

**UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E COMPORTAMENTO**

**MÁRCIA DA SILVA LEMES**

**ASSOCIAÇÃO ENTRE A ANSIEDADE SOCIAL MATERNA E O  
DESENVOLVIMENTO MOTOR INFANTIL: O PAPEL DO POLIMORFISMO  
rs1006737 NO GENE DA CACNA1C**

Pelotas

2021

**MÁRCIA DA SILVA LEMES**

**ASSOCIAÇÃO ENTRE A ANSIEDADE SOCIAL MATERNA E O  
DESENVOLVIMENTO MOTOR INFANTIL: O PAPEL DO POLIMORFISMO  
rs1006737 NO GENE DA CACNA1C**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento da Universidade Católica de Pelotas como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Saúde e Comportamento.

Orientador: Prof. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Ardais

Pelotas

2021

### Ficha Catalográfica

Lemes, Márcia da Silva

**Associação entre ansiedade social materna e o desenvolvimento motor infantil: o papel do polimorfismo rs1006737 no gene CACNA1C** / Márcia da Silva Lemes. -

Pelotas: UCPEL, 2021.

65 f.

Dissertação (mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento, Universidade Católica de Pelotas. - Pelotas, BR-RS, 2021.

Orientadora: Ana Paula Ardais.

1. Transtorno de ansiedade social. 2. Desenvolvimento motor. 3. Desenvolvimento infantil. 4. Polimorfismo. 5. CACNA1C. I. Ardais, Ana Paula. II. Título.

## **Agradecimento**

Para a realização deste trabalho algumas pessoas foram fundamentais e sem o apoio delas, não teria sido fácil chegar até aqui. A todas elas, minha profunda gratidão.

Algumas, gostaria de agradecer especialmente: a minha orientadora Ana, que esteve do meu lado e soube me acolher, ensinar e enfrentar obstáculos com tamanha seriedade e profissionalismo, juntas fomos mais fortes. Meu muito obrigada.

A querida Yasmin, uma menina extremamente competente e disposta a ajudar o próximo. Tua ajuda foi fundamental na minha trajetória, gratidão. Aos meus pais, que sempre estiveram do meu lado. É tudo por vocês. Ao meu noivo, que está sempre presente em todos os momentos, me incentivando e motivando a não desistir dos meus sonhos. Eternamente grata.

E por fim, agradeço a mim mesma por ter tirado forças para continuar firme em conquistar meus objetivos.

## RESUMO

O Transtorno de Ansiedade Social (TAS) é caracterizado por medo persistente de uma ou mais situações sociais que são evitadas ou suportadas com intensa ansiedade ou angústia. Estudos recentes têm revelado associação positiva entre a FS e o período gestacional, um fenômeno focado na gestação atual e que parece estar particularmente relacionado a desfechos negativos no nascimento e no desenvolvimento infantil. Além disso, fatores genéticos também podem influenciar o desenvolvimento infantil e interagir com o ambiente de modo que, juntos, variantes genéticas e fatores ambientais possam contribuir para a causa de uma condição, na qual o efeito de uma exposição ambiental depende do genótipo do indivíduo. Estudos GWAS tem revelado que o polimorfismo rs1006737 no gene que codifica a subunidade alfa 1C do canal de cálcio que dependente de voltagem do tipo L (CACNA1C) confere risco para transtornos do desenvolvimento como, por exemplo, autismo. Neste sentido, o objetivo deste trabalho é avaliar a associação entre ansiedade social materna e o desenvolvimento motor infantil de acordo com polimorfismo rs1006737 no gene da CACNA1C da criança. Trata-se de um estudo transversal aninhado a um estudo longitudinal realizado na cidade de Pelotas/RS entre os anos de 2008 e 2014 que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Católica de Pelotas. O estudo foi conduzido, inicialmente, com uma população de gestantes adolescentes residentes na cidade de Pelotas/RS e que realizou acompanhamento pré-natal na rede pública de saúde. Além disso, o estudo também contou com etapa pós-natal, na qual o desenvolvimento das crianças também foi observado (etapa D1). Foram utilizados os instrumentos *Mini International Neuropsychiatric Interview-PLUS* (MINI-PLUS) para identificar a TAS nas mães adolescentes e as Escalas Bayley de Desenvolvimento Infantil III (BSID-III) para avaliar o desenvolvimento infantil (linguagem, motor, cognitivo e socioemocional). A análise do polimorfismo rs1006737 ocorreu a partir da extração de DNA de células da mucosa oral das crianças, por PCR em tempo real. As análises estatísticas foram realizadas no pacote estatístico SPSS 21.0 utilizando a análise univariada e bivariada, quando apropriado. Valores de  $p < 0.05$  foram considerados significativos.

**Palavras-chave:** transtorno de ansiedade social, desenvolvimento motor, desenvolvimento infantil, polimorfismo, CACNA1C.

## ABSTRACT

Social anxiety disorder (SAD) or social phobia (SF) is characterized by persistent fear of one or more social situations that are avoided or supported with intense anxiety or distress. Recent studies have revealed a positive association between SF and the gestational period, a phenomenon focused on the current pregnancy and which seems to be particularly related to negative outcomes of birth and child development. Furthermore, genetic factors can also influence child development and interact with the environment so that, together, genetic variants and environmental factors can contribute to the cause of a condition, in which the effect of an environmental exposure depends on the individual's genotype. GWAS studies have revealed that the rs1006737 polymorphism in the gene encoding the L-type voltage-dependent calcium channel alpha 1C subunit (CACNA1C) confers risk for developmental disorders such as schizophrenia and autism. In this sense, the aim of this work is to evaluate the association between maternal social anxiety and child motor development according to the rs1006737 polymorphism in the child's CACNA1C gene. This is a cross-sectional study nested in a longitudinal study carried out in the city of Pelotas/ RS between 2008 and 2014 which was approved by the Research Ethics Committee of the Catholic University of Pelotas. The study was initially conducted with a population of pregnant teenagers living in the city of Pelotas/RS, who underwent prenatal care in a public health network. In addition, the study also had a postnatal stage, in which the development of children was also observed (step D1). The Mini International Neuropsychiatric Interview-PLUS (MINI-PLUS) instruments were used to identify SAD in adolescent mothers Bayley Child Development Scales III (BSID-III) to assess child development (language, motor, cognitive and socio-emotional), respectively. The analysis of the rs1006737 polymorphism was performed by extracting DNA from cells from the oral mucosa of children, by real-time PCR. Statistical analyses were performed in the Statistical Package SPSS 21.0 using univariate and bivariate analysis, when appropriate. Values of  $p < 0.05$  were considered significant.

**Keywords:** social anxiety disorder, motor development, child development, polymorphism, CACNA1C.

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> – Estratégia de busca 12.....	18
<b>Tabela 2</b> – Polimorfismos analisados 23.....	29
<b>Tabela 3</b> – Informações sobre o polimorfismo analisado.....	30
<b>Tabela 4</b> – Cronograma do projeto.....	32

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

<b>Bayley III</b>	Escalas de Desenvolvimento Infantil de Bayley (do inglês Bayley Scale of Infant and Toddler Development 3 <sup>o</sup> edition)
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico (do inglês deoxyribonucleic acid)
<b>GWAS</b>	Genome-wide association study
<b>LILACS</b>	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
<b>PCR</b>	Reação em Cadeia da Polimerase (do inglês polymerase chain reaction)
<b>PUBMed</b>	National Library of Medicine National Institutes of Health
<b>SNP</b>	Polimorfismo de Nucleotídeo Único (do inglês single nucleotide polymorphism)
<b>TAS</b>	Transtorno de Ansiedade Social
<b>TCLE</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>TEA</b>	Transtorno do Espectro Autista
<b>TDAH</b>	Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade
<b>UCPel</b>	Universidade Católica de Pelotas

## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO</b>	<b>12</b>
<b>PROJETO</b>	<b>13</b>
<b>1. IDENTIFICAÇÃO</b>	<b>13</b>
1.1 Título: ASSOCIAÇÃO ENTRE A ANSIEDADE SOCIAL MATERNA E O DESENVOLVIMENTO MOTOR INFANTIL: O PAPEL DO POLIMORFISMO rs1006737 NO GENE DA CACNA1C	14
1.2 Mestrando(a): Márcia da Silva Lemes	14
1.3 Orientador(a): Profa. Dr <sup>a</sup> . Ana Paula Ardais	14
1.4 Instituição: Universidade Católica de Pelotas (UCPel)	14
1.5 Curso: Mestrado em Saúde e Comportamento	14
1.6 Linha de pesquisa: Saúde Materno-Infantil	14
1.7 Data: 18.12.2020	14
<b>2. INTRODUÇÃO</b>	<b>15</b>
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>17</b>
3.1 Objetivo Geral	17
3.2 Objetivos específicos	17
<b>4. HIPÓTESES</b>	<b>18</b>
4.1 Hipótese geral	18
4.2 Hipóteses específicas	18
<b>5. REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>19</b>
5.1 Estratégia de busca	19
5.2 Revisão de Literatura	20
<b>6. MÉTODO</b>	<b>28</b>
6.1 Delineamento	28
6.2 Participantes	28
6.2.1 Critérios de inclusão	28
6.2.2 Critérios de exclusão	28
6.3 Procedimentos e instrumentos	28
6.3.1 Bayley Scales of Infant Development III (BSID-III):	28
6.3.2 Mini Neuropsychiatric Interview Plus (MINI Plus)	29
6.3.3 Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP):	29
6.3.4 Coleta de Material Biológico	30
6.3.5 Análise dos Polimorfismos	30
6.3.6 Descrição das variáveis	30

	10
<i>6.3.7 Coleta de dados</i>	31
<i>6.3.8 Divulgação dos Resultados</i>	32
6.4 Aspectos éticos	32
<i>6.4.1 Riscos</i>	32
<i>6.4.2 Benefícios</i>	33
6.5 Cronograma	33
6.6 Orçamento	33
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>34</b>
<b>ARTIGO</b>	<b>38</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>61</b>
ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Participação da Mãe	61
ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de Participação da Criança	61
ANEXO C - Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Católica de Pelotas	63
ANEXO D– Escala Bayle de Desenvolvimento para crianças e bebês (Bayley)	64
ANEXO E -Mini Plus (módulo independente para Fobia Social)	65

## APRESENTAÇÃO

A presente dissertação aborda a relação entre o Transtorno de Ansiedade Social materno e o desenvolvimento motor dos filhos.

Este trabalho está dividido em duas partes: a primeira referente ao projeto intitulado “Associação entre a ansiedade social materna e o desenvolvimento motor infantil: O papel do Polimorfismo rs1006737 no gene CACNA1C” e a segunda referente ao artigo resultante do projeto.

A Parte I – Projeto - está subdividido em introdução, objetivos, hipóteses, revisão de literatura, método e referências.

Parte II – Artigo - diz respeito ao artigo intitulado “Maternal social anxiety disorder impacts the childhood motor development: the role of a genetic variant in CACNA1C gene”.

Em anexo os instrumentos utilizados no estudo.

**PROJETO**

**MÁRCIA DA SILVA LEMES**

**ASSOCIAÇÃO ENTRE A ANSIEDADE SOCIAL MATERNA E O  
DESENVOLVIMENTO MOTOR INFANTIL: O PAPEL DO POLIMORFISMO  
rs1006737 NO GENE DA CACNA1C**

Projeto de Pesquisa apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento da Universidade Católica de Pelotas como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Ardaís

Pelotas  
2020

## **1.IDENTIFICAÇÃO**

**1.1 Título: ASSOCIAÇÃO ENTRE A ANSIEDADE SOCIAL MATERNA E O DESENVOLVIMENTO MOTOR INFANTIL: O PAPEL DO POLIMORFISMO rs1006737 NO GENE DA CACNA1C**

**1.2 Mestrando(a):** Márcia da Silva Lemes

**1.3 Orientador(a):** Profa. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Ardais

**1.4 Instituição:** Universidade Católica de Pelotas (UCPel)

**1.5 Curso:** Mestrado em Saúde e Comportamento

**1.6 Linha de pesquisa:** Saúde Materno-Infantil

**1.7 Data:** 18.12.2020

## 2. INTRODUÇÃO

A ansiedade é caracterizada por um estado emocional com componentes psicológicos e fisiológicos que faz parte do espectro normal da atividade humana, sendo, nesta condição, um agente propulsor do desempenho. Contudo, quando a resposta ansiosa é desproporcional a situação que a desencadeia ou quando não existe um objeto específico ao qual se direcione, ela torna-se patológica (Hawken et al, 2018; Domhardt et al, 2019; Lahousen & Kapfhammer, 2019). Neste sentido, os transtornos de ansiedade apresentam como sintomas centrais o excesso de ansiedade e preocupação que, ao constituírem-se persistentes causam sofrimento e prejuízos funcionais para que os sente (APA, 2013)

Entre os transtornos de ansiedade, o transtorno de ansiedade social (TAS) ou fobia social (FS) é um transtorno de ansiedade caracterizado por medo persistente frente a uma ou mais situações sociais que são evitadas ou suportadas com intensa aflição e angústia (APA, 2013). O TAS tem sido considerado um grave problema de saúde mental por conferir incapacidades que podem afetar negativamente o desempenho social e acadêmico, as habilidades de comunicação, as percepções interpessoais e as competências sociais (ANGÉLICO, 2006).

