



Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição (FACFAN)
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas



IARA DUENHA GARANHANI

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM CRIANÇAS
COM TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA (TEA)**

CAMPO GRANDE - MS

2025

IARA DUENHA GARANHANI

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM CRIANÇAS
COM TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA (TEA)**

Relatório para Defesa de Mestrado do
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição
(FACFAN) da Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul (UFMS).

Prof. Dra. Renata Trentin Perdomo (Orientadora)
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Iara Duenha Garanhani (Orientada)
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

CAMPO GRANDE - MS

2025

IARA DUENHA GARANHANI

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM CRIANÇAS
COM TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA (TEA)**

Relatório para Defesa de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição
(FACFAN) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

Apresentação: 29 de abril de 2025

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Renata Trentin Perdomo (Presidente)
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Prof. Dr. Davi Campos La Gatta (Titular)
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Profa. Dra. Ana Tereza Gomes Guerrero Moureau (Titular)
FIOCRUZ

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, por sua sabedoria e força ao longo da minha jornada.

À minha família, pelo amor incondicional e apoio constante.

Ao meu esposo, pelo carinho, presença e incentivo diários.

E à vida, que me ensinou a persistir e acreditar em cada passo.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível graças a muitas mãos, corações e presenças que me acompanharam ao longo desta caminhada.

Agradeço, primeiramente, a Deus, por ser minha fonte inesgotável de força, fé e inspiração, sustentando-me em cada desafio e iluminando meus passos até aqui.

À minha mãe, Liana, ao meu pai, Rafael, e à minha irmã, Anna, por todo amor, dedicação e apoio incondicional. Vocês são o alicerce da minha vida e a razão da minha força diária.

Ao meu esposo, Cesar, meu companheiro de todas as horas, pelo amor paciente, pela presença constante e por acreditar em mim, mesmo nos momentos em que eu mesma duvidei. Obrigada por ser abrigo, incentivo e alegria ao longo dessa jornada.

À minha família, em seu sentido mais amplo, incluindo meus avós, meus tios e a família maravilhosa que ganhei através do Cesar. Cada gesto de carinho e cada palavra de apoio fizeram diferença neste caminho.

Aos meus amigos, que com palavras de incentivo, escuta atenta e torcida verdadeira, tornaram esse processo mais leve e possível.

Aos colegas de profissão que me auxiliaram imensamente neste trabalho, em especial ao Prof. Dr. Eduardo Parisotto e à Paola Mayara, pela disponibilidade, generosidade e partilha de conhecimento.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), instituição que me acolheu e me proporcionou as condições necessárias para o desenvolvimento desta pesquisa.

E à minha orientadora, Prof^a Dr^a Renata Trentin, pelo aceite em orientar este trabalho e pela oportunidade de desenvolvimento deste projeto.

A todos vocês, o meu mais sincero muito obrigada.

RESUMO

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma condição neurodivergente caracterizada por déficits na interação social, comunicação e comportamentos repetitivos, com ampla variabilidade clínica. Evidências recentes indicam que o estresse oxidativo e a inflamação podem estar envolvidos na fisiopatologia do TEA. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar biomarcadores relacionados ao estresse oxidativo e inflamação em crianças com diagnóstico de TEA. Participaram do estudo 22 crianças com TEA (até 12 anos) e 13 crianças neurotípicas, pareadas como grupo controle, após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) (CAAE 70494823.7.0000.0021). Amostras de sangue venoso foram coletadas, com e sem anticoagulante (EDTA), para a obtenção de soro e sangue total, respectivamente. Foram analisadas as enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e gama-glutamyltransferase (GGT), os antioxidantes não enzimáticos glutathione reduzida (GSH) e ácido úrico (AU), os marcadores inflamatórios interleucina-1 beta (IL-1 β) e mieloperoxidase (MPO), e os marcadores de dano oxidativo, como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e proteína carbonilada (PC). A análise estatística foi realizada por meio do teste t de Student, considerando significância de $p < 0,05$ a comparação entre grupo TEA e grupo controle. Os resultados indicaram aumento da atividade de SOD ($p < 0,001$), MPO ($p < 0,01$) e IL-1 β ($p < 0,01$) nas crianças com TEA, além de aumento de concentração de TBARS ($p < 0,05$) e PC ($p < 0,01$). Observou-se, ainda, redução significativa da atividade de CAT ($p < 0,001$) e GGT ($p < 0,001$), bem como concentração de GSH ($p < 0,01$) e AU ($p < 0,05$) no grupo TEA. Esses achados reforçam a hipótese do envolvimento do estresse oxidativo e da inflamação na fisiopatologia do TEA e sugerem que a investigação de biomarcadores específicos pode contribuir para o aprimoramento de estratégias diagnósticas e terapêuticas.

