRP Campus da USP

# Anexo 4: Instrumento de Coleta de dados

Avaliação hormonal e metabólica em crianças em idade escolar com		Núcleo de Pesquisa em Psiquiatria clínica e Psicologia Al-PAD-Programa de ações integradas para prevenção e atenção ao uso de álcool e drogas na comunidade						
história de exposição	044	l and	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		IRP. USP		1	U <u>-</u>
ao etanol durante a	Codić	go do parti	cipan	te		Data	a	Hora
gestação								
	1	INFORMA	· ~ ~ ~	CEDAL	1			
IDENTIFICAÇÃO:		<u>INFURIVIE</u>	<u>ICAU</u>	GERAL				
Nome:			Sobr	renome				
			•	•				
Data de nascimento:							Idade:	
Escolaridade:Ano escolar :5 <sup>ta</sup> :	serie6 <sup>ta</sup> serie	e 0 7	7 <sup>ma</sup> ser	rie 1			2	
Fármacos:					<u> </u>			
Fármacos			spost		Doses		Tempo de	Genérico
	/* IN IEO)	Sim		Não	(mg/dìa	a) ι	uso (meses)	
Antiinflamatorios no esteroide     Antiorritoriose	s (AINES)	Sim	_	Não				
2. Antiarrítmicos		Sim		Não				
3. Anticonvulsivantes		Sim	$\perp$	Não				
4. Antidepresivos		Sim	$\perp$	Não				
5. Antipsicóticos		Sim	$\perp$	Não				
6. Carbonato de lítio		Sim		Não				
7. Ansiolíticos		Sim	<u></u>	Não				
8. Sedativos hipnóticos		Sim		Não				
9. Psicoestimulantes		Sim	$T_{\underline{}}$	Não				
10.Warfarina		Sim	$T_{\_}$	Não	<u> </u>	$\prod_{-}$		
11. Antiácidos		Sim	$\top$	Não				
12. Hipolipemiantes		Sim	$\top$	Não				
13. Digitálicos		Sim	$\top$	Não				
14. Hipoglicemiantes		Sim	$\top$	Não				
15. Outro		Sim	+	Não				
Alérgicos: É alérgico a algum tipo de subst	ancia alimer	nto o medic	ament	to Sim	1 Na	ão	2	
Qual?					ı	1	Diario	
Atividade Física: Faz algum tipo de atividade e	snortiva?	Com que	fr <u>eg</u> u(	ència?		2	2-4 vezes	por semana
	Sp01		1 ° 4 .	7110.2		4	1 vez por	or semana
SimNa 0						5	1-4 vezes	
Nome da Mãe						6	Rarament	
						7	Nunca	

# Anexo 5: Diário de Registro de Atividades

CAR  Cortisol Awaking Response e ritmo circadiano do cortisol em crianças com história de exposição ao etanol durante a gestação	Núcleo de Pesquisa em Psiquiatria clínica e Psicopatologia PAI-PAD-Programa de ações integradas para prevenção e atenção ao uso de álcool e drogas na comunidade FMRP. USP  Em cooperação com: Laboratorio de Endocrinología Divisão de Endocrinologia Departamento de Clínica Médica HCFMRP-USP						
	Código do parti	icipante					
Agradecemos seu tempo e a informação sobre as concacompanhadas. Por favor, re	lições da coleta, m esponda as seguintes	nesmo que		•	-		
PRIMEIRO DÍA	DATA: // DD	MM A	ino				
Horário do café de manhã: _	HH MIN	Protoc	colo	Horário coleta		Result	
Horário do almoço:	1	Zero (Sa					
Horário do Jantar	HH MIN	Amar 30 m (Salivette 60 m	nin e azul)				
_	HH MIN	(Salivette 23:00	verde) pm				
1. Seu Filho tomou outra refe	eição durante o dia?	(Salivette	e preto)				
Sim (especifique)	Em	que horário?				am/pr	n
Não							
2. Seu filho comeu qualquer	·	·		as amostr	as de s	aliva?	
Sim (especifique)		_Em que hora	ário?			а	m/pm

3. Seu filho consumiu qualquer laticínio (leite, iogurte, fermentado, queijo, requeijão...) uma hora antes

\_\_\_Em que

da coleta das amostras de saliva?

