

Universidade Federal da Paraíba
Centro de Ciências Humanas, Letras e Artes
Pós-Graduação em Neurociência Cognitiva e Comportamento

Estácio Amaro da Silva Junior

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA E SEGURANÇA DO EXTRATO DE CANNABIS RICO EM
CANABIDIOL EM CRIANÇAS COM O TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA:**

“ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO E PLACEBO CONTROLADO”

JOÃO PESSOA – PB

2020

Estácio Amaro da Silva Junior

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA E SEGURANÇA DO EXTRATO DE CANNABIS RICO EM
CANABIDIOL EM CRIANÇAS COM O TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA:

“ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO E PLACEBO CONTROLADO”

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Neurociência Cognitiva e
Comportamento da Universidade Federal da
Paraíba, para obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Profa Dra Marine Raquel Diniz da Rosa

Co-orientadora: Profa Dra Katy Lísias Gondim Dias de Al-
buquerque

Linha de Pesquisa: Neurociência Cognitiva Pré-clínica e Clí-
nica

JOÃO PESSOA

Dezembro/2020

**Catálogo na publicação Seção de
Catálogo e Classificação**

S586a Silva Junior, Estácio Amaro.

Avaliação da eficácia e segurança do extrato de cannabis rico em canabidiol em crianças com o transtorno do espectro autista : ensaio clínico randomizado, duplo-cego e placebo controlado / Estácio Amaro Silva Junior. - João Pessoa, 2020.

149 f.

Orientação: Marine Raquel Diniz da Rosa. Coorientação: Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque. Tese (Doutorado) - UFPB/CCHLA.

1. Transtorno do Espectro Autista. 2. Comportamento infantil. 3. Ensaio clínico. 4. Cannabis. 5. Canabidiol. I. Rosa, Marine Raquel Diniz da. II. Albuquerque, Katy Lísias Gondim Dias de. III. Título.

UFPB/BC

CDU 616.896(043)

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA E SEGURANÇA DO EXTRATO DE CANNABIS RICO EM
CANABIDIOL EM CRIANÇAS COM O TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA: EN-
SAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO E PLACEBO CONTROLADO

Estácio Amaro da Silva Junior

FOLHA DE APROVAÇÃO DA TESE

Banca Examinadora

M. Rosa

Prof. (a) Dr. (a) Marine Raquel Diniz da Rosa (CPF 010.201.744-12)

Orientador(a)

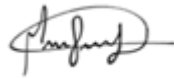
Universidade Federal Da Paraíba

Katy L.S. D. de Albuquerque

Prof. (a) Dr. (a) Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque (CPF 025.066.134-98)

Co-orientador(a)

Universidade Federal Da Paraíba



Prof. (a) Dr. (a) Mirian Graciela da Silva Stiebbe Sanvadori (CPF 945.332.610-00)

Membro Interno

Universidade Federal Da Paraíba



Prof. (a) Dr. (a) Reinaldo Nóbrega de Almeida (CPF 086.934.634-20)

Membro Externo

Universidade Federal Da Paraíba



Prof. (a) Dr. (a) Ricardo Henrique de Sousa Araújo (CPF 012.630.794-66)

Membro Externo

FAMENE



Dr. (a) Eliane Guerra Nunes (CPF 051.208.798-96)

Membro Externo

SBEC

Dedico à minha querida mãe que, além de cuidar de mim com tanto amor, ensinou-me valores que carrego sempre comigo, que esteve sempre presente, em todos os momentos da minha vida, e que nunca permitiu que eu deixasse de sonhar.

AGRADECIMENTOS

A trajetória acadêmica de um estudante de Medicina leva à necessidade de muitos anos de dedicação, no meu caso visando inicialmente tornar-me especialista em Psiquiatria e posteriormente poder, através do ensino, transmitir conhecimentos adquiridos. Não foram anos fáceis, porém o desejo de salvar vidas, de ajudar quem precisa de cuidados e de fazer por vocação me trouxeram uma grande realização pessoal. Agradeço a Deus por ter me guiado, desde o início do sonho, até a concretização do mesmo.

Muitos estiveram comigo em vários momentos da caminhada. No curso de Medicina, não poderia deixar de agradecer às grandes amigas de turma e da vida, Ana Laura e Aline Leitão, que sempre me apoiaram e me ajudaram a vencer os obstáculos, além da alegria pela companhia, durante seis anos. Duas pós-graduações *lato sensu* e duas pós-graduações *stricto sensu*, que me permitiram estar em extremos regionais do país: do Rio Grande do Norte ao Rio Grande do Sul, por onde fiz vários amigos, onde tive a oportunidade de aprender com muitos pacientes e com professores, portanto, não poderia deixar de agradecer a todos.

Meus pais estiveram sempre ao meu lado, inclusive em momentos assaz difíceis. Cada um com a sua característica. Meu pai, batalhador, ensinou-me a lutar incansavelmente, mesmo que algumas vezes não tenha sido possível compreendê-lo. Minha mãe. Ah! Minha mãe. O maior agradecimento teria que ser a Deus por ter me dado a melhor que eu poderia ter, a que eu escolheria, se pudesse, nesta e em todas as vidas. Exemplo de ser humano, admirada por tantos pela sensibilidade, amorosidade e genuinidade de uma mulher sábia. Infelizmente, eles não se encontram, neste plano, no momento, mas sei que estão orgulhosos, palavra sempre utilizada pela dona Zezé, por verem minhas conquistas sempre vinculadas à perseverança e à honestidade.

Meus irmãos queridos, André e Bruno, que fizeram parte da minha vida na infância, adolescência e vida adulta, deixando-a mais colorida. Precisei ausentar-me por alguns anos, em busca dos meus sonhos, e eles sempre firmes apoiando-me no cuidado do nosso lar e dos nossos pais. Alegrias e tristezas compartilhadas. Muitas vezes seguraram a minha mão, quando caí. Algumas vezes tolerando o intolerável. O nosso amor fraterno é inspirador e é, através dele, que continuo seguindo, superando dores e recarregando as energias.

Agradeço imensamente à minha orientadora Marine Rosa, que me permitiu chegar aqui, acreditando em mim, antes mesmo de me conhecer. À minha co-orientadora Katy Lísias, sempre tão presente e deveras eficiente, conhecíamos-nos e sempre tivemos uma identificação, desde tempos longínquos da UFPB, enquanto estudantes, até que veio a oportunidade de me orientar,

sempre com tanto cuidado, permitindo com que nos tornássemos muito mais que apenas orientadora/orientando, e sim queridos amigos. Não poderia também deixar de agradecer ao PPG-NeC e aos meus colegas da primeira turma de Doutorado em Neurociência Cognitiva e Comportamento da UFPB.

Meu menino, meu parceiro, meu amor, meu filho Yuri. Ele me fez uma pessoa muito melhor, ele me fez ver a vida de uma forma que não conseguiria ver sem a sua existência e sempre compreendeu as minhas ausências, trazendo-me abraços e beijos, quando eu chegava em casa ou quando me via ocupado com atividades acadêmicas, amenizando a fadiga física e mental. E, como me disseram, fui convidado a entrar no mundo cor-de-rosa, talvez fosse mais prudente chamar de colorido, vindo Alice. Minha princesinha, minha filha tão sonhada e que com meses de vida já pode me trazer tantas alegrias, quem sabe até apresentando-me o país das maravilhas, maravilhosamente. Disseram-me que viria uma criança para deixar as nossas vidas mais felizes e realmente o dito se tornou real.

Meus amigos e meus familiares. Não poderia deixar de agradecer a eles. São tantos, que não consigo contar nos dedos, portanto, impossível de citar seus nomes e até também de correr o risco de esquecer algum. Nossa amizade, cumplicidade e união espalhadas por vários cantos do Brasil, permitindo-me seguir, com mais leveza, a minha trajetória laboral e acadêmica. Suas presenças foram essenciais em várias e diferentes etapas. Porém, a uma amiga não poderia deixar de agradecer citando-a, em especial: Wandersônia, minha parceira e companheira do projeto, enriquecendo-o com suas contribuições, também, da Neuropsicologia, com sua sapiência, com seu carinho e com seus ouvidos muitas vezes emprestados. Não consigo nem imaginar como teria sido sem a sua presença, durante quase toda, ou mesmo toda, esta caminhada.

À ABRACE, que genuinamente forneceu os produtos, tanto os óleos da cannabis quanto os placebos, para que este ensaio clínico fosse possível de ser realizado. Muita gratidão!

Por fim, e não menos importante, agradeço carinhosamente à cada criança que contribuiu para que eu pudesse realizar esta pesquisa e a todos os pais e/ou cuidadores que permitiram que eles participassem da mesma, independentemente de saber a que grupo pertencia, e que sempre foram extremamente acessíveis e ativamente participativos. Não era só eu quem estava ali, éramos nós. Não era o meu sonho, era o nosso. Isso fez com que o caminho, em vez de árduo, tornar-se ainda mais belo.

“O que se opõe ao descuido e ao descaso é o cuidado. Cuidar é mais que um ato; é uma atitude. Portanto, abrange mais que um momento de atenção. Representa uma atitude de ocupação, preocupação, de responsabilização e de envolvimento afetivo com o outro”.

Leonardo Boff

Sumário

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	Transtorno do Espectro Autista	18
1.1.1	Quadro Clínico do TEA, segundo a 5ª Edição do Manual Diagnóstico e Estatístico dos Transtornos Mentais (DSM-5).....	21
1.1.2	Prejuízos na Interação Social.....	22
1.1.3	Prejuízos na Comunicação Social.....	23
1.1.4	Alterações do Comportamento.....	24
1.2	Desenvolvimento cognitivo da criança.....	24
1.3	Sistema endocanabinoide (SEC)	26
1.4	<i>Cannabis sativa</i>	27
1.5	Ação dos canabinoides no TEA.....	31
2	OBJETIVOS.....	32
2.1	Objetivo geral	32
2.2	Objetivos específicos	32
3	MÉTODO.....	33
3.1	Participantes.....	33
3.2	Instrumentos e Materiais	33
	Entrevista de anamnese	34
	Childhood Autism Rating Scale- CARS	34
	Autism Treatment Evaluation Checklist – ATEC.....	34
	Entrevista semiestruturada	35
	Produto à base de cannabis.....	35
3.3	Delineamento.....	35
3.4	Procedimentos	36
3.4.1	Recrutamento da amostra	36
3.4.2	Randomização da amostra.....	36
3.4.3	Aplicação do protocolo clínico	37
3.5	Análise de Dados	43
3.6	Aspectos éticos.....	43
4	RESULTADO	45
5	DISCUSSÃO	56
6	CONCLUSÃO	62
	Referências	63
	Anexos.....	80

Lista de Tabelas

Tabela 1: Análise dos exames laboratoriais realizados antes de iniciar a pesquisa

Tabela 2: Cronograma do início e término do ensaio clínico por grupo de crianças.

Tabela 3: Dados sociodemográficos dos pais das crianças com TEA.

Tabela 4: Dados sociodemográficos e informações sobre as crianças participantes da pesquisa.

Tabela 5: Avaliação de diferentes variáveis em crianças com TEA do Grupo Placebo e do Grupo Cannabis. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão.

Tabela 6: Análise da variância mista para dois fatores (software R versão 4.0.2).

Lista de Figuras

Figura 1: Esquema representativo do sistema endocanabinoide.

Figura 2: *Cannabis sativa* L.

Figura 3: Tricomas glandulares presentes nas flores da cannabis.

Figura 4: *Cannabis sativa*, estrutura típica de um canabinoide e os dois canabinoides majoritários (Δ^9 -THC e o canabidiol).

Figura 5: Fluxograma do desenvolvimento da pesquisa clínica.

Figura 6: Escolaridade das crianças participantes.

Figura 7: Tipos de tratamentos multidisciplinares realizados pelas crianças com TEA.

Figura 8: Diferentes formas de acesso aos tratamentos multidisciplinares.

Figura 9: Graus do Transtorno do Espectro Autista.

Figura 10: Distribuição dos graus do TEA dentro do grupo placebo e cannabis.

Figura 11: Uso de psicotrópicos pelas crianças com TEA, no decorrer da pesquisa.

Resumo

Objetivos: O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é um transtorno do neurodesenvolvimento caracterizado por déficits persistentes na comunicação social, interação social e padrões restritos e repetitivos de comportamento. Alguns estudos vêm demonstrando que substâncias derivadas da *Cannabis sativa* estão apresentando melhora na qualidade de vida de crianças com TEA, sem causar efeitos adversos graves, tornando-se uma alternativa terapêutica. Portanto, este ensaio clínico, randomizado, duplo-cego e placebo controlado visou avaliar a eficácia, segurança e tolerabilidade de um produto à base de cannabis, em crianças autistas. Método: 60 crianças com idades entre 5 e 12 anos incompletos foram divididas em dois grupos: grupo tratado, que recebeu o produto à base de cannabis contendo o canabidiol (CBD), e o grupo controle, que recebeu o placebo, ambos utilizaram o produto por um período de 12 semanas. Para avaliar a eficácia, foram utilizadas o ATEC e uma entrevista semiestruturada com os cuidadores antes e depois do uso do produto, assim como efeitos adversos e tolerabilidade foram avaliados, através de acompanhamento médico semanal, ao longo de toda a pesquisa. Resultados: Avaliaram-se os seguintes parâmetros: aspectos cognitivos e comportamentais, linguagem, sono e hábitos alimentares antes de iniciar o tratamento com placebo/cannabis e ao final do ensaio clínico, através da análise de variância mista de dois fatores (ANOVA two way). Encontram-se resultados significativos para interação social [F(1,116)=14,13, p=0,0002], ansiedade [F(1,116)=5,99, p=0,016], agitação psicomotora [F(1,116)=9,22, p=0,003], número de refeições por dia [F(1,116)= 4,11, p=0,04)] e concentração [F (1,48)= 6,75, p=0,01], sendo esta significativa apenas nos autistas de grau leve. Em relação à segurança, encontrou-se que apenas três crianças do grupo tratado (9,7%) apresentaram efeitos adversos, sendo eles tontura e insônia em uma criança, cólica em outra e ganho de peso em outro participante dos 31 que estavam no grupo cannabis. Conclusão: Verificou-se que o extrato de cannabis rico em CBD melhorou um dos critérios diagnósticos do TEA (interação social), assim como características muitas vezes coexistentes, além de poucos e não graves efeitos adversos.

Palavras-chave: Transtorno do Espectro Autista; comportamento infantil; ensaio clínico; cannabis; canabidiol.

Evaluation of the Efficacy and Safety of Cannabidiol-Rich Cannabis Extract in Children with
Autism Spectrum Disorder:

“Randomized, Double-Blind and Controlled Placebo Clinical Trial”

Abstract

Objectives: Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental disorder characterized by persistent deficits in social communication, social interaction and restricted and repetitive patterns of behavior. Some studies have shown that substances derived from *Cannabis sativa* are improving the quality of life of children with ASD, without causing serious adverse effects, making it a valid therapeutic alternative. Therefore, this randomized, double-blind, controlled placebo clinical trial aimed to evaluate the efficacy, safety and tolerability of a cannabis-based product, in autistic children. **Method:** 60 children aged between 5 and 12 years old were divided into two groups: treated group, which received the cannabis-based product containing cannabidiol (CBD), and the control group, which received the placebo, both used the product for a period of 12 weeks. To evaluate the efficacy, ATEC and a semi-structured interview with caregivers were used before and after using the product, as well as adverse effects and tolerability were assessed, through weekly medical monitoring, throughout the entire research. **Results:** The following parameters were evaluated: cognitive and behavioral aspects, language, sleep and eating habits before starting treatment with placebo/cannabis and at the end of the clinical trial, through the analysis of mixed variance of two factors (two way ANOVA). Significant results were found for social interaction [$F(1,116)=14.13, p=0.0002$], anxiety [$F(1,116)=5.99, p=0.016$], psychomotor agitation [$F(1,116)=9.22, n=0.003$], number of meals per day [$F(1,116)=4.11, n=0.04$] and concentration [$F(1,48)=6.75, p=0.01$], this being significant only in mild autistic individuals. Regarding safety, it was found that only three children in the treated group (9.7%) had adverse effects, being dizziness and insomnia in one child, colic in another and weight gain in another participant of the 31 who were in the cannabis group. **Conclusion:** It was found that CBD-rich cannabis extract improved one of the diagnostic criteria for ASD (social interaction), as well as often coexisting characteristics, in addition to few and not serious adverse effects.

Keywords: Autism Spectrum Disorder; Child Behavior; clinical trial; cannabis; cannabidiol.

1 INTRODUÇÃO

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é um transtorno do neurodesenvolvimento caracterizado por déficits persistentes na comunicação social e na interação social, em múltiplos contextos, além da presença de padrões restritos e repetitivos de comportamento, interesses ou atividades, conforme a 5ª versão do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5). O seu diagnóstico é clínico, isto é, é realizado por médico habilitado para tal, sendo geralmente psiquiatra infantil ou neuropediatra, de acordo com a anamnese e avaliação da criança, portanto, não existem exames, como laboratoriais e de imagem, que possam confirmá-lo. Podem ser utilizados especificadores: com ou sem comprometimento intelectual, com ou sem comprometimento da linguagem, associado a alguma condição médica ou genética conhecida ou a um fator ambiental (APA, 2014). Sugere-se que as influências genéticas sobre traços autísticos subclínicos se sobrepõem amplamente às do autismo diagnosticado, baseados na genética comportamental (Colvert et al., 2015) e nas abordagens genéticas moleculares (Massrali et al., 2018; Happe & Frith, 2020).

No Brasil, em 2010, cerca de 500 mil pessoas apresentavam autismo (Gomes et al., 2015). Existe uma substancial diferença de prevalência entre os gêneros, 1 em cada 42 para o gênero masculino e 1 para cada 189 para o gênero feminino, mas a causa ainda permanece desconhecida (Chakrabarti et al., 2015; de la Torre-Ubieta et al., 2016). A incidência em irmãos de crianças já diagnosticadas com TEA é significativa, relatadas em 18,7%, em um estudo prospectivo de acompanhamento, e variando de 15% a 25%, dependendo do gênero e da gravidade clínica (Ozonoff et al., 2011). Nos últimos anos, as estimativas da prevalência do autismo têm aumentado dramaticamente, chegando à prevalência de 1 para cada 58, em 2014, segundo o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), nos Estados Unidos, mais que duplicando o número de casos durante esse período (Zablotsky et al., 2015).

O TEA não apresenta cura, porém, muitas vezes há a necessidade de introduzir algum psicotrópico (antipsicóticos e estabilizadores de humor, principalmente) para controle de alterações comportamentais, como agitação psicomotora e auto e/ou heteroagressividade (agredir-se ou agredir alguém, respectivamente), que pode ou não ocorrer no indivíduo do espectro autista, ou seja, faz-se necessário tratamento sintomático, isto é, para o sintoma que ocorre juntamente com o TEA, e não para tratar algum dos critérios para seu diagnóstico, porém nem sempre há obtenção de resposta desejada com os medicamentos convencionais. Quando necessá-

rias, as classes mais usadas são: antipsicóticos típicos e atípicos; anticonvulsivantes (têm a função de controlar os comportamentos supracitados e também funcionam como estabilizadores do humor); psicoestimulantes (visando melhora da concentração e/ou da hiperatividade); o anti-hipertensivo clonidina para controle da hiperatividade; antidepressivos, como os inibidores da receptação da serotonina (ex.: fluoxetina), para tentar buscar a melhora dos sintomas e sinais obsessivo-compulsivos, dos transtornos de ansiedade, da depressão e das estereotípias. Porém, nem sempre há êxito com os fármacos convencionais, além de muitos deles estarem associadas a efeitos indesejados que podem ser bastante danosos ao organismo, sendo, portanto, de fundamental importância, investigar diferentes alternativas terapêuticas para melhorar os sintomas do TEA e que tragam menos efeitos adversos que os medicamentos usados hoje em dia. Além disso, comumente 1 em cada 3 casos de autismo pode desenvolver um quadro de epilepsia; assim como nos casos de epilepsia, pelo menos 32% são diagnosticados com autismo (Spence & Schneider, 2009). O controle da epilepsia é observado em 70% dos pacientes que utilizam o tratamento com anticonvulsivantes clássicos. Portanto, 30% dos pacientes são resistentes a essa terapia convencional, sendo considerados refratários, quando as crises convulsivas não são controladas, mesmo o paciente fazendo uso de, no mínimo, dois anticonvulsivantes (Kwan et al., 2010; Iannotti et al., 2014).

Com o intuito de ajudar pacientes acometidos por esse transtorno, existe um grande interesse na descoberta de novas alternativas terapêuticas para suprir a ineficácia de alguns fármacos convencionais, tentar reduzir a dose do psicotrópico ou mesmo suspendê-lo, assim reduzindo ou eliminando eventos indesejados graves associados a eles, principalmente a síndrome metabólica, cujos fatores de risco seriam: grande quantidade de gordura abdominal, baixo colesterol HDL, triglicerídeos elevados, hipertensão arterial sistêmica, glicose elevada, que podem levar a graves problemas, como doenças cardiovasculares e diabetes (Gomes, 2012).

Já é bem descrito, na literatura, que o sistema endocanabinoide (SEC), presente nos seres humanos, desempenha um papel fundamental em muitas doenças, demonstrando que a sua exploração farmacológica para o tratamento de distúrbios psiquiátricos, neurodegenerativos e neuroinflamatórios é de fundamental importância (Chakrabarti et al., 2015). Os endocanabinoides, substâncias que fazem parte do SEC, são moduladores chave de respostas socioemocionais, cognição, susceptibilidade a convulsões, nocicepção e plasticidade neuronal e todas essas respostas estão alteradas no autismo (Marco & Laviola, 2012; Trezza et al., 2012).

O SEC é um sistema que modula diferentes processos biológicos, incluindo desenvolvimento e funções cerebrais, sendo composto por receptores canabinoides que se localizam no sistema nervoso central e periférico, sendo classificados em dois tipos: CB1 e CB2, ambos

acoplados à proteína G (Bilkei-Gorzo, 2012). Estes receptores são ativados por endocanabinoides endógenos, dentre eles a Anandamida (AEA) e o 2-Araquidonil glicerol (2-AG), promovendo a diminuição da atividade da adenililciclase e conseqüentemente inibição da liberação de neurotransmissores, sejam excitatórios ou inibitórios, estando, portanto, envolvidos com a regulação da excitabilidade neuronal (Koppel et al., 2014). Variações no gene de receptores CB1 modulam a capacidade de recompensa social na área do prosencéfalo relacionada à recompensa (Chakrabarti et al., 2006), sugerindo que mudanças sutis na afinidade dos receptores CB1, devido a esse polimorfismo podem estar relacionadas aos déficits no processamento de recompensas sociais observadas no TEA. Além disso, também foram observadas alteração da atividade do SEC em modelos genéticos (Jung et al., 2012; Maccarrone et al., 2010; Puighermanal et al., 2013) e ambientais de animais com autismo e em pacientes autistas (Siniscalco et al., 2013).

Recentemente, os fitocanabinoides, principalmente o canabidiol (CBD) e o tetrahydrocannabinol (THC), presentes em várias subespécies do gênero *Cannabis*, têm sido bastante estudados como uma potencial alternativa terapêutica para o tratamento de sintomas associados ao TEA (adjuvante terapêutico), pois ativam os receptores canabinoides presentes no sistema nervoso central (SNC), melhorando alguns sintomas associados ao autismo (Chakrabarti et al., 2015).

É importante ressaltar que alguns ensaios clínicos com extratos de cannabis de diferentes linhagens, em crianças com TEA, estão apresentando resultados bastante promissores, conforme descrito por Kuester et al. (2017). Outro ponto relevante, que deve ser enfatizado, é que a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) reconhece o potencial terapêutico dessa planta, ao aprovar o registro de um medicamento à base de Cannabis sativa para esclerose múltipla, chamado Mevatyl® (composto por 27 mg/mL THC e 25 mg/mL de CBD), aprovado e comercializado em outros 28 países, incluindo Canadá, Estados Unidos, Alemanha, Dinamarca, Suécia, Suíça e Israel com o nome de Sativex® para o tratamento sintomático da espasticidade, moderada a grave, relacionada à esclerose múltipla e que, apesar de apresentar uma maior concentração de THC, estudos clínicos realizados com Mevatyl® relatam que a ocorrência de dependência com o seu uso é improvável, segundo Nota Técnica: nº01/2017/GMESP/GGMED/ANVISA (http://portal.anvisa.gov.br/noticias/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/rss?p_p_cacheability=cacheLevelFull, acessado em 16/01/2017). Esse medicamento começou a ser comercializado aqui, no Brasil, no ano de 2018, a um custo de R\$ R\$ 2.837,40 pela tabela SEMED.

O *National Institute for Health and Care Excellence* (NICE), pertencente à Inglaterra, publicou um *guideline*: “O transtorno do espectro do autismo em menores de 19 anos: suporte e gerenciamento”, de 2011 a 2013. Essa diretriz constitui uma excelente ponte entre a medicina baseada na evidência e a prática clínica e explica como usar as palavras para mostrar a força de suas recomendações e possui informações sobre a prescrição de medicamentos (incluindo uso *off label*), diretrizes profissionais, normas, leis e proteção. O comitê do *guideline* fez a seguinte recomendação para pesquisa, em relação à formação dos profissionais: o treinamento de profissionais para reconhecer sinais e sintomas de autismo leva a uma avaliação mais precoce das necessidades e a um diagnóstico conseqüentemente também mais precoce, assim como implicitamente reduz a morbidade e melhora dos desfechos da saúde entre crianças e jovens com suspeita de autismo, em comparação a quem não submetido a nenhum treinamento. Como a diretriz fala sobre o uso de medicamentos *off label*, isto é, aqueles remédios que não têm ainda indicação precisa para determinada patologia, porém que são utilizados e percebidos como eficazes pela experiência do médico que prescreve (NICE, 2011).

Existem pesquisas com o uso do CBD para algumas doenças médicas, como por exemplo, a epilepsia refratária, porém há poucos estudos em que se avaliam as influências sobre a cognição, a linguagem, o sono e o comportamento de crianças do espectro autista. Não existe nem um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e placebo controlado, desenho padrão-ouro na pesquisa clínica, que investigue a melhora dos sintomas do TEA com o uso do CBD isolado ou na forma de extrato, que tem grande relevância na investigação de uma nova possibilidade terapêutica à base de cannabis para aliviar os sintomas associados ao autismo.

Uma revisão sistemática sobre o uso da cannabis e canabinoides para o TEA foi realizada, em 2020, apresentando resultados promissores. Dos nove estudos incluídos, a maioria foi realizado com o uso do extrato de cannabis rico em CBD, correspondendo a cinco artigos; e a amostra foi composta por crianças e adolescentes, em quatro pesquisas. Em relação aos resultados encontrados, pode-se observar que alguns indivíduos apresentaram melhora em ataques de automutilação e raiva; hiperatividade; problemas de sono, ansiedade, inquietação, agitação psicomotora, irritabilidade, agressividade, sensibilidade sensorial, cognição, atenção, interação social, linguagem, perseverança e depressão (Silva Junior et al., 2021).

1.1 Transtorno do Espectro Autista

O DSM-5, em relação à versão anterior, trouxe um diferencial que foi a junção de dois critérios (comprometimento qualitativo da interação social e comprometimento qualitativo da comunicação) em um único “Deficiências persistentes na comunicação e interação social”, além da mudança da nomenclatura, pois, no DSM-IV-TR, era classificado como “Transtorno Global do Desenvolvimento” (APA, 2014).

A designação pelo termo "autismos" seria devido a uma heterogeneidade clínica e patogênica; e outro termo, que seria “espectro autista”, designado como um contínuo, e não uma distinção categórica entre “portadores” e “não portadores” de autismo (Chakrabarti et al., 2015; Persico & Napolioni, 2013). Sua etiologia é desconhecida, acreditando-se que seja multifatorial, englobando fatores neurobiológicos, ambiental e genéticos. Assim, pensar-se-iam em anomalias tanto em relação à anatomia quanto à fisiologia do SNC e alterações genéticas (constitucionais inatos e interação entre múltiplos genes) (Gomes et al., 2015).

O desenvolvimento neurológico alterado, durante o início da gravidez, pode representar uma das causas neuropatológicas do TEA (Amaral et al., 2008; Chakrabarti et al., 2015; Diccio-Bloom et al., 2006). Estudos pós-morte revelaram anormalidades neuroanatômicas e celulares no cerebelo, complexo olivar inferior, núcleos cerebelares profundos, hipocampo, amígdala, córtex entorrinal, giro fusiforme e córtex cingulado anterior e posterior, com mini colunas corticais mais finas, crescimento excessivo dos lobos frontais e densidade dendrítica excessiva da coluna vertebral. Essas anormalidades são sugestivas de alterações ocorridas, durante o primeiro ou segundo trimestre da gravidez, ou seja, redução da morte celular programada e/ou aumento da proliferação celular, alteração da migração celular, diferenciação celular anormal com redução do tamanho neuronal, germinação anormal de neurites e podas que resultam em fiação atípica de célula-célula (Blatt, 2012).

Além disso, os mecanismos de desenvolvimento neurológico que se estendem para a vida pré e pós-natal tardia incluem redução da formação de sinapses e mielinização retardada (Bauman & Kemper, 2005; Chakrabarti et al., 2015; Persico & Napolioni, 2013; Rice & Barone, 2000). Este resulta em uma fiação neuronal anormal, que anteriormente acreditava-se estar caracterizada por hipoconectividade de longo alcance e hiperconectividade local (Geschwind & Levitt, 2007). No entanto, recentemente, mostrou-se ser uma mistura altamente individualizada de hiper e hipoconectividade específica para cada paciente (Hahamy et al., 2015). Essas anormalidades foram associadas a déficits, em múltiplas tarefas comportamentais, que se relacionam com o comportamento social, como empatia, Teoria da Mente, atenção conjunta e proces-

samento de expressões faciais. Muitas dessas características comportamentais observadas sugerem um déficit no sistema de processamento de recompensas sociais no TEA (Jones et al., 2017).

Seu fenótipo neurocognitivo provém de uma matriz complexa e altamente heterogênea de causas genéticas e ambientais com pacientes que variam de casos "unicamente genéticos", devido a aberrações ou mutações cromossômicas causadas pelo TEA conhecidas e casos "unicamente ambientais", devido à exposição pré-natal rara a agentes virais específicos, drogas e toxinas (Chakrabarti et al., 2015; Geschwind, 2011; Persico & Merelli, 2014; Persico & Napolioni, 2013). Entre esses extremos, para a maioria dos casos, qualifica-se plenamente para a definição de um transtorno complexo, pelo qual uma série de variantes genéticas raras e comuns, muitas vezes, mas não obrigatoriamente um conjunto com fatores epigenéticos (Chakrabarti et al., 2015) que produzem as anormalidades do desenvolvimento neurológico descritas anteriormente, resultando em comportamentos autistas. Por fim, a neuroinflamação também é uma descoberta frequente em cérebros pós-morte de indivíduos autistas (Chakrabarti et al., 2015; Garbett et al., 2008; Vargas et al., 2005). Pode representar uma consequência inespecífica da poda neuronal insuficiente com uma fiação anormal de redes neurais, resultando em estresse oxidativo elevado (possivelmente uma característica comum compartilhada por vários distúrbios do desenvolvimento neurológico).