O período da adolescência, por si só, já é marcado por intensas modificações físicas e biológicas, moldadas pela liberação dos hormônios pubertários e que resultarão no processo de maturação sexual bem como nas transformações sócio-emocionais e cognitivas necessárias para que os adolescentes alcancem papéis e responsabilidades de adultos (CHOUDHURY, 2010). Nesse sentido, a gravidez na adolescência traz importantes repercussões adicionais para a vida das adolescentes, que na maioria das vezes não estão preparadas para as transformações sociais às quais são submetidas (CESAR et al, 2011).

De maneira geral, a ansiedade gestacional está associada a vários desfechos maternos e infantis adversos, como depressão pós-parto, parto prematuro, baixo peso ao nascer e subsequentes desafios para o desenvolvimento e saúde mental de crianças (BAYRAMPOUR, 2016). Nesse contexto, as características maternas podem interferir no desenvolvimento de seus filhos uma vez que os modelos fóbicos podem ser transmitidos de pais para filhos, ou seja, mães que apresentam TAS podem transmitir sua disposição comportamental inibida aos bebês ou deixar de incentivá-los a interagir com outras pessoas, gerando uma redução na capacidade de resposta social (CASTELLI et al. 2015).

Entretanto, diversos fatores podem colocar em risco o curso normal do desenvolvimento de uma criança, dentre as principais características associadas ao atraso no desenvolvimento encontram-se: baixo peso ao nascer, prematuridade, infecções neonatais, desnutrição, baixas condições sócioeconômicas, nível educacional precário dos pais e a presença de transtornos mentais maternos como ansiedade e depressão (KHANDAN, 2018). Os fatores de risco podem ser considerados de origem biológica ou ambiental, podendo comprometer o desenvolvimento infantil através de mudanças na estrutura e função do cérebro e no comportamento (ALLEN, 1993). Já os primeiros anos de vida são particularmente importantes, visto que se trata de um período intenso em eventos neurofisiológicos e as experiências precoces serão decisivas para a aquisição de diferentes habilidades. Portanto, as interações entre os aspectos relacionados aos indivíduos, como suas características biológicas, bem como o ambiente em que está inserido, são determinantes para o desenvolvimento infantil (CORNISH, 2005).

Sendo assim, podemos entender que o desenvolvimento do cérebro é continuamente modificado tanto de modo positivo quanto negativo pela experiência ambiental, esse fenômeno chama-se plasticidade neural, um mecanismo que possibilita a aprendizagem e a capacidade de adaptação às mudanças no ambiente (PAPALIA, 2013). Desse modo, a interação gene versus ambiente são responsáveis por alterar a estrutura do DNA, essas alterações epigenéticas regulam a operação do genoma e podem ter um impacto no desenvolvimento da estrutura e função do cérebro, especialmente no início da vida (MIGUEL, 2019).

Diante dessa perspectiva, decidiu-se estudar sobre o polimorfismos em canais de cálcio, como no gene da CACNA1C, eles interagem significativamente nos processos neurais, levando a variações genéticas associadas a distúrbios psiquiátricos (BASTOS, et al. 2020). Os canais de cálcio tem uma importante função em células excitáveis, incluindo liberação de transmissor e secreção de hormônio, também são necessários para o funcionamento normal do cérebro e desempenham papéis diferentes no sistema cardiovascular e nas funções endócrinas (ZAMPONI et, al. 2015). Recentemente estudos mostraram que mutações e disfunções nos canais de cálcio podem estar associadas a doenças neuropsiquiátricas como autismo, esquizofrenia, transtorno bipolar e depressão (LI, Jun et al, 2015).

Portanto, o objetivo deste estudo será o de verificar o papel da ansiedade social materna sobre o desenvolvimento de crianças considerando o polimorfismo no gene da CACNA1C.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Avaliar a associação entre ansiedade social e o desenvolvimento motor infantil de acordo com uma variante no gene que codifica a CACNA1C.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Observar o impacto do modelo dominante do polimorfismo rs1016737 no gene da CACNA1C (GG e AG + AA) sobre o desenvolvimento motor infantil em crianças entre 2 e 3 anos;
- Observar a relação da ansiedade social da mãe sobre o desenvolvimento de crianças com 2 a 3 anos;
- Avaliar a associação uma possível associação entre ansiedade social materna e o desenvolvimento motor infantil estratificada pelo modelo dominante polimorfismo rs1016737 (GG e AG + AA).

## **4. HIPÓTESES**

### **4.1 Hipótese geral**

O polimorfismo rs1016737 terá impacto sobre a relação entre a ansiedade social materna e o desenvolvimento motor infantil.

### **4.2 Hipóteses específicas**

- Crianças portadoras do genótipo GG terão pior desenvolvimento quando comparadas às crianças portadoras do alelo A.
- A ansiedade social da mãe influenciará negativamente o desenvolvimento de seus filhos.
- A ansiedade social materna terá um impacto negativo mais acentuado sobre o desenvolvimento de crianças portadoras do genótipo GG comparadas às crianças portadoras do alelo A.

## 5. REVISÃO DE LITERATURA

### 5.1 Estratégia de busca

Foi realizada uma pesquisa nas bases de dados Pubmed e Lilacs, com os seguintes descritores: *Child development AND Phobia Social; Anxiety disorder AND Child development; Maternal social Phobia; Social Phobia; Social Anxiety Disorder; Polymorphism AND CACNA1C; Genetic Polymorphism AND CACNA1C; Polymorphism L type; Calcium channel AND CACNA1C*. A partir dos resultados foram selecionados os estudos que mais se aproximavam do objetivo do presente trabalho, resultando em 78 artigos. Após serem consultadas as referências desses 78 artigos, foram incluídos para leitura mais 18 artigos, totalizando 96 artigos.

**Tabela 1.** Estratégia de busca

DESCRITORES	PUBMED	LILACS
<b>Child development AND Phobia Social</b>	228	12
<b>Anxiety disorder AND Child development</b>	1184	23
<b>Maternal Social Phobia</b>	1393	70
<b>Social Phobia</b>	6316	272
<b>Social Anxiety Disorder</b>	1198	10
<b>Polymorphism AND CACNA1C</b>	201	0
<b>Genetic Polymorphism AND CACNA1C</b>	77	0
<b>Polymorphism L type</b>	1008	424

<b>Calcium channel AND CACNA1C</b>	303	0
<hr/>		
<b>TOTAL</b>	11908	811
<hr/>		

## 5.2 Revisão de Literatura

A primeira infância é estabelecida como o período do desenvolvimento infantil que se configura entre o nascimento e o terceiro ano de vida. Durante esta janela do desenvolvimento humano, modificações marcantes nos domínios físico, cognitivo e psicossocial podem ser observadas. A expansão da complexidade encefálica e o aumento da sensibilidade dos indivíduos em resposta ao ambiente, por exemplo, marcam o desenvolvimento físico. Já o desenvolvimento cognitivo pode ser percebido pela compreensão e uso da linguagem, e o psicossocial pela criação dos vínculos afetivos com os pais e outras pessoas (PAPALIA & FELDMAN, 2013). Tantas transformações só são possíveis devido à extraordinária neuroplasticidade do sistema nervoso - fenômeno que permite a adaptação dos circuitos neurais frente aos mais diferentes estímulos internos e externos - ao enfraquecer ou fortalecer suas sinapses (DABROWSKI et al, 2019). Este fenômeno outorga à primeira infância um papel determinante nas formações individuais, uma vez que os espaços de convívio são únicos e singulares para cada criança e podem conferir benefícios ou prejuízos para o desenvolvimento de comportamentos ao longo de toda a vida do indivíduo (GU & KANAI 2014).

As características do contexto familiar no qual a criança está inserida podem influenciar o seu desenvolvimento e, por isso, merecem destaque. Sabe-se que a influência da família inicia-se ainda no período gestacional e, posteriormente, a forma como a criança é recebida no microsistema social familiar acaba por ser determinante para as fases iniciais do desenvolvimento infantil (SILVA; GONTIJO; 2016). A idade materna, a condição socioeconômica, o nível de escolaridade e a etnia vem sendo fortemente descritos como fatores importantes associados no desenvolvimento da criança (SILVA et al, 2011). Um estudo recente, analisou que filhos de mães jovens apresentavam maior risco de desenvolver comportamentos internalizantes e externalizantes (AGNAFORS et. al, 2019). Entende-se como problemas internalizantes os comportamentos negativos com foco interno, como: ansiedade, depressão,

retraimento e sintomas somáticos. Os problemas externalizantes referem-se aos comportamentos de impulsividade, hiperatividade, agressão e conduta perturbadora - e tais comportamentos geram consequências negativas ao longo da vida (TIEN, 2019). No entanto, os autores sugerem levar em consideração que a saúde mental materna pode influenciar a forma como a mãe percebe e relata o comportamento do filho, o que poderia explicar parte do risco aumentado de problemas comportamentais e emocionais da criança (AGNAFORS et,al 2019). Já um estudo de coorte de nascimentos de base populacional em Western Cape, África do Sul, investigou fatores determinantes da saúde e do desenvolvimento infantil no início da vida. Os autores deste estudo puderam concluir que o nível de escolaridade materna foi o fator de proteção mais forte para reduzir as chances de atraso no desenvolvimento em todos os quatro domínios da escala Bayley-III (aOR = 0,40; IC 95% 0,17-0,94, p = 0,035). Além disso, é interessante destacar que a melhor condição socioeconômica e maior peso ao nascer também foram associados ao desenvolvimento positivo aos 24 meses (DONALD et, al. 2019).

No que se refere a idade materna, a gravidez na adolescência pode trazer consequências emocionais, sociais e econômicas para a saúde da mãe. No Brasil, segundo uma pesquisa do EducaCenso 2019 que contemplou cerca de metade das escolas públicas e privadas do país, cerca de 20% das adolescentes que engravidaram deixaram de estudar (BRASIL, 2020). Além disso, é sabido através do estudo Saúde Brasil, realizado pelo Ministério da Saúde, que existe uma alta taxa de mortalidade infantil entre mães jovens até 19 anos (BRASIL, 2020). Em relação ao impacto da idade materna associado ao desenvolvimento infantil, um estudo demonstrou que os filhos de mães adolescentes são considerados um grupo de alto risco pois possuem piores resultados no desenvolvimento, e, com isso, suas habilidades cognitivas e de linguagem possuem pior performance em comparação aos filhos de mães adultas (FIRK et al, 2018).

Em relação aos aspectos ambientais associados a desfechos negativos para o desenvolvimento motor, a baixa escolaridade materna está diretamente ligada ao nível de conhecimento da mãe sobre o desenvolvimento da criança (ÖZAL et al, 2020). Em um estudo de revisão, diversos autores identificaram a interferência da escolaridade no desenvolvimento sensorio-motor, cognitivo e emocional de crianças de zero a três anos. Tal estudo demonstrou que o baixo nível educacional está associado ao atraso na habilidade de locomoção e na aquisição de linguagem (SILVA et al. 2011, SANTOS et al, 2009; REZENDE, 2005). Ainda nesse contexto, estudos brasileiros também mostram que o menor grau de escolaridade materna é, de fato, um fator de risco socioeconômico que desfavorece tal desenvolvimento infantil.

Ainda, esses estudos citam outros fatores principais e importantes, como: a baixa renda familiar, presença de muitos irmãos, mães que possuem transtornos psiquiátricos, entre outros (MORAIS et al, 2016; ANDRADE et al, 2003; LAMY FILHO et al, 2008; DEFILIPO et al, 2012; FREITAS et al, 2013; MARTINS et al, 2004; VIEIRA et al, 2007). Por outro lado, como analisado em 2011, por Silva e colaboradores, algumas práticas maternas também podem influenciar de forma positiva o desenvolvimento no domínio motor (SILVA et al. 2011).

De todas as fases da vida da mulher, o puerpério é um período de grande vulnerabilidade pois é marcado por mudanças biológicas, psicológicas e sociais. Além disso, é caracterizado por intensas flutuações hormonais nunca antes experienciadas. Neste sentido, acredita-se que, em decorrência dessas alterações, há uma maior propensão ao desenvolvimento de transtornos de humor durante este período (CANTILINO et al, 2010; HENRY, 2012).

De fato, tem sido bem estabelecido na literatura que a saúde mental materna exibe influência sobre o desenvolvimento infantil. Nesse contexto, a própria Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Fundo Monetário Internacional (FMI) consideram, por exemplo, a depressão materna - um transtorno psiquiátrico de considerável prevalência - uma questão de saúde pública global de elevada significância (WHO, 2013; IMF, 2015). Além disso, tem sido reportado na literatura científica que mães muito jovens são, de duas a quatro vezes, mais propensas a desenvolver transtorno do déficit de atenção com hiperatividade, transtorno de conduta, transtorno desafiador de oposição e transtorno de ansiedade (generalizada, de separação, fobia social e fobia específica) (VAN LIESHOUT et al, 2019).

O estudo de Polte, 2019, analisou a ansiedade e a depressão em três exposições maternas diferentes: pré-natal, perinatal e pós-natal. Deste modo, o estudo demonstrou que a ansiedade materna é um fator preditor de significância no desenvolvimento socioemocional da criança até 2 anos de idade (POLTE, 2019). Já o estudo de Ocoonor, publicado em 2002, demonstrou que a ansiedade pré-natal materna e a depressão representam riscos separados para problemas de comportamento e problemas emocionais em crianças (O'COONOR, 2002).