Não

Sim (especifique)\_\_\_\_\_ horário?\_\_\_\_\_am/pm

Om (09p00mqu0)	Em que horário?	am/pn
Não		
teve alguma atividade emocional fort	saliva ou mesmo no dia da coleta de amost e (brigar comirmão, choro prolongado por te, susto) ou houve alguma situação est	mais de 10 minutos
Sim (especifique)	Em que horário?	am/pn
Não		
6. Seu filho participou de alguma ativic bola, natação, andar de bicicleta)?	dade física forte durante às 24h previas à co	ıleta de saliva ( jogou
Sim (especifique)	Em que horário?	am/pn
Não		
especifique 	esta tomando. Se não está tomando nenhu	ım remédio, por favol
8. Seu filho tirou alguma soneca duran	ite o dia?	
Sim . Registre o horário de in Minutos	icio	Duração
	LILL NAINI	
Mão	HH MIN	
Não		
	e manha?	
9. A que horas seu filho se acordou de	e manha? / / HH MIN noite? /	
9. A que horas seu filho se acordou de 10. A que horas seu filho se deitou à n	e manha? / HH MIN noite? / HH MIN	
9. A que horas seu filho se acordou de 10. A que horas seu filho se deitou à n	e manha? / HH MIN noite? / HH MIN	
<ul><li>9. A que horas seu filho se acordou de</li><li>10. A que horas seu filho se deitou à n</li><li>11. Registre a hora em que acordou à</li><li>12.Ocorreu algum fato inesperado ou</li></ul>	e manha? / HH MIN noite? / HH MIN noite /	a coleta ou mesmo n
9. A que horas seu filho se acordou de 10. A que horas seu filho se deitou à n 11. Registre a hora em que acordou à 12.Ocorreu algum fato inesperado ou dia da coleta de saliva	e manha?  HH MIN  noite?  HH MIN  noite  /  HH MIN  evento especial durante 24 horas antes da  Em que horário?	am/pn
9. A que horas seu filho se acordou de 10. A que horas seu filho se deitou à n 11. Registre a hora em que acordou à 12. Ocorreu algum fato inesperado ou dia da coleta de saliva  Sim (especifique)	e manha?/ HH MIN noite?/ HH MIN noite/ HH MIN evento especial durante 24 horas antes daEm que horário? Em que horário?	am/pn am/pr
9. A que horas seu filho se acordou de  10. A que horas seu filho se deitou à n  11. Registre a hora em que acordou à  12. Ocorreu algum fato inesperado ou dia da coleta de saliva  Sim (especifique)	e manha?  HH MIN  noite?  HH MIN  noite  HH MIN  evento especial durante 24 horas antes da  Em que horário?  Em que horário?  Em que horário?	am/pn am/pm am/pm
9. A que horas seu filho se acordou de  10. A que horas seu filho se deitou à n  11. Registre a hora em que acordou à  12.Ocorreu algum fato inesperado ou dia da coleta de saliva  Sim (especifique)	e manha?/ HH MIN noite?/ HH MIN noite/ HH MIN evento especial durante 24 horas antes daEm que horário? Em que horário?	am/pn am/pm am/pm am/pm
<ul> <li>9. A que horas seu filho se acordou de</li> <li>10. A que horas seu filho se deitou à n</li> <li>11. Registre a hora em que acordou à</li> <li>12.Ocorreu algum fato inesperado ou dia da coleta de saliva</li> <li>Sim (especifique)</li> </ul>	e manha?  HH MIN  noite?  HH MIN  noite  /  HH MIN  evento especial durante 24 horas antes da  Em que horário?  Em que horário?  Em que horário?  Em que horário?  Em que horário?	am am, am, am,
9. A que horas seu filho se acordou de  10. A que horas seu filho se deitou à n  11. Registre a hora em que acordou à  12.Ocorreu algum fato inesperado ou dia da coleta de saliva  Sim (especifique)	e manha?  HH MIN  noite?  HH MIN  noite  /  HH MIN  evento especial durante 24 horas antes da  Em que horário?  Em que horário?  Em que horário?  Em que horário?  Em que horário?	am/p am/p am/p am/p

# Anexo 6: Questionário de hábitos do sono nas crianças "The Children's Sleep Habits Questionnaire (CHSQ)".

Avaliação hormonal e	Núcleo de Pesquisa em Psiquiatria clínica e Psicopatologia					
metabólica em	PAI-PAD-Programa de ações integradas para prevenção e atenção ao uso					
	de álcool e drogas na comunidade					
crianças em idade	FMRP. USP					
escolar com história	Em cooperação com:					
de exposição ao	Laboratorio de Endocrinología—Divisão de Endocrinolog				nologia	
etanol durante a	Departamento de Clínica Médica—HCFMRP-USP					
gestação	Código do participante					
				l		

Este questionário pode ser preenchido por um dos pais ou por outra pessoa que cuide da criança e conheça bem os seus hábitos de sono. O seu preenchimento demora apenas alguns minutos.