O diagnóstico é baseado na avaliação clínica, feita a partir da observação da criança, entrevistas com os pais e aplicação, se necessário, de instrumentos específicos, que serão descritos posteriormente. Os critérios utilizados para diagnosticar são descritos no DSM-5. O diagnóstico precoce é fundamental, já que se iniciam as intervenções multidisciplinares necessárias também precocemente, pensando-se em um melhor prognóstico do desenvolvimento das habilidades da criança, devido à plasticidade cerebral. Existem testes de rastreamento para o TEA, como, por exemplo, a Escala de Classificação de Autismo na Infância, Indicadores Clínicos de Risco para o Desenvolvimento Infantil, *Childhood Autism Rating Scale* (CARS) e *Modified Checklist for Autism in Toddlers* (M-CHAT). É comum a existência de condições coexistentes, incluindo deficiência intelectual (65%), convulsões (30%) e diferentes formas de problemas do sono (Fombonne, 2005); transtornos de ansiedade, transtornos obsessivo-compulsivos e depressão (Tarazi et al., 2015).

O DSM-5 adota também, como critérios especificadores, níveis de gravidade do TEA, que variam de acordo com a necessidade de apoio: leve (necessita de apoio), moderado (necessita de apoio substancial) e grave (necessita de apoio muito substancial) (APA, 2014).

1.1.1 Quadro Clínico do TEA, segundo a 5ª Edição do Manual Diagnóstico e Estatístico dos Transtornos Mentais (DSM-5)

A) Deficiências persistentes na comunicação e interação social:

1. Limitação na reciprocidade social e emocional;
2. Limitação nos comportamentos de comunicação não verbal utilizados para interação social;
3. Limitação em iniciar, manter e entender relacionamentos, variando de dificuldades com adaptação de comportamento para se ajustar as diversas situações sociais.

B) Padrões restritos e repetitivos de comportamento, interesses ou atividades manifestadas, pelo menos, por dois dos seguintes aspectos observados ou pela história clínica:

1. Movimentos repetitivos e estereotipados no uso de objetos ou fala;
2. Insistência nas mesmas coisas, aderência inflexível às rotinas ou padrões ritualísticos de comportamentos verbais e não verbais;
3. Interesses restritos que são anormais na intensidade e foco;
4. Hiper ou hiporreativo a estímulos sensoriais do ambiente.

C. Os sintomas devem estar presentes precocemente, no período de desenvolvimento.

D. Os sintomas causam prejuízo clinicamente significativo no funcionamento social, profissional ou em outras áreas importantes de funcionamento do indivíduo.

E. Essas perturbações não são mais bem explicadas por deficiência intelectual ou por atraso global do desenvolvimento.

1.1.2 Prejuízos na Interação Social

O aparecimento da linguagem, seja verbal ou mesmo não verbal, é um marco desenvolvimental cognitivo e social da infância, posto que a intenção de falar com os outros é fundamental para o desenvolvimento da interação entre indivíduos, portanto, as relações entre linguagem (antes e durante o processo linguístico) e interação social nunca podem estar dissociadas, e o interlocutor ou facilitador apresenta papel importante.

Os problemas decorrentes das dificuldades nas relações interpessoais se manifestam de várias maneiras, tendo, como exemplo, o prejuízo no uso de comportamentos não verbais que dizem respeito à comunicação interpessoal. Dentre esses comportamentos, pode-se citar a ausência ou o grande prejuízo no contato visual direto. Este sinal pode estar presente desde muito cedo, a ponto de algumas mães afirmarem que seus bebês nunca olharam nos seus olhos. Alguns pacientes mantêm esta dificuldade, durante toda a sua vida. Em outros pacientes, não há uma total evitação do olhar direto, mas o contato visual é muito pobre e fugaz. Há descrição também de que o olhar direto está presente, mas de forma exagerada (o paciente fixa intensamente o olhar no interlocutor, com uma intensidade que chega a chamar a atenção) (Bourzac, 2012).

Indivíduos com TEA têm problemas também com a expressão facial. Possuem pobres expressões faciais e não conseguem compreender as expressões faciais dos outros, o que pode comprometer muito a sua possibilidade de entender uma parte significativa da comunicação que se processa entre as pessoas e conseqüentemente de interagir. Os gestos também estão prejudicados, nestes pacientes, o que compromete mais ainda suas limitadas capacidades comunicativas e interativas (Gadia et al., 2004).

Os pacientes apresentam grande dificuldade ou mesmo incapacidade de fazer e manter amigos. Alguns parecem não querer e não se importar com este fato. Já indivíduos menos comprometidos incomodam-se bastante com o fato e chegam a solicitar orientação de como conseguir amigos, namorado(a), etc. Autistas leves percebem melhor suas dificuldades e se dão conta de que não conseguem se apropriar das regras sociais que estão em jogo no convívio social. As pessoas com TEA demonstram grande dificuldade em compartilhar prazeres e desconfortos, razão pela qual em momentos de sofrimento o indivíduo pode isolar-se mais e se recusar a receber afago. Da mesma forma, frente a algo que lhes dá muito prazer, não conseguem partilhar com os outros (APA, 2014).

1.1.3 Prejuízos na Comunicação Social

As habilidades relacionadas com a comunicação sempre estarão comprometidas sendo que, neste domínio, o grau de comprometimento é extremamente variável. Em grande número de crianças afetadas, a ausência da fala ou o atraso na mesma serão as manifestações que primeiramente chamarão a atenção para a presença de algum transtorno do neurodesenvolvimento. Em casos de maior gravidade, há completa ausência da fala, em geral, não compensada por formas alternativas de comunicação. Nos indivíduos que apresentam fala, há evidentes dificuldades para iniciar e manter uma conversa. A fala pode ser repetitiva e estereotipada (Bourzac, 2012).

A forma de falar também se mostra atípica no ritmo, acentuação e inflexão. Alguns indivíduos terminam todas as frases com uma inflexão interrogativa. Outros, pela alteração da prosódia da língua, dão a impressão de falarem com um sotaque estrangeiro ou falam de forma monótona e sem inflexão. Nos pacientes com bom rendimento intelectual e preservação da fala expressiva, a linguagem verbal é enfática, com o uso de palavras e construções não esperadas para uma criança daquela idade. Da mesma forma que a fala expressiva, a compreensão também está bastante alterada sendo muito evidente a compreensão literal da fala do outro. Não conseguem contextualizar o discurso, o que dificulta ou impede a compreensão de certas ambiguidades que fazem parte de nossa fala habitual. Expressões como “chover canivetes”, “estou me lixando com isto”, “afinal, todos temos que engolir sapos” podem ser extremamente confusas para estes indivíduos por serem concretos (Tamanaha et al., 2014).

A fala dos indivíduos autistas apresenta-se muitas vezes como ecológica, concreta, sem entonação adequada da voz, com inversão pronominal (não se referir na 1ª pessoa do singular, e sim na 2ª ou 3ª pessoas do singular), assim como com desenvolvimento semântico prejudicado. No meio de uma frase, pode surgir parte de um anúncio ouvido na televisão ou a simples repetição de frases inteiras ou de palavras isoladas, fora do contexto daquele momento. Há a tendência para a repetição de frases ou palavras ouvidas na forma de ecolalias imediatas ou tardias. As ecolalias podem surgir de forma estereotipada, porém contextualizada e com nítida intenção comunicativa. Podem ocorrer ausência total ou imaturidade de fala, como jargões, prosódia anormal, monotonia, dificuldade de iniciar ou manter um diálogo, falhas simbólicas, dificuldade de compreender piadas ou sarcasmos, bem como problemas para interpretação de expressões faciais e gestuais (Gadia et al., 2004; Perissinoto & Perissinoto, 2003).

1.1.4 Alterações do Comportamento

Estes pacientes demonstram um forte apego às rotinas e tentam fazer da sua vida e da vida dos familiares algo padronizado e repetitivo. São capazes de pedir comida não por sentirem fome, mas porque “está na hora do almoço”. Este apego à rotina pode fazer com que uma simples mudança de itinerário, uma tentativa de troca de roupas ou a colocação de um determinado objeto fora do local habitual, desencadeie verdadeiras crises catastróficas no comportamento que possam resultar em agressões e, não sendo compreendidos pelos familiares, criam uma situação assaz difícil (APA, 2014).

Podem apresentar interesse extremo em determinados assuntos, dedicando-se de modo total, quase que exclusivo. Portanto, dedicar-se ao estudo de determinados assuntos, colecionar determinados objetos, de tal modo que passam a ser especialistas, nestas áreas. O foco restrito de interesses, aliado à excelente memória visual que costumam apresentar, faz com que sejam considerados, por vezes, como indivíduos superdotados. As suas dificuldades em se relacionarem e a peculiaridade na forma de se comunicar são vistas, erroneamente, como próprias das pessoas com superdotação.

Outro aspecto importante a se observar é o interesse por partes de um objeto, e não pelo objeto como um todo. Podem ficar brincando horas com uma das rodas de um carrinho, sem brincar com o carro, como seria de se esperar, usando a função simbólica do brinquedo. Podem ficar imersos em movimentos corporais repetitivos, tais como ficar girando, abanando as mãos (*flapping*), dando pulos, balanceando-se, andando nas pontas dos pés, ficar passando as mãos com os dedos entreabertos na frente dos olhos, etc. (APA, 2014).

Uma característica marcante no comportamento é a grande incongruência que apresentam em quase todas as suas atividades e ações. Em um momento não respondem aos estímulos auditivos, podendo parecer surdos, para, logo depois, reagirem de forma desproporcional a um pequeno ruído. Podem sofrer uma queda e não reagirem à dor para, logo após, chorarem quando alguém toca delicadamente em alguma parte de seu corpo.

1.2 Desenvolvimento cognitivo da criança

Estudiosos de diversas áreas, como Neurociência, Biologia, Genética, Ciências Sociais e Comportamentais, têm-se debruçado a estudar como estes fatores interagem entre si e chegaram à conclusão de que a programação genética é a base para o desenvolvimento do ser humano.

Concluíram também que o cérebro é influenciado pelas experiências vividas, nos primeiros anos de vida (Eickmann et al., 2016).

No período intrauterino e na primeira infância, há maior plasticidade neural cerebral. Entre a concepção e o primeiro ano de vida do bebê, o cérebro se desenvolve substancialmente. Os pesquisadores já chegaram à conclusão da importância dos estímulos e das experiências vivenciadas antes dos três anos de idade, influenciando no desenvolvimento do circuito cerebral (Bartoszeck & Bartoszeck, 2009; Eickmann et al., 2016).

O desenvolvimento cognitivo global ocorre quando há integração de diversas funções: sensação, percepção, motricidade, linguagem, funções intelectuais e emocionais. Para cada uma, existe um período específico de maturidade cerebral chamado de “período crítico”. O progresso de tais dimensões ou processos depende também das etapas críticas da maturação do cérebro do indivíduo. Deve-se, portanto, garantir relacionamentos saudáveis, que proporcionem a estimulação adequada e que levem a experiências de aquisição, para que se obtenham melhores aprendizagens, comportamento e saúde física e mental da criança (Costa, 2013).

Segundo Bartoszeck e Bartoszeck (2009), as cores, o movimento, os sons e a afetividade são estímulos sensoriais básicos na primeira infância.

Fazendo a correspondência entre as funções e a faixa ótima de desenvolvimento, que foi reformulada por Doherty (1997), podemos encontrar:

- 1- Visão: zero a seis anos
- 2- Controle emocional: nove meses a seis anos
- 3- Formas comuns de reação: seis meses a seis anos
- 4- Símbolos: 18 meses a seis anos
- 5- Linguagem: nove meses a oito anos
- 6- Habilidades sociais: quatro a oito anos
- 7- Quantidades relativas: cinco a oito anos
- 8- Música: quatro a 11 anos
- 9- Segundo idioma: 18 meses a 11 anos

Sistema endocanabinoide

É composto por dois receptores canabinoides, pelos endocanabinoides e pelas enzimas responsáveis por sua síntese e metabolização (Kendall & Yudowski, 2017; Mackie, 2008; Maroso et al., 2016; Saito et al., 2010) (Figura 1).

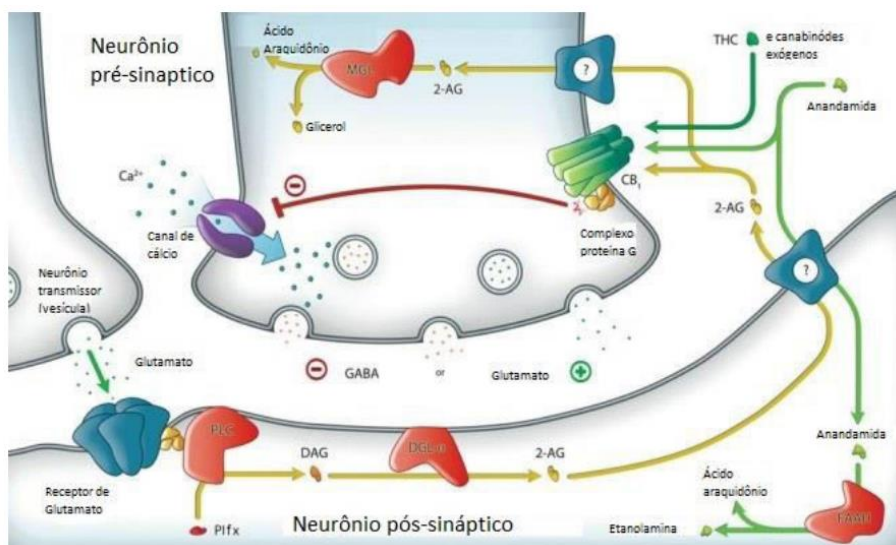
Os endocanabinoides, ligantes endógenos dos receptores canabinoides, são captados por células neuronais, através de transportadores, e metabolizados rapidamente, sendo velozmente hidrolisados pelas enzimas fosfolipase N-acilfosfatidiletalona-seletiva (FAAH) e lipase sn-1-diacilglicerol seletiva (Di Marzo & Matias, 2005). Os receptores foram assim denominados (CB1 e CB2), de acordo com a sua ordem de aparecimento, nomeados pela *International Union of Basic and Clinical Pharmacology* (IUPHAR). Os principais endocanabinoides, AEA e 2-AG, diferente de outros neurotransmissores, não são armazenados em vesículas, e sim produzidos sob demanda, em resposta a um aumento de cálcio dentro da célula. O primeiro descoberto foi a AEA e, em seguida, foram mencionados outros, 2-AG, a virodamina, a N-araquidonildopamina e o 2-araquidonilgliceril éter (Koppel et al., 2014; Pope et al., 2010; Saito et al., 2010).

Os receptores canabinoides pertencem à superfamília dos receptores de membrana-ligados-a-proteína G (*G-Protein-Coupled-Receptor* - GPCR). A ativação deles inibe a adenilato-ciclase com consequente fechamento dos canais de cálcio, abertura dos canais de potássio e estimulação de proteínas quinases. Os CB1 estão localizados no córtex, hipocampo, gânglios da base, hipotálamo, cerebelo, medula espinhal, gânglios da medula dorsal, sistema nervoso entérico, adipócitos, células endoteliais, hepatócitos, músculo, trato gastrointestinal; já os CB2, no sistema imunológico: células T, células B, baço, amígdalas e células microgliais ativadas. Os principais agonistas endógenos dos receptores canabinoides, AEA e o 2-AG, são derivados de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, principalmente do ácido aracdônico, sendo produzidos após alterações agudas ou crônicas da homeostase celular (Di Marzo & Matias, 2005; Godoy-Matos et al., 2006).

A função principal do sistema endocanabinoide, presente nos mamíferos, é de proteção. Os endocanabinoides influenciam os processos de cognição, saciedade, percepção, termorregulação, além de funções motora e imune. Chakrabarti et al. (2015) formularam a hipótese de que alterações no sistema endocanabinoide poderiam estar relacionadas com o autismo, enquanto fenótipo, já que o sistema endocanabinoide atua sobre interação social, reação comportamental, respostas emocionais e humor.

Figura 1

Esquema representativo do sistema endocanabinoide



Nota. Retirado de Matos et al., 2010.

Cannabis sativa

A *Cannabis* pertence à família Cannabaceae e sua classificação botânica foi feita, pela primeira vez, em 1753, pelo Botânico Carolus Linnaeus, que designa que possui apenas uma única espécie reconhecida (*Cannabis sativa* L.). Outras espécies relacionadas para o gênero (*C. sativa* spp. *sativa*, *C. sativas* pp. *indica*, *C. sativa* spp. *ruderalis*, *C. sativa* spp. *spontanea*, *C. sativa* spp. *kafiristanca*) atualmente são reconhecidas como subespécie da *Cannabis sativa* L. (Figura 2). Devido à dificuldade de distinguir a subespécie de cannabis, quer em termos químicos ou morfológicos, dado que a cannabis apresenta mudanças contínuas de acordo com o ambiente e condições em que foi plantada, a designação *Cannabis sativa* é considerada adequada para todas as plantas do gênero. As seguintes subespécies, *Cannabis sativa* L. spp. *sativa* e *Cannabis sativa* L. spp. *indica* diferem na sua forma e na quantidade de canabinóides presentes, assim como também a subespécie *Cannabis sativa* L. spp. *ruderalis*, que é uma planta proveniente do cruzamento de espécies diferentes. Cannabis é uma planta anual, dicotiledónea, angiosperma, geralmente dioico, com flores macho e fêmea, em plantas separadas, mas também pode ser monoico, compreendendo flores de ambos os sexos, em uma única planta (Curran, Wiffen,

Nutt, & Scholten, 2016). Cannabis tem mais de 500 produtos químicos identificados e cerca de 100 deles são classificados como fitocanabinoides (Aizpurua-Olaizola et al., 2016; Borille et al., 2017; De Backer et al., 2012).

Figura 2
Cannabis sativa L.



Nota. Retirado de <https://cienciaetecnologias.com/uso-cronico-maconha-sistema-recompensa-cerebro>, acessado em 05/05/2018.

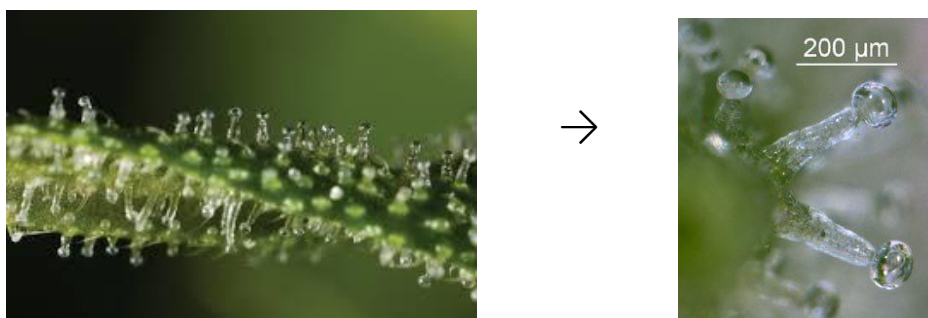
A *Cannabis sativa* vem sendo usada para fins medicinais, há milhares de anos, por diferentes povos e em diversas culturas, havendo indicações do uso da planta, na China, para tratamento de inúmeras condições médicas como epilepsia, tuberculose, malária, constipação intestinal, dor, expectoração, entre outras (Adams et al., 1940; Zuardi, 2006). Entretanto, no século XX, seu uso se tornou proibido, constando na lista de plantas proibidas pela Convenção Única de Entorpecentes da Organização das Nações Unidas (ONU), mas seu uso para fins medicinais e científicos estava previsto nessa convenção da ONU e encontra respaldo jurídico, em nosso país, na Lei de drogas 11.343 de 23 de agosto de 2006.

Essa planta apresenta vários constituintes químicos ativos, dentre eles, os fitocanabinoides e os terpenos. Esses metabólitos secundários são sintetizados pela cannabis em células secretórias chamadas de tricomas glandulares, que estão presentes em maiores concentrações nas flores fêmeas não fertilizadas, antes da senescência (Figura 3). Assim como os fitocanabinoides,

os terpenos também possuem propriedades terapêuticas muito relevantes, e esses dois metabólitos secundários associados, através do efeito comitiva típico dos fitoterápicos, podem produzir uma sinergia em relação ao tratamento da dor, processos inflamatórios, depressão, ansiedade, epilepsia, câncer, infecções fúngicas e bacterianas (Russo, 2011).

Figura 3

Tricomas glandulares presentes nas flores da cannabis

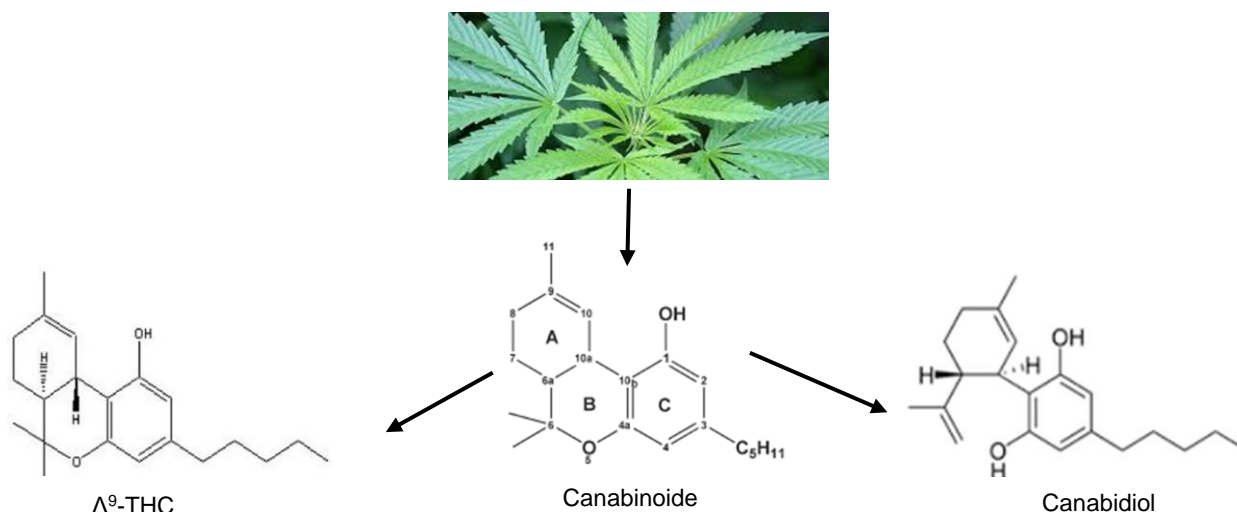


Nota. https://www.google.com/search?q=tricomas+glandulares+da+cannabis&tbm=isch&source=iu&ictx=1&fir=Nv358w2qqzVokM%253A%252CKBua8rLmDMO7M%252C_&usg=__lgTl2XRO4lzu92UyvRVPu066VGk%3D&sa=X&ved=0ahUKEwiKnvGh7-_aA-hUCg5AKHW88CcoQ9QEINzAC#imgrc=kRfcjew_AxWjsM, acessado em 05/05/2018.

O termo canabinoides, compostos terpenofenólicos, foi atribuído ao grupo de compostos com 21 átomos de carbono presentes em várias subespécies do gênero *Cannabis*, além dos respectivos ácidos carboxílicos e possíveis produtos de transformação (Honório et al., 2006). O canabinoide majoritário encontrado na *Cannabis sativa* é o Δ^9 -THC, isolado do substrato da resina e da flor, é responsável pelo efeito alucinógeno e psicoativo dessa planta, seguido do CBD, canabinoide isento desta atividade psicoativa e que apresenta várias propriedades farmacológicas, dentre elas, ação anticonvulsivante (Cunha et al., 1980), efeito neuroprotetor (Hampson, Grimaldi, & Axelroad, 1998), ansiolítico e antipsicótico (Zuardi, 2006). A estrutura típica de um canabinoide, do Δ^9 -THC e do CBD está representada na Figura 4.

Figura 4

Cannabis sativa, estrutura típica de um canabinoide e os dois canabinoides majoritários (Δ^9 -THC e o canabidiol)



Nota. Retirado de Honório et.al., 2006.

Os canabinoides representam uma alternativa terapêutica potencial para algumas doenças já bem descritas e estudadas, como a epilepsia refratária. O primeiro estudo em animais, em 1991, investigou uma possível ação antipsicótica, comparando os efeitos do CBD aos do haloperidol, que é um antipsicótico típico ou de 1ª geração. Observou-se que tanto o CBD (utilizado na dose de 15 a 60mg/kg) como o haloperidol (usado na dose de 0,25 a 0,5mg/kg) diminuíram, de forma dose-dependente, comportamentos estereotipados induzidos pela apomorfina (Crippa et al., 1991).

Modelos experimentais de transtornos mentais, em humanos, podem fornecer indicações importantes de efeitos terapêuticos de drogas, precedendo os ensaios clínicos com pacientes. Um dos modelos utilizados para avaliar um possível efeito antipsicótico do CBD foi o da inversão da percepção de profundidade binocular. Neste modelo, o CBD diminuiu o prejuízo no relato de imagens ilusórias produzido pela nabilona, um canabinoide sintético análogo ao Δ^9 -THC, sugerindo, em esquizofrênicos, um efeito semelhante ao dos antipsicóticos (Crippa et al., 2010; Leweke et al., 2000).

Um estudo com Ressonância Nuclear Magnética funcional (RNMf), conduzido em conjunto com o desafio farmacológico entre CBD e Δ^9 -THC, confirmou a ideia do potencial antipsicótico do CBD. Os autores verificaram que o Δ^9 -THC e o CBD apresentaram efeitos opostos na ativação de diversas áreas cerebrais, usando diferentes tarefas. Posteriormente, realizou-se

um segundo experimento, que demonstrou que o pré-tratamento com o CBD foi capaz de prevenir sintomas psicóticos induzidos agudamente pelo $\Delta 9$ -THC (Bhattacharyya et al., 2010).

Ação dos canabinoides no TEA

Em um estudo de caso realizado por Kurtz e Blaas (2010), observou-se diminuição dos escores do *Autism Behavior Checklist* (ABC) nos itens de hiperatividade, letargia, comportamento estereotipado e alteração de linguagem, após o período de administração de $\Delta 9$ -THC, durante seis meses, em uma criança do gênero masculino com seis anos de idade, que não fazia uso de nenhum fármaco.

Como o sistema endocanabinoide já tinha sido relacionado ao comportamento social em ratos, Bou Khalil (2012) sugeriu que a administração de canabinoides deveria ser realizada para crianças e adolescentes com TEA, através de um estudo ético e controlado, visando que o CBD e o THC poderiam ajudar a melhorar os sintomas de crianças com o TEA.

Em um estudo realizado, em 2017, indivíduos autistas foram tratados com extrato de cannabis sublingual, durante três meses. Resultados preliminares mostraram que a maioria dos participantes (67,7%) apresentou evolução, ao menos, em um dos sintomas do TEA (interação social, comunicação social e comportamentos repetitivos) e, além da eficácia em sintomas nucleares, também mostrou ser eficaz em sintomas coexistentes, como dificuldades sensoriais, problemas alimentares e distúrbios do sono. Dois indivíduos apresentaram, como efeito adverso, agitação psicomotora e irritabilidade, porém, após ajuste da dose, houve normalização dos efeitos (Kuester et al., 2017).

Para Anderson et al. (2017), mesmo que a cannabis esteja tornando-se um tópico de grande interesse entre os cientistas, ainda é difícil encontrar testes clínicos com seres humanos, devido aos aspectos restritivos e legais que cercam a planta. Estudos que utilizaram cannabis para o tratamento de epilepsia de difícil controle encontraram que, além da redução das crises, houve melhora no comportamento e interação social em crianças que possuíam, como comorbidade, o TEA (Gu, 2017).

Em um outro estudo interessante realizado por Aran et al. (2019), em Israel, foi observado que crianças com TEA apresentavam níveis séricos baixos de alguns endocanabinoides, dentre eles, AEA, N-palmitoiletanolamina e N-oleoiletanolamina, quando comparados a crianças com desenvolvimento típico.

Diante do exposto, a proposta da presente pesquisa é avaliar a eficácia do extrato de cannabis rico em CBD em crianças com TEA, monitorando aspectos pertencentes aos critérios diagnósticos (interação social, fala e estereotípias) e outros muitas vezes coexistentes (agressividade, agitação psicomotora, prejuízo da concentração, alterações da alimentação, distúrbios do sono e ansiedade), além de avaliar a tolerabilidade e segurança do adjuvante terapêutico.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar a eficácia e segurança do extrato de cannabis rico em canabidiol, em crianças com TEA.

Objetivos específicos

- Analisar o efeito do extrato de cannabis rico em CBD sobre a cognição, comportamento e linguagem da criança com TEA, através de instrumentos validados no Brasil e reconhecidos internacionalmente;
- Avaliar clinicamente, com ajuda de uma entrevista semiestruturada, a interação social, linguagem verbal, estereotípias, agressividade, agitação psicomotora, concentração, ansiedade, e comparar com a percepção dos pais/cuidadores sobre esses sintomas, antes e após tratamento com placebo ou extrato de cannabis rico em CBD;
- Investigar o efeito do extrato de cannabis rico em CBD sobre a qualidade do sono da criança;
- Verificar se o uso do extrato de cannabis rico em CBD melhora os hábitos alimentares da criança;
- Avaliar alguns exames laboratoriais das crianças com TEA antes e após o tratamento com o extrato rico em CBD ou placebo.

MÉTODO

Participantes

Um cálculo amostral, *a priori*, feito através do software G Power para o teste de hipóteses Teste t para grupos independentes, assumindo tamanho de efeito de 0,73, baseado nos resultados da diferença em teste de raciocínio e flexibilidade cognitiva em crianças autistas que fizeram uso de Donepezil (Handen et al., 2011). Nele foram considerados o alfa de 0,05 e poder de 0,80. O cálculo mostrou que seriam necessários 62 sujeitos (31 por grupo). De acordo com os custos do produto a ser pesquisado e do placebo com as mesmas características, necessitando, em média, de 3 frascos por criança e possível perda amostral, a amostra selecionada foi de 64 crianças do espectro autista, de ambos os gêneros, procedentes dos Estados da Paraíba, do Rio Grande do Norte e de Pernambuco.

Foram incluídas, nesta pesquisa, crianças de 5 a 12 anos incompletos (até a data da inscrição, através de sítio eletrônico aberto ao público) que residiam na Paraíba e em Estados circunvizinhos e que apresentavam o diagnóstico de TEA, independentemente de possuir nível de comprometimento leve, moderado ou grave, cujos responsáveis assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO A). Foram excluídas as crianças que apresentassem comorbidades, tais como, diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica, doenças autoimunes, epilepsia refratária e que tivessem feito uso de algum produto à base de cannabis, nos últimos dois meses antes de iniciar a pesquisa.

Instrumentos e Materiais

Na triagem para participação do ensaio clínico, foi respondida pelos pais e/ou cuidadores, no *site* criado para o recrutamento da amostra, a escala CARS, também foi solicitado para que profissionais que trabalhassem diretamente com a criança e um parente próximo respondessem a esse instrumento, obtendo assim, informações acerca da criança, em mais de um ambiente. Esses dados foram coletados antes de iniciar o ensaio clínico e ao final do mesmo. Para avaliação da eficácia do tratamento foi utilizada a entrevista semiestruturada elaborada pelos pesquisadores, além do relato dos responsáveis sobre a percepção ou não de evolução dos sintomas investigados. A avaliação do sono foi feita através de perguntas direcionadas aos pais (diário do sono) e constantes no questionário semiestruturado que foi respondido pelos pais, durante o desenvolvimento dessa pesquisa.