Uma revisão narrativa realizada em 2008, trouxe um estudo que demonstrou que a ansiedade pós-parto estava mais relacionada a problemas de saúde infantil de 6 a 8 meses, enquanto que a depressão pós-parto estava mais relacionada a problemas infantis relacionados ao sono (FIELD, 2018; CLOUT & BROWN, 2015). Em um estudo indiano que comportou 420 mulheres inscritas durante o período perinatal, a ansiedade e a depressão nessas mães foram

avaliadas por 30 meses após o parto – assim, foi analisado o desenvolvimento na primeira infância, bem como aspecto socioemocionais, desenvolvimento cognitivo, a linguagem e o desenvolvimento motor (grosso e fino) e, a partir disso, foi visto uma significativa associação entre a depressão e a ansiedade pós-parto no desenvolvimento em todas as áreas avaliadas (ALI, et al, 2013).

A literatura atual traz mais estudos relacionados à depressão materna influenciando o desenvolvimento infantil. Hoje, entende-se que a ansiedade perinatal materna vem sendo negligenciada quando comparada com a depressão natal, e estas mostram um padrão de efeitos independente. Entretanto, os estudos que usam diferentes tipos de ansiedade como exposição ainda são raros (FIELD, 2018; POLTE, 2019). Sabe-se que a fobia social é um transtorno que impacta na relação materno-infantil e a responsividade da criança, merecendo atenção (MURRAY et. al, 2007).

Por conseguinte, mães muito jovens são, cerca de duas a quatro vezes, mais propensas a desenvolver algum transtorno de ansiedade como transtorno de ansiedade generalizada (TAG), transtorno de separação (TS) ou transtorno de fobia social e fobia específica (TFSE) (VAN LIESHOUT et al, 2019). De modo geral, os transtornos de ansiedade constituem a condição psiquiátrica mais prevalente, acometendo 9,3% da população brasileira. De acordo com a Organização Mundial de Saúde, o Brasil possui o maior número de casos de ansiedade entre todos os países do mundo (OMS, 2017). Em particular, o TAS ocorre com maior frequência em indivíduos mulheres, e a proporção, comparada aos homens, apresenta-se próxima de 2:1 (APA, 2013). Os diferentes tipos de transtornos de ansiedade compartilham características comuns, como por exemplo, evitação e medo de diversas situações, que iniciam, principalmente, durante a infância, adolescência e no início da idade adulta (CRASKE, 2016).

Os transtornos de ansiedade diferem entre si nos tipos de objetos ou situações que induzem medo, ansiedade ou comportamento de esquiva, ou por serem excessivos e/ou persistirem além de períodos apropriados ao nível de desenvolvimento (APA, 2013). Em particular, o Transtorno de Ansiedade Social (TAS), ou Fobia Social, tem sido considerado um grave problema de saúde mental, uma vez que há um déficit de habilidades sociais e incapacidade de interações (ANGELICO, 2006). De acordo com os critérios diagnósticos do DSM-IV, os indivíduos com TAS apresentam medo ou ansiedade excessivos perante a situações sociais que geram prejuízo no funcionamento social, profissional e em outras áreas importantes de sua vida. Uma característica importante da fobia social, é seu início precoce

(MURRAY et al, 2007). Estudos elucidam que a fobia social está envolvida na transmissão intergeracional, sendo provável que mecanismos genéticos contribuem para o risco de desenvolver a patologia (Eley, 2001). Portanto, isso sugere que ao buscar compreender o desenvolvimento da fobia social, é importante estudar os fatores que surgem precocemente, incluindo aquelas na infância (MURRAY et al, 2007).

No entanto, os efeitos do TAS materna no desenvolvimento dos filhos ainda não são amplamente estudados, e conclusões mais consistentes sobre o tema ainda não foram alcançadas. Apesar disso, o estudo clássico desenvolvido por Parker em 1979, traz a hipótese de que se a mãe ou o pai possuem uma condição fóbica, estes irão generalizar suas visões fóbicas do mundo, protegendo a criança em excesso e, podendo esse comportamento reduzir a capacidade de cuidar de um filho (PARKER, 1979). Embora não tenhamos estudos atuais com resultados importantes, o estudo de Murray e colaboradores. Avaliou mães com e sem TAS diante de uma situação de interação social das mães com um desconhecido e, também, dos seus bebês com um estranho. As mães com TAS ficavam mais ansiosas ao interagir com o estranho e, além disso, eram menos encorajadoras em se tratando da interação do bebê com o estranho. Como foi visto, o estudo sugere que filhos de mães com TAS apresentam sinais precoces de responsividade social reduzida, e isto está relacionado à falta de incentivo materno para desenvolver interações sociais (MURRAY et al, 2007).

O que vai de encontro ao estudo de Lawrence e colaboradores (2020). Os autores acompanharam mães com transtornos de ansiedade no pré-natal, divididas em três grupos: SAD (n = 67), TAG (n = 56) e controles não ansiosos (n = 94) e seus filhos durante 4, 10, 14 e 58 meses após o nascimento. Os autores avaliaram a inibição do temperamento infantil aos 4 e 14 meses, os comportamentos parentais maternos aos 10 e 58 meses e os transtornos e sintomas de ansiedade infantil aos 58 meses. Os autores concluíram que os sintomas de ansiedade infantil aos 58 meses foram previstos especificamente pelo TAS materno e não pelo TAG e também foram previstos por uma interação entre a falta de encorajamento materno na infância, uma vez que mães com modelos fóbicos podem transmitir para seus filhos intergeracionalmente (LAWRENCE et al. 2020).

De fato, a literatura é consistente em mostrar que, não só a saúde materna, mas a própria condição biológica da criança pode aumentar suas chances de vir a desenvolver problemas emocionais, de desenvolvimento cognitivo, ou ainda aumentar a susceptibilidade de crianças desenvolverem transtornos do neurodesenvolvimento como, por exemplo, o transtorno de

déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) (GLOVER, 2014). Neste sentido, estudos de variantes genéticas têm sido determinantes para melhor elucidar os mecanismos biológicos que podem estar envolvidos na percepção clínica individualizada do desenvolvimento e comportamento infantil em resposta ao ambiente, e colaborar para condução de terapêuticas mais assertivas, quando necessário.

Variações genéticas como os polimorfismos de troca única (SNPs, do inglês, single nucleotide polymorphisms), têm sido elementos-chave no estudo da genética médica e tem promovido uma melhor compreensão sobre o papel genético tanto nos transtornos psiquiátricos, quanto no desenvolvimento e comportamento infantil. Um SNP pode ser definido como uma variação na sequência do DNA de um determinado gene que afeta uma única base nitrogenada, podendo ocorrer em regiões intrônicas (não codificantes) ou exônicas (codificantes). É importante destacar que trocas de base em regiões codificantes que resultem na alteração do aminoácido, podem provocar mudanças na conformação estrutural e, conseqüentemente, na funcionalidade da proteína codificada pelo gene onde se encontra o polimorfismo (NUSSBAUM, et al, 2015).

Estudos de associação ampla do genoma (GWAS) e de replicação tem apontado o *CACNA1C*, gene que codifica canais de cálcio do tipo L (LTCC), como um importante candidato de risco para transtornos psiquiátricos complexos como transtorno de humor bipolar (THB), esquizofrenia, transtorno do espectro autista (TEA) e transtorno depressivo maior (TDM) (FRAZIER et al. 2014; LI J, et al, 2015 BHAT, et al 2012; BASTOS ET AL, 2020). De grande relevância, os LTCC, são importantes reguladores do influxo de cálcio e desempenham papéis consideráveis em diversos eventos essenciais para o desenvolvimento encefálico como, por exemplo, arborização dendrítica, sobrevivência neuronal, plasticidade sináptica e processos de aprendizado e memória (GREER ET AL, 2008; BHAT, et al 2012; KABIR, 2017). Além disso, os LTCCs são necessários para o desenvolvimento da junção neuromuscular (JNM) e falhas na sinalização do cálcio podem resultar em ramificações nervosas excessivas a alterações no padrão do crescimento dos neurônios motores (KAPLAN et al, 2018).

De modo fundamental, a literatura tem demonstrado que os LTCCs apresentam também um importante papel no refinamento sináptico, atuando sobre a conectividade e funcionalidade neuronal em períodos críticos do desenvolvimento (KABIR, 2017). Yoshimizu e colaboradores, realizaram importante estudo funcional sobre o *CACNA1C* utilizando neurônios humanos induzidos (iNs) para revelar um fenótipo funcional de risco psiquiátrico associado ao

polimorfismo rs1006737. Eles geraram iNs, de mais de 20 indivíduos com genótipos homocigotos de risco, heterocigotos ou homocigotos sem risco no locus rs1006737 e demonstraram aumento da densidade de corrente LTCC, bem como aumento da expressão de mRNA de CACNA1C em iNs homocigotos para o genótipo de risco, em comparação com genótipos sem risco (Yoshimizu et al, 2014).

O rs1006737, SNP intrônico no gene da CACNA1C tem sido apontado por estar, principalmente, associado ao THB (Ferreira et al. 2008; Liu et al 2010). Importaneamente, este polimorfismo também parece estar associado a esquizofrenia (Ruderfer et al 2013) - transtorno que, apesar de não ser classificado como um distúrbio do neurodesenvolvimento, apresenta uma rota etiológica inadequada do desenvolvimento encefálico, com consequências duradouras. Thimm e colaboradores descobriram que a super representação do alelo A do rs1006737 em pacientes com psicose, incluindo esquizofrenia, THD e TDM - transtornos que compartilham sintomas cognitivos como déficit de atenção - parece estar relacionada a prejuízos na atividade neural das redes atencionais cerebrais que monitoram a orientação e o controle executivo (Thimm et al, 2011).

Neste sentido, Smoller e colaboradores, também identificaram uma associação do rs1006737 com transtornos do neurodesenvolvimento como TDAH e TEA (Smoller et al, 2013). Uma recente revisão sistemática sobre associação entre variantes nos canais de cálcio e TEA, compilou dados de 28 artigos originais e corroborou os achados de Smoller, apontando o rs1006737 como uma variante de risco para este transtorno do desenvolvimento (Liao et al, 2020; Li et al, 2015). Além disso, Sengupta e colaboradores identificaram este SNP como uma variante de risco para menores performances de quociente de inteligência (QI) (Sengupta et al, 2018). Contudo, estudos posteriores têm apresentado dados controversos. Dois estudos recentes não encontraram associação entre o rs1006737 e o TEA, por exemplo (Sayad et al, 2019; Khalid et al, 2020), e isto reafirma a necessidade de se observar o papel deste polimorfismo em diferentes populações, analisando possíveis associações com traços de desenvolvimento e comportamento infantil, *per se* e em função do ambiente.

Dessa forma, considerando a importância dos LTCCs para o desenvolvimento das sinapses motoras e as alterações funcionais neles provocadas pelo rs1006737, torna-se importante investigar se esta variante poderia estar associada ao desenvolvimento motor de crianças com 24-36 meses de idade. No entanto, é importante destacar que a presença de variantes genéticas pode estar aumentando o risco para desenvolvimento de doenças complexas

ou manifestações fenotípicas específicas, mas não as explica completamente, pois é necessário considerar a forte influência ambiental exercida sob determinados desfechos. Sendo assim, a possível influência da saúde materna sobre o desenvolvimento motor infantil também deve ser avaliada; e o possível papel moderador do rs1006737 da criança sobre esta relação, considerado.

## **6. MÉTODO**

### **6.1 Delineamento**

O estudo seguiu um delineamento do tipo longitudinal de base populacional da zona urbana de Pelotas-RS, e se baseia em um estudo maior intitulado “*Impacto da doença mental em adolescentes grávidas e em seus parceiros e as repercussões na saúde de seus filhos*”, aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Católica de Pelotas, sob o número de protocolo 2011/19 (CONEP).

### **6.2 Participantes**

Neste estudo, em síntese, a população alvo foram mães que realizaram acompanhamento pré-natal pelo Sistema Único de Saúde na cidade de Pelotas e que tinham entre 10 e 19 anos nesta gestação, e seus filhos que estavam na faixa etária entre 24 e 36 meses (D1). O recrutamento foi realizado entre outubro de 2009 e março de 2011 em 47 unidades básicas de saúde e em 3 ambulatórios obstétricos públicos, resultando uma amostra inicial de 871 gestantes.

#### **6.2.1 Critérios de inclusão**

Foram considerados critérios de inclusão realizar acompanhamento pré-natal pelo Sistema Único de Saúde na cidade de Pelotas e estar entre a 20<sup>a</sup> e a 22<sup>a</sup> semana gestacional.

#### **6.2.2 Critérios de exclusão**

Mães com alguma incapacidade cognitiva ou física, que impossibilitam a compreensão dos questionários aplicados.

### **6.3 Procedimentos e instrumentos**

Para o presente estudo foi realizada a análise de um banco de dados já existente onde seus dados foram coletados através da aplicação dos instrumentos: Bayley Scale of Infant and Toddler Development, Mini Neuropsychiatric Interview Plus e também um questionário envolvendo questões sociodemográficas.