Descritores: Déficit na comunicação social e interação social; Diagnóstico precoce; estresse oxidativo; TEA.

ABSTRACT

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodivergent condition characterized by deficits in social interaction, communication, and repetitive behaviors, with broad clinical variability. Recent evidence indicates that oxidative stress and inflammation may be involved in the pathophysiology of ASD. In this context, the present study aimed to evaluate oxidative stress and inflammation biomarkers in children diagnosed with ASD. The study included 22 children with ASD (up to 12 years old) and 13 neurotypical children, matched as a control group after approval by the Human Research Ethics Committee of the Federal University of Mato Grosso do Sul (UFMS) (CAAE 70494823.7.0000.0021). Venous blood samples were collected, with and without anticoagulant (EDTA), to obtain serum and whole blood, respectively. The antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and gamma-glutamyltransferase (GGT), the non-enzymatic antioxidants reduced glutathione (GSH) and uric acid (UA), the inflammatory markers interleukin-1 beta (IL-1 β) and myeloperoxidase (MPO), and the markers of oxidative damage, such as thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) and carbonyl protein (PC), were analyzed. Statistical analysis was performed using Student's t-test, considering significance at $p < 0.05$. The results indicated a significant increase in the activities of SOD ($p < 0.001$), MPO ($p < 0.01$), and IL-1 β ($p < 0.01$) in children with ASD, in addition to an increase in the concentration of TBARS ($p < 0.05$) and PC ($p < 0.01$). A significant reduction in CAT ($p < 0.001$) and GGT ($p < 0.001$) activity, as well as GSH ($p < 0.01$) and UA ($p < 0.05$) concentrations were also observed in the ASD group. These findings reinforce the hypothesis of the involvement of oxidative stress and inflammation in the pathophysiology of ASD and suggest that investigating specific biomarkers may contribute to improving diagnostic and therapeutic strategies.

Keywords: Autism Spectrum Disorder; Oxidative Stress; Biomarkers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Inflamação e estresse oxidativo	30
Figura 2 - Atividade das defesas antioxidantes enzimáticas nos grupos controle e TEA	44
Figura 3 - Defesas antioxidantes não-enzimáticas	45
Figura 4 - Marcadores de dano oxidativo	45
Figura 5 - Marcadores de inflamação	46
Figura 6 - Resultados das defesas antioxidantes, marcadores de dano oxidativo e inflamação em crianças com TEA	47

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

4-AMP	4-aminoantipirina
8-OHdG	5'-8-ciclo-2'-desoxiguanosina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DTNB	Ácido ditionitrobenzoico
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetracético
HOCl	Ácido Hipocloroso
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
AU	Ácido Úrico
UCAs	Ácidos carboxílicos urinários
PUFAs	Ácidos graxos poliinsaturados
ATP	Adenosina trifosfato
H ₂ O	Água
ABA	Análise do Comportamento Aplicada
TNB	Ânion Tiolato
IL-1RA	Antagonista do Receptor de Interleucina-1
MIA	Ativação imunológica materna
IGKC	Cadeia constante kappa da imunoglobulina
CAT	Catalase
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças

CER-APAE	Centro Especializado em Reabilitação da APAE (Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais)
CAAE	Certificado de Apresentação e Apreciação Ética
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
C8A	Componente C8 do sistema complemento
ADOS-2	Cronograma de Observação Diagnóstica do Autismo, Segunda Edição (do Inglês, Autism Diagnostic Observation Schedule, Second Edition)
DHBS	Diclorohidroxibenzeno
ADI-R	Entrevista de diagnóstico de autismo - revisada (do Inglês, Autism diagnostic interview-revised)
SEM	Erros padrão da média
CARS	Escala de Avaliação do Autismo Infantil (do Inglês, Childhood Autism Rating Scale)
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
HOO-	Espécies superóxido
EO	Estresse Oxidativo
FACFAN	Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
GGT	Gama Glutamil Transferase
GSSG	Glutathiona Oxidada
GPx	Glutathiona Peroxidase