Entrevista de anamnese - Série de perguntas sobre o histórico da gestação, parto, desenvolvimento neuropsicomotor, aquisição da linguagem, saúde geral, análise de exames realizados, como e quando surgiram os primeiros sintomas do TEA, rotina diária, antecedentes familiares, etc. Para realização dessa entrevista, foi desenvolvido um roteiro padrão pelo psiquiatra.

Childhood Autism Rating Scale- CARS (Schopler et al., 1988) – É preenchida pelos pais/cuidadores, professor da criança e pelo avaliador. A escala auxilia no diagnóstico do autismo e possui capacidade de diferenciar o grau de comprometimento dos sintomas. Pode ser aplicada em crianças acima de dois anos de idade. Possui 15 itens que rastreiam 14 domínios do comportamento normalmente alterados no TEA: 1) interação; 2) imitação; 3) resposta emocional; 4) uso do corpo; 5) uso de objetos; 6) adaptação à mudança; 7) reação a estímulos visuais e 8) auditivos; 9) a resposta e uso da gustação, olfato e tato; 10) medo ou nervosismo; 11) comunicação verbal; 12) comunicação não verbal; 13) nível de atividade; 14) nível e a coerência da resposta intelectual. O último item refere-se à análise de impressões gerais. Em cada domínio, o respondente marca o item que melhor se assemelha ao comportamento da criança. Os itens variam de 1 (dentro dos limites da normalidade) a 4 (sintomas autistas graves). De acordo com o manual da CARS, o autismo é caracterizado por um resultado a partir de 30 pontos, em uma escala que varia de 15 a 60 pontos, sendo que o intervalo entre 30 e 36 é definido como característico de autismo leve/moderado. O que se apresenta entre 37-60 pontos é definido como autismo grave. Esta escala foi traduzida e validada para o português, no Brasil, por Pereira et al., em 2008.

Autism Treatment Evaluation Checklist – ATEC (Rimland & Edelson, 1999). É uma das ferramentas de avaliação mais utilizadas para o autismo. A lista de verificação é projetada para avaliar a eficácia dos tratamentos, bem como para monitorar como um indivíduo progride ao longo do tempo. O ATEC é usado por pais e pesquisadores, bem como por escolas, clínicas médicas e comportamentais e companhias de seguros. Mais de meio milhão de ATEC foram concluídos, nas últimas duas décadas. O ATEC contém um total de 77 questões classificadas em quatro subescalas: Fala / Linguagem / Comunicação, Sociabilidade, Sensibilidade Sensorial / Cognitiva e Física / Saúde / Comportamento.

Entrevista semiestruturada - Foi elaborado um roteiro de entrevista semiestruturado pelos próprios pesquisadores, baseado nos desfechos primários e secundários dessa pesquisa, nos objetivos específicos e no DSM-5. Esse roteiro foi preenchido pelos pais ou responsáveis, com o objetivo de coletar os dados sociodemográficos, incluindo: gênero, idade, nível de escolaridade, naturalidade, procedência, estado civil dos pais, ocupação, renda familiar, ocupação dos pais, quantidade de filhos, presença de outro filho com autismo ou alguma necessidade especial e os dados necessários para controle das variáveis. Esse roteiro avaliou também, através da percepção dos pais/cuidadores e olhar do pesquisador, a evolução dos sintomas cognitivos e comportamentais da criança. Eles preenchem esse roteiro semiestruturado, com auxílio do psiquiatra, antes de iniciar o tratamento e após as 12 semanas (ANEXO B).

Produto à base de cannabis

O produto utilizado, nesta pesquisa, foi o extrato de cannabis rico em CBD, na concentração de 0,5% e do mesmo lote, fornecido pela Associação Brasileira de Apoio Cannabis Esperança (ABRACE). Foi elaborado um cronograma para que não houvesse a possibilidade de falta do mesmo, durante o desenvolvimento toda a pesquisa. O extrato utilizado, durante todo o ensaio clínico, foi do mesmo lote, para garantir as mesmas características fitoquímica e farmacobotânica, durante a produção do extrato.

O produto contendo CBD e o sem ele apresentaram a mesma consistência, coloração, odor e as demais características organolépticas, impossibilitando a identificação da diferença entre ambos pelos participantes e pela equipe multidisciplinar que acompanhou os mesmos. Foram colocados, nos rótulos dos frascos, apenas o nome da criança, sem nenhuma especificação nem data de validade, já que o tempo total de uso foi de 12 semanas por criança.

Delineamento

A presente pesquisa se tratou de um ensaio clínico, randomizado, duplo-cego e placebo controlado, que visou avaliar o efeito do extrato de cannabis rico em CBD, como adjuvante terapêutico, em crianças com o TEA. Esse estudo clínico foi realizado nas dependências do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba (HULW-UFPB), no setor ambulatorial, que fica localizado no térreo, e está de acordo com a resolução RDC nº

9 de 2015 da ANVISA, que dispõe sobre regulamento para realização de ensaios clínicos com medicamentos no Brasil.

Procedimentos

Recrutamento da amostra

Inicialmente, foi realizada uma grande divulgação nas instituições de apoio ao autista, palestras informativas, divulgação de postagens em *whatsapp* e nas mídias sociais (*Facebook* e *Instagram*) para recrutamento das crianças com TEA. Em seguida, os interessados puderam inscrever-se, em *site* criado unicamente para a realização deste ensaio clínico, preencheram o questionário sociodemográfico e a escala de rastreio CARS. Após aplicados os primeiros critérios de inclusão e exclusão, os pesquisadores entraram em contato com os responsáveis para fornecer maior esclarecimento sobre a pesquisa. Foi explicado o objetivo da mesma e solicitada a participação da criança, através da assinatura do TCLE, e o Termo de Assentimento do menor não foi necessário, visto que o autismo é considerado uma deficiência mental, portanto, o responsável pela criança tem o poder de decidir por ela, ao consentir que o filho participe da pesquisa. No TCLE, os responsáveis foram comunicados sobre todo o protocolo, inclusive foi solicitada autorização para fotografar e filmar a criança, durante a pesquisa. Por fim, as avaliações de base foram agendadas com todas as crianças participantes desse estudo.

Randomização da amostra

Após o recrutamento, foi realizada a randomização das 64 crianças selecionadas. A randomização foi feita utilizando-se o True Random Number Service, desenvolvido pela Escola de Ciência da Computação e Estatística em Dublin, na Irlanda, e disponível pelo endereço eletrônico: www.random.org. O modo gerador de sequências utilizado pelo investigador principal produziu 64 códigos alfanuméricos aleatórios, compostos por três dígitos cada, que foi entregue ao graduando do curso de Farmácia, membro externo à pesquisa, para entrega dos frascos individuais, contendo apenas o nome da criança. Todos os pesquisadores, que são da área da saúde e tiveram contato direto com os pacientes, estavam cegos para o tratamento fornecido, exceto o graduando de Farmácia, que foi o responsável por entregar os frascos semanalmente ao psiquiatra pesquisador, que entregou os mesmos aos cuidadores das crianças, e o segredo da lista

de randomização só foi revelado, após término da pesquisa. Aquele foi escolhido para ser a única pessoa não cega desse estudo, por não estar em contato direto com os pacientes, mantendo a pesquisa com caráter cego para todos os pesquisadores envolvidos diretamente com os participantes.

Aplicação do protocolo clínico

Inicialmente, todas as crianças selecionadas fizeram a primeira avaliação psiquiátrica com o mesmo médico psiquiatra da infância e adolescência, capacitado para avaliar as crianças com TEA. Na consulta, houve a realização da identificação da criança com a ficha de cadastro preenchida no *site* pelos seus responsáveis, durante a etapa de recrutamento, contendo os dados sociodemográficos, queixa principal, história atual da doença, antecedentes pessoais e familiares, além disso, elas levaram laudos de outros profissionais e todos os exames anteriores (laboratoriais ou de imagem) já realizados. Todos os familiares foram submetidos ao Acompanhamento Farmacoterapêutico (AFT), recebendo orientações sobre possíveis interações medicamentosas e/ou qualquer dúvida relacionada ao desenvolvimento da pesquisa. Para avaliação da eficácia do tratamento, foram utilizados o ATEC e a entrevista semiestruturada, incluindo as respostas dos cuidadores associadas às percepções do mesmo médico pesquisador.

Antes de iniciar a pesquisa, todas as crianças foram submetidas à avaliação laboratorial, constando provas de função renal e atividade inflamatória hepática ou lesão hepática, além de hemograma e glicemia de jejum (Tabela 1). Esses exames deveriam ter sido repetidos ao final do estudo para avaliar se houve alteração dessas taxas, principalmente com as crianças que receberam o extrato de cannabis rico em CBD com o objetivo de avaliar a segurança desse extrato, mas devido à pandemia da COVID-19, não foi possível a realização dos exames laboratoriais ao final. Entretanto, na avaliação clínica, após as 12 semanas do estudo, nenhuma criança apresentou alguma queixa que pudesse estar relacionada principalmente a alterações das funções hepática e renal. Os pais foram instruídos a não mudarem, no período da pesquisa, os profissionais e as terapias que já faziam parte da rotina da criança antes do estudo, e, caso ocorresse qualquer mudança importante na equipe, terapias ou na vida familiar (perda de familiar, separação, mudança de endereço ou escola) que pudesse interferir direta ou indiretamente no comportamento da criança, deveria ser comunicada imediatamente aos pesquisadores.

Tabela 1*Análise dos exames laboratoriais realizados antes de iniciar a pesquisa*

Exames laboratoriais	Grupo Placebo	Grupo Cannabis
Hemácias (milhões-mm ³)	4,8 ± 0,4	4,8 ± 0,3
Hemoglobina (g-dL)	13,5 ± 1,0	13,1 ± 0,7
Hematócrito (%)	38,6 ± 2,5	38,1 ± 2,1
Leucócitos (mm ³)	10.159,6 ± 8.235,1	7.859,0 ± 1.858,8
Plaquetas (mm ³)	324.916,7 ± 58.431,6	318.833,3 ± 67.751,1
Glicose (mg-dL)	90,2 ± 7,4	91,8 ± 5,8
Ureia (mg-dL)	20,0 ± 5,4	23,1 ± 5,6
Creatinina (mg-dL)	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1
TGO (U-L)	30,2 ± 7,8	28,9 ± 5,9
TGP (U-L)	20,8 ± 16,7	18,3 ± 9,2

Nota. Média ± desvio padrão

Após toda essa etapa inicial de avaliação e randomização dos grupos, as 64 crianças foram divididas em dois grupos. Um grupo de 32 crianças receberia o extrato de cannabis rico em CBD, sendo esse grupo chamado de Grupo Tratado/Cannabis e o outro grupo de 32 crianças receberia o placebo, sendo esse grupo chamado de Grupo Controle/Placebo. É importante ressaltar que, em nenhum momento, as crianças deixariam de usar seus fármacos convencionais, caso os estivessem utilizando, para iniciar o placebo ou o extrato, ou seja, o produto foi apenas adicionado ao esquema terapêutico já usado pela criança e, só após a melhora do quadro, foi avaliada a possibilidade da sugestão de alteração desse esquema terapêutico ao médico assistente, pelo médico psiquiatra responsável por essa pesquisa, que foi o único psiquiatra que realizou todas as consultas iniciais e finais, além dos acompanhamentos semanais, através de mensagens ou videochamadas com todos os responsáveis das crianças participantes da pesquisa (duas vezes por semana) e consultas de seguimento mensais com cada criança (presencialmente ou por telemedicina).

Toda a parte clínica do projeto foi realizada no Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba (HULW-UFPB). Caso a mãe, pai ou cuidador da criança

não comparecesse à avaliação, o pesquisador reagendaria o encontro o mais breve possível, porém não houve essa necessidade, porque todos sempre compareceram.

Todas as crianças, na primeira consulta psiquiátrica, receberam o frasco branco e não translúcido, com gotejador próprio, e todas as orientações foram dadas ao responsável das mesmas sobre o uso e armazenamento do produto, além das questões legais: ao transportar o produto, quando necessário, deveria levar junto a receita médica, que foi prescrita na consulta e o TCLE assinado pelo pesquisador. Orientou-se que o cuidador iniciasse sempre com a dose de 3 gotas, a cada 12 horas, preferencialmente com estômago vazio e com intervalo de, no mínimo, uma hora antes ou após o uso de medicamento, principalmente os antipsicóticos.

Inicialmente foram realizadas consultas médicas semanais para ajuste da dose, análise de evolução e controle de efeitos indesejados, até que a dose fosse estabilizada e não houvesse relato de efeitos adversos importantes. Em seguida, as consultas passaram a ser mensais. Durante o ensaio clínico, o médico pesquisador esteve em contato individual, através de *whatsapp*, com cada participante da pesquisa, enviando orientações, inclusive sobre o aumento de uma gota manhã e uma gota à noite, tendo, portanto, um aumento gradual a cada três dias. Se a criança chegou à dosagem adequada, o pesquisador orientou o responsável que mantivesse a mesma dose até o final da pesquisa e, se houve piora com o aumento da dose, orientou ao responsável que reduzisse duas gotas a cada 3 dias até chegar à dose que estava adequada anteriormente, com melhora dos sintomas ou sem efeitos negativos, mas não suficientemente graves para a que criança não seguisse participando do ensaio clínico.

Um resumo dos procedimentos foi apresentado, através de fluxograma (Figura 5).

Figura 5

Fluxograma do desenvolvimento da pesquisa clínica



A coleta de dados da pesquisa teve duração de cinco meses e foi iniciada em janeiro de 2020. As avaliações de base e administração do óleo de cannabis/placebo foram realizadas de maneira contínua iniciando com grupos de 10 crianças a cada semana (Tabela 2).

Análise de Dados

O objetivo da análise é verificar se há diferença média entre os grupos, levando-se em consideração o fator tempo (antes e depois) nas variáveis de interesse do estudo. Todas as análises foram procedidas no *software* R versão 4.0.2, livre e gratuito disponível em <https://www.r-project.org/>. O nível de significância adotado para toda a análise foi de 5%.

Desejou-se, então, testar a hipótese nula de que não há diferença média na variável de interesse, levando-se em consideração os fatores grupo (cannabis e controle) e tempo (antes e depois) *versus* a hipótese alternativa de que há diferença média na variável de interesse, levando-se em consideração os fatores grupo (cannabis e controle) e tempo (antes e depois). Para tanto, fez-se uso na análise de variância mista para dois fatores (ANOVA two-way). Nos casos em que a hipótese nula foi rejeitada, aplicou-se o teste post-hoc de comparações múltiplas de Tukey, para verificar entre quais grupos houve diferença significativa.

A análise de variância tem como pressupostos a normalidade, homocedasticidade e independência dos erros, porém algumas variáveis do estudo apresentaram distorções destes pressupostos. Como não há disponível, na literatura, uma técnica não-paramétrica correspondente à análise de variância mista para dois fatores, foi utilizada uma análise não-paramétrica simples para cada fator individualmente, com o intuito de respaldar os resultados obtidos pela técnica paramétrica. Comparou-se, assim, os grupos cannabis e controle e os tempos antes e depois utilizando o teste de Wilcoxon para amostras independentes e dependentes, respectivamente.

3.6 Aspectos éticos

Essa referida pesquisa foi submetida à Plataforma Brasil e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFPB, sob o Número do CAAE 89392518.4.0000.5188, seguindo-se todas as recomendações de ética e pesquisa com seres humanos (Resolução CNS 466/12), preservando-se o sigilo da identidade dos participantes (ANEXO C).

Vale ressaltar que para o desenvolvimento desta pesquisa foram respeitados todos os princípios éticos que estão previstos na nova Resolução nº. 466 de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), que aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de

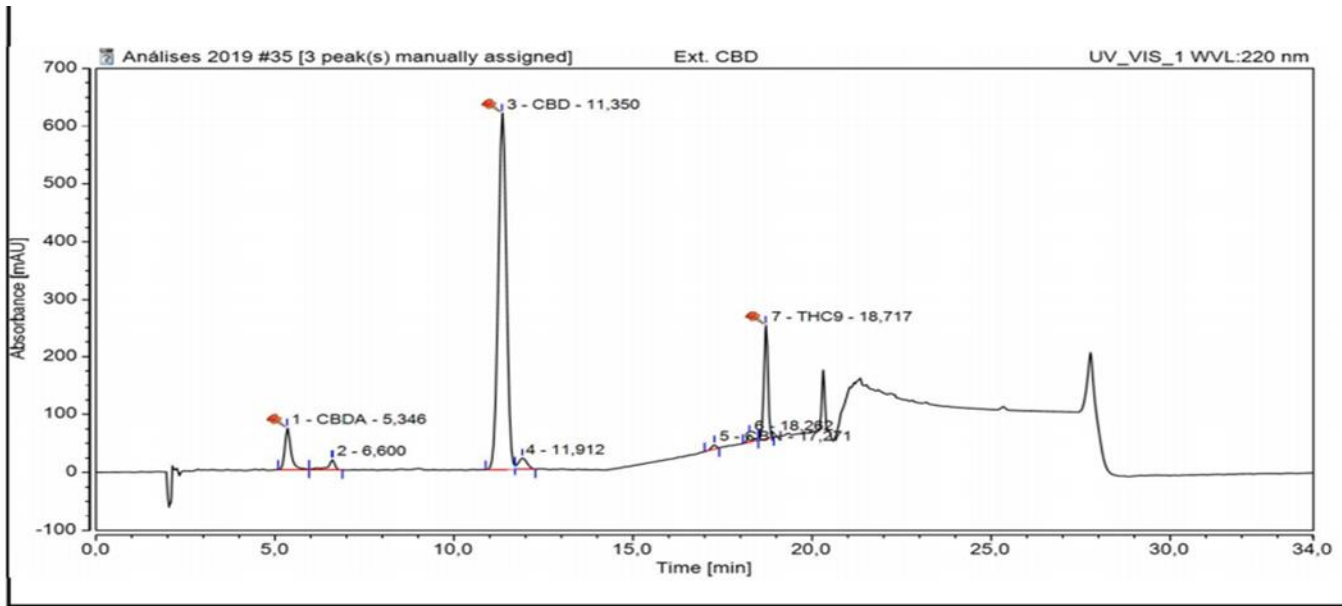
pesquisas que envolvem seres humanos, preconizando os aspectos da autonomia, não-maleficência, beneficência e justiça, tudo em benefício e proteção ao paciente, à sociedade e ao Estado.

Essa pesquisa também foi cadastrada no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (REBEC), sob o número 10743, e pode ser encontrado no *site* <https://ensaiosclinicos.gov.br>.

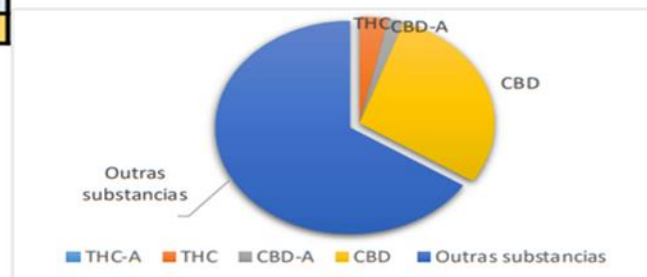
A participação nessa pesquisa deu-se mediante assinatura do TCLE, de modo que se estabelecesse o respeito ao participante da pesquisa em sua dignidade e autonomia, reconhecendo sua vulnerabilidade, assegurando sua vontade de contribuir e permanecer ou não, na pesquisa, por intermédio de manifestação expressa, livre e esclarecida sem qualquer penalidade. Sendo garantido aos participantes da pesquisa total anonimato, primando-se ainda pelo livre acesso aos resultados da pesquisa, conforme estabelece a Resolução citada, há pouco.

4 RESULTADO

Análise fitoquímica do extrato utilizado



Resultados			
Substância	Concentração (mg/g)	% (extrato)	Proporção CBD/THC
THC-A	0,0	0,0%	9:1
THC	34,5	3,5%	
CBD-A	18,2	1,8%	
CBD	288,7	28,9%	
THC total	34,5	3,5%	
CBD total	306,9	30,7%	
Canabinóides total	341,4	34,1%	



Análise sociodemográfica dos genitores

Em relação aos pais, foram avaliadas diferentes variáveis sociodemográficas, dentre elas: idade; escolaridade; se possuíam outro filho, inclusive autista; se pai e/ou mãe trabalhavam fora ou não e, se por o filho ser autista, um dos pais precisou parar de exercer atividade laboral; além do estado civil dos pais (Tabela 2).

Tabela 2

Dados sociodemográficos dos pais das crianças com TEA

Variável (pais)	Grupo cannabis (n = 31)	Grupo controle (n = 29)	Total (n = 60)
Idade da mãe (na concepção)	29,00 (29,00) ± 6,09	30,00 (30,00) ± 6,85	29,46 (30,00) ± 6,42
Idade do pai (na concepção)	34,05 (34,00) ± 6,69	32,10 (31,00) ± 5,67	33,10 (33,00) ± 6,21
Escolaridade da mãe			
fundamental incompleto	1 (3,57)	2 (7,69)	3 (5,56)
fundamental completo	0 (0,00)	1 (3,85)	1 (1,85)
médio incompleto	2 (7,14)	0 (0,00)	2 (3,70)
médio completo	9 (32,14)	7 (26,92)	16 (29,63)
superior incompleto	4 (14,29)	6 (23,08)	10 (18,52)
superior completo	6 (21,43)	4 (15,38)	10 (18,52)
pós-graduação	6 (21,43)	6 (23,08)	12 (22,22)
Escolaridade do pai			
fundamental incompleto	0 (0,00)	1 (5,56)	1 (2,63)
médio incompleto	1 (5,00)	1 (5,56)	2 (5,26)
médio completo	3 (15,00)	6 (33,33)	9 (23,68)
superior incompleto	2 (10,00)	2 (11,11)	4 (10,53)
superior completo	8 (40,00)	4 (22,22)	12 (31,58)
pós-graduação	6 (30,00)	4 (22,22)	10 (26,32)
Outro filho			
não	11 (35,48)	10 (34,48)	21 (35,00)
sim	14 (45,16)	14 (48,28)	28 (46,67)
sim e autista	6 (19,35)	5 (17,24)	11 (18,33)
Pai ou mãe trabalham			
não	1 (3,23)	2 (6,90)	3 (5,00)
sim	20 (64,52)	14 (48,28)	34 (56,67)
um dos pais precisou parar	10 (32,26)	13 (44,83)	23 (38,33)
Estado civil pai ou mãe			
solteiro	8 (25,81)	6 (20,69)	14 (23,33)
casado	15 (48,39)	17 (58,62)	32 (53,33)
divorciado	8 (25,81)	5 (17,24)	13 (21,67)
outros	0 (0,00)	1 (3,45)	1 (1,67)

Nota. Variáveis qualitativas: n (%). Variáveis quantitativas: média (mediana) ± desvio-padrão.

De acordo com a idade que possuíam, quando o filho nasceu, no grupo placebo, as idades das mães variaram de 19 a 42 anos de idade, e as dos pais de 20 a 45 anos. Já no grupo tratado, as idades das mães variaram de 16 a 37 anos de idade, e as dos pais de 25 a 48 anos. Assim, na amostra total, as idades das mães variaram de 16 a 42 anos de idade, e as dos pais de 20 a 48 anos de idade, portanto, apresentando uma variação contendo de adolescentes a adultos de meia-idade.

Em relação ao grau de escolaridade, foi possível observar que as mães e os pais das crianças com TEA, tanto do grupo placebo quanto do grupo tratado, apresentavam algum grau de instrução. A maioria das mães apresentava ensino médio completo (29,63%) e pós-graduação (22,22%) e a maioria dos pais apresentava ensino superior completo (31,58%) e pós-graduação (26,32%), sugerindo que os cuidadores das crianças com TEA apresentaram melhor compreensão da evolução do quadro clínico dessas crianças e das recomendações passadas pelo médico.

No que diz respeito à constituição familiar, 47% das crianças participantes possuíam irmãos neurotípicos, entretanto, um dado relevante foi que 18,3% possuíam irmão autista. Na amostra, havia um par de irmãos gêmeos e dois pares de irmãos não gêmeos, totalizando 10% dos participantes. A maioria dos genitores eram casados (53,3%), porém, em relação aos demais, 23,3% dos pais nunca chegaram a morar juntos e 21,7% eram divorciados. A maioria dos pais (56,7%) trabalhavam, porém 38,3%, de um deles, em algum momento da vida, precisaram parar de exercer suas atividades laborais para cuidar da criança (geralmente a genitora).

Dados sociodemográficos e informações sobre as crianças participantes da pesquisa

De maneira geral, algumas variáveis foram avaliadas nas crianças com TEA que participaram desse estudo. Dentre essas variáveis, podemos citar: gênero; idade; escolaridade; se fazia algum tratamento de intervenção profissional para o TEA (público, particular ou misto) e com qual ou quais profissionais (terapeuta ocupacional, fisioterapeuta, fonoaudiólogo, psicólogo, psicopedagogo ou outros); se a criança fazia uso de psicotrópicos antes, durante e depois do ensaio clínico; se apresentava ou não seletividade alimentar e se esse padrão alimentar foi modificado; o grau do TEA; se houve efeitos adversos com o uso do produto; quantidade de gotas do produto ao final, já que o aumento foi gradual e conforme orientação do pesquisador;

se o cuidador ficou na dúvida, não percebeu ou não viu melhora com o produto teste (impressão sobre a evolução da criança – melhora subjetiva), na consulta final, antes de pesquisador e participantes saberem se a criança estava no grupo tratado ou placebo. E como, durante o ensaio clínico, houve a pandemia pelo coronavírus (COVID-19), as crianças ficaram isoladas em casa ou sem acompanhamento pelos profissionais, modificando a rotina, a qual por si só já pode desorganizar quem apresenta TEA, o pesquisador introduziu, na avaliação final, o relato dos pais sobre a impressão que eles tiveram sobre a interferência do isolamento social no quadro clínico do seu filho (Tabela 3).

Tabela 3

Dados sociodemográficos e informações sobre as crianças participantes da pesquisa

Variável (crianças)	Grupo cannabis (n = 31)	Grupo controle (n = 29)	Total (n = 60)
Gênero			
Masculino	25 (80,65)	27 (93,10)	52 (86,67)
Feminino	6 (19,35)	2 (6,90)	8 (13,33)
Idade	7,64 (7,00) ± 1,76	7,72 (7,00) ± 1,75	7,68 (7,00) ± 1,74
Escolaridade da criança			
não frequente	2 (6,45)	2 (6,90)	4 (6,67)
está aquém da série esperada	4 (12,90)	6 (20,69)	10 (16,67)
está de acordo com série esperada	25 (80,65)	21 (72,41)	46 (76,67)
Tipo de tratamento			
não faz	6 (19,35)	7 (24,14)	13 (21,67)
publico	14 (45,16)	9 (31,03)	23 (38,33)
particular	7 (22,58)	11 (37,93)	18 (30,00)
misto	4 (12,90)	2 (6,90)	6 (10,00)
Terapia ocupacional	16 (51,61)	17 (58,62)	33 (55,00)
Fisioterapia	1 (3,23)	1 (3,45)	2 (3,33)
Fonoaudiologia	19 (61,29)	20 (68,97)	39 (65,00)
Psicologia	15 (48,39)	17 (58,62)	32 (53,33)
Psicopedagogia	11 (35,48)	12 (41,38)	23 (38,33)
Outros tratamentos	6 (19,35)	2 (6,90)	8 (13,33)
Faz uso de psicotrópicos			
não	17 (54,84)	10 (34,48)	27 (45,00)
sim e continua	12 (38,71)	16 (55,17)	28 (46,67)
usava e parou	1 (3,23)	2 (6,90)	3 (5,00)
não usava e iniciou	1 (3,23)	1 (3,45)	2 (3,33)
Alimentação seletiva			
não	16 (51,61)	17 (58,62)	33 (55,00)
sim e continuou	8 (25,81)	7 (24,14)	15 (25,00)
sim e deixou de ser	7 (22,58)	5 (17,24)	12 (20,00)
Grau			
leve	13 (41,94)	13 (44,83)	26 (43,33)
moderado	16 (51,61)	13 (44,83)	29 (48,33)
grave	2 (6,45)	3 (10,34)	5 (8,33)

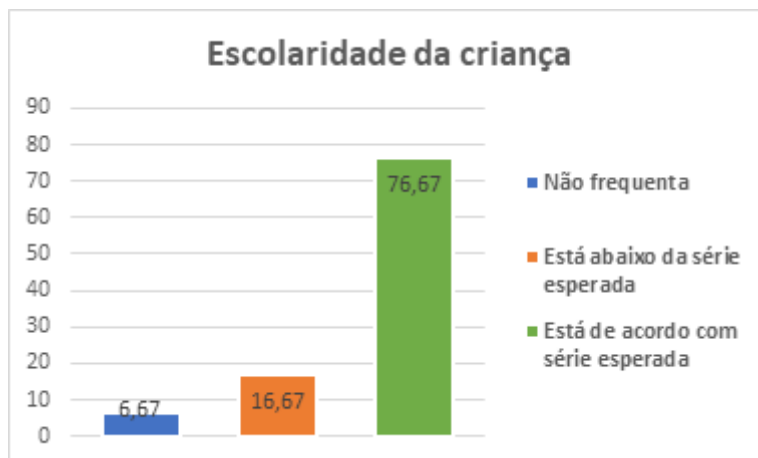
Efeitos Adversos	4 (12,90)	5 (17,24)	9 (15,00)
Melhora subjetiva			
não	7 (22,58)	12 (41,38)	19 (31,67)
dúvida	3 (9,68)	7 (24,14)	10 (16,67)
sim	21 (67,74)	10 (34,48)	31 (51,67)
Quantidade de gotas usadas	47,42 (52,00) ± 15,22	40,96 (44,00) ± 18,86	44,30 (50,00) ± 17,23
Interferência do isolamento			
não	19 (61,29)	19 (65,52)	38 (63,33)
só no início	4 (12,90)	1 (3,45)	5 (8,33)
sim	8 (25,81)	9 (31,03)	17 (28,33)

Nota. Variáveis qualitativas: n (%). Variáveis quantitativas: média (mediana) ± desvio-padrão.

Em relação ao nível de escolaridade das crianças participantes da pesquisa, é deveras relevante expor que, apesar de 76,67% estarem na série de acordo com a sua idade, a maioria não consegue acompanhá-la, e não foi realizada adaptação das atividades escolares para a criança autista, segundo informações dos responsáveis (Figura 6).

Figura 6

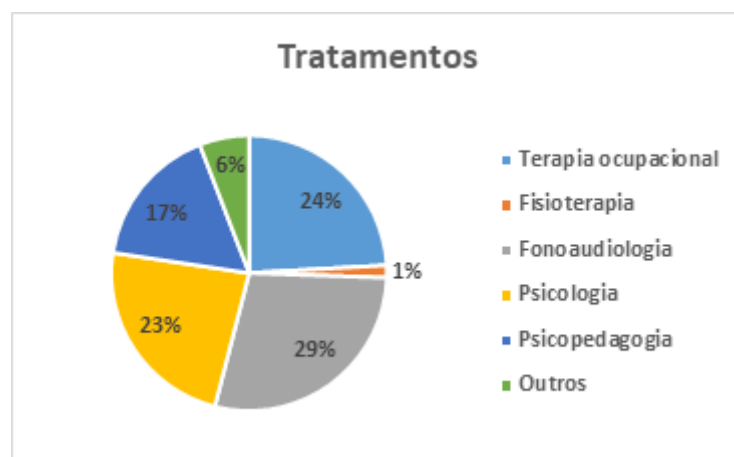
Escolaridade das crianças participantes



Alguns tratamentos são coadjuvantes e de elevada importância na melhora dos sintomas do TEA. Nesse estudo, os tratamentos mais comuns realizados pelas crianças foram pela fonoaudiologia (29%), terapia ocupacional (24%) e psicologia (23%) (Figura 7).