#### **6.3.1 Bayley Scales of Infant Development III (BSID-III):**

Para avaliar o desenvolvimento infantil foi utilizado o *Bayley Scales of Infant and Toddler Development, Third Edition (Bayley-III)* (Anexo D), em sua versão adaptada para o Brasil. Trata-se de uma escala individualmente administrada que avalia cinco principais

domínios de desenvolvimento em crianças entre 1 e 42 meses de idade: cognição, linguagem (comunicação receptiva e expressiva), motor (amplo e fino), comportamento socioemocional e componente adaptativo. A cognição e a linguagem foram observadas com a criança em situação de teste. A Escala Cognitiva determina como a criança pensa, reage e aprende sobre o mundo ao seu redor e está composta de 91 itens e a Escala de Linguagem está subdividida em dois subtipos: Comunicação Receptiva – parte que determina como a criança reorganiza sons e como a criança entende e direciona palavras, composta de 49 itens – e a Comunicação Expressiva – parte que determina como a criança se comunica usando sons, gestos e palavras, composta de 48 itens. Cada domínio gera um escore bruto que é transformado em ponderado de acordo com a idade da criança. A escala permite ajuste para a prematuridade. Foi utilizado o escore composto tratado como contínuo para as análises, visto que não há estudos que determinem o ponto de corte para a população brasileira (MADASCHI et al., 2016).

### **6.3.2 *Mini Neuropsychiatric Interview Plus (MINI Plus)***

Foi utilizada a versão validada da Mini International Neuropsychiatric Interview Plus (Anexo E) É uma entrevista diagnóstica, estruturada, baseada nos critérios do manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais (DSM-IV) e da Classificação internacional de doenças (CID-10). Dividida por módulos de acordo com cada transtorno, é uma entrevista de curta duração, com opções de resposta sim/não. A aplicação dura aproximadamente 15-30 minutos, destinada à prática clínica e pesquisa, e ao final cada módulo indica a presença ou não do transtorno. No módulo de Fobia Social, todas as perguntas feitas devem ser cotadas. A cotação faz-se à direita de cada uma das questões, envolvendo com um círculo a resposta correspondente do(a) entrevistado(a), seja “SIM” ou “NÃO”. As respostas com uma seta sobreposta indicam que um dos critérios necessários ao estabelecimento do diagnóstico explorado não é preenchido. O clínico deve ir diretamente para o fim do módulo, cotar “NÃO” no(s) quadro(s) diagnóstico(s) correspondente(s) e passar ao módulo seguinte (AMORIN, 2000).

### **6.3.3 *Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP):***

Escala utilizada para avaliação da classificação econômica que se baseia na acumulação de bens materiais, escolaridade do chefe da família e acesso a serviços públicos. Essa classificação enquadra os participantes em classes (A, B, C, D ou E), a partir dos escores alcançados. A letra “A” refere-se à classe socioeconômica mais alta e “E” a mais baixa. Para este estudo, as classes A e B serão agrupadas, assim como as classes D e E.

### 6. 3. 4 Coleta de Material Biológico

A coleta de material biológico das mães foi feita por punção venosa, onde as amostras de sangue total foram centrifugadas para a separação de soro e leucócitos, sendo armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  para posterior análise de marcadores séricos e DNA. A coleta de material biológico das crianças, para extração de DNA genômico foi feita a partir de células epiteliais bucais da região da mucosa jugal utilizando escovas citológicas descartáveis.

### 6. 3. 5 Análise dos Polimorfismos

Após a coleta do material biológico, o DNA total das mães foi extraído a partir de leucócitos do sangue periférico utilizando-se o método descrito por Lahiri e Nurnberger (1987). Já o DNA total das crianças foi extraído a partir de células da cavidade oral, de acordo com as instruções do fabricante (Puregene DNA, Minneapolis, Minnesota, EUA). Posteriormente o DNA total foi quantificado por espectrofotometria e armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$  até a análise molecular. Os polimorfismos apresentados na tabela 2 foram genotipados utilizando-se ensaios de discriminação alélica por PCR em tempo real no termociclador 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). Primers e sondas do tipo TaqMan MGB foram designados utilizando-se o software Primer Express v3.0 e a sequência consenso do gene obtida a partir do GeneBank ([HTTP://www.ncbi.nlm.nih](http://www.ncbi.nlm.nih)). As reações de PCR foram realizadas utilizando-se o tampão TaqMan Genotyping Master Mix (Applied Biosystems), 900nmol/l de cada primer, 200nmol/l cada sonda (VIC e FAM) e 2ng de DNA, conforme determinações do fabricante. Os resultados foram analisados no software System Sequence Detection v.1.4 (Applied Biosystems).

**Tabela 2.** Informações sobre o polimorfismo analisado.

Nome do Gene	Posição Cromossômica	Alelos	Identificação do SNP
<i>CACNA1C</i>	Cromossomo 12p13.3	G/A	rs1006737

### 6. 3. 6 Descrição das variáveis

**Tabela 3.** Polimorfismos analisados 23

Variável	Tipo de Variável	Opção de resposta
Escolaridade da mãe	Numérica/Discreta	Idade em anos de estudo
Classe social da mãe (ABEP)	Qualitativa/Ordinal	A+B/C/D+E
Sexo do bebê	Nominal/Dicotômica	Masculino/Feminino
Semanas de gestação ao nascer (para prematuridade)	Numérica/Discreta	Idade Gestacional em semanas completas
Transtorno de Ansiedade Social – Exposição Principal (MINI PLUS)	Nominal/Dicotômica	Sim/Não
Polimorfismo CACNA1C	Dicotômica	GG, AG ou AA

### 6. 3. 7 Coleta de dados

A coleta de dados teve início em novembro de 2011, sendo previstos 18 meses para a avaliação das tríades (mãe-filho-pai), a qual foi composta por aplicação de questionários utilizando-se métodos e escalas previamente validados, e coleta de material biológico para análise em laboratório. Os adultos jovens que atendiam os critérios de inclusão e residente dos domicílios sorteados foram convidados a participar do estudo, e após o aceite e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foi agendada uma visita domiciliar realizada no período da manhã por psicólogos treinados que usavam laptops individualmente contendo uma versão eletrônica de cada instrumento usado para coletar dos dados. A coleta de sangue foi realizada por uma equipe de bioquímicos e enfermeiros através de punção venosa de 10 ml de sangue após a aplicação dos questionário.

A coleta de saliva decorreu com a inserção de salivetes na região sublingual, por 3 minutos, estando a boca limpa de resquícios de alimentos. Após removido, o salivete foi colocado em uma seringa vazia e com o auxílio do êmbolo foi pressionado para remover toda a saliva acumulada no algodão. Esta foi transferida para um tubo plástico devidamente identificado com o número e o nome da criança, sendo então armazenado em freezer à -20°C até a dosagem, quando então a saliva será centrifugada a 3000RPM em centrífuga clínica por 5 minutos e o sobrenadante congelado a -70°C até a realização das análises. A capacidade tampão da saliva e níveis de *S. mutans* e *Lactobacillus* serão avaliadas usando Dentobuff® Strip, Dentocult® SM Strip mutans, and Dentocult® LB kits, respectivamente.

A pesquisa foi concluída e todos os dados necessários para a execução do projeto foram coletados.

### **6.3.8 Divulgação dos Resultados**

Os resultados obtidos a partir do presente estudo serão divulgados através de apresentações em congressos e pela produção de manuscrito a ser publicado em revista científica.

## **6.4 Aspectos éticos**

O projeto do estudo maior foi submetido e aprovado junto ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Católica de Pelotas, sob número 2011/19. Todas as gestantes que aceitaram participar do estudo, maiores de 18 anos, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE, Anexo B) que autorizava a participação de seu filho. Já as gestantes menores de idade tiveram um responsável pela assinatura do TCLE (Anexo A). Aquelas que apresentaram TAS foram encaminhadas para a Unidade Básica de Saúde mais próxima da sua residência ou para o Campus de saúde da Universidade Católica de Pelotas. Foi assegurado o direito de confidencialidade dos dados. Além disso, foi informado os riscos e benefícios ofertados pelo estudo e explicado que a participante tinha liberdade para recusar a participação no estudo a qualquer momento sem maiores prejuízos ou danos.

### **6.4.1 Riscos**

Por esse projeto ser realizado em cima de um banco já construído, ele não oferece risco adicional aos participantes. No entanto, tratando-se de procedimentos envolvendo coleta de dados, pode ocorrer constrangimento devido às determinadas perguntas pessoais

que foram abordadas no questionário, além disso, pode surgir preocupações pela possibilidade de existência de algum atraso no desenvolvimento da criança a ser verificado pela escala Bayley.

#### 6.4.2 Benefícios

Os resultados dessa pesquisa contribui com a comunidade científica através da produção de artigos sobre o tema, às autoridades de saúde da cidade através de relatórios descritivos, à população participante e comunidade em geral através da publicação dos resultados em meios de comunicação de massa. O estudo favorece a elaboração de estratégias em saúde que detectam mais precocemente fatores de riscos para atrasos de desenvolvimento infantil, podendo assim preveni-los de maneira segura.

#### 6.5 Cronograma

**Tabela 4.** Cronograma do projeto

ATIVIDADES 2020/2021	jan-abr 2020	maio-ago 2020	set-dez 2020	jan-abr 2021	maio-ago 2021	set-dez 2021
Revisão de literatura	X	X	X	X	X	X
Elaboração do Projeto	X	X				
Qualificação do Projeto			X			
Análise				X	X	
Redação do Artigo					X	X
Defesa						X

As etapas de treinamento, estudo piloto, e coleta de dados não foram inseridas no cronograma, visto que já aconteceram.

#### 6.6 Orçamento

O orçamento estabelecido pela equipe organizadora do estudo maior, o qual já foi concluído, totalizou-se em 321.300,00 reais tendo aporte oriundo da FAPERGS que permitiu a execução na íntegra do projeto. Sendo assim, para a realização do presente estudo não será necessário nenhum custeio adicional.

## REFERÊNCIAS

AMORIM P. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. 2000;22:106-115.

ANDERSSON, Liselott et al. Depression and anxiety during pregnancy and six months postpartum: a follow-up study. **Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica**, v. 85, n. 8, p. 937-944, 2006.BAB

ANGÉLICO AP, Crippa JAdS, Loureiro SR. Fobia social e habilidades sociais: uma revisão da literatura. **Interação em Psicologia**. 2006;10:113-125.

APA. American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th edition. Arlington, VA. **American Psychiatric Association**, 2013.

BASTOS, Clarissa Ribeiro et al. The role of CACNA1C gene and childhood trauma interaction on bipolar disorder. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, p. 109915, 2020.

BAYLEY, N. Bayley Scales of Infant and Toddler Development. 3rd edn. 2016. San Antonio, TX: Harcourt Assessment Inc.

BAYRAMPOUR, Hamideh et al. Pregnancy-related anxiety: a concept analysis. **International journal of nursing studies**, v. 55, p. 115-130, 2016.

BHAT, Shambhu et al. CACNA1C (Cav1. 2) in the pathophysiology of psychiatric disease. **Progress in neurobiology**, v. 99, n. 1, p. 1-14, 2012.

CANTILINO, Amaury et al. Transtornos psiquiátricos no pós-parto. **Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)**, v. 37, p. 288-294, 2010.

DABROWSKI, J. et al. Brain Functional Reserve in the Context of Neuroplasticity after Stroke. **Neural Plasticity**, 2019, 1–10. doi:10.1155/2019/9708905.

DEDIC, N. et al. Cross-disorder risk gene CACNA1C differentially modulates susceptibility to psychiatric disorders during development and adulthood. **Molecular psychiatry**, v. 23, n. 3, p. 533-543, 2018.

DOMHARDT, Matthias et al. Internet-and mobile-based interventions for anxiety disorders: A meta-analytic review of intervention components. **Depression and anxiety**, v. 36, n. 3, p. 213-224, 2019.

DONALD, Kirsten Ann et al. Fatores de risco e proteção para o desenvolvimento infantil: Uma coorte de nascimentos sul-africana observacional. **Medicina PLoS**, v. 16, n. 9, pág. e1002920, 2019.

ELEY, Thalia C. Contributions of behavioral genetics research: Quantifying genetic, shared environmental and nonshared environmental influences. **The developmental psychopathology of anxiety**, p. 45-59, 2001.

FRAZIER, Thomas W. et al. Candidate gene associations with mood disorder, cognitive vulnerability, and fronto-limbic volumes. **Brain and behavior**, v. 4, n. 3, p. 418-430, 2014.

GLOVER, Vivette. Maternal depression, anxiety and stress during pregnancy and child outcome; what needs to be done. **Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology**, v. 28, n. 1, p. 25-35, 2014.

GREER PL, GREENBERG ME. From synapse to nucleus: calcium-dependent gene transcription in the control of synapse development and function. **Neuron** 2008; 59: 846–860.

GU, J., KANAI, R. (2014). What contributes to individual differences in brain structure? **Frontiers in Human Neuroscience**, 8. doi:10.3389/fnhum.2014.00262.

HAWKEN, Tamsyn; TURNER-COBB, Julie; BARNETT, Julie. Coping and adjustment in caregivers: A systematic review. **Health psychology open**, v. 5, n. 2, p. 2055102918810659, 2018.