GR	Glutationa redutase
GSH	Glutationa Reduzida
GST	Glutationa Transferase
LOOH	Hidroperóxidos Lipídicos
ISRSs	Inibidores seletivos de recaptção de serotonina
IL-17A	Interleucina-17 ^a
IL-1 α	Interleucina-1 α
IL-1 β	Interleucina-1 β
IL-1 β -511	Interleucina-1 β associada ao polimorfismo - 511
M-CHAT	Lista de verificação modificada para autismo em crianças pequenas (do Inglês, Modified Checklist for Autism in Toddlers)
MDA	Malondialdeído
DSM-V	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, Quinta Edição (do Inglês, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition)
MPO	Mieloperoxidase
NOX	NADPH Oxidase
NAD	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
¹ O ₂	Oxigênio singlete
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
PC	Proteína Carbonilada
PT	Proteínas Totais

RO•	Radical alcóxil
HNE	4-Hidroxinonenal
HO•	Radical hidroxila
LOO•	Radical Peroxil Lipídico
ROO•	Radical peróxil
O ₂ •-	Radical Superóxido
SRS	Social Responsiveness Scale
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
SOD	Superóxido dismutase
TALE	Termo de Assentimento Livre e Esclarecido
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
PET	Tomografia por emissão de prótons
TEA	Transtorno do Espectro Autista
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 Transtorno do Espectro Autista (TEA)	16
2.1.1 Histórico	16
2.1.2 Etiologia	17
2.1.3 Aspectos Clínicos	20
2.1.4 Diagnóstico e Abordagens Terapêuticas	21
2.2 Espécies Reativas de Oxigênio e Estresse Oxidativo	23
2.3 Defesas antioxidantes de interesse	25
2.3.1 Enzimas Antioxidantes	25
2.3.2 Antioxidantes não-enzimáticos	27
2.4 Inflamação e Estresse Oxidativo	28
2.4.1 Marcadores Inflamatórios	30
2.5 Estresse Oxidativo e Consequências Biológicas	31
2.5.1 Dano ao DNA e às proteínas	31
2.5.2 Peroxidação Lipídica	32
2.6 Estresse Oxidativo e TEA	33
3. OBJETIVOS	35
3.1 Geral	35
3.2 Objetivos Específicos	35
4. MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1 Delineamento do estudo e abordagem dos pacientes	36
4.1.1 Considerações éticas	36
4.1.2 Critérios de inclusão	36
4.1.3 Critérios de exclusão	37
4.1.4 Dados obtidos	37
4.1.5 Definições	37
4.1.6 Coleta de amostras biológicas	37
4.2 Protocolo experimental	37
4.3 Defesas antioxidantes e marcadores de estresse oxidativo	38

4.3.1 Análise das defesas antioxidantes enzimáticas	38
4.3.2 Análise das defesas antioxidantes não enzimáticas	40
4.3.3 Determinação dos marcadores de dano oxidativo	41
4.3.4 Determinação de marcadores de inflamação	42
4.4 Análise estatística.....	43
5. RESULTADOS.....	43
5.1 Características dos participantes da pesquisa	43
5.2 Análise das defesas antioxidantes.....	43
5.2.1 Crianças com TEA apresentam redução em defesas antioxidantes enzimáticas e não-enzimáticas em relação ao grupo controle	43
5.3 Análise dos marcadores de dano oxidativo	45
5.3.1 Crianças com TEA apresentam aumento de marcadores de dano oxidativo em relação ao grupo controle.....	45
5.4 Determinação de marcadores de inflamação.....	46
5.4.1 Crianças com TEA apresentam valores aumentados de marcadores inflamatórios em relação ao grupo controle	46
6. DISCUSSÃO	47
7. CONCLUSÕES	55
REFERÊNCIAS.....	56

1. INTRODUÇÃO

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é um transtorno do neurodesenvolvimento caracterizado por déficits persistentes na comunicação social e comportamentos repetitivos e restritivos (American Psychiatric Association, 2013). A prevalência global do TEA tem aumentado, com estimativas recentes sugerindo que aproximadamente 1 em cada 36 crianças é diagnosticada com TEA, conforme os dados dos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (Maenner, 2023). Essa condição representa um desafio significativo para as famílias e profissionais de saúde, especialmente devido à sua ampla variabilidade clínica e à falta de biomarcadores específicos que possam auxiliar no diagnóstico e monitoramento da gravidade do transtorno (Phetoe *et al.*, 2023). Embora o diagnóstico do TEA atualmente se baseie em critérios clínicos e comportamentais, a busca por biomarcadores que possam auxiliar na avaliação e monitoramento do transtorno é uma área de intenso interesse na pesquisa neurobiológica (Chen *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2022).