Figura 7

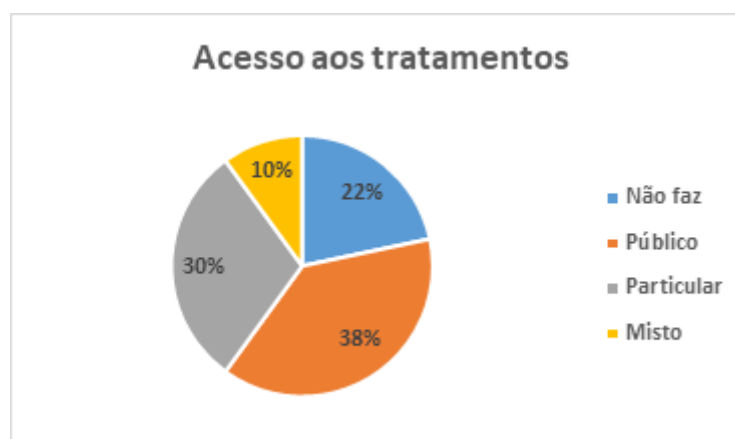
Tipos de tratamentos multidisciplinares realizados pelas crianças com TEA



A maioria das crianças tem acesso a estes através do sistema público (38%), e o particular fica em segundo lugar com 30%. Contudo, alguns conseguem recorrer a estes tratamentos tanto no particular como no público, porém, representa a minoria (10%) (Figura 8).

Figura 8

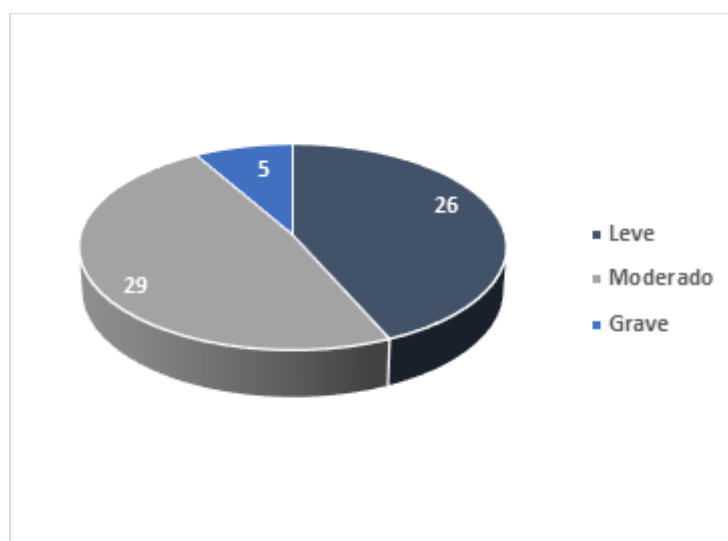
Diferentes formas de acesso aos tratamentos multidisciplinares



Neste estudo, foram incluídos os três possíveis graus, sem prévio conhecimento. Das 60 crianças participantes, 43,3% foram diagnosticadas com grau leve, 48,3% com grau moderado e 8,3% com grau grave (Figura 9).

Figura 9

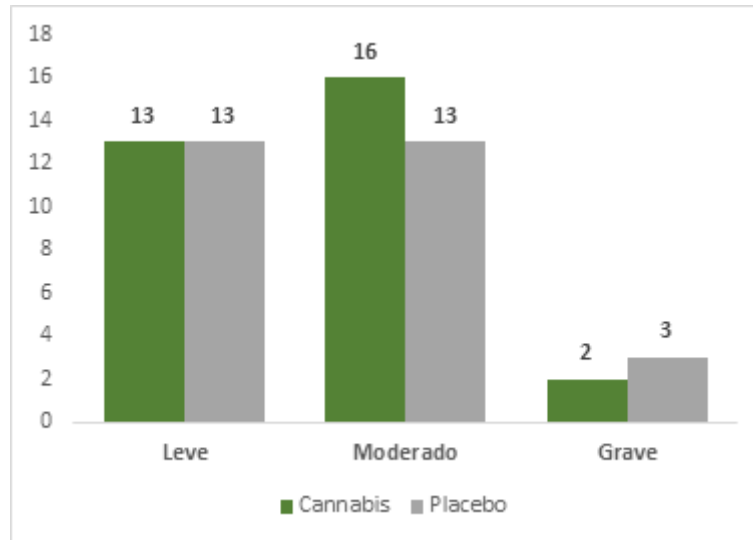
Graus do Transtorno do Espectro Autista



É importante ressaltar que, dentro dos grupos cannabis e controle, essas diferenças de graus estavam divididas equivalentemente, pois dessa maneira é possível ter uma melhor interpretação dos resultados e associá-los aos diferentes graus do TEA (Figura 10).

Figura 10

Distribuição dos graus de TEA dentro do grupo placebo e cannabis



Das crianças participantes, 28 (46,7%) começaram a pesquisa com algum psicotrópico, sendo 12 (20%) do grupo cannabis e 16 (26,7%) do grupo placebo. Os fármacos utilizados eram os seguintes: periciazina, levomepromazina, risperidona, aripiprazol, metilfenidato, lisdexanfetamina, ácido valproico, carbamazepina, clomipramina, sendo a risperidona o mais frequente (33,3%). Destes, três pararam de usar por conta própria, sendo dois do grupo cannabis. No decorrer da pesquisa, 27 crianças (45%) não utilizavam nenhum psicotrópico. Todavia, duas crianças não usavam nenhum medicamento e iniciaram posteriormente, sendo ambos do grupo placebo (Figura 11).

Figura 11

Uso de psicotr3picos pelas crian7as com TEA, no decorrer da pesquisa



An3lises da Entrevista Semiestruturada, da ATEC e da CARS

Foram avaliadas vari3veis importantes associadas ao TEA, atrav3s do question3rio semiestruturado. Os sintomas avaliados foram: agressividade; agita73o psicomotora; concentra73o; refeie73es (n3mero de refeie73es/dia); sono (quantidade de horas de sono/dia); intera73o social com os pares; linguagem verbal (fala); ansiedade; movimentos repetitivos e estereotipados (estereotipias). Houve preju3zo na an3lise estat3stica do n3mero de horas de sono por dia, visto que a maioria (71,7 %) j3 apresentavam oito horas ou mais de sono/dia. Tamb3m foi calculada a m3dia da pontua73o do ATEC (e suas subdivis73es: ATEC L, relacionado 3 linguagem; ATEC S, relacionado 3 socializa73o; ATEC P, relacionado 3 percep73o sensorial e cognitiva; ATEC SC, relacionado 3 sa3de, aspectos f3sicos e comportamento e ATEC T, relacionado ao somat3rio total da escala) e da CARS. A princ3pio, n3o houve a realiza73o de an3lise estat3stica subdividindo-se por graus (Tabela 4).

Tabela 4

Avaliação de diferentes variáveis em crianças com TEA do Grupo Placebo e do Grupo Cannabis.

Variável	Grupo Placebo (antes)	Grupo Placebo (depois)	Grupo cannabis (antes)	Grupo cannabis (depois)	p valor
Agressividade	1,39 ± 1,36	0,62 ± 0,94	1,39 ± 1,36	0,81 ± 1,05	0,2149
Agitação psicomotora	2,65 ± 1,14	2,14 ± 1,38	2,52 ± 1,23	1,64 ± 1,28	0,00295**
Concentração	2,96 ± 0,86	2,03 ± 1,08	2,87 ± 1,09	1,71 ± 1,07	0,269
Refeições	0,38 ± 0,82	0,96 ± 1,78	0,77 ± 1,36	1,32 ± 1,90	0,045*
Sono	0,28 ± 0,59	0,76 ± 1,77	0,42 ± 0,81	0,77 ± 1,61	0,0711
Interação social	2,83 ± 1,10	2,17 ± 1,36	2,55 ± 0,96	1,68 ± 1,01	0,000268***
Fala	1,72 ± 1,55	1,28 ± 1,41	2,13 ± 1,36	1,32 ± 1,42	0,3918
Ansiedade	2,90 ± 1,23	2,45 ± 1,24	2,55 ± 1,34	1,84 ± 1,39	0,0159*
Estereotípias	2,07 ± 1,03	1,65 ± 1,06	1,93 ± 1,06	1,45 ± 1,06	0,3853
ATEC L	13,14 ± 8,18	11,92 ± 8,08	14,29 ± 8,12	12,16 ± 7,49	0,254
ATEC S	17,83 ± 9,83	15,81 ± 7,89	16,13 ± 6,85	13,64 ± 6,31	0,113
ATEC P	16,86 ± 8,53	14,81 ± 7,98	15,45 ± 8,71	13,68 ± 7,77	0,212
ATEC SC	27,17 ± 11,03	23,44 ± 10,48	28,16 ± 12,02	25,35 ± 10,79	0,119
ATEC T	75,00 ± 32,89	64,84 ± 26,82	74,03 ± 28,86	64,84 ± 26,82	0,098
CARS	37,83 ± 9,02	36,27 ± 9,06	36,13 ± 7,69	33,47 ± 8,48	0,188

Nota. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão

Todos os valores de p foram calculados entre os grupos cannabis depois vs placebo depois usando o teste ANOVA TWO WAY seguido dos testes de TUKEY e WILCOXON

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

Foi possível observar, de acordo com a entrevista semiestruturada, que as crianças que receberam o extrato de cannabis rico em CBD apresentaram uma melhora significativa da agitação psicomotora, passaram a aceitar mais refeições por dia, melhoram bastante na interação social e ficaram menos ansiosas, quando comparada às crianças do grupo placebo, sugerindo melhora de alguns sintomas associados ao quadro de TEA, além de um sintoma que é critério diagnóstico (interação social).

Ao se avaliar separadamente as crianças pelos graus do TEA, foi possível observar que as crianças autistas de grau leve do grupo cannabis obtiveram uma melhora significativa na concentração, quando comparada às crianças autistas de grau leve do grupo placebo, sugerindo

que o extrato de cannabis rico em CBD consegue melhorar a concentração das crianças com o especificador para este nível de gravidade (Tabela 5).

A análise estatística foi realizada através do teste de variância mista para dois fatores (ANOVA two way) (Tabela 5). Nos casos em que a hipótese nula foi rejeitada, aplicou-se o teste post-hoc de comparações múltiplas de Tukey, para verificar entre quais grupos houve diferença significativa e, quando a suposição de normalidade dos erros não foi respeitada, realizou-se uma análise de cada fator individual não paramétrica para confirmar os resultados (teste de Wilcoxon).

Tabela 5:

Análise da variância mista para dois fatores (software R versão 4.0.2).

Variável	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Interação Social	1	17.63	17.633	14.133	0.000268***
Residuals	116	144.73	1.248		
Agitação Psicomotora	1	14.70	14.700	9.225	0.00295**
Residuals	116	184.84	1.593		
Ansiedade	1	10.21	10.208	5.989	0.0159*
Residuals	116	197.73	1.705		
Número de Refeições por dia	1	9.63	9.633	4.109	0.045*
Residuals	116	271.99	2.345		
Concentração (Grupo Leve)	1	5.56	5.558	6.747	0.0124*
Residuals	48	39.54	0.824		

Nota: Todos os valores de p foram calculados entre os grupos cannabis depois vs placebo depois usando o teste ANOVA TWO WAY seguido dos testes de TUKEY e WILCOXON

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

Durante o recrutamento e realização dos exames laboratoriais, antes do início do ensaio clínico, quatro crianças desistiram de participar da pesquisa, sendo que três estavam recrutadas no grupo controle e uma no grupo cannabis, resultando, portanto, em uma amostra final de 60 crianças (31 no grupo tratado e 29 no grupo placebo). Hemograma, glicemia de jejum, aspartato aminotransferase (ALT), alanina aminotransferase (AST), ureia e creatinina basais estavam

dentro dos níveis de normalidade, em todas as crianças, com exceção, em algumas, que apresentavam eosinofilia, assim, quando a criança havia feito uso de antiparasitário, há mais de seis meses, foi-lhe prescrito tratamento para parasitose intestinal.

A dose do extrato de cannabis, em gotas, não é calculada de acordo com o peso do indivíduo nem pela idade, sendo necessário o aumento gradual até a obtenção da resposta esperada, podendo-se ajustar, por exemplo, reduzindo-se a dose, para manter naquela em que os benefícios encontrados foram adequados. Ao final da pesquisa, a dose mais baixa foi de 6 gotas/dia, no grupo tratado, isto é, a mesma quantidade iniciada para todos os participantes, e de 12 gotas/dia, no grupo placebo.

5 DISCUSSÃO

Mesmo tendo sido utilizado o extrato rico em CBD em uma concentração baixa, observou-se melhora da interação social, agitação psicomotora, número de refeições, ansiedade e concentração, além de que as poucas crianças que apresentaram efeitos adversos, os mesmos foram leves e transitórios.

Alguns autores sugerem que a idade avançada da mãe e do pai, apesar da idade do genitor ser mais significativo, seria um possível risco (Maia et al., 2018), já outros relatam que a idade avançada do pai é fator causal de uma nova mutação genética, que recebe o nome de *novo* e que está associada a quadros de autismo (Sanders et al., 2012), o que não foi alvo deste trabalho e não houve seleção e cálculo por idade dos genitores.

No que diz respeito à constituição familiar, 47% das crianças participantes possuíam irmãos neurotípicos, entretanto, um dado relevante foi que 18,3% possuíam irmão autista, valor semelhante à pesquisa realizada, nos Estados Unidos, mostrando ser significativo e no valor de 18,7% (Ozonoff et al., 2011). Um estudo prospectivo de acompanhamento, também permitiu um melhor entendimento do risco de recorrência entre irmãos (entre 10% e 20%) (Szatmari, 2016).

A amostra foi composta por 86,7% por crianças do gênero masculino, e a mesma não foi selecionada por gênero, porém se sabe que o TEA é mais comum em meninos que em meninas (Chakrabarti et al., 2015; de la Torre-Ubieta et al., 2016). As mulheres, em regra, são mais raramente afetadas (4 meninos para 1 menina para o autismo e 10 meninos para 1 menina,

considerando a Síndrome de Asperger). Os meninos, quando afetados, são atingidos mais fortemente, como, por exemplo, autismo associado à deficiência intelectual. Esse padrão levou à hipótese de um “efeito protetor feminino”, algum aspecto da biologia que significava que as fêmeas exigiam uma maior “carga” etiológica para manifestar o autismo (Baron-Cohen et al., 2019; Happe & Frith, 2020). As inscrições para possível participação no ensaio clínico foram abertas para a população em geral, mas houve um número significativamente menor de crianças do gênero feminino (inscreveram-se 296 crianças, sendo 45 deste gênero, correspondendo, portanto, a apenas 15,2%), sendo selecionadas para o ensaio clínico oito meninas (13,3%) e 52 meninos (86,7%), o que pode sugerir realmente a hipótese de um efeito protetor feminino para o autismo.

Em relação aos desafios da pandemia da COVID-19 para autistas, já que a existência de uma rotina é crucial nas suas vidas, as famílias encaram enormes desafios para amenizar o impacto do quadro, pois eles geralmente não conseguem realizar as medidas preventivas. Transformações repentinas, como o isolamento social, podem provocar alterações emocionais e comportamentais, como ansiedade, agitação e agressividade (Brito et al., 2020). Por essa razão, foi perguntado aos pais, ao final, se o isolamento social, que levou à descontinuação temporária dos tratamentos multidisciplinares e consequentemente a mudanças na rotina haviam interferido no funcionamento das crianças, e 71,7% relataram que não houve interferência com maiores prejuízos.

Por acreditar que a avaliação neuropsicológica é muito importante, como complementar ao diagnóstico e para observação da evolução da criança antes e após o uso de alguma intervenção medicamentosa, é importante que sejam realizados testes da Neuropsicologia, assim como foram feitos paralelamente a esta pesquisa, já que os testes selecionados, dependendo do comprometimento, incluindo o grau do autismo e presença ou não de linguagem verbal, puderam avaliar as principais funções psíquicas relacionadas com o TEA, demonstrando que os autistas possuem prejuízos em várias áreas, como nas funções executivas, Teoria da Mente, empatia e atenção (Jones et al., 2017).

Eficácia do extrato de cannabis rico em CBD

Um dos sintomas nucleares, que está descrito como um dos critérios diagnósticos, no DSM-5, é a deficiência persistente na interação social, o que esta pesquisa trouxe como a variável/parâmetro com melhora mais robusta ($p < 0,001$). A redução da agitação psicomotora é de

grande relevância, visto que o autista pode expor-se a situações de risco. Os pais de crianças com TEA frequentemente relatam que seus filhos são altamente seletivos, com repertórios muito restritos de aceitação de alimentos e dieta inadequada (Cermak et al., 2010; Lázaro & Pondé, 2017). Essas questões foram observadas, em nossa amostra, em que os responsáveis diziam que muitos participantes tinham quantidade de refeições diárias aquém da desejada; apresentavam dificuldade para se alimentar, devido a questões sensoriais, além de seletividade alimentar e, com o uso da cannabis, encontrou-se melhora sobre a alimentação, através do parâmetro “refeições”. A ansiedade, que acompanha muitas crianças com TEA, pode levar a alterações comportamentais, visto que eles geralmente não conseguem expressar o que sentem, levando também a sofrimento psíquico (Aran, Cassuto, Lubotzky, Wattad, & Hazan, 2018).

Uma grande queixa dos pais também ocorre em relação à concentração, por isso foi assaz importante analisá-la de acordo com os graus do TEA, já que as crianças de grau leve possivelmente apresentam menor comprometimento cognitivo, já que exigem uma necessidade de apoio menor, o que poderia sugerir melhora da capacidade de concentração apenas neste grau, como encontrado nesta pesquisa, porém não se pode confirmar, através deste ensaio clínico, tal hipótese.

Em um estudo realizado com 400 indivíduos, na Nova Zelândia, avaliando a prescrição do CBD, na prática clínica, também avaliou sintomas neurológicos, que incluíram doença de Parkinson, esclerose múltipla, epilepsia, transtorno do espectro do autismo com comportamento desafiador, esclerose lateral amiotrófica, atrofia de múltiplos sistemas, várias neuropatias e tremores (Gulbransen et al., 2020). Porém, não há até então, nenhum ensaio clínico randomizado, duplo-cego e placebo controlado, além de realizada estratificação por graus, com amostra composta apenas por crianças com TEA.

Uma pesquisa com amostra também de 60 indivíduos, sendo a média igual a 11 anos de idade, porém foi retrospectivo, mostrou melhora dos surtos comportamentais (61%) e da ansiedade (39%) (Aran et al., 2018). Um estudo prospectivo com uso da cannabis, mas que incluía também adultos (53 participantes com idades entre 4 e 22 anos) e que as avaliações eram quinzenais, através de entrevistas estruturadas, teve como resultado melhora nos ataques de automutilação e raiva em 67,6%, melhora da hiperatividade em 68,4%, melhora dos distúrbios do sono em 71,4% e melhora da ansiedade em 47,1% e efeitos adversos de leves a moderados, como sonolência e diminuição do apetite (Barchel et al., 2018).

O TEA não apresenta cura nem se sabe qual a sua etiologia, então, não há como estabelecer um tratamento específico para tratá-lo, e sim sintomático, visando à eliminação de algumas alterações cognitivo-comportamentais que podem estar associadas a ele. Como o tratamento do TEA é longo, exige a intervenção de equipe multidisciplinar e, para ser possível realizar a terapia adequadamente, o paciente necessita estar com algumas funções psíquicas e comportamentos estáveis, por isso algumas vezes existe a necessidade de introduzir algum medicamento. E, estudos mostram que a melhora dos sintomas investigados com o uso da cannabis foi verificada através dos relatos dos pais e/ou cuidadores ou através de escalas/questionários/formulários elaborados por diferentes autores (Adams et al., 2019; Barchel et al., 2019; Bar-Lev Schleider et al., 2019).

Uma pesquisa com 188 crianças, também prospectivo, estando a amostra apenas em uso da cannabis, acompanhando-a, durante seis meses, através de questionários estruturados preenchidos pelos pais, encontrou-se 30,1% das crianças com melhora significativa, 53,7% com melhora moderada, 6,4% com melhora discreta e 8,6% sem melhora e, como efeitos adversos, agitação (6,6%) e sonolência (3,2%) (Bar-Lev Schleider et al., 2019).

Um estudo, com delineamento observacional, analisou, durante seis a nove meses, a eficácia e a tolerabilidade, incluindo, também, a análise das comorbidades, através de questionários estruturados mensais, observando-se que 93% tiveram melhora igual ou superior a 30% em pelo menos uma categoria de sintoma: 47% obtiveram melhora igual ou superior a 30% em quatro ou mais categorias de sintomas; 13% melhora igual ou maior a 30% em duas categorias de sintomas; 33% melhora igual ou superior a 30% em uma categoria de sintoma. As categorias foram as seguintes: 1) TDAH 2) desordens comportamentais 3) déficits motores 4) déficits de autonomia 5) déficits de comunicação e interação social 6) déficits cognitivos 7) problemas de sono 8) crises convulsivas (Fleury-Teixeira et al., 2019).

Portanto, nossos resultados encontrados trazem o que a literatura científica demonstra sobre a eficácia sobre hiperatividade, inquietação e agitação psicomotora, considerando-se esses três elementos como dentro do parâmetro investigado “agitação”; sobre a ansiedade; sobre cognição e atenção, sugerido através do parâmetro “concentração” como melhora em perceber os detalhes e nuances do que está sendo feito ou como facilitador de aquisição de conhecimento; sobre a interação social, em crianças do espectro autista.

Segurança do extrato de cannabis rico em CBD

Antes do início da pesquisa, pensando-se sobre a possibilidade de efeitos indesejados, principalmente por se tratar de um estudo com crianças, detectou-se que os riscos eram mínimos, visto que o produto a ser testado já era utilizado por outros pacientes, em todo Brasil, e para diferentes doenças, sem registro de efeitos adversos graves. Caso o paciente apresentasse alguma piora do quadro ou qualquer indisposição que pudesse estar associada ao início da pesquisa, ele seria avaliado imediatamente pelo médico responsável e, se necessário, seria retirado do esquema terapêutico e receberia toda assistência, porém não foi preciso, já que os efeitos adversos não foram suficientemente relevantes para necessidade de tratamento médico muito menos para saída da criança do ensaio clínico. Assim como foi bem pensado sobre os benefícios terapêuticos que a população infantil do espectro autista poderia ter com a cannabis, caso os desfechos primário e secundários dessa pesquisa fossem alcançados, assim, observou-se que as crianças com TEA têm uma nova possibilidade de alternativa terapêutica para tratamento dos sintomas associados a essa doença, assim, promovendo a melhora da qualidade de vida deles e dos seus cuidadores.

Atualmente, o CBD é aprovado pela FDA para o tratamento das síndromes de Dravet e Lennox-Gastaut, que são relacionadas à convulsão (FDA, 2018). Ensaios clínicos randomizados mostraram que, quando o CBD é adicionado ao anticonvulsivante, a frequência das convulsões diminui (Devinsky et al., 2017, Devinsky et al., 2018). Como a literatura científica mostra boa resposta para a epilepsia, principalmente, quando refratária, colocamos, como critério de exclusão, crianças que apresentavam, como comorbidade, epilepsia, com o objetivo de analisar especificamente a cannabis para características do TEA e visando à redução da possibilidade de viés (Morano et al., 2020; Russo, 2011).

Numerosos estudos pré-clínicos (Bergamaschi, Queiroz, Chagas et al., 2011; Zuardi et al., 1993) e estudos de neuroimagem (Crippa et al., 2011) demonstraram os efeitos ansiolíticos do CBD. Uma série de casos publicada recentemente, em pacientes psiquiátricos, encontrou um benefício do CBD para ansiedade e sono (Shannon et al., 2019). Porém, a maioria dos estudos colocam, como limitação, o seguimento (*follow-up*) dos pacientes para que se possa observar melhor os efeitos do uso do CBD para distintas patologias, diferentemente da nossa pesquisa, por se tratar de um ensaio clínico em que se pode observar a ação do extrato rico em CBD sobre a ansiedade, antes e após o seu uso. Nesta pesquisa, encontrou-se resultado significativo para melhora da ansiedade, como característica associada ao TEA, corroborando a literatura científica que mostra, através de alguns estudos, a melhora da ansiedade de uma forma geral.

Os efeitos adversos conhecidos são vômitos, diarreia, febre, sonolência e resultados alterados dos testes da função hepática, por isso, em nosso ensaio clínico, foram solicitados exames laboratoriais, antes do uso do extrato de cannabis, para não haver nenhum risco para as crianças e para que se pudesse, ao final, observar se esse efeito indesejado é comum, porém não foi possível realizar a dosagem laboratorial, após as 12 semanas, como previsto, devido ao aparecimento da COVID-19 e, portanto, optou-se por não expor a criança ao risco de adquirir a doença, já que não houve nenhum efeito adverso significativo.

Wolff e Reijneveld (2019) aconselharam os profissionais médicos que encontrassem pacientes jovens utilizando o CBD a discutir sua qualidade e possíveis efeitos indesejados e interações medicamentosas, o que foi analisado criteriosamente, neste estudo. Se algum sujeito tivesse apresentado febre, diarreia, vômito ou sonolência pouco compreendidos, os efeitos adversos do extrato de CBD não deixariam de ser considerados.

Indivíduos com TEA que usaram extrato de cannabis rico em CBD apresentaram melhora dos seguintes sintomas: ataques de automutilação e raiva; hiperatividade; problemas do sono, ansiedade, inquietação, agitação psicomotora, irritabilidade, agressividade, sensibilidade sensorial, cognição, atenção, interação social, linguagem, perseveração e depressão. Em relação aos benefícios da intervenção realizada com a cannabis, o sintoma inquietação foi o que apresentou maior porcentagem de melhora (91%), em relação aos outros sintomas estudados (Bar-Lev Schleider et al., 2019).

Nesta pesquisa, encontrou-se que apenas três crianças do grupo tratado (9,7%) apresentaram efeitos adversos, que foram tontura e insônia, em uma criança; cólica em uma e ganho de peso em outra. Em alguns estudos realizados avaliando efeitos adversos, encontraram-se os seguintes: distúrbios do sono, inquietação e nervosismo, além de irritabilidade moderada, diarreia, aumento do apetite, hiperemia conjuntiva, problemas comportamentais, diminuição da cognição, fadiga e agressão/agitação (Aran et al.; Barchel et al., 2019).

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que o extrato de cannabis rico em CBD não interferiu no processo de cognição e linguagem das crianças com TEA nas doses utilizadas nesse estudo.

As crianças com TEA, que receberam o extrato apresentaram uma melhora significativa na interação social, na ansiedade e no quadro de agitação psicomotora, quando comparadas às crianças que receberam o placebo.

O extrato de cannabis rico em CBD não interferiu na qualidade do sono das crianças.

As crianças participantes desse estudo, que receberam o extrato rico em CBD apresentaram um aumento do número de refeições diárias, quando comparadas às crianças que receberam placebo. Esse resultado pode estar relacionado à diminuição dos níveis de ansiedade dessas crianças observados, após administração do extrato.

O extrato de cannabis rico em CBD mostrou-se seguro, nas doses utilizadas nesse estudo (variou de 6 a 70 gotas/dia), visto que das 31 crianças que receberam o extrato, apenas três relataram efeitos colaterais bem leves, tais como, tontura, insônia, cólica e ganho de peso, quando comparados aos efeitos colaterais dos psicotrópicos clássicos utilizados no tratamento do TEA, nessa faixa etária, como: hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, síndrome metabólica e galactorreia.

Portanto, observa-se que o extrato de cannabis rico em CBD é eficaz e pode ser utilizado, como adjuvante terapêutico, no alívio de alguns sintomas importantes relacionados ao TEA, tais como, ansiedade, agitação psicomotora e interação social.

Uma das limitações do estudo foi a pandemia pelo coronavírus ter iniciado durante o ensaio clínico, já que a existência de uma rotina é crucial nas suas vidas, as famílias encaram enormes desafios para amenizar o impacto do quadro. Como as crianças foram divididas em seis grupos de 10 para consulta e início do produto, houve diferença, em relação ao início do uso: aquelas que iniciaram antes da pandemia (COVID-19) e aquelas que iniciaram durante a mesma, visto que o ensaio clínico teve início em janeiro de 2020, e o isolamento social ocorreu em março do mesmo ano, no Brasil. Pela mesma razão, também não foi possível a realização dos exames laboratoriais após o término ensaio clínico.

Novos ensaios clínicos randomizados, duplo-cegos e placebo controlados são importantes, utilizando o extrato de cannabis rico em CBD em concentração maior e mesmo usando o CBD isolado (fitofármaco) para análises semelhantes.

Referências

- Adams, J. B., Coleman, D. M., Cooper D. L., & Bock K. A. (2019). Rating of the safety and effectiveness of marijuana, THC/CBD, and CBD for Autism Spectrum Disorders: Results of two national surveys. *Autism Open Access*, 9 (2): 1000237. <http://doi/10.4172/2165-7890.1000237>.
- Adams, R., Hunt, M., & Clark, J. H. (1940). Structure of cannabidiol, a product isolated from the marihuana extract of Minnesota wild hemp. *Journal of the American Chemical Society*, 62(1), 196–200. <http://doi/10.1021/ja01858a058>.
- Aizpurua-Olaizola, O., Soydaner, U., Öztürk, E., Schibano, D., Simsir, Y., Navarro, P., Etxebarria, N., & Usobiaga, A. (2016) Evolution of the cannabinoid and terpene content during the growth of *Cannabis sativa* plants from different chemotypes. *Journal of Natural Products*, 79(2), 324–331. <http://doi/10.1021/acs.jnatprod.5b00949>.
- Amaral, D. G., Schumann, C. M., & Nordahl, C. W. (2008). Neuroanatomy of autism. *Trends in Neurosciences*, 31(3), 137–145. <http://doi/10.1016/j.tins.2007.12.005>.
- American Psychiatric Association. (2014). *DSM-5: Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais*. Artmed.
- Anderson, C., Evans, V., De Marse, T., Febo, M., Johnson, C., & Carney, P. (2017). Cannabidiol for the treatment of drug-resistant epilepsy in children: Current state of research. *Journal of Pediatric Neurology*, 15(04), 143–150. <http://doi/10.1055/s-0037-1598109>.

- Aran, A., Cassuto, H., Lubotzky, A., Wattad, N., & Hazan, E. (2018). Brief report: cannabidiol rich cannabis in children with Autism Spectrum Disorder and severe behavioral problems— a retrospective feasibility study. *J Autism Dev Disord*, 49(3):1284-1288. <http://doi/10.1007/s10803-018-3808-2>.
- Aran, A., Eylon, M., Harel, M., Polianski, L., Nemirovski, A., Tepper, S., Schnapp, A., Cassuto, H., Wattad, N., & Tam, J. (2019). Lower circulating endocannabinoid levels in children with Autism Spectrum Disorder. *Molecular Autism*, 10(1):1-11. <http://doi/10.1186/s13229-019-0256-6>.
- Barchel, D., Stolar, O., De-Haan, T., Ziv-Baran, T., Saban, N., Fuchs, D. O., Koren, G., Berkovitch, M. (2019). Oral cannabidiol use in children with Autism Spectrum Disorder to treat related symptoms and co-morbidities. *Front Pharmacol*, 9, 1521. <http://doi/10.3389/fphar.2018.01521>.
- Bar-Lev Schleider, L., Mechoulam, R., Saban, N., Meiri G., & Novack V. (2019). Real life experience of medical cannabis treatment in autism: Analysis of safety and efficacy. *Sci Rep* 9, 200. <http://doi/10.1038/s41598-018-37570-y>.
- Baron-Cohen, S., Tsompanidis, A., Auyeung, B., Nørgaard-Pedersen, B., Hougaard, D. M., Abdallah, M., Cohen A., & Pohl, A. (2019). Foetal oestrogens and autism. *Molecular Psychiatry*, 25, 2970–2978. <http://doi/10.1038/s41380-019-0454-9>.
- Bartoszeck, A. B., & Bartoszeck, F. K. (2009). Neurociência dos seis primeiros anos: implicações educacionais. *Revista da Educação Umarama*, 9(1), 7–32. <http://www.educacao.mppr.mp.br>.

