

Transtorno do espectro autista: uma revisão sistemática sobre aspectos nutricionais e eixo intestino-cérebro

Autism spectrum disorder: a systematic review about nutritional aspects and gut-brain axis

Marli do Carmo Cupertino^{1,2}, Michely Baptistele Resende¹, Isabela de Freitas Veloso¹, Camila Abreu de Carvalho¹, Vitor Ferreira Duarte¹, Guilherme Alves Ramos¹

¹Departamento de Medicina, Faculdade Dinâmica do Vale do Piranga (FADIP) - Ponte Nova, (MG), Brasil.

²Departamento de Medicina e Enfermagem, Universidade Federal de Viçosa (UFV) - Viçosa (MG), Brasil.

DOI: <https://dx.doi.org/10.7322/abcshs.v44i2.1167>

RESUMO

O número de indivíduos diagnosticados com o transtorno do espectro autista (TEA) registrou aumento evidente na última década. Os principais sintomas, apresentados pelo portador, são neurológicos e digestórios, estando às intervenções nutricionais dentre as terapêuticas mais promissoras para amenizar a sintomatologia clínica. Assim, objetivou-se revisar sistematicamente os estudos sobre distúrbios alimentares e do trato gastrointestinal apresentado pelo indivíduo portador do TEA, a fim de compreender como o comportamento alimentar influencia na etiopatogênese e manifestações clínicas da doença, com foco no eixo intestino-cérebro. Para isso realizou-se uma revisão sistemática, seguindo as diretrizes PRISMA. A partir de uma busca estruturada e abrangente em bases de dados eletrônicas, 23 estudos foram recuperados e incluídos na revisão. Os critérios de inclusão definiam ser artigos originais relacionando o TEA com alterações nutricionais e/ou com o eixo intestino-cérebro. Após análise da composição da microbiota intestinal, os estudos mostraram um quadro de desequilíbrio. Foram encontradas, também, alterações na barreira de muco e permeabilidade intestinal e alterações em proteínas envolvidas na digestão e absorção de alimentos. Dietas restritivas e a modulação da microbiota, com uso de probióticos e de antibióticos específicos, são apresentadas como estratégias terapêuticas adjuvantes promissoras. Conclui-se que o eixo intestino-cérebro está envolvido tanto na etiologia, quanto nas manifestações clínicas do TEA. Porém, não sendo certo se alterações intestinais são causa ou consequência das alterações neurológicas. Até o presente momento, a comunidade científica não tem conclusões suficientes para indicar o uso de dietas restritivas, e uso de probióticos e de antibióticos como terapêutica para o TEA.

Palavras-chave: neurotoxinas; pediatria; ciências da nutrição infantil; transtorno do espectro autista; cérebro; intestinos.

ABSTRACT

The number of individuals diagnosed with autism spectrum disorder (ASD) had an evident increase in the last decade. The primary symptoms exhibited amongst these patients were mostly digestive and neurological disorders; with nutritional interventions being one of the most promising therapies to assuage this clinical symptomatology. As such, following the PRISMA guidelines, we systematically reviewed the research studies apropos of the ASD patients manifesting said digestive disorders, to comprehend how dietary behavior can influence the etiopathogenesis and clinical manifestations of the disease, with primary focus on the gut-brain axis. From a comprehensive and structured search through electronic databases, 23 studies were retrieved and admitted in this review. The inclusion criteria defined that there be original articles consociating ASD with nutritional disorders and/or with the gut-brain axis. These studies analyzed the composition of the intestinal flora of diagnosed patients, subsequently discerning cases of varying imbalances. Alterations in the gene expression of the proteins involved in the digestion and absorption of food, the mucous barrier and the intestinal permeability were described. Accordingly, restrictive diets and the modulation of the microbiota by administering specific anti- & probiotics were initially identified as promissory therapies. In conclusion, the gut-brain axis was observed to be a determinant factor in both the etiology and clinical symptomatology of ASD - though it is still debatable the correlation of intestinal alterations with neurological changes. At present, there is no concrete scientific proof accrediting to restrictive diets and the use of specific anti- & probiotics, as successful treatments for ASD

Keywords: neurotoxins; pediatrics; child nutrition sciences; autism spectrum disorder; cerebrum; intestines.

Recebido em: 21/05/2018

Revisado em: 02/10/2018

Aprovado em: 21/11/2018

Autor para correspondência: Marli do Carmo Cupertino - Laboratório de Métodos Epidemiológicos e Computacionais em Saúde. Departamento de Medicina e Enfermagem. Universidade Federal de Viçosa - Avenida Peter Henry Rolfs, s/n. Campus Universitário - CEP: 36570-900 - Viçosa (MG), Brasil - E-mail: marli.cupertino@ufv.br

Apoio financeiro: Faculdade Dinâmica do Vale do Piranga (FADIP/Ponte Nova).

Conflito de interesses: nada a declarar

INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a prevalência mundial de Transtorno do Espectro Autista (TEA) é de uma em cada 160 crianças, sendo que os sintomas começam na infância e tendem a persistir na adolescência e na idade adulta¹⁻³. Enquanto alguns indivíduos portadores de TEA podem viver de forma independente, outros têm deficiências severas e requerem cuidados e apoio ao longo da vida. Em todo o mundo, portadores de TEA são frequentemente sujeitos a estigma, discriminação e violações de direitos humanos e como agravado, globalmente, o acesso a serviços e suporte para essas pessoas são inadequados^{1,2,4}.

O TEA é caracterizado por alterações no desenvolvimento neurológico e deficiências na interação social e comunicação, com presença de comportamentos repetitivos e estereotipados^{4,5}. Alterações nos hábitos alimentares e distúrbios do trato gastrointestinal (TGI), também são descritos como tendo interferência direta na etiologia e sintomatologia desse quadro, podendo impactar prejudicialmente ou auxiliar no equilíbrio funcional do organismo⁶. Há um crescente interesse no eixo intestino-cérebro por seu envolvimento em distúrbios gastrointestinais funcionais e do neurodesenvolvimento, no qual o TEA está inserido. O eixo intestino-cérebro consiste na comunicação bidirecional entre o sistema nervoso central e o sistema nervoso entérico, conectando os centros emocional e cognitivo do cérebro às funções intestinais periféricas por meio de ligações neurais, endócrinas, imunes e humorais^{7,8}. A microbiota intestinal tem sido descrita como capaz de influenciar essas complexas relações, estando envolvida na manutenção da barreira intestinal, barreira hemato-encefálica, expressão de neurotransmissores e seus receptores, e modulação da atividade cerebral e do comportamento^{2,3}. Sendo destacada a possibilidade de melhoria do espectro para pacientes com TEA a partir de modulação de microbiota com prescrição de probióticos⁸ e de uso de antibióticos específicos⁹.