HENRY, Jessica F.; SHERWIN, Barbara B. Hormones and cognitive functioning during late pregnancy and postpartum: a longitudinal study. **Behavioral neuroscience**, v. 126, n. 1, p. 73, 2012.

IMF. International Monetary Fund (2015): The IMF and the Millennium Development Goals.

KABIR, Zeeba D.; MARTÍNEZ-RIVERA, Arlene; RAJADHYAKSHA, Anjali M. From gene to behavior: L-type calcium channel mechanisms underlying neuropsychiatric symptoms. **Neurotherapeutics**, v. 14, n. 3, p. 588-613, 2017.

KAPLAN, M.M. et al. Calcium Influx and Release Cooperatively Regulate AChR Patterning and Motor Axon Outgrowth during Neuromuscular Junction Formation. **Cell Rep.** 2018 Jun 26;23(13):3891-3904. doi: 10.1016/j.celrep.2018.05.085.

LAUTARESCU, Alexandra; CRAIG, Michael C.; GLOVER, Vivette. Prenatal stress: Effects on fetal and child brain development. In: **International Review of Neurobiology**. Academic Press, 2020. p. 17-40.

LAWRENCE, Peter J. et al. The role of maternal anxiety disorder subtype, parenting and infant stable temperamental inhibition in child anxiety: a prospective longitudinal study. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 61, n. 7, p. 779-788, 2020.

Li J, Zhao L, You Y, et al. Schizophrenia Related Variants in CACNA1C also Confer Risk of Autism. **PLoS One**. 2015;10(7):e0133247. Published 2015 Jul 23. doi:10.1371/journal.pone.0133247.

MORAIS, R. L. S.; CARVALHO, A. M.; MAGALHÃES, L. C. O contexto ambiental e o desenvolvimento na primeira infância: estudos brasileiros. **Journal of Physical Education**, v. 27, n. 1, p. e-2714, 29 Mar. 2016.

MURRAY, Lynne et al. The effects of maternal social phobia on mother–infant interactions and infant social responsiveness. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 48, n. 1, p. 45-52, 2007.

NUSSBAUM, Robert L .; MCINNES, Roderick R .; WILLARD, Huntington F. **Thompson & Thompson e-book genetics in medicine** . Elsevier Health Sciences, 2015.

ÖZAL, Cemil et al. Desenvolvimento motor grosso de pré-escolares: efeitos da condição socioeconômica e escolaridade materna. **O jornal turco de pediatria** , v. 62, n. 1, pág. 18/10/2020.

PAPALIA, Diane E.; FELDMAN, Ruth Duskin (Colab.). **Desenvolvimento Humano**. 12ª ed. Porto Alegre: AMGH Editora, 2013.

REZENDE, Magda Andrade; BETELI, Vivian César; SANTOS, Jair Lício Ferreira dos. Avaliação de habilidades de linguagem e pessoal-sociais pelo Teste de Denver II em instituições de educação infantil. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 18, p. 56-63, 2005.

SANTOS, D. C. C. et al. Desempenho motor grosso e sua associação com fatores neonatais, familiares e de exposição à creche em crianças até três anos de idade. **Brazilian Journal of Physical Therapy**, v. 13, p. 173-179, 2009.

SILVA, J. et al. O impacto da escolaridade materna e a renda per capita no desenvolvimento de crianças de zero a três anos. **Revista Ciências em Saúde** 1 (2):62-67.

SILVA, PL; SANTOS, DCC; GONÇALVES, VMG . Influência de práticas maternas no desenvolvimento motor de lactentes do 6º ao 12º meses de vida. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, 2006, 10(2), 225–231. doi:10.1590/s1413-35552006000200014.

SILVA, Thalita Rodrigues; GONTIJO, Cristina Silva. A Família e o Desenvolvimento Infantil sob a Ótica da Gestalt-Terapia. **IGT rede**, Rio de Janeiro , v. 13, n. 24, p. 15-36, 2016 . Disponível em <[http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1807-25262016000100003&lng=pt&nrm=iso](http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-25262016000100003&lng=pt&nrm=iso)>. acessos em 18 ago. 2021.

STEIN, Murray B.; JANG, Kerry L.; LIVESLEY, W. John. Heritability of social anxiety-related concerns and personality characteristics: a twin study. **The Journal of nervous and mental disease**, v. 190, n. 4, p. 219-224, 2002.

WHO. World Health Organization (2013): Mental health action plan 2013-2020.

**ARTIGO****Maternal social anxiety disorder impacts the childhood motor development: the role of a genetic variant in CACNA1C gene.**

Márcia da Silva Lemes<sup>a</sup> #, Yasmin Boa Hora Goulart<sup>a</sup> #, Clarissa Ribeiro Bastos<sup>a</sup>, Mariana Bonati de Matos<sup>a</sup>, Ricardo Tavares Pinheiro<sup>a</sup>, Luciana de Ávila Quevedo<sup>a</sup>, Gabriele Cordenonzi Ghisleni<sup>a</sup>, Ana Paula Ardais<sup>a</sup>\*

<sup>a</sup>Center of Health Sciences, Post-Graduation Program of Health and Behavior, Catholic University of Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil.

<sup>b</sup>Department of Cellular and Molecular Biology, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

# Both authors contributed equally to this work.

\* Corresponding Author: Ana Paula Ardais

E-mail: ana.ardais@ucpe.edu.br

Laboratory of Clinical Neuroscience

Post-Graduation Program of Health and Behavior

Center of Health Sciences

Catholic University of Pelotas

Rua Gonçalves Chaves 373, sala 324C

CEP 96015-560

Fone: +55 53 2128-8031

Fax: +55 53 2128 8229

## Abstract

**Objectives:** To evaluate the association between maternal social phobia (SF) and child motor development according to the rs1006737 polymorphism in the child's CACNA1C gene.

**Methods:** Cross-sectional study nested in a longitudinal study with mothers who underwent prenatal care in the public health network and their children. To assess maternal cognitive performance, the Mini International Neuropsychiatric Interview-PLUS (MINI-PLUS) was used to identify PS in adolescent mothers and the Bayley Child Development Scale III (BSID-III) to assess child development (language, motor, cognitive and socio-emotional). Analysis of the rs1006737 polymorphism was performed by extracting DNA from cells from the oral mucosa of children by real-time PCR. Data were analyzed using SPSS 22.0 software. Pearson correlation, t-test, ANOVA and linear regression were performed. **Results:** Regarding SF, our main exposure, it was observed that children of mothers with SF had lower motor development scores when compared to children of mothers without SF ( $p = 0.024$ ). The linear regression results showed that the association between social phobia and motor development remained significant for children carrying the A allele even after adjustment for maternal-infant confounding factors ( $p = 0.045$ ). **Conclusions:** Our results suggest that the rs1016737 polymorphism has an impact on the relationship between maternal social anxiety and child motor development. It is clear that maternal mental health, as well as age and education, are factors that influence the result. Therefore, studies like this one are important to identify early motor impairments and treat them better.

**Key words:** social anxiety disorder; motor development; children's development; polymorphism; CACNA1C.

## 1. Introduction

Childhood is the period when skills are developed that will accompany the individual throughout life. Children learn how to move their bodies through space, developing fundamental skills, which form the basis for the acquisition of more complex movements in the future (Schmutz et al., 2020). With regard to motor development, it is considered an interactive learning process, involving changes in the structure or function of the body, as well as its interaction with the environment (Clark, 1995; Schmutz et al., 2020). Motor development is divided into coarse and fine motors. Fine motor development involves the movement of hands and fingers and gross motor involves the child's wide movement in relation to gravity, such as jumping, sitting, holding the head, among others (Madaschi, 2016).

However, several factors can negatively influence a child's motor development. Among the main characteristics associated with motor delay are: being male, low birth weight, prematurity, neonatal infections, maternal age, socioeconomic status, education level and the presence of maternal mental disorders, such as anxiety, has been strongly described as important factors associated with child development (Silva et al., 2011).

With regard to maternal mental health, the importance of Social Anxiety Disorder (SAD) and its possible impairment in maternal social interaction is highlighted, as the stimuli that are transferred to the baby can be limited. Regarding SAD, it is characterized by persistent fear of one or more social situations that are avoided or supported by intense anxiety or suffering (American Psychiatric Association, 2013). Anxiety is defined as an emotional state with psychological and physiological components that is part of the normal spectrum of human activity, being, in this condition, a driving agent of performance. However, when the anxious response is disproportionate to the situation that triggers it or when there is no specific object to target, it becomes pathological (Hawken et al., 2018; Domhardt et al., 2019; Lahousen & Kapfhammer, 2019). In this sense, anxiety disorders present as central symptoms the excess of anxiety and worry that, by becoming persistent, cause suffering and functional damage to those who feel them (American Psychiatric Association, 2013). In particular, SAD has been considered a serious mental health problem for triggering disabilities that interfere with performance and social interactions, as high levels of social anxiety can negatively affect social performance, academic performance, communication skills, interpersonal perceptions and social and social skills (Angélico, 2006).

Recent studies have revealed a positive association between SAD and gestational period. Of all stages of a woman's life, the puerperium is a period of great vulnerability as it is marked by biological, psychological and social changes. Furthermore, it is characterized by intense hormonal fluctuations never before experienced. In this sense, it is believed that, as a result of these changes, there is a greater susceptibility to the development of mental disorders during this period (Cantilino et al., 2010; Henry, 2012). It is also important to highlight that it has been well established in the literature that maternal mental health has an influence on child development. Taking SAD as an example, maternal characteristics can interfere with the development of their children since phobic models can be transmitted from parents to child, that is, mothers with SAD can transmit their inhibited behavioral disposition to babies or fail to encourage them to interact with other people, generating a reduction in social responsiveness (Castelli et al., 2015).

Still, the literature is consistent in showing that not only maternal health, but biological and environmental factors can increase a child's risk of developing emotional, behavioral and cognitive problems (Glover, 2014). Therefore, it is necessary to understand that several biological and psychosocial aspects can compromise child development through changes in brain structure and function, but that, importantly, child development can also be strongly influenced by genetic issues (Walker et al., 2007). In this sense, it is important to understand how genetic factors directly influence child development. Some genetic studies provide information about structural and functional changes in the brain and how they may be related to emotional, cognitive and behavioral changes (Lautarescu, 2020). Currently, the literature has been consistent in reporting a strong association between the single nucleotide polymorphism (SNP) rs1006737 in the CACNA1C gene and the development of complex neuropsychiatric diseases (Frazier et al., 2014). In humans, the CACNA1C gene is known to be related to disorders such as: bipolar disorder, schizophrenia, autism spectrum disorder and major depressive disorder (Li et al., 2015). Importantly, the CACNA1C gene codifies the calcium voltage-gated channel subunit alpha 1 C, which is involved in the functioning of several neurological circuits, including those involving the hippocampus, amygdala and the reward system mesolimbic and, therefore, there is a strong implication in the pathophysiology of psychiatric illnesses (Bhat et al., 2012).

Although studies show the influence of genetic variants on complex diseases, it is known that these only increase the risk of developing certain disorders, as there is still a portion of environmental influence. Despite this, many neuropsychiatric disorders are highly

heritable, and indicate a strong role in pathogenesis (Bhat et al., 2012). In view of current knowledge, it is necessary to have studies that unravel the theme of the mother's mental health, associated with genetics in child development. Thus, the present study aims to evaluate the association between maternal social anxiety and child motor development according to the CACNA1C rs1006737 gene polymorphism.

## **2. Methodology**

### *Study design and participants*

A longitudinal study about maternal mental health and child development was conducted from 2008 to 2014, selected and followed pregnant women up to 19 years old who had received prenatal care in the health system of the city of Pelotas-RS and were between 20 and 22 gestational weeks. Previously at home interviews, the pregnant women identified were contacted and invited to participate in the study by telephone. As part of this longitudinal survey, our study consisted of a cross-sectional design and included mothers and their respective children aged 24 to 36 months who continued to participate until this posterior step. At this moment, sociodemographic data were collected by questionnaire application and mental health assessments based on validated instruments and scales were conducted to measure maternal social phobia and child motor development. The evaluations took place in a neutral space of university to prevent biases of stimuli and make a suitable environment for carrying out the tasks. Besides, the biological samples of children's oral mucosa were collected by genotyping. Initially, the sample of first step of study was composed by 869 pregnant adolescents but over the course of the study, losses occurred and in the step used by this survey, 512 responses for maternal social phobia were collected, 402 children genotyped for rs1006737 and 498 performed the bayley from 24 to 36 months. The largest longitudinal study was approved by the Ethics Committee of the Catholic University of Pelotas under protocol number 2011/19. Free and Informed Assent Form was signed by all pregnant women that agreed to participate in this study or by their respective guardians, considering the minors. Those who presented SAD were referred to the Basic Health Unit closest to their residence or to the Health Campus of the Catholic University of Pelotas. Mothers of babies who had low scores on the motor development scale were instructed to stimulate their babies with a focus on the most impaired skills observed in the application of the test.