- Bauman, M. L., & Kemper, T. L. (2005). Neuroanatomic observations of the brain in autism: a review and future directions. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 23(2–3), 183–187. <http://doi/10.1016/j.ijdevneu.2004.09.006>.
- Bergamaschi, M. M., Queiroz, R. H., Chagas, M. H., de Oliveira, D. C., De Martinis, B. S., Kapczinski, F., Quevedo, J., Roesler, R., Schröder, N., Nardi, A. E., Martín-Santos, R., Hallak, J. E., Zuardi, A. W., & Crippa, J. A. (2011). Cannabidiol reduces the anxiety induced by simulated public speaking in treatment-naïve social phobia patients. *Neuropsychopharmacology*, 36(6):1219–1226. <http://doi/10.1038/npp.2011.6>.
- Bhattacharyya, S., Morrison, P. D., Fusar-Poli, P., Martin-Santos, R., Borgwardt, S., Winton-Brown, T., Nosarti, C., O' Carroll, C. M., Seal, M., Allen, P., Mehta, M. A., Stone, J. M., Tunstall, N., Giampietro, V., Kapur, S., Murray, R. M., Zuardi, A. W., Crippa, J. A., Atakan, Z., & McGuire, P. K. (2010). Opposite effects of Δ -9-Tetrahydrocannabinol and Cannabidiol on human brain function and psychopathology. *Neuropsychopharmacology*, 35(3), 764–774. <http://doi/10.1038/npp.2009.184>.
- Bilkei-Gorzo, A. (2012). The endocannabinoid system in normal and pathological brain ageing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 367(1607):3326-41. <http://doi/10.1098/rstb.2011.0388>.
- Blatt, G. J. (2012). The Neuropathology of Autism. *Scientifica*, 1–16. <http://doi/10.6064/2012/703675>.
- Borille, B. T., González, M., Steffens, L., Ortiz, R. S., & Limberger, R. P. (2017). Cannabis Sativa: a systematic review of plant analysis. *Drug Analytical Research*, 1(1), 1-23. <http://doi/10.22456/2527-2616.73676>.

- Bou Khalil, R. (2012). Would some cannabinoids ameliorate symptoms of autism? *Eur. Child. Adolesc. Psychiatry*, published online, 21(4), 237-8.
- Bourzac, K. (2012). Child development: The first steps. *Nature*, 491(7422): S7–S9. <http://doi/10.1038/491S7a>.
- Brasil (2020). Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico Nº 01. Secretaria de Vigilância em Saúde SVS/MS-COE.
- Brito, A. R., Almeida, R. S., Crenzel, G., Alves, A. S. M., Lima, R. C., & Abranches, C. D. (2020). Autism and the new challenges imposed by the COVID-19 pandemic. *Revista de Pediatria SOPERJ*: 1-6. <http://doi/10.31365>.
- Cermak, S. A., Curtin, C., & Bandini, L. G. (2010). Seletividade alimentar e sensibilidade sensorial em crianças com transtornos do espectro do autismo. *Journal of the American Dietetic Association*, 110(2), 238–246. <http://doi/10.1016/j.jada.2009.10.032>.
- Chakrabarti B., Kent L., Suckling J., Bullmore E., & Baron-Cohen S. (2006). Variations in the human cannabinoid receptor (CNR1) gene modulate striatal responses to happy faces. *Eur J Neurosci* 23(7):1944-8. <http://doi/10.1111/j.1460-9568.2006.04697.x>.
- Chakrabarti, B., Persico, A., Battista, N., & Maccarrone, M. (2015). Endocannabinoid signaling in autism. *Neurotherapeutics. The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 12(4), 837–47. <http://doi/10.1007/s13311-015-0371-9>.

- Colvert, E., Tick, B., McEwen, F., Ames, C., Curran, S., Woodhouse, E., & Bolton, P. (2015). Heritability of autism and autism spectrum disorder in a UK twin sample. *JAMA Psychiatry*, 72(5), 415–423. <http://doi/10.1001/jamapsychiatry.2014.3028>.
- Costa, R. C. G. F. D. (2013). *O estado do conhecimento sobre estimulação precoce no conjunto de teses e dissertações brasileiras no período entre 2000 e 2011*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Brasil. <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/33824>.
- Crippa, J. A. S., Zuardi, A. W., & Hallak, J. E. C. (2010). Therapeutical use of the cannabinoids in psychiatry. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 32(Suppl1): S56–S66. <http://doi/10.1590/S1516-44462010000500009>.
- Crippa, J. A., Derenusson, G. N., Ferrari, T. B., Wichert-Ana, L., Duran, F. L., Martin-Santos, R., Simões, M. V., Bhattacharyya, S., Fusar-Poli, P., Atakan, Z., Santos Filho, A., Freitas-Ferrari, M. C., McGuire, P. K., Zuardi, A. W., Busatto, G. F., & Hallak, J. E. (2011). Neural basis of anxiolytic effects of cannabidiol (CBD) in generalized social anxiety disorder: a preliminary report. *J Psychopharmacol*, 25(1):121–130. <http://doi/10.1177/02698811110379283>.
- Cunha, J. M., Carlini, E. A., Pereira, A. E., Ramos, O. L., Pimentel, C., Gagliardi, R., Sanvito, W.L., Lander, N., & Mechoulam, R. (1980). Chronic administration of cannabidiol to healthy volunteers and epileptic patients. *Pharmacology*, 21(3), 175-185. <http://doi/10.1159/000137430>.
- Curran, H. V., Wiffen, P., Nutt, D. J., & Scholten, W. (2016). Cannabis and cannabis resin, pre-

review report. In *A document prepared for the world health organization expert committee on drug dependence, thirty-eight meeting*, Geneva, 14 – 18.

De Backer, B., Maebe, K., Verstraete, A. G., & Charlier, C. (2012). Evolution of the content of THC and other major cannabinoids in drug-type cannabis cuttings and seedlings during growth of plants. *Forensic Science International*, 57(4), 918–922. <http://doi/10.1111/j.1556-4029.2012.02068.x>

de la Torre-Ubieta, L., Won, H., Stein, J. L., & Geschwind, D. H. (2016). Advancing the understanding of autism disease mechanisms through genetics. *Nat Med*, 22(4): 345–361. <http://doi/10.1038/nm.407>.

Devinsky, O., Cross, J. H., Laux, L., Marsh, E., Miller, I., Nabbout, R., Scheffer, I. E., Thiele E. A., & Wright, S. (2017). Trial of cannabidiol for drug-resistant seizures in the Dravet syndrome. *N Engl J Med*, 376(21):2011–2020. <http://doi/10.1056/NEJMoa1611618>.

Devinsky, O., Patel, A. D., Cross, J. H., Villanueva, V., Privitera, M., Roberts, C., Checketts, D., Vanlandingham, K., Zuberi, S. M., Wirrell, E. C., & Greenwood, S. M. (2018). Effect of cannabidiol on drop seizures in the Lennox-Gastaut syndrome. *N Engl J Med*, 378(20):1888–1897. <http://doi/10.1056/NEJMoa1714631>.

Di Marzo, V., & Matias, I. (2005). Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nat Neurosci*, 8(5):585-9. <http://doi/10.1038/nn1457>.

Diamond, A. (2013). Executive Functions. *Annual Review of Psychology*, 64(1), 135–168. <http://doi/10.1146/annurev-psych-113011-143750>.

- DiCicco-Bloom, E., Lord, C., Zwaigenbaum, L., Courchesne, E., Dager, S. R., Schmitz, C., Schultz, R. T., Crawley, J., & Young, L. J. (2006). The developmental neurobiology of autism spectrum disorder. *Journal of Neuroscience*, 26(26), 6897–6906. <http://doi/10.1523/JNEUROSCI.1712-06.2006>.
- Doherty, G. (1997). Zero to six: the basis for schoolreadiness. Human Resources Development Canada, Strategic Policy, Applied Research Branch.
- Eickmann, S. H., Emond, A. M., & Lima, M. (2016). Evaluation of child development: beyond the neuromotor aspect. *Jornal de Pediatria*, 92(3), S71–S83. <http://doi/10.1016/j.jpmed.2016.01.007>.
- Fleury-Teixeira, P., Caixeta, F. V., Ramires da Silva, L. C., Brasil-Neto, J. P., & Malcher-Lopes (2019). Effects of CBD-enriched Cannabis sativa extract on autism spectrum disorder symptoms: an observational study of 18 participants undergoing compassionate use. *Frontiers in neurology*, 10, 1145. <http://doi/10.3389/fneur.2019.01145>.
- Fombonne, E. (2005). Epidemiology of autistic disorder and other pervasive developmental disorders. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 66(Suppl.), 3–8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16401144>.
- Food and Drug Administration (2018). Press announcements — FDA approves first drug comprised of an active ingredient derived from marijuana to treat rare, severe forms of epilepsy. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-drug-comprised-active-ingredient-derived-marijuana-treat-rare-severe-forms>.
- Garbett, K., Ebert, P. J., Mitchell, A., Lintas, C., Manzi, B., Mirnics, K., & Persico, A. M.

- (2008). Immune transcriptome alterations in the temporal cortex of subjects with autism. *Neurobiology of Disease*, 30(3), 303–311. <http://doi/10.1016/j.nbd.2008.01.012>.
- Geschwind, D. H., & Levitt, P. (2007). Autism spectrum disorders: developmental disconnection syndromes. *Current Opinion in Neurobiology*, 17(1), 103–111. <http://doi/10.1016/j.conb.2007.01.009>.
- Geschwind, D. H. (2011). Genetics of autism spectrum disorders. *Trends Cogn. Sci.* published online, 15(9): 409-416.
- Godoy-Matos, A. F., Guedes, E. P., Souza, L. L., & Valério, C. M. (2006). O sistema endocanabinoide: novo paradigma no tratamento da síndrome metabólica. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 50(2), 390-99. <http://doi/10.1590/S0004-27302006000200025>.
- Gomes, F. A. (2012). Comorbidades clínicas em Psiquiatria. Atheneu.
- Gomes, P. T. M., Lima, L. H. L., Bueno, M. K. G., Araújo, L. A., & Souza, N. M. (2015). Autism in Brazil: a systematic review of family challenges and coping strategies. *Jornal de Pediatria*, 91(2), 111–121. <http://doi/10.1016/j.jpmed.2014.08.009>.
- Gu, B. (2017). Cannabidiol provides viable treatment opportunity for multiple neurological pathologies of autism spectrum disorder. *Global Drugs and Therapeutics*, 2(6), 1-4. <http://doi/10.15761/GDT.1000134>.
- Gulbransen, G., Xu, W., & Arroll, B. (2020). Cannabidiol prescription in clinical practice: an audit on the first 400 patients in New Zealand. *BJGP Open*, 4(1), 1-8. <http://doi/10.3399/bjgpopen20X101010>.

- Hahamy, A., Behrmann, M., & Malach, R. (2015). The idiosyncratic brain: distortion of spontaneous connectivity patterns in autism spectrum disorder. *Nature Neuroscience*, 18(2), 302–309. <http://doi/10.1038/nn.3919>.
- Hampson, A. J., Grimaldi, M., Axelrod, J., & Wink, D. (1998). Cannabidiol and (–) Δ^9 -tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(14), 8268-8273. <http://doi/10.1073/pnas.95.14.8268>.
- Handen, B. L., Johnson, C. R., McAuliffe-Bellin, S., Murray, P. J., & Hardan, A.Y. (2011). Safety and efficacy of donepezil in children and adolescents with autism: Neuropsychological measures. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*, 21(1), 43–50. <http://doi/10.1089/cap.2010.0024>.
- Happe, F. & Frith, U. (2020). Annual Research Review: Looking back to look forward – changes in the concept of autism and implications for future research. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 61(3), 218-232. <http://doi/10.1111/jcpp.13176>.
- Honório, K. M., Arroio, A., & Silva, A. B. F. (2006). Aspectos terapêuticos de compostos da planta *Cannabis sativa*. *Química Nova*, 29(2), 318.
- Iannotti, F.A., Hill, C., Leo, A., Alhusaini, A., Soubrane, C., Mazzarella, E. & Russo, E., Whalley, B., Di Marzo, V., & Stephens, G. (2014). Nonpsychotropic plant cannabinoids, cannabidivarin (CBDV) and cannabidiol (CBD), activate and desensitize transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) channels in vitro: Potential for the treatment of neuronal hyperexcitability. *ACS chemical neuroscience*, 5(11), 1131-1141. <http://doi/10.1021/cn5000524>.

- Jones, C. R. G., Simonoff, E., Baird, G., Pickles, A., Marsden, A. J. S., Tregay, J., Happé, F., & Charman, T. (2017). The association between theory of mind, executive function, and the symptoms of autism spectrum disorder: Cognitive and behavioural associations in ASD. *Autism Research*, 11 (1), 95-109. [http://doi/ 10.1002/aur.1873](http://doi/10.1002/aur.1873).
- Jung, K.M., Sepers, M., Henstridge, C. M., Lassalle, O., Neuhofer, D., Martin, H., Ginger, M., Frick, A., DiPatrizio, N.V., Mackie, K., Katona, I., Piomelli, D., & Manzoni, O. J. (2012). Uncoupling of the endocannabinoid signalling complex in a mouse model of fragile X syndrome. *Nat Commun* 3(1), 1-11. <http://doi/10.1038/ncomms2045>.
- Kendall, D. A., & Yudowski, G. A. (2017). Cannabinoid receptors in the central nervous system: their signaling and roles in disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 10, 294. <http://doi/10.3389/fncel.2016.00294>.
- Khalil, R. (2012). Would some cannabinoids ameliorate symptoms of autism? *European Child & Adolescent Psychiatry*, 21(4): 237–238. <http://doi/10.1007/s00787-012-0255-z>.
- Koppel, B. S., Brust, J. C., Fife, T., Bronstein, J., Youssof, S., Gronseth, G., & Gloss, D. (2014). Systematic review: efficacy and safety of medical marijuana in selected neurologic disorders: report of the Guideline Development Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, 82(17): 1556–1563. <http://doi/10.1212/WNL.0000000000000363>.
- Kuester, G., Vergara, K., Ahumada, A., & Gazmuri, A. M. (2017). Oral cannabis extracts as a promising treatment for the core symptoms of autism spectrum disorder: Preliminary

- experience in Chilean patients. *Journal of the Neurological Sciences*, 381:932-933. <http://doi/10.1016/j.jns.2017.08.2623>.
- Kurz, R. & Blaas, K. (2010). Use of dronabinol (delta-9-THC) in autism: a prospective single-case-study with an early infantile autistic child. *Cannabinoids*, 5(4), 4–6. <https://www.cannabis-med.org>.
- Kwan, P., Arzimanoglou, A., Berg, A. T., Brodie, M. J., Allen Hauser, W., Mathern, G., Moshé, S. L., Perucca, E., Wiebe, S., & French, J. (2010). Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal of the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*, 51 (6), 1069–77. <http://doi/10.1111/j.1528-1167.2009.02397.x>.
- Lázaro, C. P., & Pondé, M. P. (2017). Narrativas de mães de crianças com transtornos do espectro do autismo: enfoque no comportamento alimentar. *Trends in Psychiatry and Psychotherapy*, 39 (3), 4-11. <https://doi/10.1590/2237-6089-2017-0004>.
- Leweke, F. M., Schneider, U., Radwan, M., Schmidt, E., & Emrich, H. M. (2000). Different effects of nabilone and cannabidiol on binocular depth inversion in Man. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 66(1), 175–81. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10837858>.
- Maccarrone, M., Dainese, E., & Oddi, S. (2010). Intracellular trafficking of anandamide: new concepts for signaling. *Trends in Biochemical Sciences*, 35(11), 601-608. <http://doi/10.1016/j.tibs.2010.05.008>.

- Mackie, K. (2008). Signaling via CNS cannabinoid receptors. *Mol Cell Endocrinol*, 286 (1-2 Suppl 1):S60-5. <http://doi/10.1016/j.mce.2008.01.022>.
- Maia, F. A., Almeida, M. T. C., Alves, M. R., Bandeira, L. V. S., Silva, V. B., Nunes, N. F., Cardoso, L. C. G., & Silveira, M. G. (2018). Transtorno do espectro do autismo e idade dos genitores: estudo de caso-controle no Brasil. *Cad. Saúde Pública*; 34(8):e00109917. <http://doi/10.1590/0102-311X00109917>.
- Marco, E. & Laviola, G. (2011). The endocannabinoid system in the regulation of emotions throughout lifespan: A discussion on therapeutic perspectives. *Journal of psychopharmacology*. 26(1), 150-63. <http://doi/10.1177/0269881111408459>.
- Maroso, M., Szabo, G. G., Kim, H. K., Alexander, A., Bui, A. D., Lee, S. H., Lutz, B., & Soltesz, I. (2016). Cannabinoid control of learning and memory through HCN channels. *Neuron*, 89(5), 1059-73. <http://doi/10.1016/j.neuron.2016.01.023>.
- Massrali, A., Brunel, H., Hannon, E., Wong, C., Baron-Cohen, S., & Warrier, V. (2018). Integrated genetic and methylomic analyses identify shared biology between autism and autistic traits. *Molecular Autism*, 10(1), 31. <http://doi/10.1186/s13229-019-0279-z>.
- Morano, A., Fanella, M., Albin, M., Cifelli P., Palma E., Giallonardo A. T., & Di Bonaventura C. (2020). Cannabinoids in the treatment of epilepsy: Current status and future prospects. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 16, 381–396. <http://doi/10.2147/NDT.S203782>.
- NICE - National Institute for Health and Care Excellence (2011). Sep 28. London, UK. PMID: 31999412.

- Ozonoff, S., Young, G. S., Carter, A., Messinger, D., Yirmiya, N., Zwaigenbaum, L., Bryson, S., Carver, L. J., Constantino, J. N., Dobkins, K., Hutman, T., Iverson, J. M., Landa, R., Rogers, S. J., Sigman, M., & Stone, W. L. (2011). Recurrence risk for autism spectrum disorders: a baby siblings research consortium study. *Pediatrics*, 128(3), 488–495. <http://doi/10.1542/peds.2010-2825>.
- Pereira, A., Riesgo, R.S., & Wagner, M.B. (2008). Childhood autism: translation and validation of the Childhood Autism Rating Scale for use in Brazil. *Jornal de Pediatria*, 84(6), 487-494. <http://doi/10.2223/JPED.1828>.
- Perissinoto, J. (Org.). (2003). *Linguagem da criança com autismo: conhecimentos essenciais para atender bem as crianças com autismo*. Pulso, 39-44.
- Persico, A. M., & Merelli, S. (2014). Environmental Factors in the Onset of Autism Spectrum Disorder. *Current Developmental Disorders Reports*, 1(1), 8–19. <http://doi/10.1007/s40474-013-0002-2>.
- Persico, A. M., & Napolioni, V. (2013). Autism genetics. *Behavioural Brain Research*, 251, 95–112. <http://doi/10.1016/j.bbr.2013.06.012>.
- Pope, C., Mechoulam, R., & Parsons, L. (2010). Endocannabinoid signaling in neurotoxicity and neuroprotection. *NeuroToxicology*, 31(5), 562–571. <http://doi/10.1016/j.neuro.2009.12.002>.
- Puighermanal, E., Busquets-Garcia, A., Gomis-González, M., Marsicano, G., Maldonado, R., & Ozaita, A. (2013). Dissociation of the pharmacological effects of THC by mTOR blockade. *Neuropsychopharmacology*, 38(7):1334-43. <http://doi/10.1038/npp.2013.31>.

- Rice, D., & Barone, S. (2000). Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environmental Health Perspectives*, 108(Suppl 3), 511–33. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10852851>.
- Rimland, B., & Edelson, S. (1999). Autism Research Institute. *Autism Treatment Evaluation Checklist (ATEC)*.
- Russo, E. B. (2011). Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid - terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology*, 163(7;0), 1344-1364. <http://doi/10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x>.
- Saito, V. M., Wotjak, C. T., & Moreira, F. A. (2010). Exploração farmacológica do sistema endocanabinoide: novas perspectivas para o tratamento de transtornos de ansiedade e depressão. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 32, 57-514. <http://doi/10.1590/S1516-44462010000500004>.
- Sanders, S., Murtha, M., Gupta, A. et al. (2012). De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism. *Nature*, 485(7397), 237–241. <http://doi/10.1038/nature10945>.
- Schopler, E., Reichler, R. J., & Renner, B. R. (1988). The Childhood Autism Rating Scale. *Western Psychological Services*.
- Shannon, S., Lewis, N., Lee, H. & Hughes, S. (2019) Cannabidiol in anxiety and sleep: a large case series. *Perm J*. 23,18–41. <http://doi/10.7812/TPP/18-041>.
- Siniscalco, D., Sapone, A., Giordano, C., Cirillo, A., de Magistris, L., Rossi F., Fasano, A.,

- Bradstreet, J. J., Maione, S., & Antonucci, N. (2013). Cannabinoid receptor type 2, but not type 1, is up-regulated in peripheral blood mononuclear cells of children affected by autistic disorders. *J Autism Dev Disord.* 43(11), 2686-95. <http://doi/10.1007/s10803-013-1824-9>.
- Silva Junior, E., Medeiros, W., Sousa, J., Almeida, I., Costa, F., Pontes, K., Nunes, E., Torro, N., Rosa, M., & Albuquerque, K. (2021). Cannabis and cannabinoids use in autism spectrum disorder: a systematic review. *Trends Psychiatry Psychother.* <http://dx.doi.org/10.47626/2237-6089-2020-0149>.
- Spence, S. J. & Schneider, M.T. (2009). The role of epilepsy and epileptiform EEGs in autism spectrum disorders. *Pediatr Res,* 65(6), 599-606. <http://doi/10.1203/PDR.0b013e31819e7168>.
- Szatmari, P., Chawarska, K., Dawson, G., Georgiades, S., Landa, R., Lord, C., Messinger, D. S., Thurm, A., & Halladay, A. (2016). Prospective longitudinal studies of infant siblings of children with autism: Lessons learned and future directions. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry,* 55(3), 179–187. <http://doi/10.1016/j.jaac.2015.12.014>.
- Tamanaha, A. C., Machado, G. M. G, Loebmann, C., & Perissinoto, J. (2014). Process of speech acquisition and development of autistic children with or without autistic regression. *Co-DAS,* 26(4), 265-269. <http://doi/10.1590/2317-1782/201420130021>.
- Tarazi, F., Sahli, Z., Pleskow, J., & Mousa, S. (2015). Asperger's syndrome: diagnosis, comorbidity and therapy. *Expert Review of Neurotherapeutics,* 15(3), 281–293. <http://doi/10.1586/14737175.2015.1009898>.

Trezza, V., Damsteegt, R., Manduca, A., Petrosino, S., Van Kerkhof, L.W., Pasterkamp, R. J., Zhou, Y., Campolongo, P., Cuomo, V., Di Marzo, V., & Vanderschuren, L. J. (2012). Endocannabinoids in amygdala and nucleus accumbens mediate social play reward in adolescent rats. *J Neurosci*, 24: 32(43), 14899-908. <http://doi/10.1523/JNEUROSCI.0114-12.2012>.

Tuchman, R., & Rapin, I. (2009). *Autismo: abordagem neurobiológica*. Artmed.

Vargas, D. L., Nascimbene, C., Krishnan, C., Zimmerman, A. W., & Pardo, C. A. (2005). Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Annals of Neurology*, 57(1), 67–81. <http://doi/10.1002/ana.20315>.

Wolff, D. & Reijneveld, S. A. (2019). [Use of cannabidiol oil in children]. *Ned Tijdschr Geneeskd*. 3;163, pmid: 31120211.

Wimmer, H. & Perner, J. (1983). Beliefs about beliefs: representation and constraining function of wrong beliefs in young children's understanding of deception. *Cognition*, 13, 103-128. [http://doi/10.1016/0010-0277\(83\)90004-5](http://doi/10.1016/0010-0277(83)90004-5).

Zablotsky, B, Black, L. I, Maenner, M. J, Schieve, L. A, Blumberg, S. J. (2015). Estimated Prevalence of Autism and Other Developmental Disabilities Following Questionnaire Changes in the 2014 National Health Interview Survey. *Natl Health Stat Report*, 87, 1–20.

Zuardi, A.W. (2006). History of cannabis as a medicine: a review. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 28(2), 153–7. <http://doi/S1516-44462006000200015>.

Zuardi, A.W., Cosme, R. A., Graeff, F. G., & Guimarães, F. S. (1993). Effects of ipsapirone and cannabidiol on human experimental anxiety. *J Psychopharmacol*, 7(Suppl 1), 82–88. <http://doi/10.1177/026988119300700112>.

Zuardi, A.W., Rodrigues, J.A., & Cunha, J.M. (1991). Effects of cannabidiol in animal models predictive of antipsychotic activity. *Psychopharmacology*, 104(2), 260–4. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1678894>.

ANEXO A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) direcionado ao responsável legal pelo paciente _____.

João Pessoa, _____ de _____ de 20____.

Prezado(a) Senhor(a),

Essa pesquisa trata-se do uso de um produto à base de *Cannabis sativa* rico em Canabidiol (CBD) em pacientes com transtorno do espectro autista (TEA) e será desenvolvida pelos pesquisadores Estácio Amaro da Silva Junior, Médico Psiquiatra Infantil especialista em autismo e Wandersonia Moreira Brito Medeiros, Neuropsicóloga sob a orientação da Professora Dra. Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque, Professora Dra. Marine Raquel Diniz da Rosa e Dr. Nelson Torro Alves, todos docentes da Universidade Federal da Paraíba.

O principal objetivo desse estudo é avaliar, através do acompanhamento psiquiátrico, farmacêutico e neuropsicológico, o efeito do produto à base de *Cannabis sativa* rico em Canabidiol, como adjuvante terapêutico, em crianças com o Transtorno do Espectro Autista. Além de avaliar efeitos colaterais e adversos, detectar se há ou não interação medicamentosa entre o CBD e outros fármacos usados pelo paciente e caso haja, procurar resolvê-la.

Os riscos da pesquisa em questão são mínimos, visto que, o produto a ser testado já é certificado e comercializado nos Estados Unidos e em outros países sem registro de efeitos colaterais graves. Entretanto, caso o paciente apresente alguma piora do quadro ou qualquer indisposição que possa estar associada ao início da pesquisa, ele será imediatamente retirado do esquema terapêutico e receberá toda assistência pelo Médico responsável. Em relação aos benefícios, caso os desfechos primários e secundários dessa pesquisa sejam alcançados, as crianças com TEA terão uma nova alternativa terapêutica para tratamento dos sintomas associados a essa doença e melhora da qualidade de vida. Além disso, caso seja demonstrado sucesso na terapia com o Isoderm para o TEA, todos os participantes do estudo receberão um desconto na aquisição do produto e todo suporte do Laboratório para sua importação. É importante ressaltar que todos os resultados serão apresentados aos participantes envolvidos na pesquisa e publicados em revistas científicas indexadas.

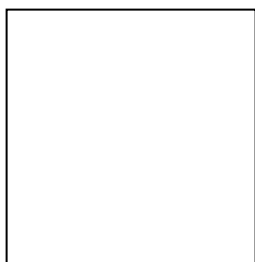
Solicitamos a sua colaboração para responder os questionários e as fichas de acompanhamento farmacoterapêutico, quando necessário, como também sua autorização para realização de filmagem e fotos, durante as avaliações com os Pesquisadores envolvidos nessa pesquisa, e utilização de todo material produzido no decorrer dessa pesquisa para apresentar, juntamente com os resultados deste estudo, em eventos da área de saúde, além de publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano. Esclarecemos ainda, que não haverá ressarcimento ou algum tipo de indenização aos que aceitarem participar desse projeto, visto que todas as despesas referentes a esse projeto serão arcadas pela equipe. Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido (a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente de que receberei uma cópia desse documento. Declaro ainda, que sou representante legal desse paciente participante dessa pesquisa.

Caso necessie de maiores informações sobre o presente estudo, favor entrar em contato com qualquer um dos pesquisadores participantes da pesquisa: Dr. Estácio Amaro da Silva Junior (celular (83) 99992-7175); Dra. Wandersonia Moreira Brito Medeiros (celular (83) 98836-6729); Dra. Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque (celular (83) 98811-9008); Dra. Marine Raquel Diniz da Rosa (celular (83) 99900-1282); Dr. Nelson Torro Alves (celular (83) 99111-0423) ou no Laboratório de Neurociência Social do CCHLA/UEPB (telefone 3216-7330).

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, Envolvendo Seres Humanos, no endereço: Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba Campus I - Cidade Universitária - 1º Andar – CEP 58051-900 – João Pessoa/PB ☎ (83) 3216-7791 – E-mail: eticaccsufpb@hotmail.com



Assinatura do Responsável Legal

Assinatura do Pesquisador Participante

Obs.: O sujeito da pesquisa ou seu representante e o pesquisador participante deverão rubricar todas as folhas do TCLE apondo suas assinaturas, com letra legível, na última página do referido Termo.

ANEXO B

Roteiro de entrevista semiestruturada elaborada pelos pesquisadores

ROTEIRO DE ENTREVISTA SEMIESTRUTURADA

DATA: _____

DADOS DO CUIDADOR

Nome dos pais e/ou cuidadores: _____

Data(s) de nascimento: _____

Idade: _____

Grau de parentesco: _____

Profissão: _____

Escolaridade: () Analfabeto (funcional ou não)

() Fundamental incompleto

() Fundamental completo

() Ensino Médio incompleto

() Ensino Médio completo

() Ensino Superior incompleto

() Ensino Superior completo

() Pós-Graduação (Especialização, Mes

Estado civil: () Solteiro () Casado () Divorci

Possui outros filhos: () Sim. Quantos? _____

Possui outro filho especial: () Sim. Quantos? _____ () Se sim: TEA? _____ () Não

Número de adultos em casa: _____

Você cuida de mais alguém na casa? () Sim. Quem? _____ () Não

Reside com a criança? () Sim () Não

Renda familiar: () Menor do que 1 salário mínimo

() Entre 1 e 3 salários mínimos

() Acima de 3 salários mínimos

Trabalha? () Sim () Não. Há quanto tempo deixou de trabalhar? _____

Tipo de moradia: () própria () alugada () emprestada () outros _____

Local da moradia: () urbana () rural

Quantas pessoas moram na casa? _____

DADOS DA CRIANÇA

Nome da Criança: _____

Gênero: () Feminino () Masculino

Data de nascimento: _____ Idade: _____

Procedência (CIDADE ONDE RESIDE): _____

Escolaridade (FREQUENTA ESCOLA?): () Sim. Qual série? _____ () Não

Frequenta alguma instituição de Apoio? () Sim. Qual? _____ () Não
() Pública () Particular

Tratamentos: () TO () Fisio () Fono () Psicologia () Pedagogia () Outros _____

Usa algum tipo de medicamento para os sintomas do TEA?