Recentemente, um maior número de casos de TEA foram relatados, porém não pode ser explicado, unicamente, por aumento na conscientização e melhora dos métodos de diagnóstico¹. Especula-se que os fatores ambientais, como exposição pré ou pós-natal a metais pesados e certas classes de agrotóxicos, estresse, infecção materna e fatores alimentares¹⁰, bem como fatores de ordem genética, como predisposição familiar, desempenham um papel importante no desenvolvimento e aumento do número de casos da síndrome¹¹⁻¹³. Adicionalmente, entre crianças com baixa suscetibilidade genética, alguns fatores maternos e obstétricos têm um papel importante na etiologia do autismo. Dentre esses fatores destaca-se a idade materna e paterna avançada, duração da gestação, hipoxia durante o parto, parto cesáreo e baixo peso ao nascer¹²⁻¹⁵. Além dos fatores maternos e obstétricos, existem os congênitos ou antenatais que são descritos como relacionados à etiologia do TEA, como erros de sinaptogênese, prematuridade e malformações do corpo caloso^{13,16}. Sendo que o TEA envolve

uma série de fenótipos com grande heterogeneidade entre os indivíduos, e pode ser necessário investigar subgrupos específicos para entender os processos biológicos subjacentes a essa doença¹⁷.

Nessa síndrome são relatadas anormalidades na quantificação do peptídeo urinário gliadina, derivada do glúten, além de derivados da caseína, sugerindo que dietas, sem glúten e sem caseína, podem ser terapias promissoras para crianças autistas¹⁷, uma vez que o estado nutricional inadequado, apresentado por muitos indivíduos portadores do TEA^{4,5}, podem estar relacionadas a má absorção devido a uma sensibilidade não diagnosticada^{2,3,18}, associada a uma seletividade e recusa alimentar, descrita por alguns estudos^{4,19}.

Uma hipótese que se opõe as alterações alimentares como causa unicamente secundária do autismo é a teoria de que as crianças portadoras do TEA não desenvolvam a flora intestinal normal desde o nascimento, dessa forma, o sistema digestivo torna-se uma importante fonte de neurotoxinas, produzidas por meio do crescimento de uma flora anormal, levando a alterações comportamentais^{20,21}. Algumas patologias estão relacionadas à produção de toxinas no TGI gerando manifestações clínicas, como o botulismo alimentar, cuja etiologia é a ingestão de produtos metabólicos da flora intestinal, incluindo neurotoxinas da bactéria *Clostridium botulinum*, que produz toxinas levando a graves lesões neurológicas e até ao óbito¹⁰.

Vários estudos mostram uma complexa interação entre os micro-organismos que habitam o TGI com o cérebro em desenvolvimento^{3,4,5,13}, sendo uma linha de pesquisa promissora para terapêutica de vários problemas neurocomportamentais, como o autismo. A existência de um eixo cérebro-intestino, que pode sofrer influência de bactérias presentes no TGI, permitirá modulação das funções cognitivas e comportamentais pela modulação da microbiota intestinal, com uso de dietas, probióticos e antibióticos específicos^{8,9,13,22}.

Apesar de ser bastante descrito os sintomas alimentares e do TGI em indivíduos portadores de TEA²³ ainda falta conhecimento sobre a relação e mecanismos com que essas alterações podem modular ou não o aparecimento dos sintomas da doença. Assim, revisamos sistematicamente estudos em populações humanas, para investigar os distúrbios alimentares e alterações do TGI, a fim de apresentar a maneira com as quais essas alterações desempenham papel nas manifestações clínicas da doença, como causa ou consequência de alterações neurológicas. Analisamos os métodos utilizados em todos os estudos selecionados, especialmente considerando que a qualidade da evidência gerada por estudos metodológicos defeituosos poderia comprometer e generalizar os achados.

MÉTODO

Estratégia de pesquisa e seleção dos artigos

As diretrizes PRISMA (Reportagem Relativa para Revisão Sistemática e Protocolos de Meta-Análise), cujo acesso é livre,

foram adotadas para realizar essa revisão sistemática. Quatro pesquisadores (IDFV, GAR, MBR e VFD) buscaram de modo independente os bancos de dados PubMed, SciELO e Scopus para todos os artigos originais que relatavam relação de algum aspecto nutricional em populações humanas com o transtorno do espectro autista publicados até agosto de 2018. A estratégia de busca baseou-se em três componentes: 1) transtorno do espectro autista (TEA); 2) alterações nutricionais e neurotoxinas; e 3) eixo intestino-cérebro. Os filtros de pesquisa foram desenvolvidos de acordo com o dicionário de sinônimos da plataforma - MeSH terms (Medical Subject Headings). Para a biblioteca digital PubMed (US National Library of Medicine National Institutes of Health) foram utilizados os descritores e operadores booleanos “Autism Spectrum Disorder AND Infant Nutrition Disorders”, e “Autism Spectrum Disorder AND Neurotoxicity Syndromes”. Esses descritores foram adaptados para as bases SciELO (Scientific Electronic Library Online) e Scopus, onde foram utilizados os seguintes descritores “Autism Spectrum Disorder AND Infant Nutrition Disorders”, “Autism Spectrum Disorder AND Neurotoxicity Syndromes”, e “Autism Spectrum Disorder AND Gut-brain Axis”. A estratégia de pesquisa completa com filtros de pesquisa nas bases de dados PubMed-Medline, Scopus e Scielo. Por sua vez, a opção pelo descritor “Neurotoxicity Syndromes” se deu por ser um descritor que contempla a possível relação do TEA com as desordens nutricionais, por meio da produção de neurotoxinas, foco desse estudo. O descritor “Gut-brain Axis”, apesar de não ser reconhecido pela plataforma MESH, foi adicionado às bases SciELO e Scopus, a fim de recuperar artigos que contemplem a ação do eixo intestino-cérebro com o TEA. Diante dos artigos selecionados, buscou-se o consenso entre os pesquisadores na definição dos artigos que estavam de acordo com os critérios de inclusão. Nenhuma linguagem ou restrição cronológica foi aplicada na pesquisa de artigos. A seleção inicial foi feita a partir do título e resumo de todos os artigos encontrados. Os estudos duplicados foram removidos comparando os autores, o título, o ano e o jornal de publicação. Em caso de dúvida, toda a publicação foi baixada e avaliada. Após a triagem inicial, todos os estudos potencialmente relevantes foram baixados em texto completo e avaliados para elegibilidade.

Características do estudo, critérios de exclusão e inclusão

A exclusão dos estudos baseou-se em critérios bem definidos da seguinte forma: 1) estudos com abordagem de neurotoxinas causando outras síndromes neurológicas; que não se relacionam ao TEA; 2) desordens nutricionais não relacionadas ao TEA; e 3) estudos de texto incompletos ou secundários (ou seja, revisões de literatura, editoriais, comentários, cartas ao editor, artigos, livros e outros estudos cujos textos completos não estejam disponíveis). A elegibilidade foi analisada de forma independente pelos

pesquisadores e os desentendimentos foram resolvidos por consenso entre as eles. As listas de referência dos artigos relevantes escolhidos foram selecionadas para documentos potencialmente relevantes. Os critérios de inclusão foram: ser artigo original, ter como público alvo, indivíduos portadores do TEA e ter uma abordagem nutricional sobre o tema. Essa metodologia permitiu selecionar estudos específicos sobre TEA com relações nutricionais. Possíveis vieses foram analisados, consoante com as diretrizes PRISMA, a partir dos objetivos, delineamento, instrumentos, participantes, alterações alimentares apresentadas, dietas e intervenções e seus resultados.