### *Assessment tools*

Children's motor development was assessed through the Bayley Scale of Infant and Toddler Development, 3<sup>th</sup> edition (Bayley-III), which comprises a range of activities involving various aspects of children development. This scale is divided into seven domains: cognitive, receptive language, expressive language, gross and fine motor development, socioemotional and adaptive behavior. The last two domains described, however, are evaluated according to the mother's perception and, in order to avoid partiality on the part of the mother, In this study it was decided to use only the domain of motor development. Regarding the evaluation results, the higher the scores presented in the motor development domain, the better the child's development. As for sample standardization, the instrument itself adjusts the age of children with the objective of homogenizing the sample, being necessary for the evaluator to perform age correction only in cases of prematurity, which are considered only in children born less than 36 weeks. In this study, only scores by motor domain were used. Statistical data were performed using composite scores, where the higher the scores, the better the motor development (Bayley, 2006).

The instrument Mini International Neuropsychiatric Interview-PLUS (MINI-PLUS) was used in its validated version to identify Social Anxiety Disorder in adolescent mothers. The tool consists of a structured diagnostic interview, based on the criteria of the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV) and the International Classification of Diseases (ICD-10). Divided into modules according to each disorder, it is a short interview, with yes/no answer options. The application lasts approximately 15-30 minutes, intended for clinical practice and research, and at the end each module indicates the presence or absence of the disorder. In the Social Phobia module, all questions asked must be rated. The quotation is made to the right of each question, surrounding with a circle the respondent's corresponding answer, whether "YES" or "NO". Answers with an overlaid arrow indicate that one of the criteria necessary to establish the explored diagnosis is not met. The clinician must go directly to the end of the module, quote "NO" in the corresponding diagnostic table(s) and proceed to the next module (AMORIN, 2000).

### *Genotyping assay*

The collection of biological material occurred from cell extraction of oral mucosa by the method described by Lahiri and Nurnberger Jr (1991). Subsequently, the samples were submitted to extraction processes, total DNA quantification by spectrophotometry and dilution,

being stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until the moment of molecular analysis. The rs6265 polymorphism was genotyped by PCR allelic discrimination assays in a 7500 Fast Real-Time PCR System thermal cycler. TaqMan MGB probes and primers were used being designated through Primer Express v3.0 software, and the gene consensus sequence was obtained from GeneBank (<http://www.ncbi.nlm.nih>). PCR reactions were performed using TaqMan Genotyping Master Mix Buffer (Applied Biosystems), 900nmol / l of each primer, 200nmol / l each probe (VIC e FAM) and 2ng of the DNA, as determined by the manufacturer. From this, the genotyping results were analyzed in the System Sequence Detection v.1.4 software (Applied Biosystems).

### *Statistical analyses*

After coding the instruments, the data were double-entered directly into the EpiInfo 6.04d program after an interview, and the statistical analysis was performed using the SPSS 22.0 statistical package. The genotypic and allelic frequencies were estimated by direct counting of the alleles, and the Hardy-Weinberg equilibrium was tested by the chi-square test. Univariate analyses were performed by simple frequencies and represented by n (%) or media  $\pm$  Standard Deviation. The association analyses were performed by Student's t test, One-way ANOVA or Pearson's correlation. Subsequently, a linear regression analysis adjusted for maternal (age, education level, socioeconomic class and previous pregnancy) and child variables (age adjusted in years, ethnicity and sex). Values of  $p \leq 0.05$  are considered statistically significant.

### **3. Results**

The sociodemographic, clinical and biological characteristics of the dyads that made up the sample are described in table 1. The descriptive results show that most mothers were 20 years old or more (66.8%), with 9 years of schooling or more (71.7 %), was from economic class C (69.3%), had no previous pregnancies (78.7%), had social phobia (9.2%). As for the children, they were male (50.7%), white (88.3%), with a mean age of 2.22 years ( $\pm 0.41$ ), with post term birth (20.6%), who had neonatal syndromes or complications (11.6%) and with mean scores for the Bayley Motor Domain of 96.12 ( $\pm 13.4$ ). Regarding the allelic frequency of rs1006737 in children, the GG genotype was the most prevalent (46%) (Table 1).

The results of the association of sociodemographic, clinical and biological variables of the dyads with child motor development are shown in table 2. There was a significant association of motor development with maternal age, with mothers aged 20 years or more

having higher scores of motor development than mothers aged up to 19 years ( $p=0.031$ ; média 98,96; DP  $\pm 14,27$ ). There was also a significant association between motor development and maternal education, where mothers with 9 years of schooling or more had higher motor development scores than mothers with up to 8 years of schooling ( $p=0.001$ ; média 96,02 ; DP  $\pm 12,56$ ). Regarding SF, our main exposure, it was observed that children of mothers with SF had lower motor development scores when compared to children of mothers who did not have SF ( $p=0.024$ ; média 98,62; DP  $\pm 13,39$ ). Regarding the child's exposure variables, females had higher motor development scores than males ( $p<0.001$ ; média 100,46; DP  $\pm 13,43$ ).

In table 3, the results are presented from the stratification of the association analysis by the dominant infant model rs1006737 (GG and AG + AA), it was observed that children carrying the A allele and daughters of mothers with social phobia had lower motor development scores when compared to children carrying the allele A and daughters of mothers without social phobia (91.66 and 96.75, respectively;  $p=0.028$ ). Furthermore, children carrying the A allele and children of mothers who had already had a previous pregnancy had higher motor development scores when compared to children of primiparous mothers (103.29 and 97.25, respectively;  $p=0.016$ ). The association between the child's motor development and skin color was also influenced by rs1006737. White children had higher motor development scores than children of another skin color (98.50 and 91.25, respectively;  $p=0.009$ ).

To identify whether the association between maternal social phobia and child motor development as a function of rs1006737 was maintained, despite the confounding factors, a multivariate analysis was performed, shown in table 4. The linear regression results showed that the association between social phobia and motor development remained significant for children carrying the A allele even after adjustment for maternal (age, educational level, socioeconomic class and previous pregnancy) and child (age) confounding factors adjusted for years, sex and skin color ( $p=0.045$ ). In addition, the analysis showed that among children with the A allele, those who were born to mothers with social phobia had -7.687 points in motor development scores when compared to those who were born to mothers without social phobia.

#### **4. Discussion**

The association between social phobia and motor development according to genotype (Table 4) remains after adjustments for the confounding factor. Our study demonstrates that children carrying the A allele, daughters of mothers with social phobia, have 7 points lower in

motor development than children carrying the A allele, daughters of mothers without social phobia. Regarding social phobia, there was also a significant association of our main exposure, where children of mothers with social phobia had lower motor development scores. A study published in the *Journal of Child Psychology and Psychiatry* demonstrates that social phobia is a disorder that impacts the mother-infant relationship and the child's responsiveness, deserving attention (Murray et al., 2007).

In view of the age range of the analyzed mothers, it has been reported in the scientific literature that very young mothers are two to four times more likely to develop some anxiety disorder such as generalized anxiety disorder (GAD), separation disorder (TS) or social phobia disorder and specific phobia (TFSE). Anxiety disorders differ from each other in the types of objects or situations that induce fear, anxiety or avoidance behavior, or because they are excessive and/or persist beyond periods appropriate to the level of development (American Psychiatric Association, 2013). In particular, Social Anxiety Disorder (SAD), or Social Phobia, has been considered a serious mental health problem, as there is a deficit of social skills and inability to interact (Angélico, 2006).

However, the effects of maternal SAD on children's development are still not widely studied, and more consistent conclusions on the subject have not yet been reached. Despite this, the classic study developed by Parker in 1979, hypothesizes that if the mother or father have a phobic condition, they will generalize their phobic views of the world, protecting the child in excess and, this behavior may reduce the capacity of taking care of a child.

Although we do not have current studies with important results, the study by Murray et al. in 2007 analyzed that children of mothers with SAD show early signs of reduced social responsiveness, and this is related to the lack of maternal encouragement to develop social interactions. In a study published in the *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, authors concluded that childhood anxiety symptoms at 58 months were specifically predicted by maternal SAT rather than GAD and were also predicted by an interaction between childhood lack of maternal encouragement, as mothers with phobic models can transmit to their children intergenerationally (Lawrence et al., 2020).

It is consistent that not only maternal health, but the child's own biological condition can increase their chances of developing emotional problems, cognitive development, or even increase the susceptibility of children to develop neurodevelopmental disorders such as, for

example, the child's disorder. attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). In this sense, studies of genetic variants have been crucial to better elucidate the biological mechanisms that may be involved in the individualized clinical perception of child development and behavior in response to the environment. Genetic variations such as single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been key elements in the study of child development and behavior (Glover, 2014; Nussbaum et al., 2015).

Our results show that when children have the GG genotype for rs1006737, motor development does not depend on whether the mother has a social phobia or not, and the environment does not seem to influence the outcome. For children who are carriers of the A allele, maternal mental health seems to be influencing motor development, since, among those carrying the A allele, children of mothers without social phobia have higher motor development scores. In accordance with the data found, the study by Dedic et al. showed that the calcium channel encoded by the CACNA1C gene actively interacts with the environment to shape anxiety-related behavior. In addition, the study shows that epigenetic changes caused by environmental changes can induce differences in the expression of specific tissues, cell types and even entire brain circuits. In a clinical context, it is understood that individuals with genetic variants that promote reduced CACNA1C expression may be at greater or lesser risk of developing psychopathologies (Dedic et al., 2018).

Furthermore, genome-wide association (GWAS) and replication studies have shown that CACNA1C, a gene that encodes L-type calcium channels (LTCC), has shown an increased risk for complex psychiatric disorders. LTCCs are important for brain development and the development of the neuromuscular junction (NMJ), playing a role in synaptic refinement, neuronal connectivity and functionality in critical periods of development. Failures in calcium signaling can result in excessive nerve ramifications and alterations in the growth pattern of motor neurons (Frazier et al., 2014; Li et al., 2015; Bhat et al., 2012; Bastos et al., 2020; Greer et al., 2008; Kabir, 2017; Kaplan et al., 2018).

Using induced human neurons (iNs) to reveal a functional psychiatric risk phenotype associated with the rs1006737 polymorphism, it was observed that more than 20 individuals with at-risk homozygous, heterozygous, or homozygous no-risk genotypes at the rs1006737 locus and demonstrated increased LTCC current density, as well as increased CACNA1C mRNA expression in iNs homozygous for the at-risk genotype, compared to non-risk genotypes. An association of rs1006737 with neurodevelopmental disorders such as ADHD and

ASD has also been identified (Yoshimizu et al., 2014; Smoller et al., 2013; Liao et al., 2020; Li et al., 2015).

The child and maternal context, as well as characteristics of the social environment can influence and expose the child to future problems (Martins, 2004). It is known that the influence of the family starts in the gestational period and, later, the way in which the child is received in the family social microsystem turns out to be decisive for the early stages of child development (Silva & Gontijo, 2016). Maternal age, socioeconomic status, education level and ethnicity have been strongly described as important factors associated with child development (Silva et al., 2011). In this present study, we can observe that the results tend to remain consistent, as there was a significant association between the mother's age, years of education and having social phobia with the child's motor development.

We observed that mothers aged 20 years or older had higher motor development scores than mothers aged up to 19 years. The study by Moura et al. (2004) confirms the importance of maternal age as a variable in child development. However, with regard to motor development, we can see in Table 2 that, in this study, unlike the study mentioned above, an association was observed between the child's sex, where female children had higher motor development scores than those of the male sex. Even so, the number of studies that analyze child motor development is scarce, with analyzes of child development being more prevalent, which reinforces the importance of further studies with this approach, since our results demonstrate these associations in a positive way.

Regarding education, there was also a significant association where mothers with 9 years of schooling or more had higher motor development scores than mothers who had up to 8 years of schooling. This corroborates the study by Santos et. al (2009) which shows that children whose parents had up to eight years of schooling had a 4.63 times greater risk of delay in Mobility Skills.

A population-based birth cohort study in the Western Cape, South Africa, investigated determinants of early childhood health and development. The authors of this study were able to conclude that the level of maternal education was the strongest protective factor to reduce the chances of developmental delay in all four domains of the Bayley-III scale (OR = 0.40; 95% CI 0.17 -0.94,  $p = 0.035$ ). In addition, it is interesting to note that better socioeconomic status

and higher birth weight were also associated with positive development at 24 months (Donald et al., 2019).

Despite not having a significant result, 68.3% of the sample answered to be from socioeconomic class C. In this context, in relation to the environmental aspects associated with negative outcomes for motor development, and relating socioeconomic class to education, there is that low maternal education is directly linked to the mother's level of knowledge about the child's development (Özal et al., 2020).

In a review study, several authors identified the interference of education in the sensorimotor, cognitive and emotional development of children aged zero to three years. This study demonstrated that a low educational level is associated with a delay in the ability to move and language acquisition (Silva et al., 2011, Santos et al., 2009; Rezende, 2005). Still in the meantime, Brazilian studies show that the lower level of maternal education is, in fact, a socioeconomic risk factor that hinders such child development. Still, these studies mention other main and important factors, such as: low family income, presence of many siblings, mothers who have psychiatric disorders, among others (Morais et al., 2016; Andrade et al., 2003; Lamy Filho et al., 2008 ; Defilipo et al., 2012; Freitas et al., 2013; Martins et al., 2004; Vieira et al., 2007).