() Sim. Qual? _____ () Não

DADOS CLÍNICOS DA CRIANÇA

Todas as perguntas abaixo serão respondidas pelos pais/cuidadores, de acordo com sua percepção, antes do início do tratamento, no 3º e 6º meses após início do tratamento.

1) Para avaliar o nível de agressividade da criança, assinale o número que melhor representa esse nível de agressividade:

Não é agressivo	Pouco agressivo	Agressividade moderada	Agressividade alta	Agressividade muito alta que causa lesão
0	1	2	3	4

2) Para avaliar o nível de agitação psicomotora da criança, assinale o número que melhor representa esse nível de agitação:

Não é agitado	Pouco agitado	Agitação moderada	Agitação alta	Agitação muito alta que leva a riscos
0	1	2	3	4

3) Para avaliar o nível de concentração da criança em tarefas, assinale o número que melhor representa esse nível de concentração:

Excelente concentração	Boa concentração	Concentração moderada	Concentração Ruim	Concentração Muito ruim
0	1	2	3	4

4) Para avaliar o apetite da criança, assinale o número que melhor representa esse nível de apetite:

Alimenta-se muito bem (5 ou mais refeições/dia)	Alimenta-se bem (4 refeições/dia)	Alimenta-se moderadamente (3 refeições/dia)	Alimenta-se pouco (2 refeições/dia)	Alimenta-se muito pouco (1 refeição/dia)
0	1	2	3	4

Alimentação seletiva? () Sim Não ()

5) Para avaliar o duração do sono da criança, assinale o número que melhor representa essa duração:

Dorme muito bem (≥ 8 h/dia)	Dorme bem (entre 6 e 7h/dia)	Dorme Moderadamente (entre 5 e 6 h/dia)	Dorme Ruim (entre 3 e 4 h/dia)	Dorme muito ruim (≤ 2 h/dia)
0	1	2	3	4

6) Para avaliar o grau de interação da criança com outras crianças, assinale o número que melhor representa essa interação:

Interage muito bem	Interage bem	Interage Moderadamente	Quase não interage	Nunca interage
0	1	2	3	4

7) Para avaliar o nível da linguagem verbal da criança, assinale o número que melhor representa essa linguagem:

Fala muito bem (fala muitas frases sem dificuldade)	Fala bem (fala poucas frases)	Fala Moderadamente (algumas palavras)	Fala pouco (poucas palavras)	Não fala nenhuma palavra
0	1	2	3	4

8) Para avaliar o nível de ansiedade da criança, assinale o número que melhor representa essa ansiedade:

Não é ansioso	Pouco ansioso	Ansiedade moderada	Ansioso	Muito ansioso
0	1	2	3	4

9) Para avaliar movimentos repetitivos e estereotipados da criança, assinale o número que melhor representa os movimentos:

Não apresenta movimentos repetitivos	Poucos movimentos repetitivos	Movimentos repetitivos moderados	Muitos movimentos repetitivos	Movimentos repetitivos que causam riscos
0	1	2	3	4

10) Para avaliar o nível de gravidade do autismo da criança, assinale a alternativa abaixo?

- Leve (necessita de apoio)
- Moderado (necessita de apoio substancial)
- Grave (necessita de apoio muito substancial)

11) Como é a sua qualidade de vida por cuidar de uma criança do espectro autista?

- Meu cônjuge se separou de mim
- Estou cansado (a)
- Desenvolvi um transtorno mental (como ansiedade, depressão, etc.)
- Sinto-me sem apoio para cuidar dela
- Lido bem com a situação
- Outros _____

ANEXO C

Certidão de Aprovação do CEP

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO DE CANNABIS RICO EM CANABIDIOL, COMO ADJUVANTE TERAPÊUTICO, EM CRIANÇAS COM O TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA

Pesquisador: Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 89392518.4.0000.5188

Instituição Proponente: Centro de Ciência da Saúde

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.707.102

Apresentação do Projeto:

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é um transtorno do neurodesenvolvimento caracterizado por déficits persistentes na comunicação social e na interação social, em múltiplos contextos, além da presença de padrões restritos e repetitivos de comportamento, interesses ou atividades, conforme a 5ª versão do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5). Em relação ao seu diagnóstico, que é clínico, portanto, não existem exames laboratoriais, de imagem ou genéticos que possam confirmá-lo, podem ser utilizados especificadores: com ou sem comprometimento intelectual, com ou sem comprometimento da linguagem, associado a alguma condição médica ou genética conhecida ou a um fator ambiental (APA, 2014).

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o efeito do extrato de Cannabis ríco em CBD, como adjuvante terapêutico, em crianças com o Transtorno do Espectro Autista.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e benefícios foram esclarecidos na proposta de pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo de relevância clínica.

Endereço: UNIVERSITARIO S/N
Bairro: CASTELO BRANCO CEP: 58.051-900
UF: PB Município: JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 Fax: (83)3216-7791 E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

Continuação do Parecer: 2.707.102

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Em conformidade com as recomendações deste CEP.

Recomendações:

Referir a Resolução nº 466/12 CONEP/MS no TCLE.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Recomendamos a execução da pesquisa, salvo melhor juízo.

Considerações Finais a critério do CEP:

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou a execução do referido projeto de pesquisa.

Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à submissão do Relatório Final na Plataforma Brasil, via Notificação, para fins de apreciação e aprovação por este egrégio Comitê.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1132021.pdf	10/05/2018 16:27:05		Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRostoPlataformaBrasilAssinada.pdf	10/05/2018 16:25:45	Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque	Aceito
Outros	SentençaAutorizaçaoJudicialABRACE.pdf	10/05/2018 12:05:45	Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoENVIADOCEP.pdf	10/05/2018 12:00:21	Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque	Aceito
Outros	EQUIPEPARTICIPANTE.pdf	09/05/2018 20:35:26	Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque	Aceito
Outros	DeclaraçaoParceriaABRACE.pdf	09/05/2018 20:30:41	Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque	Aceito
Outros	CERTIDAOAPROVACAODEPARTAMENTO.pdf	09/05/2018 20:30:06	Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque	Aceito
Declaração de Instituição e	CartaAnuencialrealizaçaoesquisa.pdf	09/05/2018 20:29:13	Katy Lísias Gondim Dias de	Aceito

Endereço: UNIVERSITARIO S/N
Bairro: CASTELO BRANCO CEP: 58.051-900
UF: PB Município: JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 Fax: (83)3216-7791 E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA



Continuação do Parecer: 2.707.102

Infraestrutura	CartaAnuencialocalrealizacaopesquisa.pdf	09/05/2018 20:29:13	Albuquerque	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	09/05/2018 20:27:35	Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JOAO PESSOA, 12 de Junho de 2018

Assinado por:

Eliane Marques Duarte de Sousa
(Coordenador)

Endereço: UNIVERSITARIO S/N
Bairro: CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

Página 03 de 03

ANEXO D

Artigo 1

Cannabis and cannabinoids use in autism spectrum disorder: a systematic review

O uso da cannabis e canabinoides no transtorno do espectro autista: uma revisão sistemática

Cannabis use in autism: a systematic review

O uso da cannabis no autismo: uma revisão sistemática

Estácio Amaro da Silva Junior¹, Wandersonia Moreira Brito Medeiros¹, João Marçal Medeiros de Sousa², Igor Bronzeado Cahino Moura de Almeida², Filipe Barbosa da Costa², Katiúscia Moreira Pontes², Eliane Lima Guerra Nunes³, Nelson Torro⁴, Marlene Diniz da Rosa⁵, Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque⁶

¹ Department of Psychology. Graduate Program in Cognitive Neuroscience and Behavior, Federal University of Paraíba. João Pessoa, PB, Brazil.

² Federal University of Paraíba. João Pessoa, PB, Brazil.

³ Director of the Brazilian Cannabis Study Society.

⁴ Department of Psychology, Federal University of Paraíba. João Pessoa, PB, Brazil.

⁵ Department of Speech Therapy, Federal University of Paraíba. João Pessoa, PB, Brazil.

⁶ Department of Physiology and Pathology, Federal University of Paraíba. João Pessoa, PB, Brazil.

Corresponding author:

Estácio Amaro da Silva Junior.

Avenida Monteiro Lobato, 663/1701. Tambaú. João Pessoa-PB, Brasil. CEP: 58039-170.

Email: estacioamaro@yahoo.com.br.

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8412-6705>.

* This study received no financial support.

* No author has a conflict of interest regarding the publication of this study.

* This study was registered in the International Prospective Register of Systematic Reviews database (PROSPERO) with the code 164161.

* There are 3.025 words, one Figure and one Table.

* Review article

* The last review of the literature carried out by the authors on the subject of this manuscript was in October 2020.

Authors (with profession and emails):

Estácio Amaro da Silva Junior – Psychiatrist. Department of Psychology. Graduate Program in Cognitive Neuroscience and Behavior, Federal University of Paraíba. João Pessoa, PB, Brazil. Email: estacioamaro@yahoo.com.br.

Wandersonia Moreira Brito Medeiros – Psychologist. Department of Psychology. Graduate Program in Cognitive Neuroscience and Behavior, Federal University of Paraíba. João Pessoa, PB, Brazil. Email: wandersoniamedeiros@hotmail.com.

João Marçal Medeiros de Sousa – University student. Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: joaomarc489@gmail.com.

Igor Bronzeado Cahino Moura de Almeida – University student. Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: igorcahino900@gmail.com.

Filipe Barbosa da Costa – University student. Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: stphilipe93@gmail.com.

Katiúscia Moreira Pontes – University student. Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: katipontes@hotmail.com.

Eliane Lima Guerra Nunes – Psychiatrist and Psychoanalyst. Director of the Brazilian Cannabis Study Society, Brazil. Email: psicanalisepsiquiatria@gmail.com.

Nelson Torro, Department of Psychology – Psychologist. Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: nelsontorro@gmail.com.

Marine Diniz da Rosa – Speech therapist. Department of Speech Therapy, Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: mrdrosa@yahoo.com.br.

Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque – Pharmaceutical. Department of Physiology and Pathology, Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: katylisias@gmail.com.

ABSTRACT

Introduction

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental disorder characterized by persistent deficits in social communication and social interaction associated with the presence of restricted and repetitive patterns of behavior, interests or activities, and cannabis has been used to symptoms associated with the autism.

Method

We carried out a systematic review of studies that investigated the clinical effects of cannabis and cannabinoids on ASD, according to the PRISMA Checklist. The search was carried out in four databases: Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE/PUBMED), Scientific Electronic Library Online (SciELO), Scopus and Web of Science.

Results

Some studies showed that cannabis products reduced the number and/or intensity of different symptoms, including hyperactivity, attacks of self-mutilation and anger, sleep problems, anxiety, restlessness, psychomotor agitation, irritability, aggressiveness

perseverance, and depression. Moreover, they found an improvement in cognition, sensory sensitivity, attention, social interaction, and language.

Conclusion

Cannabis and cannabinoids may have promising effects in the treatment of symptoms related to ASD, and can be used as a therapeutic alternative in the relief of the symptoms. However, randomized, blind and controlled placebo clinical trials are necessary to clarify the findings on the effects of cannabis and its cannabinoids in individuals with autism spectrum disorder.

Keywords: cannabis, cannabidiol, cannabinoid, autism, systematic review.

RESUMO

Introdução

O Transtorno do Espectro do Autismo (TEA) é um transtorno do neurodesenvolvimento caracterizado por déficits persistentes na comunicação social e na interação social associados à presença de padrões restritos e repetitivos de comportamento, interesses ou atividades, e a cannabis tem sido usada para sintomas associados ao autismo.

Método

Realizamos uma revisão sistemática de estudos que investigaram os efeitos clínicos da cannabis e dos canabinoides no TEA, de acordo com o PRISMA Checklist. A busca foi realizada em quatro bases de dados: Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE / PUBMED), Scientific Electronic Library Online (SciELO), Scopus e Web of Science.

Resultados

Alguns estudos mostraram que os produtos de cannabis reduziram o número e/ou intensidade de diferentes sintomas, incluindo hiperatividade, ataques de automutilação e raiva, problemas de sono, ansiedade, inquietação, agitação psicomotora,

irritabilidade, agressividade, perseverança e depressão. Além disso, eles encontraram uma melhora na cognição, sensibilidade sensorial, atenção, interação social e linguagem.

Conclusão

A cannabis e os canabinoides podem ter efeitos promissores no tratamento de sintomas relacionados ao TEA e podem ser usados como alternativa terapêutica no alívio dos sintomas. No entanto, ensaios clínicos randomizados, cegos e controlados com placebo são necessários para esclarecer os resultados sobre os efeitos da cannabis e seus canabinoides em indivíduos com o transtorno do espectro autista.

Palavras-chave: cannabis, canabidiol, canabinoide, autismo, revisão sistemática.

INTRODUCTION

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental disorder characterized by persistent deficits in social communication and social interaction, in multiple contexts, associated with the presence of restricted and repetitive patterns of behavior, interests or activities.¹ In a multicenter epidemiological study involving nine countries, the estimated average prevalence of ASD was 62 individuals per 10,000 inhabitants.² Children with autism commonly exhibit comorbidities such as hyperactivity, self-harm, aggression, restlessness, anxiety and sleep disorders.³ This type of behavior favors social exclusion and limits the child's abilities, causing more distress to caregivers.⁴

Conventional medical treatment includes several psychotropic drugs such as atypical antipsychotics, selective serotonin reuptake inhibitors, stimulants and anxiolytics, but they do not treat ASD, but aim to eliminate inappropriate behavior.⁵⁻⁸ Unfortunately, 40% of children with autism and disruptive behaviors do not respond well to standard medical and behavioral treatment.⁴ This implies a high cost for the individual and society, causing life expectancy to be reduced by 20 years in patients with autism compared to the population average.⁹

Among the possible pharmacological treatments, researchers began to explore other therapeutic alternatives, such as the use of substances derived from *Cannabis sativa*.¹⁰ Cannabidiol (CBD) represents one of the major components of the plant, having been studied in several disorders. At present, preliminary evidence suggests that CBD can relieve spasticity,¹¹ pain, sleep disorders,¹² improve mobility in multiple sclerosis,¹³ in addition to relieving anxious symptoms and social phobia,¹⁴ however, further studies are needed to prove its effectiveness.

In autism, cannabis and cannabinoids have also been used to treat symptomatic conditions.^{15,16} CBD, and some other compounds in the plant, interact with the endocannabinoid system and can modulate different aspects related to cognition, socioemotional responses, susceptibility to seizures, nociception and neuronal plasticity, which are often altered in autism.¹⁷⁻²⁰ In mammals, the endocannabinoid system is mainly composed of two receptors, CB1 and CB2, by endocannabinoids (endogenous substances that activate CB1 and CB2 receptors) and by the enzymes responsible for their synthesis and metabolism.²¹

CB1 receptors are expressed in both the central and peripheral nervous systems, with their most abundant expression in basal ganglia nuclei and pre-synaptic gabaergic and glutamatergic neurons.²² Considering that the endocannabinoid system modulates emotional responses, mood, behavioral reactions to the context and social interaction, the researchers started to formulate the hypothesis that changes in this system would be related to the autistic phenotype.²³ Adi Aran et al.,²⁴ observed reduced levels of endocannabinoids, such as anandamide (AEA), palmitoylethanolamide (PEA) and oleoethanolamine (OEA), in plasma samples from 93 children on the autism spectrum, which suggest the use of such substances as possible biomarkers for diagnosis. Pretzsch et al.,²⁵ reported that CBD can change the levels of the metabolites Glx (glutamate + glutamine) and Gamma-aminobutyric acid (GABA); the metabolites that contribute to the regulation of excitatory and inhibitory neurotransmission, both in typical development and in ASD. In a single uncontrolled case study, it was administered Δ 9-THC (delta-9 tetra-hydrocannabinol) in a six-year-old autistic boy who was not taking any medication for six months. After the treatment period, there was a decrease in the scores of hyperactivity, lethargy, stereotyped behavior and language

change, causing the authors to suggest the use of the substance as an ally to other treatments and early interventions.²⁶

Thus, evidence has indicated that *Cannabis sativa* derivatives can alleviate symptoms associated with ASD, although there is still no consistent evidence about its efficacy, safety and tolerability, since there is no randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial with cannabis and cannabinoid for the treatment of the core symptoms of autism and coexisting symptoms, but there are published prospective studies. In order to analyze such aspects, we carried out a systematic review of studies that used cannabis derivatives in autism, considering the evolution of symptoms and clinical improvement in these individuals.

METHOD

In October 2020, we carried out a systematic literature review following the rules of the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) system. The study was registered in the International Prospective Register of Systematic Reviews database (PROSPERO) with the code 164161.

To support the review, the following questions were asked: 1) What is the efficacy, safety and tolerability of cannabis and cannabinoids in treating symptoms of Autism Spectrum Disorder?; 2) What are the main instruments used to assess the evolution of symptoms and clinical improvement?

The search was carried out in four databases: Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE / PUBMED), Scientific Electronic Library Online (SciELO), Scopus and Web of Science. In addition, we included related studies by

checking the references of the selected articles. Finally, a search was performed using the Google Scholar tool. The search strategy for the databases was defined in terms found in the title or abstract, having the following descriptors: Cannabis (cannabis, cannabidiol, cannabinoid, CBD, marijuana, marihuana and hemp) and those related to autism (autistic, autism, asperger and pervasive development disorder). The terms were included in quotation marks, and the search operators "AND" and "OR" were used. Cannabis-related terms were grouped using the "OR" operator and similarly, terms related to autism were grouped. Then, these two groups of related terms were added and joined by the "AND" Operator (Figure 1).

We included all articles published until October 2020, in any language, in the form of clinical trials or case studies involving human beings. Articles unrelated to the topic, which reported the illicit or recreational use of cannabis, as well as abstracts, book chapters, research with animals and research on other pathologies or changes that were associated with signs and symptoms similar to autism, were rejected.

The articles found in the databases were initially screened by reading their titles and abstracts. Subsequently, those articles that read from their titles and abstracts fit the proposed theme were read in full. At the end of the screening, we used the references of the articles selected at the end of the process in search of others that met the eligibility criteria. After the whole process, the data was extracted.

The search and screening of the selected articles were carried out simultaneously and independently by two authors. In the end, the disagreements found were sent to another author, to make the final decision about whether or not to include a certain study, but always checking the eligibility criteria.

The MEDLINE / PUBMED, SciELO, Scopus and Web of Science databases resulted in 64, 1, 242 and 125 articles, respectively. Of these, respectively, 58, 1, 237

and 121 articles were eliminated because they did not meet the inclusion criteria. Thus, 14 studies were found, which, after eliminating duplicates, ended in six articles. From the consultation of the references of these selected studies, another paper was selected to be part of the review, making a total of seven selected articles. Finally, the search was carried out, using the Google Scholar tool, resulting in two more selected studies, reaching a final total of nine articles included in this systematic review, in accordance with the inclusion and exclusion criteria (Figure 1).

The data extraction method of each study consisted in filling a standardized information sheet. One reviewer extracted the scientific data, and a second reviewer verified the acquired information. Disagreements were resolved by discussion and consensus among the author-reviewers.

RESULTS

This systematic review was carried out with nine articles, after eligibility criteria and exclusion criteria for studies, including duplicate papers. From the searches in different databases, therefore, six articles found in MEDLINE / PUBMED and Scopus remained, of which four were also in Web of Science; two found in Google Scholar and one article found, through the analysis of all references of each of the eight previously selected articles (Table 1).

Five studies used cannabis extract, in the presentation of cannabidiol-rich oil;^{15,16,27-29} two studies used cannabidiol in oral solution,^{25,30} one study used dronabinol, which is a synthetic analogue of THC (tetrahydrocannabinol), dissolved in sesame oil²⁶ and one study used cannabidivarin (CBDV)³¹ (Table 1).

Most studies with CBD-enriched cannabis oil showed a variation between the proportions of CBD and THC, ranging from 20 to 75% CBD: 1% THC or 6% THC: 1% CBD (one study). Those who used pure cannabidiol used a dose of 600mg (oral solution), dronabinol was used at a dose of 0.62mg to 3.62mg per day (dissolved in sesame oil) and cannabidivarin was used at a dose of 600mg.

The samples were composed by: 1) children in three studies;^{15,16,26} 2) children and adolescents in one study, with ages ranging from 5 to 19 years;²⁷ 3) adults in three studies.^{25,30,31} Two studies did not specify the age group.^{28,29}

Only three studies used any imaging exam, that was magnetic resonance spectroscopic imaging, after the intervention with CBD in two studies and with CBDV in one study to search for brain changes.^{25,30,31} The other evaluated studies used questionnaires, forms and subjective reports of family members or caregivers. Of the nine studies selected for the systematic review, with the age groups already described above, one was with placebo allocated in a randomized order, with half of the sample using CBD before or after using the placebo;²⁵ two were randomized, double-blind and placebo-controlled^{30,31} and the other studies had the intervention of cannabis or cannabinoids without randomization, as previously described.

Regarding the results found, the studies that tested cannabis to improve behavior showed improvement in many individuals with ASD who used cannabis products in the following symptoms: attacks of self-mutilation and anger; hyperactivity; sleep problems, anxiety, restlessness, psychomotor agitation, irritability, aggressiveness, sensory sensitivity, cognition, attention, social interaction, language, perseverance and depression (Table 1). Regarding the benefits of the intervention carried out with cannabis, the restlessness symptom showed the greatest improvement (91%), in relation to the other symptoms studied in all articles.²⁷ Of the studies evaluated, a small

percentage of individuals, about 2.6 to 32%, had side effects with the use of cannabis products, such as sleep disorders, restlessness and nervousness, in addition to moderate irritability, diarrhea, increased appetite, conjunctival hyperemia, behavioral problems, decreased cognition, fatigue and aggression / agitation.^{15,16} It is important to note that no evaluated study included the cognitive investigation of children through neuropsychological tests.

DISCUSSION

Cannabis and cannabinoids has been used to treat several diseases and neurological disorders. Regarding the efficacy of this plant in the symptoms of ASD, studies are still quite recent, with the majority being published in 2018 and 2019. Only one article among those analyzed was from 2010 and presented a case study.

Cannabis sativa has more than 500 active chemical constituents identified and about 100 of them are classified as phytocannabinoids. The major phytocannabinoid is THC, responsible for the psychoactive effects of the plant, followed by CBD, exempt from this activity.³²⁻³⁴

In the studies evaluated, the most used cannabis product was cannabis oil containing the combination of major phytocannabinoids, with a higher proportion of CBD, that is, the product most used in the studies was CBD-rich cannabis oil. The only article that used THC in greater proportion to treat ASD symptoms was a case study by Kurz and Blaas.²⁶ The child in the case study showed improvement in symptoms of hyperactivity, aggression, stereotype and inappropriate speech, but the use of THC in isolation has not been commonly used, because the substance is responsible for most

of the psychoactive effects of the plant.³⁵ Crippa et al.³⁶ report evidence that CBD is capable of preventing the induction of psychotic symptoms induced by THC, being useful to use the combination of both, as they explain in the article.

Adams, Coleman, Cooper and Bock²⁹ conducted an online survey in the United States to investigate the effectiveness of marijuana in a variety of diseases, including autism. Participants in this study used the plant, containing CBD and THC, in different presentations: flower, edible, vaporized, chewing gum, tincture, leaf and oil and also used CBD alone, and no study with a similar design was found in the databases.

Of the articles evaluated, only the three double-blind, placebo-controlled clinical trial that used CBD or CBDV alone were those that assessed the influence of the substance on the Central Nervous System through Functional Magnetic Resonance,^{25,30,31} moreover, there was a difference in the results found in the images in relation to the placebo group, but did not evaluate the evolution of clinical symptoms or side effects, as individuals used cannabis only once.

Functional magnetic resonance imaging pattern after using CBD

The 600mg oral cannabidiol solution was used in individuals with ASD who underwent functional magnetic resonance imaging to assess the effects of this oral solution on their central nervous system.²⁵ Both of the studies were carried out by the same team of researchers, where 17 neurotypical adults and 17 adults with autism used a 600mg oral CBD solution and, at another time, used a placebo substance (randomized order), which was then examined using functional magnetic resonance imaging. The CBDV increased the levels of glutamate in the left basal ganglia, assessed

with spectroscopy, but in those with ASD despite the increase, the basal concentration of the substance decreased.³¹

It was noticed that CBD and CBDV altered the gabaergic system in all participants. The excitatory mechanisms of response to glutamate did not differ between the two groups, however, the inhibitory response mediated by gamma-aminobutyric acid (GABA) was different in people with ASD, indicating that the brain of an autistic individual has a distinct gabaergic system from neurotypical individuals. That is, the autistic brain reacts differently to GABA, and this discovery helps to understand the mechanisms and targets of treatment in autism. Pretzsch et al.,³⁰ were pioneers for indicating the first evidence of neuromodulation made from the administration of CBD in fractional amplitude of low-frequency fluctuations and connectivity function in the brains of adults with ASD.

This finding is consistent with previous studies that pointed out differences in the functioning of the gabaergic system of people with autism and typical individuals, without the use of any substance.³⁷ In addition, CBD was also able to change the fractional low-frequency oscillation amplitude and functional connectivity in the adult brain in key regions commonly associated with the ASD condition. The authors of both surveys did not mention any data about side effects or cognitive and / or behavioral changes. It must be considered that the effects of a single administration were observed, and it is not possible to predict long-term results of use.³⁰

For Gallily, Yekhtin and Hanuš,³⁸ the ideal form would be the use of the CBD-enriched extract, since, according to the authors, the use of isolated CBD brings a dose-response relationship in the form of a bell, which would limit its clinical use. The extract brought an increasing result after increasing the dose, improving anti-inflammatory and anti-nociceptive responses in mice.

Clinical results of using cannabis to treat ASD symptoms without using magnetic resonance image

The six articles that observed the effect of cannabis on the clinical aspects of children, adolescents and adults with ASD showed improvements in several behavioral aspects, regardless of the substance used and composition. There is no possibility of comparing the magnitude of the results because the authors used different studies designs to measure and present the results, but to suggest that cannabis could be a therapeutic alternative to autism. In all six articles evaluated, it was possible to observe an improvement in the following symptoms associated with autism: decreased attacks of self-mutilation and anger, hyperactivity, sleep problems, anxiety, restlessness, psychomotor agitation, irritability, perseverance, aggressiveness and depression; as well as improvement in sensory sensitivity, cognition, attention, social interaction and language. These results confirm the prediction of Bou Khalil³⁹ who mentioned the need for systematic investigations with ASD and cannabis. The author argued that the tranquilizing, sedative and anticonvulsant properties could assist in the main difficulties faced by children with autism, recognizing the behavioral and cognitive evolutions of cannabis in other pathologies, making a bridge with the mentioned results.

Most of the studies evaluated in this systematic review measured the evolution of symptoms through the perception of improvement by parents / caregivers in symptoms secondary to ASD, using questionnaires or scales constructed by the authors themselves. None of the articles mentioned neuropsychological assessments to investigate cognitive aspects.

Reports of adverse effects were observed, however uncommon and, if present, in a very small percentage, the most cited being: sleep and appetite changes,

restlessness and nervousness. One article, which was not included in this systematic review, reports less common effects in very few participants: psychoactive effects, digestive problems and dry mouth.²¹

Fleury-Teixeira et al.²⁸ warn of the need for extra vigilance and a gradual increase in the dose of cannabinoids in patients using other psychotropic drugs. The authors cite that the symptoms of drowsiness, irritability, diarrhea, increased appetite, conjunctival hyperemia and increased body temperature were seen in some cases and considered mild and / or transient. Few participants had to interrupt treatment before the end of the first month of treatment, due to adverse effects such as insomnia, irritability, rapid heartbeat and worsening of the psychobehavioral crisis. The patients who had relevant side effects were all taking several medications, including at least one antipsychotic.

It is important to highlight that all the randomized double-blind studies of the use of cannabis and cannabinoids for autism found observed brain structures, through magnetic resonance imaging, and, and not to assess the efficacy and safety of cannabis for ASD. Everyone who evaluated this was observational, either in individuals who started medication in the study and were observed prospectively, or in individuals who have already used the substance and were analyzed retrospectively.

CONCLUSION

Cannabis and cannabinoids have very promising effects in the treatment of autistic symptoms, and can be used in the future as an important therapeutic alternative in the relief of these symptoms, as it was able to diminish the number of attacks of

self-mutilation and anger; hyperactivity; sleep problems, anxiety, restlessness, psychomotor agitation, irritability, aggressiveness; and improve sensory sensitivity, cognition, attention, social interaction, language, perseverance and depression. In addition, it is important to note that cannabidiol can also change the levels of glutamate, glutamine and GABA, substances that contribute to the regulation of excitatory and inhibitory neurotransmission in both the neurotypical individual and the autistic individual. However, randomized, blind and controlled placebo clinical trials as well longitudinal studies are necessary to clarify the findings on the effects of cannabis and its cannabinoids in individuals with autism spectrum disorder.

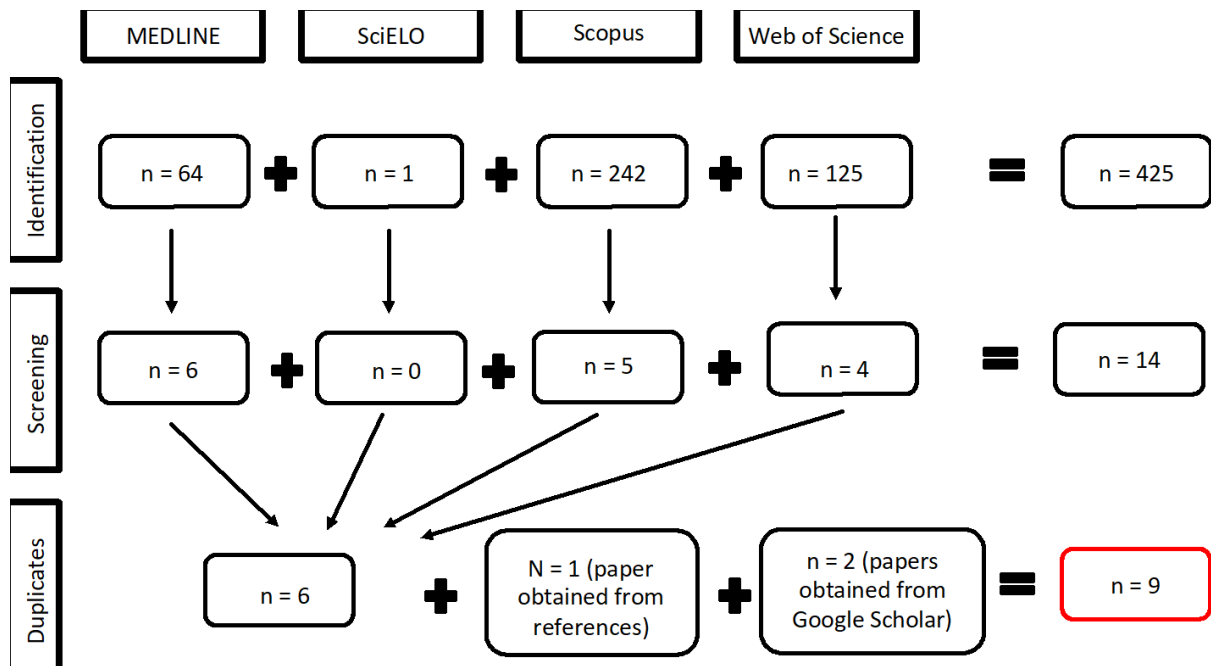


Figure 1:

Flowchart of study selection.