Extração dos dados

Os dados qualitativos foram extraídos de todos os artigos incluídos. A extração de dados foi classificada da seguinte forma: 1) características da publicação: autor, ano, revista, e país; 2) características do indivíduo: número de participantes, faixa etária e sexo; 3) características da doença: categorização do grau de autismo; e 4) descrição dos principais resultados encontrados. A qualidade metodológica (viés de relatório) foi avaliada em todos os documentos incluídos baseados em descrições curtas das características essenciais do estudo, tais como declaração ética, qualidade do tratamento através de dieta, tamanho da amostra, dados de base e generalizações. Os pesquisadores avaliaram de forma independente o viés de relatórios de todos os estudos e as discrepâncias foram resolvidas por consenso entre as duplas. A avaliação da qualidade negativa não indicou necessariamente que o estudo tenha sido realizado incorretamente; indicou uma qualidade de relatório inadequada.

RESULTADOS

O número total de artigos encontrados foram 311, dos quais 23 foram selecionados para integrar a presente revisão. Após verificação, de modo independente pelos pesquisadores, obteve-se concordância sobre os artigos selecionados. A Figura 1 apresenta o diagrama de fluxo dos resultados da pesquisa da revisão sistemática.

Os artigos incluídos foram escritos em língua portuguesa ou inglesa, e publicados durante os anos de 2002-2018. Os aspectos importantes das publicações referenciadas e resumo dos principais resultados e conclusões encontrados relacionados ao TEA²⁰⁻⁴⁰ e questões nutricionais podem ser observadas na Tabela 1.

Seis estudos recuperados analisaram a composição da flora intestinal, através de cultura bacteriana e métodos moleculares, e todos revelaram um quadro de desequilíbrio^{2,11,21,22,26,36} com alteração da expressão gênica de transportadores e proteínas envolvidas na digestão e absorção de alimentos^{11,26,38} ou com alteração na barreira de muco²² e aumento da permeabilidade intestinal^{127,28,38}. Esse

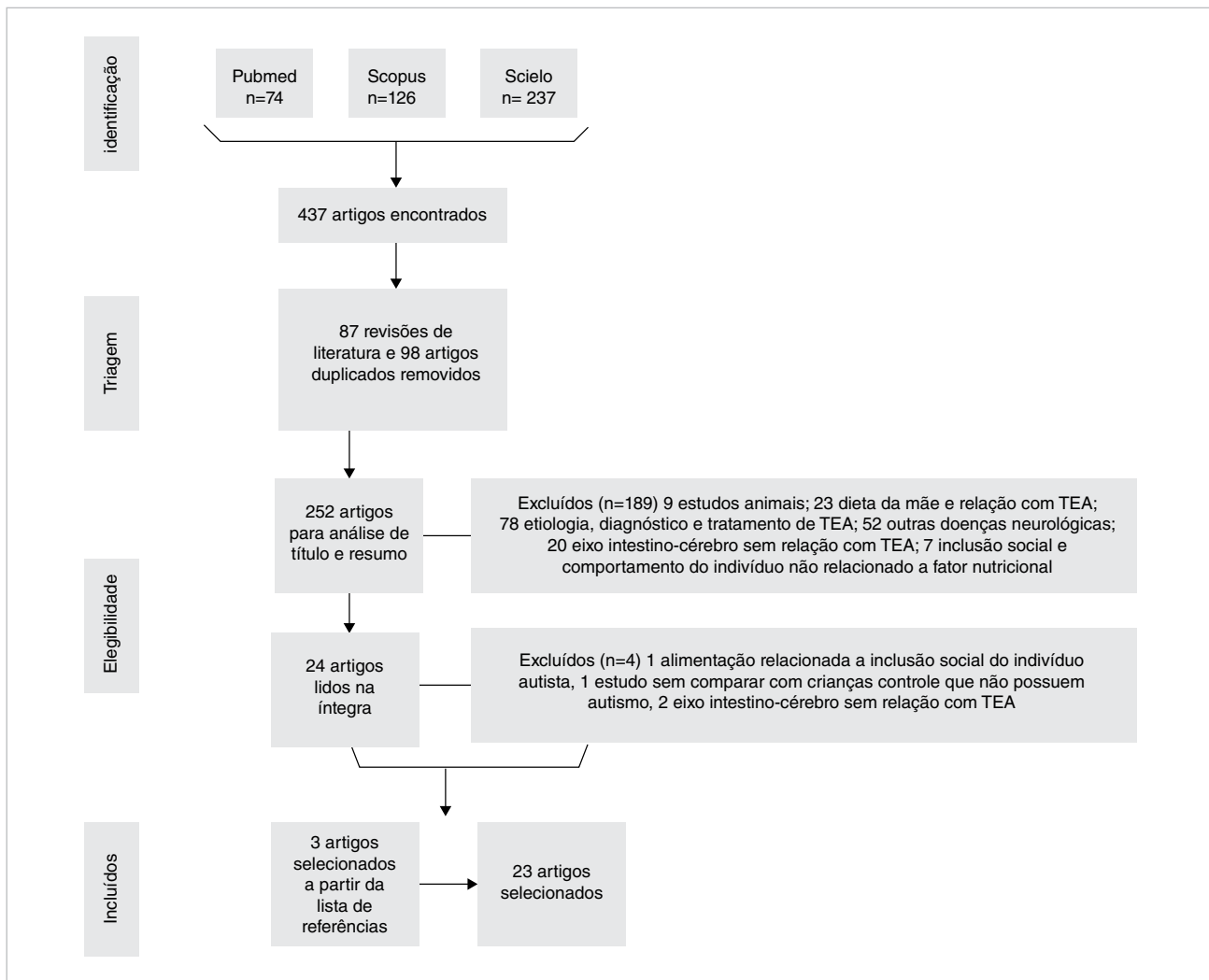


Figura 1: Diagrama de fluxo dos resultados da pesquisa de revisão sistemática, com base em itens de relatórios preferenciais para Reviews Sistemáticos e Meta-Análises: The PRISMA Statement

aumento de permeabilidade foi associado à reatividade ao glúten e a proteína gliadina^{27,28} e a fatores hereditário, onde os parentes de primeiro grau também exibiam maior permeabilidade intestinal, apesar de não possuírem sintomatologia de TEA, através de alterações em junções de oclusão entre enterócitos^{29,38}.

A seletividade alimentar, onde o consumo de um repertório de alimentos limitado pode estar associado a insuficiências nutricionais foi relatada em três estudos^{24,25,30,31,32,40} sendo que um desses estudos comprovou relação da recusa alimentar baseada na textura/consistência, sabor/cheiro, misturas, marca e forma. No entanto essa mesma publicação mostrou que a temperatura não teve relação com a recusa alimentar³². Alguns estudos que propuseram dietas restritivas a glúten e lactose, apresentavam viés metodológico, já que o estudo dependia de apoio dos cuidadores para mantê-la e na maioria das vezes não era feita de maneira adequada^{24,33}. No entanto melhora dos sintomas com o uso da dieta restritiva em glúten e caseína, foram citados pelos

mesmos autores^{24,33} e ausência de alteração dos sintomas com o uso da dieta restritiva, por outros autores²⁸. Crianças portadoras de TEA apresentaram processamento sensorial atípico sendo a causa da recusa alimentar⁴⁰. O tratamento com suplementos vitamínicos/ minerais e ácidos graxos essenciais, além da dieta sem glúten, sem caseína e sem soja mostrou melhora significativa na capacidade intelectual não-verbal, além de melhora significativamente nos sintomas do autismo²⁴. A suplementação com dieta probiótica mostrou alteração na flora intestinal e melhora no quadro clínico do portador de TEA³⁹. As alterações comportamentais tiveram relação direta com os sintomas do TGI, onde o indivíduo que apresentava maior número e gravidade dos sintomas do TGI também tinha o maior grau de autismo³⁴. Adicionalmente foi recuperado um estudo que demonstra relação direta do sobrepeso e obesidade com o TEA em crianças³⁵.