As a limitation of the study, we have the cross-sectional design nested in a longitudinal study in a single city in Rio Grande do Sul between 2008 and 2014. This is because later studies presented controversial data. Two recent studies found no association between a specific polymorphism and the outcome, for example (Sayad et al., 2019; Khalid et al., 2020), and this reaffirms the need to observe the role of a polymorphism in different populations, analyzing possible associations with child motor development and behavioral traits, as a function of the environment.

Therefore, as analyzed in this study, maternal age and maternal education with the presence of social phobia seem to influence child motor development. Children with the rs1016737 polymorphism and daughters of mothers with social phobia, associated with the environmental context, have greater impairment in motor development.

## Conclusion

Our results suggest that the rs1016737 polymorphism has an impact on the relationship between maternal social anxiety and child motor development. Thus, studies like this one are important to identify early motor impairments and better treat them. Furthermore, it is clear that maternal mental health, as well as age and education, are factors that influence the outcome. Future studies may recognize other factors that contribute to greater or lesser motor impairment in children.

## REFERENCES

- Amorim, P. (2000). Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. *Brazilian Journal of Psychiatry*, 22, 106-115.
- Andersson, L., Sundström-Poromaa, I., Wulff, M., Åström, M., & Bixo, M. (2006). Depression and anxiety during pregnancy and six months postpartum: a follow-up study. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*, 85(8), 937-944.
- Angélico, A. P., de Souza Crippa, J. A., & Loureiro, S. R. (2006). Fobia social e habilidades sociais: Uma revisão da literatura. *Interação em Psicologia*, 10(1).
- American Psychiatric Association, & American Psychiatric Association. (2013). Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5. *Arlington, VA*.
- Bastos, C. R., Tovo-Rodrigues, L., Ardais, A. P., Xavier, J., Salerno, P. S. V., Camerini, L., ... & Ghisleni, G. (2020). The role of CACNA1C gene and childhood trauma interaction on bipolar disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 101, 109915.
- Bayley Scales of Infant and Toddler Development. 3rd edn. 2016. San Antonio, TX: Harcourt Assessment Inc.
- Bhat, S., Dao, D. T., Terrillion, C. E., Arad, M., Smith, R. J., Soldatov, N. M., & Gould, T. D. (2012). CACNA1C (Cav1. 2) in the pathophysiology of psychiatric disease. *Progress in neurobiology*, 99(1), 1-14.

Cantilino, A., Zambaldi, C. F., Sougey, E. B., & Rennó Jr, J. O. E. L. (2010). Transtornos psiquiátricos no pós-parto. *Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)*, 37, 288-294.

Clark, J. E. (1995). On becoming skillful: Patterns and constraints. *Research quarterly for exercise and sport*, 66(3), 173-183.

Dąbrowski, J., Czajka, A., Zielińska-Turek, J., Jaroszyński, J., Furtak-Niczyporuk, M., Mela, A., ... & Ziemia, A. (2019). Brain functional reserve in the context of neuroplasticity after stroke. *Neural Plasticity*.

Dedic, N., Pöhlmann, M. L., Richter, J. S., Mehta, D., Czamara, D., Metzger, M. W., ... & Deussing, J. M. (2018). Cross-disorder risk gene CACNA1C differentially modulates susceptibility to psychiatric disorders during development and adulthood. *Molecular psychiatry*, 23(3), 533-543.

Domhardt, M., Geßlein, H., von Rezori, R. E., & Baumeister, H. (2019). Internet-and mobile-based interventions for anxiety disorders: A meta-analytic review of intervention components. *Depression and anxiety*, 36(3), 213-224.

Donald, K. A., Wedderburn, C. J., Barnett, W., Nhapi, R. T., Rehman, A. M., Stadler, J. A., ... & Stein, D. J. (2019). Risk and protective factors for child development: An observational South African birth cohort. *PLoS medicine*, 16(9), e1002920.

Eley, T. C. (2001). Contributions of behavioral genetics research: Quantifying genetic, shared environmental and nonshared environmental influences. *The developmental psychopathology of anxiety*, 45-59.

Frazier, T. W., Youngstrom, E. A., Frankel, B. A., Zunta-Soares, G. B., Sanches, M., Escamilla, M., ... & Soares, J. C. (2014). Candidate gene associations with mood disorder, cognitive vulnerability, and fronto-limbic volumes. *Brain and behavior*, 4(3), 418-430.

Glover, V. (2014). Maternal depression, anxiety and stress during pregnancy and child outcome; what needs to be done. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, 28(1), 25-35.

Greer, P. L., & Greenberg, M. E. (2008). From synapse to nucleus: calcium-dependent gene transcription in the control of synapse development and function. *Neuron*, *59*(6), 846-860.

Gu, J., & Kanai, R. (2014). What contributes to individual differences in brain structure?. *Frontiers in human neuroscience*, *8*, 262.

Hawken, T., Turner-Cobb, J., & Barnett, J. (2018). Coping and adjustment in caregivers: A systematic review. *Health psychology open*, *5*(2), 2055102918810659.

Henry, J. F., & Sherwin, B. B. (2012). Hormones and cognitive functioning during late pregnancy and postpartum: a longitudinal study. *Behavioral neuroscience*, *126*(1), 73.

International Monetary Fund (2015): The IMF and the Millennium Development Goals.

Kabir, Z. D., Martínez-Rivera, A., & Rajadhyaksha, A. M. (2017). From gene to behavior: L-type calcium channel mechanisms underlying neuropsychiatric symptoms. *Neurotherapeutics*, *14*(3), 588-613.

Kaplan, M. M., Sultana, N., Benedetti, A., Obermair, G. J., Linde, N. F., Papadopoulos, S., ... & Flucher, B. E. (2018). Calcium influx and release cooperatively regulate AChR patterning and motor axon outgrowth during neuromuscular junction formation. *Cell reports*, *23*(13), 3891-3904.

Lautarescu, A., Craig, M. C., & Glover, V. (2020). Prenatal stress: effects on fetal and child brain development. *International review of neurobiology*, *150*, 17-40.

Lawrence, P. J., Creswell, C., Cooper, P. J., & Murray, L. (2020). The role of maternal anxiety disorder subtype, parenting and infant stable temperamental inhibition in child anxiety: a prospective longitudinal study. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, *61*(7), 779-788.

Li, J., Zhao, L., You, Y., Lu, T., Jia, M., Yu, H., ... & Wang, L. (2015). Schizophrenia related variants in CACNA1C also confer risk of autism. *PloS one*, *10*(7), e0133247.

Liao, X., & Li, Y. (2020). Genetic associations between voltage-gated calcium channels and autism spectrum disorder: a systematic review. *Molecular brain*, 13(1), 1-10.

Madaschi, V., Mecca, T. P., Macedo, E. C., & Paula, C. S. (2016). Bayley-III scales of infant and toddler development: transcultural adaptation and psychometric properties. *Paidéia (Ribeirão Preto)*, 26, 189-197.

Morais, R. L. S., Carvalho, A. M., & Magalhães, L. C. (2016). O contexto ambiental e o desenvolvimento na primeira infância: estudos brasileiros. *Journal of Physical Education*, 27(1).

Murray, L., Cooper, P., Creswell, C., Schofield, E., & Sack, C. (2007). The effects of maternal social phobia on mother–infant interactions and infant social responsiveness. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 48(1), 45-52.

Nussbaum, R. M., McInnes, R. R., & Willard, H. F. (2015). *Thompson & Thompson genetics in medicine e-book*. Elsevier Health Sciences.

Opitz, J. M. (2003). American journal of medical genetics. Part C, Seminars in medical genetics.

Özal, C., Bayoğlu, B., Karahan, S., Günel, M. K., & Anlar, B. (2020). Gross motor development of preschool children: effects of socioeconomic status and maternal education. *The Turkish journal of pediatrics*, 62(1), 10-18.

Papalia, D. E., & Feldman, R. D. (2013). *Desenvolvimento humano*. Artmed editora.

Rezende, M. A., Beteli, V. C., & Santos, J. L. F. D. (2005). Avaliação de habilidades de linguagem e pessoal-sociais pelo Teste de Denver II em instituições de educação infantil. *Acta Paulista de Enfermagem*, 18, 56-63.

Santos, D. C. C., Tolocka, R. E., Carvalho, J., Heringer, L. R. C., Almeida, C. M., & Miquelote, A. F. (2009). Desempenho motor grosso e sua associação com fatores neonatais, familiares e de exposição à creche em crianças até três anos de idade. *Brazilian Journal of Physical Therapy*, 13, 173-179.

Schmutz, E. A., Leeger-Aschmann, C. S., Kakebeeke, T. H., Zysset, A. E., Messerli-Bürky, N., Stülb, K., ... & Kriemler, S. (2020). Motor competence and physical activity in early childhood: stability and relationship. *Frontiers in public health*, 8, 39.

Silva, J. L. G. V., Soares, E. A., Caetano, E. A., de Souza Loyola, Y. C., Garcia, J. A. D., & Mesquita, G. (2011). O Impacto da Escolaridade Materna e a Renda Per Capita no Desenvolvimento de Crianças de Zero a Três Anos/The Impact of Maternal Education and Income PerCapita in Development of Children from Zero to Three Years. *Health Sciences Journal*, 1(2), 62-67.

Silva, P. L., Santos, D. C. C., & Gonçalves, V. M. G. (2006). Influência de práticas maternas no desenvolvimento motor de lactentes do 6º ao 12º meses de vida. *Brazilian Journal of Physical Therapy*, 10, 225-231.

Silva, T. R., & Gontijo, C. S. (2016). A família e o desenvolvimento infantil sob a ótica da gestalt-terapia. *IGT na Rede*, 13(24), 15-36.

Smoller, J.W. Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium. (2013). Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *The Lancet*, 381(9875), 1371-1379.

World Health Organization (2013): Mental health action plan 2013-2020.

Yoshimizu, T., Pan, J. Q., Mungenast, A. E., Madison, J. M., Su, S., Ketterman, J., ... & Tsai, L. H. (2015). Functional implications of a psychiatric risk variant within CACNA1C in induced human neurons. *Molecular psychiatry*, 20(2), 162-169.

**Table 1** - Sociodemographic, clinical and biological characteristics of the dias of the population base of the urban area of Pelotas-RS from October 2009 to March 2011.

<b>Maternal Characteristics</b>	<b>N (%)</b>
<b>Age</b>	
Up to 19 years old	179 (33,2)
20 years or more	360 (66,8)
<b>Maternal education</b>	
Up to 8 years of study	254 (28,3)
9 years of study or more	643 (71,7)
<b>Socioeconomic Class</b>	
A/B	84 (16,4)
C	355 (68,3)
D/E	73 (14,3)
<b>Previous Pregnancy</b>	
No	677 (78,7)
Yes	183 (21,3)
<b>Social Phobia</b>	
No	465 (90,8)
Yes	47 (9,2)
<b>Child Characteristics</b>	<b>N(%) or Mean <math>\pm</math> DP</b>
<b>Age (years)</b>	2,22 $\pm$ 0,412
<b>Bayley Motor Domain Scores</b>	98,12 $\pm$ 13,4
<b>Skin Color</b>	
Not white	105 (11,7)
White	792 (88,3)
<b>Child's Gender</b>	
Male	271 (50,7)
Female	264 (49,3)
<b>Full Term Birth</b>	
Yes	424 (79,4)
No	110 (20,6)
<b>Syndrome/neonatal complicatio</b>	
Yes	62 (11,6)
No	472 (88,4)
<b>Polymorphism rs1016737</b>	
GG	185 (46)
AG	160 (39,8)
AA	57 (14,2)

**Table 2.** Association of sociodemographic, clinical and biological variables of the dyads with child motor development.

<b>Maternal Characteristics</b>	<b>Motor Development</b>	
	<b>Mean ± DP</b>	<b>p-value</b>
<b>Age</b>		<b>0,031</b>
Up to 19 years old	96,40 ± 11,25	
20 or more years	98,96 ± 14,27	
<b>Maternal education</b>		<b>0,001</b>
Up to 8 years of study	96,02 ± 12,56	
9 years of study or more	99,89 ± 13,88	
<b>Socioeconomic Class</b>		0,323
A/B	99,82 ± 13,76	
C	98,24 ± 13,87	
D/E	96,39 ± 10,73	
<b>Previous Pregnancy</b>		0,150
No	97,68 ± 13,56	
Yes	99,95 ± 13,36	
<b>Social Phobia</b>		<b>0,024</b>
No	98,62 ± 13,38	
Yes	93,91 ± 12,74	
<b>Child Characteristics</b>	<b>Mean ± DP or <i>r</i> of Pearson</b>	<b>p-value</b>
<b>Age (years)</b>	0,078	0,082
<b>Skin Color</b>		0,091
Not White	95,88 ± 13,72	
White	98,58 ± 13,33	
<b>Child's Gender</b>		<b>&lt; 0,001</b>
Male	95,70 ± 12,97	
Female	100,46 ± 13,43	
<b>Full Term Birth</b>		0,416
Yes	98,35 ± 13,12	
No	97,14 ± 14,38	
<b>Syndrome/neonatal complication</b>		0,600
Yes	99,28 ± 17,42	
No	98,02 ± 12,74	
<b>Polymorphism rs1016737</b>		0,473
GG	97,11 ± 13,58	
AG	98,97 ± 14,39	
AA	98,51 ± 13,72	

Association analyzes are represented by Mean  $\pm$  SD (between categorical and continuous variables) or by Pearson's Correlation r coefficient (between two parametric continuous variables). Values of  $p < 0.05$  were considered significant.