Title, authors and year	Sample	Method	Results	Conclusion
Brief Report: Cannabidiol Rich Cannabis in Children with Autism Spectrum Disorder and Severe Behavioral Problems—A Retrospective Feasibility Study. Aran, Cassuto, Lubotzky, Wattad, & Hazan, 2018a. ¹⁶	60 children (mean 11.8 years old, SD 3.5 years), 83% male, 77% with low cognitive function (according to ADOS or CARS), all with severe behavior problems (6 or 7, according to CGI -S).	Retrospective analysis of autistic children with behavioral changes refractory to conventional treatment at the Shaare Zedek Medical Center (Jerusalem, Israel), with medical prescription of Cannabis for 7 to 13 months with plant extract containing CBD and THC (20: 1) that, in poorly responsive cases, it was 6: 1.	The average daily dose was 3.8 (± 2.6) mg / kg / day of CBD and 0.29 (± 0.22) mg / kg / day of THC for the 44 children who received three doses / day. For the 16 who received two doses 1.8 (± 1.6) mg / kg / day of CBD and 0.22 (± 0.14) mg / kg / day of THC was the average dose received. 51% denied adverse effects. The most common were: sleep disorders, restlessness and nervousness (32%). In the HSQ score, 29% had an average improvement of 1.38 (± 1.79) (median = 0.81). In the APSI score, it was 0.66 (± 0.74) (median = 0.53).	There was a significant improvement in behavioral problems that were reported in 61% of children, in the CGIC; in anxiety: 39% and in communication problems: 47%. High concentration of THC (6: 1-CBD) can lead to a psychotic episode.
Oral Cannabidiol Use in Children with Autism Spectrum Disorder to Treat Related Symptoms and Co-morbidities. Barchel et al., 2018. ¹⁵	53 children (mean 11 years of age, SD: 4 to 22 years) received cannabidiol for an average of 66 days (SD: 30-588 days).	Administration of oil with CBD, and THC (20: 1), orally, with telephone interviews conducted every two weeks with parents or caregivers, asking about changes in symptoms, the data obtained was analyzed independently by specialists in search of these changes in symptoms and safety of medicines. The improvement resulting from CBD was also compared with conventional treatment for ASD.	Self-harm and anger attacks (n = 34) improved by 67.6% and worsened by 8.8%. The symptoms of hyperactivity (n = 38) improved in 68.4%, did not change in 28.9% and worsened in 2.6%. Sleep problems (n = 21) improved by 71.4% and worsened by 4.7%. Anxiety (n = 17) improved by 47.1% and worsened by 23.5%.	A comparison of symptom improvement between CBD treatment and conventional treatment was analyzed using the binomial test. Parents' reports suggest that CBD may improve symptoms related to ASD.
Effects of cannabidiol on brain excitation and inhibition systems: a randomized placebo-	34 people (neurotypic control n = 17, ASD n = 17). All with IQ greater than 70.	The placebo, allocated in a randomized order, about half in each group participated in the placebo before CBD (600mg oral solution) and the other half participated in CBD before the placebo.	It was seen that patients with ASD had a drop in IQ compared to neurotypical - controls (F (1) = 5781; p = 0.022). But the difference in IQ did not influence the results [ASD (r <-0.008; p> 0.698); neurotypical (r	CBD can change the levels of glutamate, glutamine and GABA +, regulators of excitatory and inhibitory neurotransmission. The autistic brain reacts differently to GABA +, which

<p>controlled single dose trial during magnetic resonance spectroscopy in adults with and without autism spectrum disorder. Pretzsch et al., 2019c.²⁶</p>		<p>After administration, placebo or CBD, a check was scheduled to coincide with the maximum plasma concentration (2h). It was evaluated by Magnetic resonance spectroscopic imaging.</p>	<p><0.068; $p > 0.235$]. The excitatory mechanisms of response to glutamate are comparable, regardless of diagnosis, however the inhibitory response by GABA + is altered in ASD. There was a difference in the results found in the images in relation to the placebo group.</p>	<p>helps to understand the mechanisms and targets of treatment for ASD.</p>
<p>The effect of cannabidiol (CBD) on low-frequency functional connectivity in the brain of adults with and without autism spectrum disorder (ASD). Pretzsch et al., 2019b.³⁰</p>	<p>34 people (17 with ASD and 17 without).</p>	<p>CBD 600 mg oral solution. Functional magnetic resonance imaging was used for evaluation.</p>	<p>CBD is able to alter the fALFF in the cerebellar vermis, center of perception of gravity, right fusiform gyrus. The connectivity function (HR) in the vermis increased in the left and right caudal portion, however it reduced the HR between the vermis and the occipital temporal part of the left middle temporal gyrus, the right supramarginal anterior gyrus, the left upper parietal lobe and the gyrus upper left front, but had none of these effects observed significantly in the brains of healthy people. There was a difference in the results found in the images in relation to the placebo group.</p>	<p>First evidence of neuromodulation made from the administration of CBD in fALFF and CF in the brains of adults with autism. CBD was able to alter crucial properties of brain function in key areas that are altered in ASD.</p>
<p>Real life Experience of Medical Cannabis Treatment in Autism: Analysis of Safety and Efficacy. Bar-Lev Schleider, Mechoulam; Saban, Meiri, & Novack, 2019.²⁷</p>	<p>188 patients with ASD with a mean age of 12 years, SD: +/- 7 years, younger than 5 years (14). 81.9% of the male gender.</p>	<p>Cannabis oil enriched with 30% CBD and 1.5% THC (3 times a day, sublingual) was used, oil enriched by an average of 61.5mg + -79.5mg CBD and 3mg + -4mg THC. The team initially and periodically evaluated the health status, accessed the medical history and they answered medical questionnaires.</p>	<p>In 6 months, 91% of cases of restlessness improved; 90.3% of anger attacks; 85.2% of agitation; 78.1% problems with sleep among other symptoms. There were at least 1 symptom in 25.2%, which were: restlessness (6.6%), insomnia (3.2%), psychoactive effect (3.2%), increased appetite (3.2%), digestive problems (3.2%), dry mouth (2.2%) and lack of appetite (2.2%).</p>	<p>The use of cannabis for ASD is well tolerated, safe and appears to be effective in relieving symptoms (especially seizures, depression, restlessness and attacks of anger). There was great acceptability of the treatment, with only less than 15% of dropouts in a 6-month follow-up. More than 80% of parents report that there has been a significant global improvement in children.</p>

<p>Use of dronabinol (delta-9-THC) in autism: A prospective single-case-study with an early infantile autistic child. Kurz & Blaas, 2010.²⁶</p>	<p>Boy, 6 years old, (diagnosed at 3) via DSM-IV criteria and confirmed by ADOS and ADI.</p>	<p>Drops of dronabinol dissolved in sesame oil, with one drop initially (0.62mg) in the morning up to the maximum dose of 2 drops in the morning, with a total daily dose of 3.62 mg of dronabinol. 6-month follow-up (without adding other new therapies or changing existing care measures). Symptom severity was assessed using the ABC questionnaire (Aberrant Behavior Checklist).</p>	<p>Hyperactivity decreased by 27 points, lethargy reduced by 25 points, irritability decreased by 12 points, stereotypy reduced by 7 points and inappropriate speech decreased by 6 points in six months.</p>	<p>This isolated case suggests that dronabinol may reduce the symptoms of autism in children, perhaps by modifying cannabinoid levels in the central nervous system.</p>
<p>Rating of the Safety and Effectiveness of Marijuana, THC/CBD, and CBD for Autism Spectrum Disorders: Results of Two National Surveys. Adams, Coleman, Cooper, & Bock, 2019.²⁶</p>	<p>156 participants who already used cannabis in its derived forms.</p>	<p>The National Survey on Treatment Effectiveness for Autism (NSTEA) started collecting data in 2017 and continues to collect online. Marijuana in the forms: flower, edible, vaporized, gums, tincture, leaf and other forms; THC / CBD combination in forms: oil, gums, edible, tincture, vaporized and all methods and only CBD in forms: oil, tincture, gums and others</p>	<p>Reported improvements: calm (58-71%); irritability (46-65%); aggression / agitation (43-58%); sleep (30-58%); drowsiness (32-46%); hyperactivity (26-39%); sensory sensitivity (28-32%); cognition (32-46%); attention (26-42%); social interaction (26-42%); language (26-38%); perseverance (22-27%); depression (16-41%). Adverse effects of CBD, uncommon: behavioral problems (5%), decreased cognition (4%), fatigue (4%), aggression / agitation (4%).</p>	<p>The primary reported benefits were calming effects, including improved anxiety, irritability, aggression / agitation, hyperactivity and sleep. There are also improvements in the symptoms of ASD. There were few adverse effects for THC / CBD and CBD and mild for marijuana.</p>
<p>Effects of CBD-Enriched Cannabis sativa Extract on Autism Spectrum Disorder Symptoms: An Observational Study of 18 Participants Undergoing Compassionate Use.</p>	<p>18 patients: 11 without a history of epilepsy, 2 with a previous history of epilepsy but without seizures for over a year and 5 with epilepsy and still with seizures.</p>	<p>Extract enriched with CBD in the ratio CBD / THC 75: 1. Average of 4.6 mg / kg / day of CBD and 0.06 mg / kg / day of THC. The individual doses were based on previous studies with patients with refractory epilepsy associated with autism. The average initial dose was 2.9 mg / kg / day and dose adjustments were made throughout the treatment. Responses to standardized form.</p>	<p>80% of patients improved in more than 30% of the 3 items assessed: sleep disorders, epileptic seizures and behavioral changes. In addition, signs of improvement have also been reported for motor development; communication and interaction; and cognitive performance. Adverse effects reported were drowsiness, moderate irritability, diarrhea, increased appetite and conjunctival hyperemia.</p>	<p>Several therapeutic benefits of the CBD-enriched preparation that extends to ASD symptoms have been noted, even in non-epileptic patients. This study pointed to a potential risk of paradoxical effects when introducing cannabinoids to a patient using a combination of drugs that include antipsychotics. This highlights the need for extra vigilance and a gradual</p>

<p>Fleury-Teixeira, Caixeta, Silva, Brasil-Neto, & Malcher-Lopes, 2019.²⁸</p>				<p>increase in the dosage of cannabinoids in patients receiving many medications.</p>
<p>Effects of cannabidiol (CBDV) on brain excitation and inhibition systems in adults with and without Autism Spectrum Disorder (ASD): a single dose trial during magnetic resonance spectroscopy. Pretzsch et al. 2019a.³¹</p>	<p>34 participants, around 28.47 (6.55) years old in the control group and 31.29 (9.94) in those with ASD, in this of 17 people, diagnosed by ICD 10, with severe symptoms evaluated by ADOS and ADI).</p>	<p>Randomized, double-blind, crossover study using Magnetic resonance spectroscopic imaging comparing glutamate and GABA levels after the use of placebo and 600 mg CBDV. Information was collected from the dorsomedial region of the prefrontal cortex and the left basal ganglia (areas related to ASD) after 2 h (plasma peak of the substance) of administration.</p>	<p>Tests performed at least thirteen days after using the drug / placebo indicated that CBDV increased the levels of glutamate in the left basal ganglia in both groups, but in those with ASD despite this increase, the basal concentration of the substance decreased. CBDV did not alter the levels of glutamate or GABA in the medial dorsal region of the prefrontal cortex of either group. There was a difference in the results found in the images in relation to the placebo group.</p>	<p>CBDV modulates the levels of glutamine / GABA in the left basal ganglia, with individual variations depending on the biochemistry of the individual base (CBDV increased the levels of glutamate in autistic low baseline amounts, opposite to those who already had it in high baseline amounts, where Future studies should evaluate the effect of CBDV on behavior and whether the response to an acute dose can predict therapeutic success in patients with ASD.</p>

Table 1: Studies Selected for Systematic Review of the Use of Cannabis and Cannabinoids for Autism Spectrum Disorder
* CBD (cannabidiol), THC (tetrahydrocannabinol), ASD (Autism Spectrum Disorder), GABA (gamma-aminobutyric acid), fALFF (Fractional amplitude of low frequency fluctuations), DSM (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders), ADOS (Autism Diagnostic Observation Schedule), ADI (Autism Diagnostic Interview), FC (Connectivity Function), TBI (Craniocerebral Trauma), CBDV (cannabidiol).

REFERENCES

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5. 5th ed. Washington, D.C.: American Psychiatric Association; 2013.
2. Elsabbagh M, Divan G, Koh Y-J, Kim YS, Kauchali S, Marcín C, et al. Global Prevalence of Autism and Other Pervasive Developmental Disorders. *Autism Res.* 2012;5:160-179.
3. Mannion A, Leader G. Comorbidity in autism spectrum disorder: A literature review. *Res Autism Spectr Disord.* 2013;7:1595-1616.
4. Adler BA, Wink LK, Early M, Shaffer R, Minshawi N, McDougle CJ, et al. Drug-refractory aggression, self-injurious behavior, and severe tantrums in autism spectrum disorders: A chart review study. *Autism.* 2015;19:102-106.
5. Canitano R. Risperidone in the treatment of behavioral disorders associated with autism in children and adolescents. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2008;4:723-30.
6. Hurwitz R, Blackmore R, Hazell P, Williams K, Woolfenden S. Tricyclic antidepressants for autism spectrum disorders (ASD) in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;3:1-28.
7. Stachnik J, Gabay. Emerging role of aripiprazole for treatment of irritability associated with autistic disorder in children and adolescents. *Adolesc Health Med Ther.* 2010;1:105-114.
8. Wink LK, Plawecki MH, Erickson CA, Stigler KA, McDougle CJ. Emerging drugs for the treatment of symptoms associated with autism spectrum disorders.

- Expert Opin Emerg Drugs. 2010;15:481-494.
9. Hirvikoski T, Mittendorfer-Rutz E, Boman M, Larsson H, Lichtenstein P, Bölte S. Premature mortality in autism spectrum disorder. *Br J Psychiatry*. 2016;208:232-238.
 10. Fetterman PS, Turner CE. Constituents of *Cannabis sativa* L. I: Propyl Homologs of Cannabinoids from an Indian Variant. *J Pharm Sci*. 1972;61:1476-1477.
 11. Wade DT, Makela P, Robson P, House H, Bateman C. Do cannabis-based medicinal extracts have general or specific effects on symptoms in multiple sclerosis? A double-blind, randomized, placebo-controlled study on 160 patients. *Mult Scler J*. 2004;10:434-441.
 12. Rog DJ, Nurmikko TJ, Friede T, Young CA. Randomized, controlled trial of cannabis-based medicine in central pain in multiple sclerosis. *Neurology*. 2005;65:812-819.
 13. Zajicek J, Fox P, Sanders H, Wright D, Vickery J, Nunn A, et al. Cannabinoids for treatment of spasticity and other symptoms related to multiple sclerosis (CAMS study): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2003;362:1517-1526.
 14. Bergamaschi MM, Queiroz RHC, Chagas MHN, de Oliveira DCG, De Martinis BS, Kapczinski F, et al. Cannabidiol Reduces the Anxiety Induced by Simulated Public Speaking in Treatment-Naïve Social Phobia Patients. *Neuropsychopharmacology*. 2011;36:1219-1226.
 15. Barchel D, Stolar O, De-Haan T, Ziv-Baran T, Saban N, Fuchs DO, et al. Oral Cannabidiol Use in Children With Autism Spectrum Disorder to Treat Related Symptoms and Co-morbidities. *Front Pharmacol*. 2019;9:15-21.

16. Aran A, Cassuto H, Lubotzky A, Wattad N, Hazan E. Brief Report: Cannabidiol-Rich Cannabis in Children with Autism Spectrum Disorder and Severe Behavioral Problems—A Retrospective Feasibility Study. *J Autism Dev Disord.* 2019;49:1284-1288.
17. Marsicano G, Lutz B. Neuromodulatory functions of the endocannabinoid system. *J Endocrinol Invest.* 2006;29:27-46.
18. Marco EM, Laviola G. The endocannabinoid system in the regulation of emotions throughout lifespan: a discussion on therapeutic perspectives. *J Psychopharmacol.* 2012;26:150-163.
19. McLaughlin RJ, Gobbi G. Cannabinoids and emotionality: a neuroanatomical perspective. *Neuroscience.* 2012;204:134-144.
20. Trezza V, Campolongo P, Manduca A, Morena M, Palmery M, Vanderschuren LJMJ, et al. Altering endocannabinoid neurotransmission at critical developmental ages: impact on rodent emotionality and cognitive performance. *Front Behav Neurosci.* 2012;6:1-12.
21. Saito VM, Wotjak CT, Moreira FA. Pharmacological exploitation of the endocannabinoid system: new perspectives for the treatment of depression and anxiety disorders? *Braz J Psychiatry.* 2010;32:7-14.
22. Mackie K. Mechanisms of CB1 receptor signaling: endocannabinoid modulation of synaptic strength. *Int J Obes.* 2006;30(Pt 1):19–23.
23. Chakrabarti B, Persico A, Battista N, Maccarrone M. Endocannabinoid Signaling in Autism. *Neurotherapeutics.* 2015;12:837-847.
24. Aran A, Eylon M, Harel M, Polianski L, Nemirovski A, Tepper S, et al. Lower

- circulating endocannabinoid levels in children with autism spectrum disorder. *Mol Autism*. 2019;10:1-11.
25. Pretzsch CM, Freyberg J, Voinescu B, Lythgoe D, Horder J, Mendez MA, et al. Effects of cannabidiol on brain excitation and inhibition systems; a randomised placebo-controlled single dose trial during magnetic resonance spectroscopy in adults with and without autism spectrum disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2019;44:1398-1405.
 26. Kurz R, Blaas K. Use of dronabinol (delta-9-THC) in autism: A prospective single-case-study with an early infantile autistic child. *Cannabinoids*. 2010;5:4-6.
 27. Bar-Lev Schleider L, Mechoulam R, Saban N, Meiri G, Novack V. Real life Experience of Medical Cannabis Treatment in Autism: Analysis of Safety and Efficacy. *Sci Rep*. 2019;9:1-7
 28. Fleury-Teixeira P, Caixeta FV, Ramires da Silva LC, Brasil-Neto JP, Malcher-Lopes R. Effects of CBD-Enriched Cannabis sativa Extract on Autism Spectrum Disorder Symptoms: An Observational Study of 18 Participants Undergoing Compassionate Use. *Front Neurol*. 2019;10:11-45.
 29. Adams JB, Coleman DM, Coope DL, Bock K. Rating of the Safety and Effectiveness of Marijuana, THC/CBD, and CBD for Autism Spectrum Disorders: Results of Two National Surveys. *Autism Open Access*. 2019;9:1-5.
 30. Pretzsch CM, Voinescu B, Mendez MA, Wichers R, Ajram L, Ivin G, et al. The effect of cannabidiol (CBD) on low-frequency activity and functional connectivity in the brain of adults with and without autism spectrum disorder (ASD). *J Psychopharmacol*. 2019;33:1141-1148.

31. Pretzsch CM, Voinescu B, Lythgoe D, Horder J, Mendez MA, Wichers R, et al. Effects of cannabidiol (CBD) on brain excitation and inhibition systems in adults with and without Autism Spectrum Disorder (ASD): a single dose trial during magnetic resonance spectroscopy. *Transl Psychiatry*. 2019;9:1-10.
32. Borille BT, González M, Steffens L, Ortiz RS, Limberger RP. Cannabis sativa: a systematic review of plant analysis. *Drug Anal Res*. 2017;1:1-23.
33. Aizpurua-Olaizola O, Soydaner U, Öztürk E, Schibano D, Simsir Y, Navarro P, et al. Evolution of the Cannabinoid and Terpene Content during the Growth of Cannabis sativa Plants from Different Chemotypes. *J Nat Prod*. 2016;79:324-331.
34. De Backer B, Maebe K, Verstraete AG, Charlier C. Evolution of the Content of THC and Other Major Cannabinoids in Drug-Type Cannabis Cuttings and Seedlings During Growth of Plants. *J Forensic Sci*. 2012;57:918-922.
35. Crippa JAS, Crippa ACS, Hallak JEC, Martín-Santos R, Zuardi AW. Δ^9 -THC Intoxication by Cannabidiol-Enriched Cannabis Extract in Two Children with Refractory Epilepsy: Full Remission after Switching to Purified Cannabidiol. *Front Pharmacol*. 2016;7:1-6.
36. Crippa JA, Zuardi AW, Hallak JE. Therapeutical use of the cannabinoids in psychiatry. *Braz J Psychiatry*. 2010;32 Suppl 1:56-66.
37. Hegarty JP, Weber DJ, Cirstea CM, Beversdorf DQ. Cerebro-cerebellar functional connectivity is associated with cerebellar excitation–inhibition balance in autism spectrum disorder. *J Autism Dev Disord*. 2018;48:3460-3473.
38. Gallily R, Yekhtin Z, Hanuš LO. Overcoming the bell-shaped dose-response of cannabidiol by using cannabis extract enriched in cannabidiol. *Pharmacol*

Pharm. 2015;6:75-85.

39. Khalil RB. Would some cannabinoids ameliorate symptoms of autism? *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2012;21:237-238.

ANEXO E

Artigo 2

Avaliação da eficácia e segurança do extrato de cannabis rico em canabidiol em crianças com o transtorno do espectro autista: ensaio clínico randomizado, duplo-cego e placebo controlado

Evaluation of the efficacy and safety of cannabidiol-rich cannabis extract in children with Autism Spectrum Disorder: randomized, double-blind and controlled placebo clinical trial

Canabinoides em crianças autistas: ensaio clínico

Cannabinoids in autistic children: clinical trial

Estácio Amaro da Silva Junior¹, Wandersonia Moreira Brito Medeiros¹, João Paulo Mendes dos Santos², João Marçal Medeiros de Sousa², Filipe Barbosa da Costa², Katiúscia Moreira Pontes², Ana Hermínia Andrade e Silva³, Eliane Lima Guerra Nunes⁴, Nelson Torro⁵, Carlos Espínola Neto Segundo⁶, Marine Diniz da Rosa⁷, Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque⁶

¹ Department of Psychology. Graduate Program in Cognitive Neuroscience and Behavior, Federal University of Paraíba. João Pessoa, PB, Brazil.

² Federal University of Paraíba. João Pessoa, PB, Brazil.

³ Department of Statistics, Federal University of Paraíba. João Pessoa, PB, Brazil.

⁴ Director of the Brazilian Cannabis Study Society.

⁵ Department of Psychology, Federal University of Paraíba. João Pessoa, PB, Brazil.

⁶ Department of Physiology and Pathology, Federal University of Paraíba. João Pessoa, PB, Brazil.

⁷ Department of Speech Therapy, Federal University of Paraíba. João Pessoa, PB, Brazil.

Corresponding author:

Estácio Amaro da Silva Junior.

Avenida Monteiro Lobato, 663/1701. Tambaú. João Pessoa-PB, Brasil. CEP: 58039-170.

Email: estacioamaro@yahoo.com.br.

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8412-6705>.

* This study received no financial support.

* No author has a conflict of interest regarding the publication of this study.

* There are 3.675 words and four Tables.

* Original Article

* The last review of the literature carried out by the authors on the subject of this manuscript was in January 2021.

Authors (with profession and emails):

Estácio Amaro da Silva Junior – Psychiatrist. Department of Psychology. Graduate Program in Cognitive Neuroscience and Behavior, Federal University of Paraíba. João Pessoa, PB, Brazil. Email: estacioamaro@yahoo.com.br.

Wandersonia Moreira Brito Medeiros – Psychologist. Department of Psychology. Graduate Program in Cognitive Neuroscience and Behavior, Federal University of Paraíba. João Pessoa, PB, Brazil. Email: wandersoniamedeiros@hotmail.com.

João Paulo Mendes dos Santos – University student. Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: jpmendes91@gmail.com

João Marçal Medeiros de Sousa – University student. Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: joaomarc489@gmail.com.

Filipe Barbosa da Costa – University student. Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: stpfilipe93@gmail.com.

Katiúscia Moreira Pontes – University student. Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: katipontes@hotmail.com.

Ana Hermínia Andrade e Silva – Statistics. Department of Statistics, Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: anaherminia88@gmail.com.

Eliane Lima Guerra Nunes – Psychiatrist and Psychoanalyst. Director of the Brazilian Cannabis Study Society, Brazil. Email: psicanalisepsiquiatria@gmail.com.

Nelson Torro – Psychologist. Department of Psychology, Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: nelsontorro@gmail.com.

Carlos Espínola Neto Segundo – Pharmaceutical. Department of Physiology and Pathology, Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: espínola@lft.ufpb.br.

Marine Diniz da Rosa – Speech therapist. Department of Speech Therapy, Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: mrdrosa@yahoo.com.br.

Katy Lísias Gondim Dias de Albuquerque – Pharmaceutical. Department of Physiology and Pathology, Federal University of Paraíba. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Email: katylisias@gmail.com.

RESUMO

Introdução

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é um transtorno do neurodesenvolvimento caracterizado por déficits persistentes na comunicação social, interação social e padrões restritos e repetitivos de comportamento. Alguns estudos vêm demonstrando que substâncias derivadas da *Cannabis sativa* estão apresentando melhora na qualidade de vida de crianças com TEA, sem causar efeitos adversos graves, tornando-se uma alternativa terapêutica.

Método

Tratou-se de um ensaio clínico, randomizado, duplo-cego e placebo controlado, visando avaliar a eficácia e segurança de um extrato de cannabis rico em canabidiol (CBD), em crianças autistas. Foram selecionadas 60 crianças com idades entre 5 e 12 anos incompletos, divididas em dois grupos: grupo tratado, que recebeu o produto à base de cannabis contendo CBD, e o grupo controle, que recebeu o placebo, ambos utilizaram o produto por um período de 12 semanas, através da análise de variância mista de dois fatores (ANOVA two way).

Resultados

Encontrou-se resultado significativo para interação social [$F(1,116)=14,13$, $p=0,0002$], ansiedade [$F(1,116)=5,99$, $p=0,016$], agitação psicomotora [$F(1,116)=9,22$, $p=0,003$], número de refeições por dia [$F(1,116)=4,11$, $p=0,04$] e concentração [$F(1,48)=6,75$, $p=0,01$], sendo esta significativa apenas nos autistas de grau leve. Em relação à segurança, encontrou-se que apenas três crianças do grupo tratado (9,7%) apresentaram efeitos adversos, sendo eles tontura, insônia, cólica e ganho de peso.

Conclusão

Verificou-se que o extrato de cannabis rico em CBD melhorou um dos critérios diagnósticos do TEA (interação social), assim como características muitas vezes co-existent, além de poucos e não graves efeitos adversos.

Palavras-chave: Transtorno do Espectro Autista; comportamento infantil; ensaio clínico; cannabis; canabidiol.

ABSTRACT

Introduction

Autism Spectrum Disorder is characterized by persistent deficits in social communication, social interaction, and restricted and repetitive patterns of behavior. Some studies have shown that substances derived from *Cannabis sativa* offer improvement in the quality of life of autistic children, without causing serious adverse effects, thus becoming a therapeutic alternative.

Method

This was a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial to evaluate the efficacy and safety of a cannabis extract rich in cannabidiol (CBD) in autistic children. Sixty children, aged between 5 and 12 incomplete years, were selected and divided into two groups: the treated group, which received the CBD-rich cannabis extract, and the control group, which received the placebo, both used the product for a period of 12 weeks. Statistical analysis was done by two-factor mixed analysis of variance (ANOVA two way).

Results

Significant results were found for social interaction [$F(1,116)=14.13, p=0.0002$], anxiety [$F(1,116)=5.99, p=0.016$], psychomotor agitation [$F(1,116)=9.22, p=0.003$], number of meals a day [$F(1,116)=4.11, p=0.04$] and concentration [$F(1,48)=6.75, p=0.01$], the latter being significant only in mild degree autistics. Regarding safety, it was found that only three children in the treated group (9.7%) had adverse effects, these being dizziness, insomnia, colic, and weight gain.

Conclusion

CBD-rich cannabis extract was found to improve one of the diagnostic criteria for ASD (social interaction), as well as often co-existing features, and to have few and no serious adverse effects.

Keywords: Autistic Spectrum Disorder; child behavior; clinical trial; cannabis; cannabidiol.

INTRODUCTION

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental disorder, according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5), characterized by persistent deficits in social communication and social interaction, in multiple contexts, and the presence of restricted and repetitive patterns of behavior, interests, or activities. The DSM-5 also adopts, as specifying criteria, levels of ASD severity, which vary according to the need for support: mild (needs support), moderate (needs substantial support), and severe (needs very substantial support)¹.

There is no specific treatment for ASD, so its treatment is symptomatic, usually using psychotropic medications, mainly aiming to improve behavioral changes. In order to help patients affected by this disorder, there is a great interest in discovering new therapeutic alternatives to overcome the ineffectiveness of some conventional drugs, to try to reduce the dose of psychotropic drugs or even suspend them, which could reduce or eliminate serious adverse effects associated with them².

Endocannabinoids, substances that are part of the Endocannabinoid System (ECS), are key modulators of socioemotional responses, cognition, seizure susceptibility, nociception, and neuronal plasticity, and all of these responses are altered in autism^{3,4}. Phytocannabinoids, mainly cannabidiol (CBD) and tetrahydrocannabinol (THC), present in several subspecies of the Cannabis genus, have been widely studied as a potential therapeutic alternative for the treatment of symptoms associated with ASD, as they activate the cannabinoid receptors present in the central nervous system, improving some symptoms associated with autism⁵.

Even though cannabis is becoming a topic of great interest among scientists, it is still difficult to find clinical trials with humans due to the restrictive and legal aspects surrounding the plant⁶. In addition, studies using cannabis for the treatment of difficult-to-control epilepsy have found that in addition to seizure reduction, there was improvement in behavior and social interaction in children who had ASD as a comorbidity⁷.

In light of the above, the purpose of this research is to evaluate the efficacy of CBD-rich cannabis extract in children with ASD, monitoring aspects belonging to the DSM-5 diagnostic criteria (social interaction, speech and stereotypes) and other often coexisting ones (aggressiveness, psychomotor agitation, impaired concentration, eating disorders, sleep disturbances and anxiety), as well as to assess the tolerability and safety of the therapeutic adjuvant.

METHOD

This research was a randomized, double-blind, placebo-controlled, 12-week clinical trial, following the CONSORT Recommendation. An a priori sample calculation made using G Power software for the independent groups t-test hypothesis test, assuming an effect size of 0.73, based on the results of the difference in reasoning test and cognitive flexibility in autistic children who took Donepezil⁸. In it, an alpha of 0.05 and a power of 0.80 were considered. The calculation showed that 62 subjects would be needed (31 per group).

The eligibility criteria were children aged 5 to 12 incomplete years, who lived in the State of Paraíba, Brazil, and in neighboring states (Pernambuco and Rio Grande do Norte), who were diagnosed with ASD, regardless of having a mild, moderate or

severe level of impairment and whose guardians signed the Informed Consent Form. Children who had comorbidities such as diabetes mellitus, hypertension, autoimmune diseases, refractory epilepsy, and who had used a cannabis product in the last two months before starting the study were excluded.

A wide dissemination was carried out in autism support institutions, informative lectures, and posts in whatsapp and social media (Facebook and Instagram) to recruit the sample. Then, those interested could register on a website created solely for this Clinical Trial, filled out the sociodemographic questionnaire and the screening scale for autism Childhood Autism Rating Scale (CARS)⁹. After applying the eligibility criteria, the researchers contacted the guardians to provide further clarification about the research.