Todos estudos foram feitos utilizando indivíduos portadores de TEA, comparado os resultados com indivíduos controle sem

Tabela 1: Características dos estudos e resultados.

Autor/Ano	Resultados/Conclusão	n	Faixa etária	Sexo	Categori- zação do grau de autismo	País
Pullikan <i>et al.</i> 2018 ²	O estudo revelou abundância significativamente alta do gênero <i>Lactobacillus</i> em crianças com TEA, revelando desequilíbrio microbiano.	30	Crianças	Ambos	Sim	Índia
Inoue <i>et al.</i> 2016 ¹¹	A análise de ontologia de genes revelou que indivíduos com TEA expressam genes diferencialmente de crianças saudáveis, interferindo nas vias de sinalização com fortes correlações positivas com o aumento de bactérias <i>Faecalibacterium</i> . Os resultados sugeriram fortemente que a microbiota intestinal alterada em lactentes resultou no desenvolvimento de TEA e foi associada à desregulação da imunidade sistêmica, especialmente à inflamação crônica.	6	3-5 anos	Ambos	Sim	Japão
Schreck & Williams 2005 ²⁰	Os resultados indicaram que as crianças preferiam menos tipos de alimentos dentro dos grupos do que suas famílias. No entanto, as preferências alimentares familiares pareciam influenciar a seleção de alimentos mais do que as características diagnósticas do autismo.	138	Crianças	Ambos	Sim	Estados Unidos da América
Finegold <i>et al.</i> 2002 ²¹	O número de espécies clostridiais encontradas nas fezes de crianças com autismo foi maior que nas fezes de crianças controle. Encontrou-se ausência total de anaeróbios não formadores de esporos e bactérias microaerófilas de crianças controle e um número significativo dessas bactérias em crianças com autismo. Esses estudos demonstram alterações significativas na flora intestinal superior e inferior de crianças com autismo de início tardio e podem fornecer informações sobre a natureza desse transtorno.	13	Não	Ambos	Não	Estados Unidos da América
Wang <i>et al.</i> 2011 ²²	O distúrbio gastrointestinal é frequentemente relatado para indivíduos com autismo. Em análise de bactérias fecais foram encontradas menores abundâncias relativas de espécies de <i>Bifidobacteria</i> e a bactéria mucolítica <i>Akkermansia muciniphila</i> em crianças com autismo, o último sugerindo alterações de barreira de muco.	23	Não	Ambos	Sim	Austrália
Adams <i>et al.</i> 2018 ²³	O tratamento começou com um suplemento vitamínico / mineral especial, e tratamentos adicionais incluindo ácidos graxos essenciais, banhos de sal Epsom, carnitina, enzimas digestivas e uma dieta livre de glúten e caseína. Houve uma melhora significativa na capacidade intelectual não-verbal no grupo de tratamento em comparação com o grupo sem tratamento, além de melhora significativamente maior nos sintomas do autismo. Sure-se que uma intervenção abrangente é eficaz na melhoria do estado nutricional, do QI não verbal, dos sintomas do autismo e de outros sintomas na maioria dos indivíduos com TEA. Os pais relataram que os suplementos vitamínicos / minerais e ácidos graxos essenciais, além da dieta sem glúten, sem caseína e sem soja foram os mais benéficos.	67	3-58 anos	Ambos	Não	Estados Unidos da América
Chistol <i>et al.</i> 2018 ²⁴	Mais crianças com TEA apresentaram processamento sensorial atípico em relação a crianças controle. Entre as crianças com TEA, aquelas com sensibilidade sensorial oral atípica recusaram mais alimentos e ingeriram menos vegetais do que aquelas com sensibilidade sensorial oral típica. Estratégias que abordem o processamento sensorial oral podem ajudar na formulação de dietas para portadores de TEA	53	3-11 anos	Ambos	Não	Estados Unidos da América

Continua...

Tabela 1: Continuação.

Autor/Ano	Resultados/Conclusão	n	Faixa etária	Sexo	Categori- zação do grau de autismo	País
Schreck <i>et al.</i> 2004 ²⁵	Os resultados indicaram que as crianças com autismo têm significativamente mais problemas de alimentação e comem uma gama significativamente mais estreita de alimentos do que crianças sem autismo.	472	5-12 anos	Ambos	Sim	Estados Unidos da América
Williams <i>et al.</i> 2011 ²⁶	Em análise de expressão gênica e da microbiota mucopitelial em biópsias intestinais de crianças com autismo e doenças gastrointestinais e crianças com doença gastrointestinal isoladas. Foram observadas as transcrições deficientes em crianças com autismo, indicando comprometimento da via primária para digestão de carboidratos e transporte em enterócitos. A análise metagenômica de bactérias intestinais revelou desequilíbrio composicional, resultado de alteração nos níveis de expressão de disacaridases e transportadores. Esses resultados indicam uma relação entre a expressão de genes intestinais humanos e a estrutura da comunidade bacteriana e podem fornecer informações sobre a fisiopatologia de distúrbios gastrointestinais em crianças com autismo.	15	3 - 5 anos	Masculino	Sim	Estados Unidos da América
Lau <i>et al.</i> 2013 ²⁷	Crianças com autismo exibem maior reatividade imune ao glúten, cujo mecanismo parece ser distinto do da doença celíaca. O aumento da resposta de anticorpos anti-gliadina aponta para um potencial mecanismo envolvendo anormalidades imunológicas e/ou de permeabilidade intestinal em crianças afetadas.	37	7,8±2,9 anos	Ambos	Sim	Estados Unidos da América
Navarro <i>et al.</i> 2015 ²⁸	Apesar da permeabilidade intestinal aumentada, o comportamento associado à dieta contendo glúten e produtos lácteos em crianças com distúrbios do espectro do autismo não foram diferentes entre os grupos expostos ao glúten/leite ou placebo. Observou-se que as mudanças observadas eram pequenas e não clinicamente significativas.	37	Crianças	Ambos	Não	Estados Unidos da América
Magistris <i>et al.</i> 2010 ²⁹	Alterações de permeabilidade intestinais são encontradas em pacientes autistas e são encontradas em parentes de primeiro grau, sugerindo a presença de um fator hereditário intestinal (associada a junções celulares/ tight-junction) nas famílias de indivíduos com autismo.	90	7,4±5,1 anos	Ambos	Não	Itália
Kral <i>et al.</i> 2015 ³⁰	Os filhos com TEA, especialmente aqueles com sensibilidade sensorial oral atípica, estão em maior risco de comportamentos de evasão alimentar e podem requerer suporte adicional em vários domínios alimentares.	30	4-6 anos	Ambos	Não	Estados Unidos da América
Bandini <i>et al.</i> 2010 ³¹	A seletividade alimentar é mais comum em crianças com TEA do que em crianças com desenvolvimento normal e que um repertório de alimentos limitado pode estar associado a insuficiências nutricionais.	53	3-11 anos	Ambos	Não	Estados Unidos da América
Hubbard <i>et al.</i> 2014 ³²	As crianças autistas foram significativamente mais propensas a recusar alimentos com base na textura/consistência, sabor/cheiro, misturas, marcas e forma. Não foram encontradas diferenças entre os grupos para a recusa de alimentos com base na temperatura, independentemente do grau de autismo.	53	3-11 anos	Ambos	Não	Estados Unidos da América
Pennesi & Klein 2012 ³³	A dieta livre de gluten e caseína em crianças cujos pais relataram a presença de sintomas gastrointestinais, diagnósticos de alergia alimentar e suspeitas de sensibilização alimentar incluíram melhora nos sintomas fisiológicos e comportamentos sociais. Fatores imunológicos e ligados a metodologia de implementação da dieta sem glúten e sem caseína para crianças com diagnóstico de transtorno do espectro autista desempenharam um importante papel nos resultados.	387	Crianças	Ambos	Não	Estados Unidos da América