Nome da Criança:	Data de nascimento:	
Idade:	Data da pesquisa:	

Acha que o seu filho/filha tem algum problema com o sono ou com o adormecer? Sim Não

As afirmações seguintes dizem respeito aos hábitos de sono da criança e possíveis problemas com o sono. Para responder às questões, pense no que aconteceu na semana passada. Se o sono foi diferente do habitual nessa semana por alguma razão (por ter uma otite ou porque a televisão avariou, por exemplo), pense em outra semana recente que considere mais normal. Nas perguntas de escolha múltipla, coloque uma cruz na coluna mais apropriada:

- HABITUALMENTE: se o comportamento descrito ocorre 5 ou mais vezes durante a semana
- ÀS VEZES: se o comportamento ocorre 2 a 4 vezes durante a semana
- RARAMENTE: se o comportamento ocorre apenas 1 vez durante a semana ou nunca acontece

HORA DE DEITAR			
Durante a semana:horas eminutos			
No fim de semana: horas eminutos			
A criança,	Habitualmente (5-7 dias à semana)	A vezes (2-4 dias à semana)	Raro (0-1 dias à semana)
Deita-se sempre à mesma hora (R)(1)			
Depois de se deitar, demora até 20 minutos a adormecer (R)(2)			
Adormece sozinha na sua própria cama (R)(3)			
Adormece na cama dos pais ou dos irmãos (4)			
Adormece embalada ou com movimentos rítmicos			
Precisa de um objeto especial para adormecer (fralda, boneco, etc., não inclui chupeta)			
Precisa de um dos pais no quarto para adormecer (5)			

HORA DE DEITAR (CONT.)			
A criança,	Habitualmente (5-7 dias à semana)	A vezes (2-4 dias à semana)	Raro (0-1 dias à semana)
Resiste a ir para a cama na hora de deitar			
"Luta" na hora de deitar (chora, recusa-se a ficar na cama, etc.) (6)			
Tem medo de dormir no escuro (7)			
Tem medo de dormir sozinha (8)			
Adormece a ver televisão			

COMPORTAMENTO DURANTE O SONO						
Tempo total de sono diário: horas e	minutos					
(considerando o sono da noite e as sestas)						
A criança	Habitualmente	Às vezes	Raramente			
	(5 a 7 vezes	(2 a 4 vezes	(uma vez			
-	por semana)	por semana)	ou nunca)			
Dorme pouco (9)						
Dorme muito						
Dorme o que é necessário (R)(10)						
Dorme o mesmo número de horas todos os dias						
(R)(11)						
Fala a dormir (13)						
Tem sono agitado, mexe-se muito a dormir (14)						
Anda a dormir, à noite (sonambulismo) (15)						
Vai para a cama dos pais, irmãos, etc., a meio da						
noite (16)						
Queixa-se de dores no corpo durante a noite. Se						
sim,onde?						
Range os dentes durante o sono (17)						
Ressona alto (18)						
Parece parar de respirar durante o sono (19)						
Ronca ou tem dificuldade em respirar durante o						
sono (20)						
Tem dificuldade em dormir fora de casa (na casa						
de familiares, nas férias, etc.) (21)						
Acorda durante a noite a gritar, a suar,						
inconsolável (22)						
Acorda assustada com pesadelos (23)						
Molha a cama à noite (crianças com 4 ou mais						
anos) (12)						

ACORDAR DURANTE A NOITE			
A criança	Habitualmente	A vezes	Raro
	(5-7 dias à	(2-4 dias à	(0-1 dia à
	semana)	semana)	semana)
Acorda uma vez durante a noite (24)			
Acorda mais de uma vez durante a noite (25)			
Quando acorda de noite, volta a adormecer sem			
ajuda			

Quando acorda durante a noite, quanto tempo fica acordada? \_\_\_\_\_ minutos

ACORDAR DE MANHÃ							
Hora de acordar nos dias de semana: horas e minutos							
Hora de acordar no fim de semana: horas e minutos							
A criança	Habitualmente (5-7 dias à semana)	A vezes (2-4 dias à semana)	Raro (0-1 dia à semana)				
De manhã, acorda por si própria (R)(26)							
Acorda com despertador							
Acorda mal-humorada (27)							
De manhã, é acordada pelos pais ou irmãos (28)							
Tem dificuldade em sair da cama de manhã (29)							
Demora a ficar bem acordada (30)							
Acorda com apetite							

SONOLÊNCIA DURANTE O DIA			
A criança	Habitualmente (5-7 dias à semana)	A vezes (2-4 dias à semana)	Raro (0-1 dia à semana)
Dorme a sesta durante o dia			
Adormece de repente no meio de uma atividade			
Parece cansada (31)			

Na semana passada, a criança pareceu sonolenta em alguma destas situações?		Sonolento	Ficou muito sonolenta	Adormeceu	
A brincar sozinha	Sim	Não			
A ver televisão (32)	Sim	Não			
A andar de carro (33)	Sim	Não			
Nas refeições	Sim	Não			