After recruitment, randomization of the 64 selected children was performed, in addition to stratification by grades. The randomization was done using the True Random Number Service, available at: www.random.org. All the researchers who had direct contact with the patients were blinded to the treatment provided, except the pharmacy student, who was responsible for delivering the vials, weekly, to the researching physician. Finally, baseline evaluations, which were performed by the same child and adolescent psychiatrist, were scheduled with all children participating in this study, in whom the products to be tested were also delivered. The responsible person was instructed to always start with a dose of three drops every 12 hours, preferably in a fasting period and with an interval of at least one hour before or after the use of psychotropic medication, especially antipsychotics.

This clinical study was conducted on the premises of the Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba University Hospital (HULW-UFPB), in the outpatient sector, which is located in João Pessoa, Paraíba, Brazil. This research was approved

by the Research Ethics Committee of the Health Sciences Center of the UFPB, under the number CAAE 89392518.4.0000.5188. It was registered in the Brazilian Registry of Clinical Trials (ReBEC) under number 10743.

The product used was CBD-rich cannabis extract at a concentration of 0.5% (5mg/mL), in the ratio of 9CBD:1THC, supplied by the Brazilian Association of Cannabis Hope Support (ABRACE). The extract used throughout the clinical trial was from the same batch to ensure the same phytochemical and pharmacobotanical characteristics during the production of the extract. The CBD-rich cannabis extract and the product without it had the same consistency, coloration, odor, and other organoleptic characteristics, making it impossible to identify both by the patients and the multidisciplinary team accompanying them.

To evaluate the effectiveness of the treatment, we used a semi-structured interview developed by the researchers and the Autism Treatment Evaluation Checklist (ATEC)¹⁰, which were applied before and after the clinical trial. To assess safety, before starting the study, all children underwent a laboratory evaluation, including renal function tests and hepatic inflammatory activity or liver injury, as well as complete blood count and fasting glucose levels.

All analyses were performed using R version 4.0.2, a free software available at <https://www.r-project.org/>. The significance level adopted for all analysis was 5%. Statistical analysis was performed using the mixed variance test for two factors (ANOVA two way). In cases where the null hypothesis was rejected, Tukey's multiple comparisons post-hoc test was applied to verify which groups had significant differences. As there is no non-parametric technique available in the literature corresponding to the mixed analysis of variance for two factors, a simple non-parametric analysis was used for each factor individually, in order to support the results obtained by the

parametric technique. The cannabis and control groups and the before and after times were compared using the Wilcoxon test for independent and dependent samples, respectively.

RESULTS

Sociodemographic analysis of the parents

Regarding parents, different sociodemographic variables were evaluated, among them: age; education; if they had another child, including autism; if father and/or mother worked outside the home or not, and if, because the child was autistic, one of the parents had to stop working, and marital status of parents (Table 1).

Sociodemographic analysis of the children

In general, some variables were evaluated in the children with ASD who participated in this study. Among these variables, we can mention gender; age; schooling (the intention was to observe if the child was in a class according to his/her age group, thinking about school inclusion and social interaction with peers); if the child was undergoing any professional intervention treatment for ASD (public, private, or mixed) and with which professional or professionals (occupational therapist, physical therapist, speech therapist, psychologist, psycho-pedagogist, or others); whether the child was using psychotropic drugs before, during, and after the clinical trial; whether or not the child had food selectivity and if this eating pattern was modified; the degree of ASD (mild: needs support, moderate: needs substantial support, and severe: needs very

substantial support, according to DSM-5 classification); whether there were adverse effects with the use of the product (CBD-rich extract or placebo); amount of drops of the product at the end, since the increase was gradual and as directed by the researcher; whether the caregiver was in doubt, did not notice or did not see improvement with the test product (impression about the child's evolution - subjective improvement), at the final consultation, before researcher and participants knew if the child was in the treated or placebo group. And because during the clinical trial there was the coronavirus pandemic (COVID-19), the children were isolated at home or unattended by professionals, changing their routine, which by itself can already disorganize those with ASD, so the researcher introduced, in the final evaluation, the parents' report on the interference of isolation on their child's symptoms (Table 2).

Analysis of the Semi-Structured Interview, ATEC and CARS

Important variables associated with ASD were evaluated through a semi-structured questionnaire. The symptoms evaluated were: aggressiveness; psychomotor agitation; concentration; meals (number of meals/day); sleep (number of hours of sleep/day); social interaction with peers; verbal language (speech); anxiety; repetitive and stereotyped movements (stereotypies). There was a loss in the statistical analysis of the number of hours of sleep per day, since most (71.7%) already had eight hours or more of sleep/day. The mean scores of the ATEC scales (and its subdivisions: ATEC L, related to language; ATEC S, related to socialization; ATEC P, related to sensory and cognitive perception; ATEC SC, related to health, physical aspects and behavior; and ATEC T, related to the total sum of the scale) and CARS were also calculated. At

first, no statistical analysis was performed subdividing by mild, moderate and severe grades (Table 3).

It was possible to observe, according to the semi-structured interview, that children who received the CBD-rich cannabis extract showed a significant improvement in psychomotor agitation, started to accept more meals a day, much improved social interaction and were less anxious, when compared to children in the placebo group, suggesting improvement in some symptoms associated with the ASD condition.

When evaluating the children separately by ASD grades, it was possible to observe that the mild autistic children in the cannabis group obtained a significant improvement in concentration when compared to the mild autistic children in the placebo group (Table 4).

Statistical analysis was performed using the two-way ANOVA test of variance (Table 4). In cases where the null hypothesis was rejected, Tukey's multiple comparisons post-hoc test was applied to verify which groups showed significant differences, and when the assumption of normality of errors was not respected, a non-parametric analysis of each individual factor was performed to confirm the results (Wilcoxon test).

During recruitment and laboratory testing prior to the start of the clinical trial, four children dropped out of the study, three were recruited in the control group and one in the cannabis group, thus resulting in a final sample of 60 children (31 in the treated group and 29 in the placebo group). Baseline blood count, fasting glucose, aspartate aminotransferase (ALT), alanine aminotransferase (AST), urea and creatinine were within normal levels in all children except for a few who had eosinophilia, so when the child had been on an anti-parasitic drug for more than six months, treatment for intestinal parasitosis was prescribed.

DISCUSSION

Even though the CBD-rich extract was used at a low concentration, improvements in social interaction, psychomotor agitation, number of meals, anxiety, and concentration were observed, and the adverse effects experienced by a few of the children were mild and transient.

Some authors suggest that the advanced age of the mother and father, although the age of the father is more significant, would be a possible risk¹¹, others report that the father's advanced age is a causal factor in a new genetic mutation, which is called "new" and is associated with autistic conditions¹², which was not the target of this work and there was no selection and calculation by age of the genitors.

Regarding family constitution, 47% of the participating children had neurotypical siblings, however, a relevant data was that 18.3% had an autistic sibling, a value similar to the research conducted in the United States, showing to be significant and in the value of 18,7%¹³. A prospective follow-up study also provided a better understanding of the risk of recurrence among siblings (between 10% and 20%)¹⁴.

The sample was composed of 86.7% male children and was not selected by gender, but it is known that ASD is more common in boys than in girls^{5,15}. Females, as a rule, are more rarely affected (4 boys to 1 girl for autism and 10 boys to 1 girl, considering Asperger's Syndrome). Boys, when affected, are affected more strongly, e.g. autism associated with intellectual disability. This pattern led to the hypothesis of a "female protective effect," some aspect of biology that meant females required a greater etiological "burden" to manifest autism^{16,17}. Enrollment for possible participation in the clinical trial was open to the general population, but there were significantly

fewer female children (296 children enrolled, 45 of which were female, thus corresponding to only 15.2%), and 8 girls (13.3%) and 52 boys (86.7%) were selected for the clinical trial, which may indeed suggest the hypothesis of a female protective effect for autism.

Regarding the challenges of the COVID-19 pandemic for autistic people, since the existence of a routine is crucial in their lives, families face enormous challenges to mitigate the impact of the condition, as they often fail to carry out preventive measures. Sudden changes, such as social isolation, can cause emotional and behavioral changes, such as anxiety, agitation and aggression¹⁸. For this reason, parents were asked, at the end, if the social isolation, which led to the temporary discontinuation of multidisciplinary treatments and consequent changes in routine, had interfered with the children's functioning and 71.7% reported that there was no interference with any significant impairment.

Believing that neuropsychological assessment is very important to complement the diagnosis and to observe the child's evolution before and after the use of some medication intervention, it is important that Neuropsychological tests be performed, as they were in parallel to this research, since the selected tests, depending on the impairment, including the degree of autism and the presence or absence of verbal language, could assess the main psychological functions related to ASD, showing that autistic individuals have impairments in several areas, such as executive functions, Theory of Mind, empathy and attention¹⁹.

Efficacy of CBD-rich cannabis extract

One of the core symptoms, which is described as one of the diagnostic criteria, in DSM-5, is persistent impairment in social interaction, which this research brought, as a result, the most robust improvement ($p < 0.001$). The reduction of psychomotor agitation is of great relevance, since the autistic child may expose himself to risky situations. Parents of children with ASD often report that their children are highly selective, with very restricted food acceptance repertoires and inadequate diet^{20,21}. These issues were observed in our sample, in which the guardians said that many participants had fewer daily meals than desired, had difficulty eating due to sensory issues, and food selectivity and, with the use of cannabis, an improvement was found in eating, through the parameter "meals". Anxiety, which accompanies many children with ASD, can lead to behavioral changes, since they usually cannot express what they feel, also leading to psychological suffering.

A major complaint of parents also occurs in relation to concentration, so it was very important to analyze it according to the degrees of ASD, since mild children possibly have less cognitive impairment, since they require less support, which could suggest an improvement in the ability to concentrate only in this degree, as found in this research, but we cannot confirm, through this clinical trial, such a hypothesis.

In a study of 400 individuals in New Zealand evaluating the prescription of CBD in clinical practice also assessed neurological symptoms, which included Parkinson's disease, multiple sclerosis, epilepsy, autism spectrum disorder with challenging behavior, amyotrophic lateral sclerosis, multiple system atrophy, various neuropathies, and tremors²². However, so far, there is no randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial, besides stratification by grades, with a sample composed only of children with ASD.

A research study with a sample of 60 individuals, with the average being equal to 11 years old, but was retrospective, showed improvements in behavioral outbursts (61%) and anxiety (39%)²³. A prospective study with cannabis use, which also included adults (53 participants aged 4 to 22 years), and with biweekly evaluations through structured interviews, resulted in 67.6% improvement in self-injury and bouts of anger, 68.4% improvement in hyperactivity, 71.4% improvement in sleep disturbances and 47.1% improvement in anxiety, and mild to moderate adverse effects, such as drowsiness and decreased appetite²⁴.

A research with 188 children, also prospective, with the sample only in cannabis use, following it, for six months, through structured questionnaires filled out by parents, found 30.1% of children with significant improvement, 53.7% with moderate improvement, 6.4% with slight improvement and 8.6% without improvement and, as adverse effects, agitation (6.6%) and sleepiness (3,2%)²⁵.

One observational study looked at efficacy and tolerability over six to nine months, including analysis of comorbidities using monthly structured questionnaires, and found that 93% improved 30% or more in at least one symptom category; 47% improved 30% or more in 4 or more symptom categories; 13% improved 30% or more in two symptom categories; and 33% improved 30% or more in one symptom category. The categories were as follows: 1) ADHD 2) behavioral disorders 3) motor deficits 4) autonomy deficits 5) communication and social interaction deficits 6) cognitive deficits 7) sleep problems 8) seizures²⁶.

Individuals with ASD who used the CBD-rich cannabis extract showed improvement in the following symptoms: self-injury and bouts of anger; hyperactivity; sleep problems, anxiety, restlessness, psychomotor agitation, irritability, aggressive-

ness, sensory sensitivity, cognition, attention, social interaction, language, perseveration, and depression. Regarding the benefits of the intervention with cannabis, the restlessness symptom was the one that showed the greatest improvement (91%) in relation to the other symptoms studied²⁷.

Therefore, our results show what the scientific literature demonstrates about the effectiveness on hyperactivity, restlessness and psychomotor agitation, considering these three elements within the investigated parameter "agitation"; on anxiety; on cognition and attention, taking into account the parameter "concentration" as an improvement in perceiving the details and nuances of what is being done or as a facilitator of knowledge acquisition; on social interaction, in children of the autistic spectrum.

Safety of CBD-rich cannabis extract

Currently, cannabidiol is approved by the FDA for the treatment of Dravet and Lennox-Gastaut syndromes, which are related to seizures²⁸. Randomized clinical trials have shown that when CBD is added to an anticonvulsant, the frequency of seizures decreases^{28,29}. As the scientific literature shows good response to epilepsy, especially when refractory, we put, as an exclusion criterion, children who presented, as a comorbidity, epilepsy, in order to analyze specifically the characteristics of cannabis for ASD^{30,31}.

Numerous pre-clinical studies^{32,33} and neuroimaging studies³⁴ have demonstrated the anxiolytic effects of CBD. A published case series in psychiatric patients found a benefit of CBD for anxiety and sleep³⁵. However, most studies limit the follow-up of patients to better observe the effects of CBD use for different diseases, unlike

our research, which is a clinical trial in which we can observe the action of CBD-rich extract on anxiety before and after its use. According to the results described, we found relevance for anxiety, as a characteristic associated with ASD, corroborating the scientific literature that shows, through some studies, the improvement of anxiety in general.

Researchers advise medical professionals, who encounter young patients using CBD, to discuss its quality and possible adverse effects and drug interactions, which was carefully analyzed, in this study³⁶. If any subject had presented with fever, diarrhea, vomiting, or drowsiness that is poorly understood, the adverse effects of CBD oil would not be missed.

In this research, it was found that only three children in the treated group (9.7%) had adverse effects, which were dizziness and insomnia in one child, colic in one, and weight gain in another. In some studies evaluating adverse effects, the following were found: sleep disturbance, restlessness and nervousness, as well as moderate irritability, diarrhea, increased appetite, conjunctival hyperemia, behavioral problems, decreased cognition, fatigue, and aggression/agitation^{24,25}.

CONCLUSION

Based on the results obtained, it can be concluded that CBD-rich cannabis extract did not interfere in the cognition and language process of children with ASD at the doses used in this study.

Children with ASD who received the extract showed significant improvement in social interaction, anxiety, and psychomotor agitation when compared to children who received the placebo.

The CBD-rich cannabis extract did not interfere with the children's sleep quality.

The children participating in this study who received the CBD-rich cannabis extract had an increased number of meals per day when compared to the children who received the placebo. This result may be related to the decreased anxiety levels of these children observed after administration of the extract.

The CBD-rich cannabis extract was shown to be safe at the doses used in this study (ranged from 6 to 70 drops/day), since of the 31 children who received the extract, only three reported very mild side effects, such as dizziness, insomnia, colic and weight gain, when compared to the side effects of classic psychotropic drugs used in the treatment of ASD in this age group, such as hepatotoxicity, nephrotoxicity, metabolic syndrome and galactorrhea.

Therefore, it is observed that CBD-rich cannabis extract is effective and can be used, as an adjuvant therapy, in relieving some important symptoms related to ASD, such as anxiety, psychomotor agitation and social interaction.

One of the limitations of the study was that the coronavirus pandemic started during the clinical trial, since routine is crucial in their lives, families face enormous challenges in mitigating the impact of the condition. As the children were divided into six groups of 10 for consultation and product initiation, there was a difference regarding the start of use: those who started before the pandemic (COVID-19) and those who started during the pandemic, as the clinical trial started in January 2020, and social

isolation occurred in March of the same year in Brazil. For the same reason, laboratory tests could not be performed after the end of the clinical trial.

New randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trials are important, using CBD-rich cannabis extract in higher concentration and even using CBD alone (phytochemical) for similar analyses.

REFERENCES

1. Associação de Psiquiatria Americana. DSM-5: Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais. 5a ed. Porto Alegre: Artmed Editora; 2014.
2. Gomes FA. Comorbidades clínicas em Psiquiatria. 1a ed. São Paulo: Atheneu; 2012.
3. Marco EM, Laviola G. The endocannabinoid system in the regulation of emotions throughout lifespan: a discussion on therapeutic perspectives. *J Psychopharmacol.* 2012;26:150-163.
4. Trezza V, Damsteegt R, Manduca A, Petrosino S, Van Kerkhof LWM, Pasterkamp RJ, et al. Endocannabinoids in amygdala and nucleus accumbens mediate social play reward in adolescent rats. *J Neurosci.* 2012;32:14899-14908.
5. Chakrabarti B, Persico A, Battista N, Maccarrone M. Endocannabinoid Signaling in Autism. *Neurotherapeutics.* 2015;12:837-847.
6. Anderson CL, Evans VF, DeMarse TB, Febo M, Johnson CR, Carney PR. Cannabidiol for the treatment of drug-resistant epilepsy in children: current state of research. *J Pediatr Neurol.* 2017;15:143-150.
7. Gu B. Cannabidiol provides viable treatment opportunity for multiple neurological pathologies of autism spectrum disorder. 2017;2:1-4.
8. Handen BL, Johnson CR, McAuliffe-Bellin S, Murray PJ, Hardan AY. Safety and efficacy of donepezil in children and adolescents with autism: neuropsychological measures. *J Child Adolesc Psychopharmacol.* 2011;21:43-50.
9. Schopler E, Reichler RJ, Renner BR. CARS: The childhood autism rating scale. Los Angeles, CA: Western Psychological Services; 1988.
10. Rimland B, Edelson S.. Autism Treat Eval Checklist (ATEC). San Diego (CA): Autism Research Institute; 1999.
11. Maia FA, Almeida MTC, Alves MR, Bandeira LVS, Silva VB da, Nunes NF, et al.

- Transtorno do espectro do autismo e idade dos genitores: estudo de caso-controle no Brasil. *Cad Saude Publica*. 2018;34:e00109917.
12. Sanders SJ, Murtha MT, Gupta AR, Murdoch JD, Raubeson MJ, Willsey AJ, et al. De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism. *Nature*. 2012;485:237-241.
 13. Ozonoff S, Young GS, Carter A, Messinger D, Yirmiya N, Zwaigenbaum L, et al. Recurrence risk for autism spectrum disorders: a Baby Siblings Research Consortium study. *Pediatrics*. 2011;128:488-495.
 14. Szatmari P, Chawarska K, Dawson G, Georgiades S, Landa R, Lord C, et al. Prospective longitudinal studies of infant siblings of children with autism: lessons learned and future directions. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2016;55:179-187.
 15. de la Torre-Ubieta L, Won H, Stein JL, Geschwind DH. Advancing the understanding of autism disease mechanisms through genetics. *Nat Med*. 2016;22:345-361.
 16. Happé F, Frith U. Annual Research Review: Looking back to look forward—changes in the concept of autism and implications for future research. *J Child Psychol Psychiatry*. 2020;61:218-232.
 17. Baron-Cohen S, Tsompanidis A, Auyeung B, Nørgaard-Pedersen B, Hougaard DM, Abdallah M, et al. Foetal oestrogens and autism. *Mol Psychiatry*. 2019;1-9.
 18. Brito Rocha , Adriana; Almeida Santoro , Roberto; Crenzel, Gabriela; Alves Mendonça , Ana Silvia; Lima Cabral, Rossano; Abranches C. Autism and the new challenges imposed by the COVID-19 pandemic. *Rev Pediatr SOPERJ*. 2020;6.
 19. Jones CRG, Simonoff E, Baird G, Pickles A, Marsden AJS, Tregay J, et al. The association between theory of mind, executive function, and the symptoms of autism spectrum disorder. *Autism Res*. 2018;11:95-109.
 20. Lázaro CP, Pondé MP. Narrativa de mães de crianças com transtorno do espectro do autismo: Foco no comportamento alimentar. *Trends Psychiatry Psychother*. 2017;39:180-187.

21. Cermak AS, Curtin C, Bandini LG. Seletividade alimentar e sensibilidade sensorial em crianças com transtornos do espectro do autismo. *J Am Diet Assoc.* 2010;110:238-246.
22. Gulbransen G, Xu W, Arroll B. Cannabidiol prescription in clinical practice: an audit on the first 400 patients in New Zealand. *BJGP open.* 2020;4.
23. Aran A, Cassuto H, Lubotzky A, Wattad N, Hazan E. Brief Report: Cannabidiol-Rich Cannabis in Children with Autism Spectrum Disorder and Severe Behavioral Problems—A Retrospective Feasibility Study. *J Autism Dev Disord.* 2019 Mar;49:1284-1288.
24. Barchel D, Stolar O, De-Haan T, Ziv-Baran T, Saban N, Fuchs DO, et al. Oral Cannabidiol Use in Children With Autism Spectrum Disorder to Treat Related Symptoms and Co-morbidities. *Front Pharmacol.* 2019;9:1521.
25. Bar-Lev Schleider L, Mechoulam R, Saban N, Meiri G, Novack V. Real life Experience of Medical Cannabis Treatment in Autism: Analysis of Safety and Efficacy. *Sci Rep.* 2019;9:200.
26. Fleury-Teixeira P, Caixeta FV, Ramires da Silva LC, Brasil-Neto JP, Malcher-Lopes R. Effects of CBD-Enriched Cannabis sativa Extract on Autism Spectrum Disorder Symptoms: An Observational Study of 18 Participants Undergoing Compassionate Use. *Front Neurol.* 2019;10:1145.
27. Food and drug administration. FDA approves first drug comprised of an active ingredient derived from marijuana to treat rare and severe forms of epilepsy. www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-drug-comprised-active-ingredient-derived-marijuana-treat-rare-severe-forms. Accessed 2020 Nov 19.
28. Devinsky O, Patel AD, Cross JH, Villanueva V, Wirrell EC, Privitera M, et al. Effect of cannabidiol on drop seizures in the Lennox–Gastaut syndrome. *N Engl J Med.* 2018;378:1888-1897.
29. Devinsky O, Cross JH, Laux L, Marsh E, Miller I, Nabbout R, et al. Trial of cannabidiol for drug-resistant seizures in the Dravet syndrome. *N Engl J Med.* 2017;376:2011-2020.
30. Morano A, Fanella M, Albin M, Cifelli P, Palma E, Giallonardo AT, et al.

Cannabinoids in the Treatment of Epilepsy: Current Status and Future Prospects. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2020;16:381.

31. Russo EB. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br J Pharmacol.* 2011;163:1344-1364.
32. Bergamaschi MM, Queiroz RHC, Chagas MHN, de Oliveira DCG, De Martinis BS, Kapczinski F, et al. Cannabidiol Reduces the Anxiety Induced by Simulated Public Speaking in Treatment-Naïve Social Phobia Patients. *Neuropsychopharmacology.* 2011;36:1219-1226.
33. Zuardi AW, Cosme RA, Graeff FG, Guimarães FS. Effects of ipsapirone and cannabidiol on human experimental anxiety. *J Psychopharmacol.* 1993;7 Suppl 1:82–88.
34. Crippa JAS, Derenusson GN, Ferrari TB, Wichert-Ana L, Duran FLS, Martin-Santos R, et al. Neural basis of anxiolytic effects of cannabidiol (CBD) in generalized social anxiety disorder: a preliminary report. *J Psychopharmacol.* 2011;25:121-130.
35. Shannon S, Lewis N, Lee H, Hughes S. Cannabidiol in anxiety and sleep: a large case series. *Perm J.* 2019;23.
36. Wolff D, Reijneveld SA. Use of cannabidiol oil in children. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2019;163.

Table 1:

Sociodemographic data of the parents of children with ASD.

Variable (parents)	Cannabis group (n = 31)	Control group (n = 29)	Total (n = 60)
Mother age (in conception)	29,00 (29,00) ± 6,09	30,00 (30,00) ± 6,85	29,46 (30,00) ± 6,42
Father age (in conception)	34,05 (34,00) ± 6,69	32,10 (31,00) ± 5,67	33,10 (33,00) ± 6,21
Mother education			
Incomplete elementary	1 (3,57)	2 (7,69)	3 (5,56)
Complete elementary	0 (0,00)	1 (3,85)	1 (1,85)
Incomplete secondary	2 (7,14)	0 (0,00)	2 (3,70)
Complete secondary	9 (32,14)	7 (26,92)	16 (29,63)
Incomplete higher	4 (14,29)	6 (23,08)	10 (18,52)
Complete higher	6 (21,43)	4 (15,38)	10 (18,52)
Postgraduation	6 (21,43)	6 (23,08)	12 (22,22)
Father education			
Incomplete elementary	0 (0,00)	1 (5,56)	1 (2,63)
Complete elementary	1 (5,00)	1 (5,56)	2 (5,26)
Incomplete secondary	3 (15,00)	6 (33,33)	9 (23,68)
Complete secondary	2 (10,00)	2 (11,11)	4 (10,53)
Incomplete higher	8 (40,00)	4 (22,22)	12 (31,58)
Complete higher	6 (30,00)	4 (22,22)	10 (26,32)
Other children			
No	11 (35,48)	10 (34,48)	21 (35,00)
Yes	14 (45,16)	14 (48,28)	28 (46,67)
yes and autistic	6 (19,35)	5 (17,24)	11 (18,33)
Working parents			
No	1 (3,23)	2 (6,90)	3 (5,00)
Yes	20 (64,52)	14 (48,28)	34 (56,67)
one of the parents had to stop	10 (32,26)	13 (44,83)	23 (38,33)
Father or mother civil status			
Single	8 (25,81)	6 (20,69)	14 (23,33)
Married	15 (48,39)	17 (58,62)	32 (53,33)
Divorced	8 (25,81)	5 (17,24)	13 (21,67)
other	0 (0,00)	1 (3,45)	1 (1,67)

Qualitative variables: n (%)

Quantitative variables: average (median) ± standard deviation.

Table 2:

Sociodemographic data and information about the children participating in the research.

Variable (children)	Cannabis group (n = 31)	Control group (n = 29)	Total (n = 60)
Gender			
Male	25 (80,65)	27 (93,10)	52 (86,67)
Female	6 (19,35)	2 (6,90)	8 (13,33)
			7,68 (7,00) ± 1,74
Age	7,64 (7,00) ± 1,76	7,72 (7,00) ± 1,75	
Child education			
Does not attend	2 (6,45)	2 (6,90)	4 (6,67)
Beneath the expected grading	4 (12,90)	6 (20,69)	10 (16,67)
Within the expected grading	25 (80,65)	21 (72,41)	46 (76,67)
Treatment type			
Does not	6 (19,35)	7 (24,14)	13 (21,67)
Public	14 (45,16)	9 (31,03)	23 (38,33)
Private	7 (22,58)	11 (37,93)	18 (30,00)
mixed	4 (12,90)	2 (6,90)	6 (10,00)
Occupational therapy	16 (51,61)	17 (58,62)	33 (55,00)
Physiotherapy	1 (3,23)	1 (3,45)	2 (3,33)
Fonoaudiology	19 (61,29)	20 (68,97)	39 (65,00)
Psychology	15 (48,39)	17 (58,62)	32 (53,33)
Psychopedagogy	11 (35,48)	12 (41,38)	23 (38,33)
Other treatments	6 (19,35)	2 (6,90)	8 (13,33)
Psychotropics usage			
no	17 (54,84)	10 (34,48)	27 (45,00)
yes and continued	12 (38,71)	16 (55,17)	28 (46,67)
Uses and stopped	1 (3,23)	2 (6,90)	3 (5,00)
Did not use and started	1 (3,23)	1 (3,45)	2 (3,33)
Selective eating			
No	16 (51,61)	17 (58,62)	33 (55,00)
yes and continued	8 (25,81)	7 (24,14)	15 (25,00)
Yes and stopped	7 (22,58)	5 (17,24)	12 (20,00)
Degree			
Mild	13 (41,94)	13 (44,83)	26 (43,33)
Moderate	16 (51,61)	13 (44,83)	29 (48,33)
Severe	2 (6,45)	3 (10,34)	5 (8,33)
Adverse side effects	4 (12,90)	5 (17,24)	9 (15,00)
Subjective improvement			
No	7 (22,58)	12 (41,38)	19 (31,67)
Doubt	3 (9,68)	7 (24,14)	10 (16,67)
Yes	21 (67,74)	10 (34,48)	31 (51,67)
			44,30 (50,00) ± 17,23
Quantity of drops used	47,42 (52,00) ± 15,22	40,96 (44,00) ± 18,86	
Isolation interference			
no	19 (61,29)	19 (65,52)	38 (63,33)
Only in the beginning	4 (12,90)	1 (3,45)	5 (8,33)
yes	8 (25,81)	9 (31,03)	17 (28,33)

Qualitative variables: n (%)

Quantitative variables: average (median) ± standard deviation.

Table 3:

Evaluation of different variables in children with ASD in the Placebo Group and the Cannabis Group. Results are expressed as average (median) \pm standard deviation.

Variable	Placebo Group (n = 29)	Cannabis Group (n=31)	Value p
Aggressivity	1,39 (1,00) \pm 1,36	0,81 (0,00) \pm 1,05	0,2149
Psychomotor agitation	2,65 (3,00) \pm 1,14	1,64 (2,00) \pm 1,28	0,00295**
Concentration	2,96 (3,00) \pm 0,86	1,71 (2,00) \pm 1,07	0,269
Meals	0,38 (0,00) \pm 0,82	1,32 (0,00) \pm 1,90	0,045*
Sleep	0,28 (0,00) \pm 0,59	0,77 (0,00) \pm 1,61	0,0711
Social Interaction	2,83 (3,00) \pm 1,10	1,68 (2,00) \pm 1,01	0,000268***
Speech	1,72 (1,00) \pm 1,55	1,32 (1,00) \pm 1,42	0,3918
Anxiety	2,90 (3,00) \pm 1,23	1,84 (2,00) \pm 1,39	0,0159*
Stereotypy	2,07 (2,00) \pm 1,03	1,45 (1,00) \pm 1,06	0,3853
ATEC L	13,14 (13,00) \pm 8,18	12,16 (12,00) \pm 7,49	0,254
ATEC S	17,83 (18,00) \pm 9,83	13,64 (15,00) \pm 6,31	0,113
ATEC P	16,86 (18,00) \pm 8,53	13,68 (13,00) \pm 7,77	0,212
ATEC SC	27,17 (25,00) \pm 11,03	25,35 (25,00) \pm 10,79	0,119
ATEC T	75,00 (78,00) \pm 32,89	64,84 (63,00) \pm 26,82	0,098
CARS	37,83 (39,00) \pm 9,02	33,47 (31,00) \pm 8,48	0,188

All p-values were calculated between the cannabis after versus placebo after groups using the ANOVA TWO WAY test followed by TUKEY and WILCOXON

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

Table 4:

Mixed analysis of variance for two factors (R software version 4.0.2).

Variable	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Social Interaction	1	17.63	17.633	14.133	0.000268***
Residuals	116	144.73	1.248		
Psychomotor Agitation	1	14.70	14.700	9.225	0.00295**
Residuals	116	184.84	1.593		
Anxiety	1	10.21	10.208	5.989	0.0159*
Residuals	116	197.73	1.705		
Number of meals per day	1	9.63	9.633	4.109	0.045*
Residuals	116	271.99	2.345		
Concentration (Mild Group)	1	5.56	5.558	6.747	0.0124*
Residuals	48	39.54	0.824		

All p-values were calculated between the cannabis after versus placebo after groups using the ANOVA TWO WAY test followed by TUKEY and WILCOXON

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001