Continua...

Tabela 1: Continuação.

Autor/Ano	Resultados/Conclusão	n	Faixa etária	Sexo	Categori-zação do grau de autismo	País
Maenner et al. 2012 ³⁴	Os hábitos incomuns de sono ou de alimentação e o comportamento de oposição foram significativamente associados aos problemas GI. Esses comportamentos, no entanto, eram frequentes em crianças com e sem problemas GI, sugerindo que eles podem ter utilidade limitada em uma capacidade de triagem para problemas GI.	487	3-11 anos	Ambos	Não	Estados Unidos da América
Kummer et al. 2015 ³⁵	Crianças e adolescentes com TEA estão em maior risco de sobrepeso e obesidade do que crianças sem problemas de desenvolvimento na comunidade.	69	Crianças e Adolescentes	Ambos	Não	Brasil
Adams et al. 2011 ³⁶	Existe forte correlação dos sintomas gastrointestinais com a gravidade do autismo. Isso sugere que as crianças com autismo mais grave provavelmente terão sintomas gastrointestinais mais severos e vice-versa. É possível que os sintomas do autismo sejam exacerbados devido aos problemas gastrointestinais e mudança da flora.	58	2,5-18 anos	Ambos	Não	Estados Unidos da América
Knivsberg et al. 2002 ³⁷	A dieta sem glúten e sem caseína melhorou o comportamento das crianças em dieta em relação aos controles.	10	Crianças	Ambos	Não	Noruega
Fiorentino et al. 2016 ³⁸	Em análise do perfil gênico e protéico de amostras coletadas pós morte de córtex cerebral e cerebelo; e amostras de tecidos provenientes de biópsias duodenais de indivíduos autistas, revelou, no cérebro, uma expressão alterada de genes associados à integridade da Barreira Hematoencefálica, associada a um aumento da neuroinflamação e comprometimento da barreira intestinal	20	-	Ambos	Não	Estados Unidos da América
Tomova et al. 2015 ³⁹	Os participantes demonstraram correlação positiva da gravidade do autismo com a gravidade da disfunção gastrointestinal. A suplementação com dieta probiótica normalizou a relação <i>Bacteroidetes</i> / <i>Firmicutes</i> , <i>Desulfovibrio spp.</i> e a quantidade de <i>Bifidobacterium spp.</i> em fezes de crianças autistas. Não foi encontrada correlação entre os níveis plasmáticos de hormonais e microbiota fecal. Este estudo sugere o papel da microbiota intestinal no autismo como parte do eixo "intestino-cérebro".	10	2-9 anos	Ambos	Sim	Eslováquia
Bennabi et al. 2018 ⁴⁰	Infecções e alterações de imunidade estão associadas a TEA, sendo ambos fortemente influenciados pela regulação genética do sistema de antígeno leucocitário humano (HLA). Através de técnicas de genotipagem revelou-se o envolvimento do HLA na ASD, com possível relevância para a desregulação do eixo intestino- cérebro.	474	3-66 anos	Ambos	Sim	França

TEA. Apenas nove estudos fizeram categorização do grau de autismo dos participantes incluídos nos estudos^{2,4,11,22,25-27,39}.

A partir do objetivo de avaliar aspectos relevantes das publicações referenciadas com abordagem no autismo e da sua relação com algum tipo de alteração no padrão alimentar, seja ela a seleção de alimentos ou a intolerância a certos componentes alimentares, como o glúten e lactose que resume todos os aspectos investigados, bem como sua relevância (Figura 2). Além de descrever os aspectos positivos e negativos dos estudos recuperados. Considerando os estudos analisados, pode-se inferir que há considerável variabilidade no padrão alimentar que resulta em alterações significativas no processo patológico do indivíduo portador do TEA.

Frequentemente indivíduos autistas apresentam patologias no TGI, que agravam os distúrbios comportamentais, por provocarem desconforto, inflamação intestinal, aumento da permeabilidade intestinal e desequilíbrio nas bactérias intestinais^{2,34,40}. As manifestações clínicas relacionadas a esses distúrbios gastrointestinais na maioria das vezes estão associadas com a ingestão de certas substâncias, como por exemplo, o glúten, que contém gliadina, proteína que pode causar reações adversas exageradas, advindas do sistema imune^{27,40}. Desse modo, este estudo sistemático de revisão bibliográfica apontou que os aspectos nutricionais bem como alterações gastrointestinais de principal relevância no quadro sintomatológico de portadores de TEA, são: vômitos, diarreia crônica, cólicas abdominais, perda de peso, náuseas e dessarranjo intestinal, além