**Table 3.** Association of sociodemographic and clinical variables with motor development as a function of the child's rs1016737 polymorphism.

Maternal Characteristics	Motor Development			
	Polymorphism rs1016737 (dominant model)			
	GG		AG +AA	
	Mean ± DP	p-value	Mean ± DP	p-value
<b>Age</b>		0,108		0,253
Up to 19 years old	95,00 ± 11,23		97,12 ± 21,47	
20 or more years	98,22 ± 14,58		99,62 ± 14,78	
<b>Maternal education</b>		<b>0,011</b>		<b>0,018</b>
Up to 8 years of study	94,18 ± 12,71		96,34 ± 13,09	
9 years of study or more	99,42 ± 13,85		101,04 ± 14,79	
<b>Socioeconomic Class</b>		0,119		<b>0,905</b>
A/B	100,50 ± 13,13		99,04 ± 15,36	
C	97,01 ± 14,57		99,18 ± 14,62	
D/E	92,76 ± 5,67		97,86 ± 11,95	
<b>Previous Pregnancy</b>		0,988		<b>0,016</b>
No	97,29 ± 13,88		97,25 ± 14,20	
Yes	97,33 ± 12,02		103,29 ± 14,39	
<b>Social Phobia</b>		0,865		<b>0,028</b>
No	97,36 ± 13,48		99,52 ± 14,07	
Yes	96,75 ± 14,10		91,65 ± 13,62	
Child Characteristics	Mean ± DP or <i>r</i> of Pearson	p-value	Mean ± DP or <i>r</i> of Pearson	p-value
<b>Age (years)</b>	0,111	0,144	0,048	0,497
<b>Skin Color</b>		<b>0,009</b>		0,683
Not White	91,95 ± 12,89		98,05 ± 13,52	
White	98,50 ± 13,46		99,06 ± 14,38	
<b>Child's Gender</b>		<b>0,007</b>		<b>0,019</b>
Male	94,27 ± 13,69		96,38 ± 12,43	
Female	99,74 ± 12,78		101,05 ± 15,30	

Association analyzes are represented by Mean ± SD (between categorical and continuous variables) or by Pearson's Correlation *r* coefficient (between two parametric continuous variables). Values of  $p < 0.05$  were considered significant.

**Table 4.** Linear regression stratified by the child's rs1016737 genotypes.

<b>Motor Development</b>				
<b>Social Phobia</b>	<b>B (IC 95%)</b>	<b>Standard error</b>	<b>Beta</b>	<b>p-value</b>
<b>GG</b>	1,362 (-6,40 ; 9,13)	3,932	0,027	0,730
<b>AG + AA</b>	-7,687 (-15,21 ; -0,15)	3,814	-0,150	<b>0,045</b>

Linear regression analysis was adjusted for maternal (age, education, socioeconomic class and previous pregnancy) and child (adjusted age, skin color and gender) variables. Values of  $p < 0.05$  were considered significant.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados dessa dissertação sugerem que o polimorfismo rs1016737 tem impacto na relação entre ansiedade social materna e desenvolvimento motor infantil. Trata-se de achados inovadores, uma vez que há escassez de estudos que abordem o desenvolvimento motor infantil associado à fobia social. Assim, estudos como este são importantes para identificar prejuízos motores precoces e tratá-los melhor em conjunto com a equipe multiprofissional, sendo o terapeuta ocupacional fundamental para estimular essas habilidades. Além disso, é evidente que a saúde mental materna, assim como a idade e a escolaridade, são fatores que influenciam o desfecho. Estudos futuros podem reconhecer outros fatores que contribuem para maior ou menor comprometimento motor em crianças.

## ANEXOS

### **ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Participação da Mãe**

#### **CLÍNICA PSICOLÓGICA – AMBULATÓRIO INTEGRADO DE PESQUISA E EXTENSÃO TERMO CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – MÃE**

##### PESQUISA SOBRE IMPACTO DA DOENÇA MENTAL EM ADOLESCENTES GRÁVIDAS E AS REPERCUSSÕES NA SAÚDE DE SEUS FILHOS

O Programa de Pós Graduação em Odontologia da UFPel e o Programa de Pós Graduação em Saúde e Comportamento da UCPel estão lhe convidando a participar de uma pesquisa que tem como objetivo avaliar a influência da saúde mental dos pais adolescentes (através de fatores psicossociais, neuroquímicos e genéticos) no desenvolvimento psicomotor e na saúde bucal de seus filhos.

Se você aceitar fazer parte deste estudo, terá que responder a um questionário que será aplicado por entrevistadores treinados pelos pesquisadores. Além disso, faremos um exame clínico detalhado onde serão avaliados seus dentes e sua gengiva, assim como, será necessária à coleta de saliva para análise posterior em laboratório. Os exames serão realizados com toda higiene e segurança através de materiais esterilizados ou descartáveis, conforme as normas da Organização Mundial da Saúde.

Os dados fornecidos por você durante a aplicação dos questionários serão utilizados posteriormente para análise, produção científica e relatório (para a coordenação dos serviços de saúde), enquanto que os resultados dos exames odontológicos serão fornecidos à você de forma escrita. A equipe envolvida na pesquisa garante que a sua identidade permanecerá em sigilo, tendo em vista a manutenção de sua privacidade.

É importante assinalar que esta pesquisa não apresenta nenhum risco, não causa dor alguma, mas permitirá a identificação dos aspectos psicológicos e odontológicos envolvidos com o trabalho.

Além disso, as pessoas que forem diagnosticadas com algum transtorno mental serão procuradas por nossa equipe e encaminhadas para atendimento especializado. Enquanto que os com necessidade de tratamento odontológico serão encaminhados à Faculdade de Odontologia, se assim desejarem. Você é livre para abandonar o estudo em qualquer momento de seu desenvolvimento e sem maiores prejuízos ou danos.

Em caso de dúvidas sobre o estudo, maiores informações poderão ser obtidas com os pesquisadores e coordenadores do projeto, através dos números (053) 32226690 (Odontologia) e (053) 21288404 (Saúde e Comportamento).

#### Declaração do Participante

Eu, \_\_\_\_\_, declaro que após tomar conhecimento destas informações, aceito participar da presente pesquisa. Além disso, declaro ter recebido uma cópia deste consentimento e que uma cópia assinada por mim será mantida pela equipe da pesquisa.

Assinatura participante: \_\_\_\_\_

#### Declaração de Responsabilidade dos Investigadores

Eu, \_\_\_\_\_, declaro ter explicado sobre a natureza deste estudo, assim como também me coloquei a disposição do(a) entrevistado(a) para esclarecer as suas dúvidas. O(A) entrevistado(a) compreendeu a explicação e deu seu consentimento. Entrevistador:

\_\_\_\_\_

### **ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de Participação da Criança**

**TERMO CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – BEBÊ****PESQUISA SOBRE IMPACTO DA DOENÇA MENTAL EM ADOLESCENTES GRÁVIDAS E AS REPERCUSSÕES NA SAÚDE DE SEUS FILHOS**

O Programa de Pós Graduação em Odontologia da UFPel e o Programa de Pós Graduação em Saúde e Comportamento da UCPel estão convidando seu/sua filho(a) a participar de uma pesquisa que tem como objetivo avaliar a influência da saúde mental dos pais adolescentes (através de fatores psicossociais, neuroquímicos e genéticos) no desenvolvimento psicomotor e na saúde bucal de seus filhos.

Se você aceitar que o seu/sua filho(a) faça parte deste estudo, você terá que responder a um questionário que será aplicado por entrevistadores treinados pelos pesquisadores. Além disso, faremos um exame clínico detalhado onde serão avaliados os dentes e a gengiva de seu/sua filho(a), assim como, será necessária a coleta de saliva dele(a) para análise posterior em laboratório. Os exames serão realizados com toda higiene e segurança através de materiais esterilizados ou descartáveis, conforme as normas da Organização Mundial da Saúde.

Os dados de seu/sua filho(a) fornecidos por você durante a aplicação dos questionários serão utilizados posteriormente para análise, produção científica e relatório (para a coordenação dos serviços de saúde), enquanto que os resultados dos exames odontológicos serão fornecidos à você de forma escrita. A equipe envolvida na pesquisa garante que a identidade de seu/sua filho(a) permanecerá em sigilo, tendo em vista a manutenção de privacidade dele(a).

É importante assinalar que esta pesquisa não apresenta nenhum risco, não causa dor alguma ao seu/sua filho(a), mas permitirá a identificação dos aspectos psicológicos e odontológicos envolvidos com o trabalho.

Além disso, se seu/sua filho(a) apresentar necessidade de tratamento odontológico será encaminhado à Faculdade de Odontologia, se assim desejar. Você é livre para recusar a participação de seu/sua filho(a) no estudo em qualquer momento de seu desenvolvimento e sem maiores prejuízos ou danos.

Em caso de dúvidas sobre o estudo, maiores informações poderão ser obtidas com os pesquisadores e coordenadores do projeto, através dos números (053) 32226690 (Odontologia) e (053) 21288404 (Saúde e Comportamento).

**Declaração do Ciente**

Eu, \_\_\_\_\_, declaro que após tomar conhecimento destas informações, autorizo a participação de \_\_\_\_\_ na presente pesquisa. Além disso, declaro ter recebido uma cópia deste consentimento e que uma cópia assinada por mim será mantida pela equipe da pesquisa.

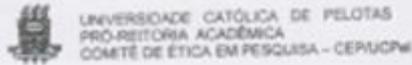
Assinatura do responsável pela criança: \_\_\_\_\_

**Declaração de Responsabilidade do Entrevistador**

Eu, \_\_\_\_\_, declaro ter explicado sobre a natureza deste estudo, assim como também me coloquei a disposição do(a) entrevistado(a) para esclarecer as suas dúvidas. O(A) entrevistado(a) compreendeu a explicação e deu consentimento para participação de seu/sua filho(a).

Entrevistador: \_\_\_\_\_

## ANEXO C - Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Católica de Pelotas



### RESULTADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Católica de Pelotas analisou o projeto:

**Número:** 2011/19

**Título do projeto:** *Saúde Mental em adolescentes no período gravídico-puerperal: impacto no desenvolvimento e na saúde bucal de crianças entre 24 e 36 meses de vida. Adendo ao projeto: Intervenção psicológica para prevenção de depressão gestacional e do pós-parto em adolescentes. Ensaio randomizado.*

**Investigador(a) principal:** Ricardo Tavares Pinheiro

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP da UCPel, em reunião datada de 18 de agosto de 2011, ata n.º 06.

A avaliação foi realizada pelos membros do comitê, baseada na análise minuciosa do projeto, apresentada por um dos membros.

Outrossim, informamos que é obrigatório a entrega do relatório de conclusão pela coordenação do referido projeto ao Comitê de Ética – CEP/UCPel, na Secretaria da Pró-Reitoria Acadêmica da Universidade Católica de Pelotas.

Pelotas, 19 de agosto de 2011

  
Prof. Dr. Ricardo Tavares Pinheiro  
Coordenador CEP/UCPel

**ANEXO D– Escala Bayle de Desenvolvimento para crianças e bebês (Bayley)**

*A Bayley Scale of Infant and Toddler Development (Bayley)* é um instrumento pago, de exposição privada, por tanto não pode ser anexado ao presente projeto.

## ANEXO E -Mini Plus (módulo independente para Fobia Social)

### G. FOBIA SOCIAL (Transtorno de Ansiedade Social)

( → SIGNIFICA: IR DIRETAMENTE AO(S) QUADRO(S) DIAGNÓSTICO(S), ASSINALAR NÃO EM CADA UM E PASSAR AO MÓDULO SEGUINTE)

G1	Durante o último mês, teve medo ou sentiu-se incomodado(a) por estar no centro das atenções, teve medo de ser humilhado(a) em algumas situações sociais, por exemplo: quando devia falar diante de um grupo de pessoas, ou comer com outras pessoas ou em locais públicos, ou escrever quando alguém estava olhando ?	→ NÃO	SIM	1
G2	Acha que esse medo é excessivo ou injustificado ?	→ NÃO	SIM	2
G3	Tem tanto medo dessas situações sociais que, na prática, as evita ou sente um intenso mal-estar quando as enfrenta ?	→ NÃO	SIM	3
G4	Esse medo causa-lhe um sofrimento importante ou perturba de forma significativa seu trabalho ou suas relações sociais?	NÃO	SIM	4

**FOBIA SOCIAL**  
(Transtorno de Ansiedade Social)  
**ATUAL**  
(p. 437)

**SUBTIPOS**

Você teme ou evita mais de 4 situações sociais ?

NÃO      SIM

SE SIM  Fobia Social (Transtorno de Ansiedade Social) Generalizada(o)  
SE NÃO  Fobia Social (Transtorno de Ansiedade Social) não generalizada(o)

**CRONOLOGIA**

G5	Que idade tinha quando, pela primeira vez, começou a temer as situações sociais de que falamos ?	<input type="text"/> Idade	5
G6	No último ano, durante quantos meses teve medo importante das as situações sociais de que falamos ?	<input type="text"/>	6