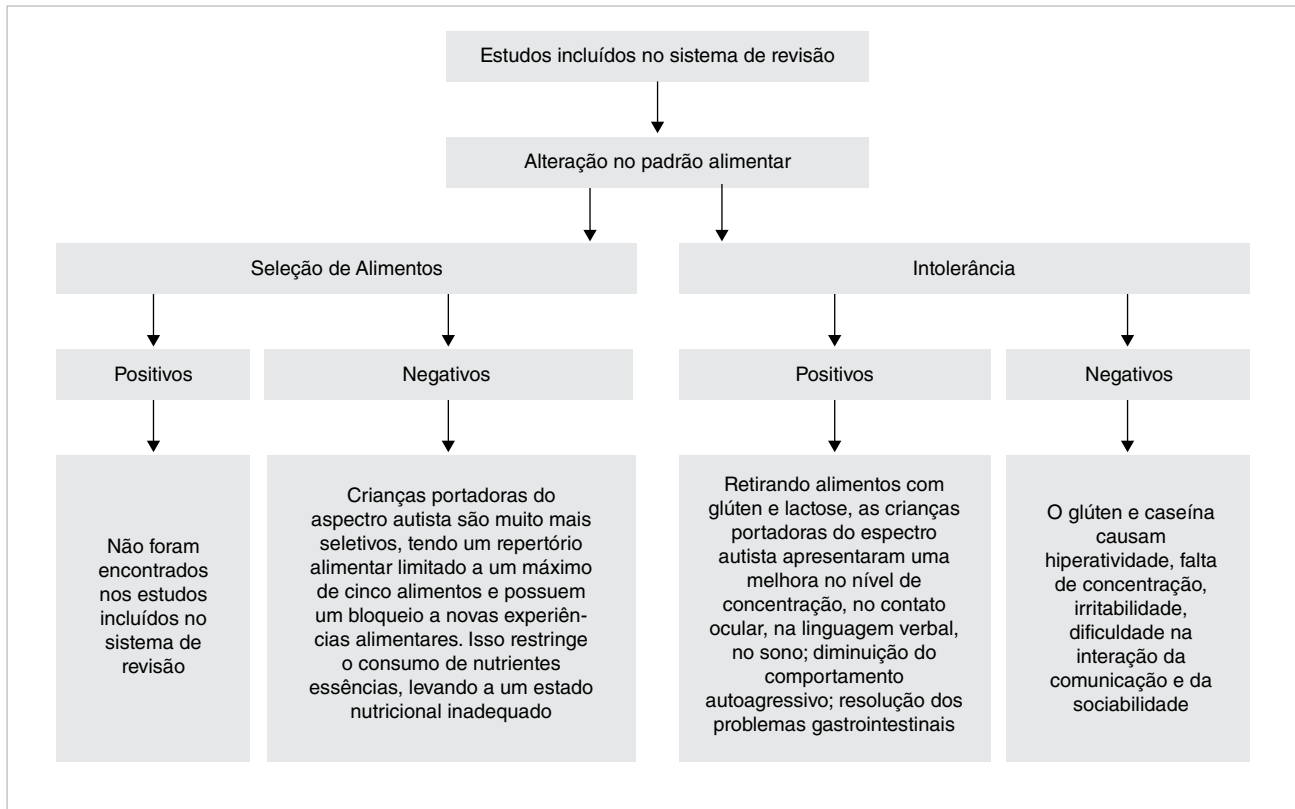


Figura 2: Síntese dos efeitos positivos e negativos relacionados ao comportamento alimentar e sintomas do TEA.

de alteração da sensibilidade oral, levando a seleção ou recusa alimentar⁴⁰. Esses distúrbios têm um fenótipo heterogêneo, tanto em relação aos sintomas quanto em relação à gravidade³⁴.

A literatura científica mostrou que com relação à dieta, três aspectos acentuados são identificados: seletividade, que limita a variedade de alimentos, podendo culminar em carências nutricionais importantes, recusa, que pode levar à desnutrição calórico-proteica e a indisciplina, que contribui concomitantemente aos demais comportamentos dos portadores de TEA, para a inadequação alimentar^{25,27,30,32,40}.

Infecções e alterações de imunidade foram associadas ao TEA, sendo ambos fortemente influenciados pela regulação genética do sistema de antígeno leucocitário humano, com possível relevância para a desregulação do eixo intestino-cérebro. Os participantes demonstraram correlação positiva da gravidade do autismo com a gravidade da disfunção gastrointestinal⁴⁰. Em análise do perfil gênico e proteico de amostras coletadas *pós mortem* de córtex cerebral e cerebelo; e amostras de tecidos provenientes de biópsias duodenais de indivíduos autistas, revelou, no cérebro, uma expressão alterada de genes associados à integridade da Barreira Hematoencefálica, associada a um aumento da neuroinflamação e comprometimento da barreira intestinal³⁸, reforçando a associação do cérebro com o intestino na etiologia, patogenia e sintomatologia do TEA.

DISCUSSÃO

É amplamente aceito que o Transtorno do Espectro Autista (TEA) envolve uma desordem no desenvolvimento do cérebro^{1,11,26,38}. No entanto, as causas reais dos distúrbios do desenvolvimento neurológico associados ao TEA não são claras.

Por meio da análise da literatura, verificou-se que a maioria das crianças com TEA exibe sintomas gastrointestinais e uma maior permeabilidade intestinal, com grandes diferenças na composição de microorganismos do TGI quando comparados pacientes com TEA e controles^{2,21,22,26,36,39}. Daí a razão de fatores relacionados à alimentação e nutrição despertarem interesse e serem fontes de pesquisas associadas a etiologia e terapêutica para controle dos sintomas e sinais do TEA.

As anormalidades na digestão e absorção de carboidratos^{25,26} poderiam explicar alguns dos problemas gastrointestinais observados em pacientes com TEA, porém sem relação exata com os problemas neurológicos e comportamentais. Dietas restritivas (gluten, caseína e lactose) apesar dos vieses metodológicos apresentados³³, mostraram melhora do quadro^{24,33,37}, com alguns estudos não revelando alterações na sintomatologia relacionados a dieta restritiva²⁸. Não houve recuperação de estudos que mostrassem relação da dieta restritiva, com a piora dos sintomas do TEA.

Todos estudos concluem que a alimentação e o eixo intestino-cérebro estão sim relacionados de alguma forma com o TEA. Sendo que alguns pesquisadores defendem que fatores

intestinais e nutricionais são a causa das alterações neurológicas^{10,11,17,19} e outra linha defende que as alterações nutricionais e intestinais encontradas nos portadores de TEA são consequência das alterações neurológicas^{20,22,36}. Todos estudos concordam que existe uma predisposição genética na etiologia do autismo^{11,26,29}, porém não é claro se essa alteração genética reflete na expressão de genes que altera diretamente o sistema nervoso ou interfere na expressão de genes que expressam proteínas intestinais e do sistema imune, consequentemente possibilitando neurotoxinas atingirem o sistema nervoso, causando a sintomatologia do TEA e consequente transtornos do comportamento alimentar, dentre outros. A necessidade de novas pesquisas é evidente, a fim de melhorar o conhecimento sobre etiopatogênese e consequente criar novas terapias para diminuir os sintomas dos indivíduos acometidos.

Um achado interessante foi a relação do TEA com a obesidade³⁵, já que a literatura indica doenças intestinais inflamatórias, indigestão, malabsorção e intolerância alimentar, levando a deficiências calórico-proteicas, vitamínicas e desnutrição em pacientes com TEA³⁸. Existe consenso de que as crianças com autismo possuem padrões alimentares seletivos, com repertório alimentar limitado, e embora a ingestão de micronutrientes seja inadequada, a ingestão de macronutrientes adequadas é cada vez mais relatada. A identificação e o desenvolvimento de indicadores de avaliação nutricional, como sinais de alerta precoce durante a rotina, começando no nascimento e que se estendam ao longo do crescimento da criança são necessários^{24,39,40}.

Novas pesquisas sobre o papel da microbiota intestinal na etiopatogênese do TEA são necessárias, para estabelecer os mecanismos prováveis, que ligam as alterações na microbiota, ao desenvolvimento neurológico, à função imune e ao comportamento. Por enquanto são apenas indicações positivas dessa relação e possíveis mecanismos^{38,39}. Sugere-se que metabólitos microbianos podem interagir com o sistema nervoso o que pode levar a sintomas neurológicos, como visto em análises de neurotoxinas na urina²⁶. Além de que a microbiota também pode alterar o sistema imunológico, sendo alguns mais propensos a envolver mudanças dentro do equilíbrio geral de toda a comunidade microbiana, enquanto outros podem ser exercidos por bactérias específicas³⁸. Estudos de intervenções destinados a modular a microbiota, por exemplo, com probióticos³⁹ ou dietéticas²⁴, e com terapêutica a base de antibióticos são alternativas promissoras.

É crítico compilar dados de vários estudos para esclarecer as discrepâncias acima mencionadas. Nesse contexto, a revisão sistemática é uma ferramenta poderosa que incorpora a variabilidade entre os estudos e permite a obtenção de uma estimativa geral dos achados. Além disso, traz a evidência positiva majoritária do eixo intestino-cérebro modulando a etiologia e sintomatologia do autismo e possibilidades terapêuticas.

Uma comparação direta entre os estudos não pode ser feita, pelo fato de diferentes metodologias terem sido empregadas e os

grupos de estudo não serem diretamente comparáveis, devido à natureza fenotípica heterogênea do TEA. Sendo que alguns indivíduos portadores de TEA não apresentam sintomas gastrointestinais, por exemplo. Esses estudos são ainda mais difíceis de serem comparados, pelo fato dos indivíduos autistas frequentemente receberem medicação contendo antibióticos e poderem estar em dietas especiais, as quais podem alterar a composição da microbiota. Assim, é difícil estabelecer se as alterações observadas desempenham um papel causador ou é apenas uma consequência da doença. Um papel da microbiota no TEA é, no entanto, apoiado pelo fato de que as intervenções com antibióticos levaram a uma melhoria do comportamento e da comunicação em indivíduos TEA, e as intervenções probióticas resultaram em efeitos positivos sobre sintomas neuropsicológicos (como humor e ansiedade) em outras populações estudadas³⁹.

Em pesquisas futuras é ideal discutir as vias multiníveis no eixo do intestino-cérebro e definir os sintomas como causa ou consequência, além de categorizar os indivíduos por grau de autismo, sintomatologia digestiva ou não, além de proteger as crianças contra experimentos dietéticos desnecessários e restrições que não possuem indicações médicas⁴⁰.

Pode-se concluir que o eixo intestino-cérebro é um importante fator associado tanto na etiologia, quanto nas manifestações clínicas do TEA. Porém, não sendo certo se alterações intestinais são causa ou consequência das alterações neurológicas. Apesar de não haver evidências suficientes para apoiar a instituição de uma dieta restritiva como um tratamento para o autismo, podendo ser benéfica para um subgrupo de pacientes e não surtir efeito em outros; não foram encontrados efeitos maléficos da dieta restritiva. O uso de tais dietas, juntamente com a modulação da microbiota, pelo uso de probióticos e de antibióticos específicos, são terapias que apesar de surgirem como uma possibilidade terapêutica promissora, até o presente momento, não tem suporte científico com resultados consistentes pela comunidade científica, que possibilitem indicação terapêutica ao indivíduo portador do TEA.

Os estudos, selecionados e incluídos nesse estudo de revisão sistemática, possuíam variabilidade metodológica, dificultando a comparação entre os resultados. A principal variação metodológica foi à falta de categorização dos graus de autismo, dos indivíduos participantes das pesquisas. Assim as respostas diferentes apresentadas por indivíduos, sob a mesma intervenção ou análise, podem ser devido à diferença no grau de autismo apresentado pelo indivíduo participante. Além disso, foi relatado o uso de fármacos e dietas restritivas durante alguns estudos, sem análise dos possíveis efeitos da dieta e fármacos sobre os resultados encontrados. Sugere-se que em pesquisas futuras, envolvendo portadores do TEA, sejam categorizados os graus de autismo, e analisados possíveis vieses, como uso de medicamentos e restrições dietéticas por partes dos indivíduos incluídos no estudo.

REFERÊNCIAS

- Organização Mundial de Saúde (OMS). Autism spectrum disorders. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/autism-spectrum-disorders/en/>. Acesso em: 2 jan. 2018.
- Pulikkan J, Maji A, Dhakan DB, Saxena R, Mohan B, Anto MM, *et al.* Gut Microbial Dysbiosis in Indian Children with Autism Spectrum Disorders. *Microb Ecol.* 2018. <https://dx.doi.org/10.1007/s00248-018-1176-2>
- Campion D, Ponzo P, Alessandria C, Saracco GM, Balzola F. Role of microbiota in the autism spectrum disorders. *Minerva Gastroenterol Dietol.* 2018. <https://dx.doi.org/10.23736/S1121-421X.18.02493-5>
- Kalbassi S, Bachmann SO, Cross E, Robertson VH, Baudouin SJ. Male and female mice lacking neuroligin-3 modify the behavior of their wild-type littermates. *eNeuro.* 2017;4(4):145-17. <https://dx.doi.org/10.1523/ENEURO.0145-17.2017>
- Lázaro C, Pondé M, Rodrigues LEA. Opioid peptides and gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorders. *Rev Bras Psiquiatr.* 2016;38(3):243-6. <http://dx.doi.org/10.1590/1516-4446-2015-1777>
- Theije CG, Wu J, Silva SL, Kamphuis PJ, Garssen J, Korte SM, *et al.* Pathways underlying the gut-to-brain connection in autism spectrum disorders as future targets for disease management. *Eur J Pharmacol.* 2011;668(Suppl 1):S70-80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.07.013>
- Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severi C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol.* 2015;28(2):203-9.
- Kim N, Yun M, Oh YJ, Choi HJ. Mind-altering with the gut: Modulation of the gut-brain axis with probiotics. *J Microbiol.* 2018;56(3):172-82. <http://dx.doi.org/10.1007/s12275-018-8032-4>
- Doenys C. Dietary interventions for autism spectrum disorder: New perspectives from the gut-brain axis. *Physiol Behav.* 2018;194:577-82. <https://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.07.014>
- Cereser ND, Costa FMR, Rossi Júnior OD, Silva DAR, Sperotto VR. Botulismo de origem alimentar. *Ciênc Rural.* 2008;38(1):280-7. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008000100049>
- Inoue R, Sakaue Y2, Sawai C, Sawai T, Ozeki M, Romero-Pérez GA, *et al.* A preliminary investigation on the relationship between gut microbiota and gene expressions in peripheral mononuclear cells of infants with autism spectrum disorders. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2016;80(12):2450-8. <http://dx.doi.org/10.1080/09168451.2016.1222267>
- George B, Leena ML, Nair MKC. Autism spectrum disorders-aetiopathogenesis. *J Clin Diag Res.* 2018;12(7):SE1-5. <http://dx.doi.org/10.7860/JCDR/2018/36431.11751>
- Lefebvre, Beggato A, Bourgeron T, Toro R. Neuroanatomical Diversity of Corpus Callosum and Brain Volume in Autism: Meta-analysis, Analysis of the Autism Brain Imaging Data Exchange Project, and Simulation. *Biol Psychiatry.* 2015;78(2):126-34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.02.010>
- Curran EA, O'Neill SM, Cryan JF, Kenny LC, Dinan TG, Khashan AS, *et al.* Research Review: Birth by caesarean section and development of autism spectrum disorder and attention-deficit/hyperactivity disorder: a systematic review and meta-analysis. *J Child Psychol Psychiatry.* 2015;56(5):500-8. <http://dx.doi.org/10.1111/jcpp.12351>
- Ouss-Ryngaert L, Alvarez L, Boissel A. Autism and prematurity: state of the art for the clinical geneticista. *Arch Pediatr.* 2012;19(9):970-5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arcped.2012.06.007>
- Santini E, Huynh TN, MacAskill AF, Carter AG, Pierre P, Ruggero D, *et al.* Exaggerated translation causes synaptic and behavioural aberrations associated with autism. *Nature.* 2013;493(7432):411-5. <http://dx.doi.org/10.1038/nature11782>
- Knivsberg AM, Reichelt KL, Høien T, Nodland M. A randomised, controlled study of dietary intervention in autistic syndromes. *Nutr Neurosci.* 2002;5(4):251-61. <http://dx.doi.org/10.1080/10284150290028945>
- Buie T. The relationship of autism and glúten. *Clin Ther.* 2013;35(5):578-83. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinthera.2013.04.011>
- Ibrahim SH, Voigt RG, Katusic SK, Weaver AL, Barbaresi WJ. Incidence of gastrointestinal symptoms in children with autism: a population-based study. *Pediatrics.* 2009;124(2):680-6. <http://dx.doi.org/10.1542/peds.2008-2933>
- Schreck KA, Williams K. Food preferences and factors influencing food selectivity for children with autism spectrum disorders. *Res Dev Disabil.* 2006;27(4):353-63. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ridd.2005.03.005>
- Finegold SM, Molitoris D, Song Y, Liu C, Vaisanen ML, Bolte E, *et al.* Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clin Infect Dis.* 2002;35(Suppl 1):S6-16. <http://dx.doi.org/10.1086/341914>
- Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, Gerber JP, Angley MT, Conlon MA. Low relative abundances of the mucolytic bacterium *akermansia muciniphila* and *bifidobacterium* spp. in feces of children with autism. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(18):6718-21. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.05212-11>
- Adams JB, Audhya T, Geis E, Gehn E, Fimbres V, Pollard EL, *et al.* Comprehensive Nutritional and Dietary Intervention for Autism Spectrum Disorder-a randomized, controlled 12-month trial. *Nutrients.* 2018;10(3):E369. <https://dx.doi.org/10.3390/nu10030369>
- Chistol LT, Bandini LG, Must A, Phillips S, Cermak SA, Curtin C. Sensory Sensitivity and Food Selectivity in Children with Autism Spectrum Disorder. *J Autism Dev Disord.* 2018;48(2):583-91. <https://dx.doi.org/10.1007/s10803-017-3340-9>
- Schreck KA, Williams K, Smith AF. A comparison of eating behaviors between children with and without autism. *J Autism Dev Disord.* 2004;34(4):433-8. <https://dx.doi.org/10.1023/B:JADD.0000037419.78531.86>
- Williams BL, Hornig M, Buie T, Bauman ML, Cho Paik M, Wick I, *et al.* Impaired carbohydrate digestion and transport and mucosal dysbiosis in the intestines of children with autism and gastrointestinal disturbances. *PLoS One.* 2011;6(9):e24585. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0024585>
- Lau NM, Green PH, Taylor AK, Hellberg D, Ajamian M, Tan CZ, *et al.* Markers of celiac disease and gluten sensitivity in children with autism. *PLoS One.* 2013;8(6):e66155. <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0066155>
- Navarro F, Pearson DA, Fatheree N, Mansour R, Hashmi SS, Rhoads JM. Are 'leaky gut' and behavior associated with gluten and dairy containing diet in children with autism spectrum disorders? randomized controlled trial. *Nutr Neurosci.* 2015;18(4):177-85. <https://dx.doi.org/10.1179/1476830514Y.0000000110>

29. Magistris L, Familiari V, Pascotto A, Sapone A, Frolli A, Iardino P, *et al.* Alterations of the intestinal barrier in patients with autism spectrum disorders and in their first-degree relatives. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010;51(4):418-24. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181dcc4a5>
30. Kral TV, Souders MC, Tompkins VH, Remiker AM, Eriksen WT, Pinto-Martin JA. Child eating behaviors and caregiver feeding practices in children with autism spectrum disorders. *Public Health Nurs.* 2015;32(5):488-97. <http://dx.doi.org/10.1111/phn.12146>
31. Bandini LG, Anderson SE, Curtin C, Cermak S, Evans EW, Scampini R, *et al.* Food selectivity in children with autism spectrum disorders and typically developing children. *J Pediatr.* 2010;157(2):259-64. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2010.02.013>
32. Curtin C, Hubbard K, Anderson SE, Mick E, Must A, Bandini LG. Food selectivity, mealtime behavior problems, spousal stress, and family food choices in children with and without autism spectrum disorder. *J Autism Dev Disord.* 2015;45(10):3308-15. <http://dx.doi.org/10.1007/s10803-015-2490-x>
33. Pennesi CM, Klein LC. Effectiveness of the gluten-free, casein-free diet for children diagnosed with autism spectrum disorder: based on parental report. *Nutr Neurosci.* 2012;15(2):85-91. <https://dx.doi.org/10.1179/1476830512Y.0000000003>
34. Maenner MJ, Arneson CL, Levy SE, Kirby RS, Nicholas JS, Durkin MS. Brief report: association between behavioral features and gastrointestinal problems among children with autism spectrum disorder. *J Autism Dev Disord.* 2012;42(7):1520-5. <https://dx.doi.org/10.1007/s10803-011-1379-6>
35. Kummer A, Barbosa IG, Rodrigues DH, Rocha NP, Rafael MS, Pfeilsticker L, *et al.* Frequency of overweight and obesity in children and adolescents with autism and attention deficit/hyperactivity disorder. *Rev Paul Pediatr.* 2016;34(1):71-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rppede.2015.12.006>
36. Adams JB, Johansen LJ, Powell LD, Quig D, Rubin RA. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism-comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterol.* 2011;16(11):11-22. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-230X-11-22>
37. Knivsberg AM, Reichelt KL, Høien T, Nødland M. A randomised, controlled study of dietary intervention in autistic syndromes. *Nutr Neurosci.* 2002;5(4):251-61. <https://dx.doi.org/10.1080/10284150290028945>
38. Fiorentino M, Sapone A, Senger S, Camhi SS, Kadzielski SM, Buie TM, Kelly DL, *et al.* Blood-brain barrier and intestinal epithelial barrier alterations in autism spectrum disorders. *Mol Autism.* 2016;7:49. <https://dx.doi.org/10.1186/s13229-016-0110-z>
39. Tomova A, Husarova V, Lakatosova S, Bakos J, Vlkova B, Babinska K, *et al.* Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia. *Physiol Behav.* 2015;138:179-87. <https://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.10.033>
40. Bennabi M, Gaman A, Delorme R, Boukouaci W, Manier C, Scheid I, *et al.* HLA-class II haplotypes and Autism Spectrum Disorders. *Sci Reports.* 2018;8:7639. <https://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-25974-9>