O estresse oxidativo, definido como um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a capacidade do organismo de neutralizá-las, tem sido implicado em diversas condições neuropsiquiátricas, incluindo o TEA (Bjørklund *et al.*, 2020). Estudos mostram que indivíduos com TEA apresentam valores alterados de alguns marcadores de estresse oxidativo, tais como o malondialdeído (MDA) e a redução dos valores de glutathione reduzida (GSH), sugerindo uma disfunção nos mecanismos antioxidantes e um aumento na peroxidação lipídica (Chauhan; Chauhan, 2006; Chen *et al.*, 2021; Frustaci *et al.*, 2012). Historicamente, a compreensão dos mecanismos patológicos subjacentes ao TEA tem evoluído, com uma ênfase crescente na identificação de biomarcadores que possam oferecer *insights* sobre a fisiopatologia do transtorno. Apesar do papel do estresse oxidativo em crianças com TEA ainda estar sendo desvendado, evidências sugerem que o aumento da peroxidação lipídica e a redução das defesas antioxidantes podem estar envolvidos na gravidade dos sintomas (Liu *et al.*, 2022).

Além da correlação observada entre MDA e GSH com o TEA, outros biomarcadores relacionados à regulação do estresse oxidativo celular, tais como a atividade da enzima catalase (CAT) e a concentração de ácido úrico (AU), também podem estar envolvidos e contribuir como potenciais marcadores de prognóstico (Ighodaro; Akinloye, 2018). Ademais, indicadores de dano oxidativo, tais como a

proteína carbonilada (PC) e a concentração de Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), podem fornecer informações sobre a extensão do dano celular causado pelo estresse oxidativo (Akagawa, 2020; Yui *et al.*, 2020).

Em paralelo ao estresse oxidativo, a inflamação também desempenha um papel importante na fisiopatologia do TEA. Evidências sugerem que disfunções neuroimunes e inflamatórias estão presentes em indivíduos com TEA, influenciando o desenvolvimento e a gravidade dos sintomas (Siniscalco *et al.*, 2018). A inflamação crônica pode levar a alterações neurobiológicas que afetam o comportamento e as funções cognitivas. A mieloperoxidase (MPO) tem sido associada a processos inflamatórios e neuroimunes em TEA, contribuindo para a compreensão das bases fisiopatológicas do transtorno (Ceylan *et al.*, 2021).

Diante desse cenário, a ausência de biomarcadores validados que possam auxiliar no diagnóstico, prognóstico e monitoramento do TEA representa uma lacuna crítica na prática clínica, limitando a capacidade dos profissionais de saúde de avaliar com precisão a gravidade do transtorno e a eficácia das intervenções terapêuticas ao longo do tempo. Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo investigar biomarcadores de estresse oxidativo e inflamação em crianças diagnosticadas com TEA. A caracterização desses biomarcadores é essencial não apenas para a elucidação dos mecanismos fisiopatológicos subjacentes ao TEA, mas também para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais direcionadas e eficazes. Ao fornecer ferramentas objetivas para o acompanhamento do estado clínico desses pacientes, tais biomarcadores têm o potencial de aprimorar tanto o manejo clínico quanto a qualidade de vida das crianças diagnosticadas com TEA, permitindo intervenções mais precoces e personalizadas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Transtorno do Espectro Autista (TEA)

2.1.1 Histórico

Ao longo das últimas décadas, o TEA tem sido alvo de estudo, passando por diversos aprimoramentos em sua definição (Lord et al., 2018). Leo Kanner (1943) o caracterizou como uma dificuldade de comunicação social ligada à incapacidade inata de estabelecer conexões emocionais, acompanhada por uma solidão intensa, na qual o indivíduo demonstra padrões repetitivos e focados de comportamento e interesses pessoais, dando a definição de “distúrbio autístico do contato afetivo”. No ano seguinte, foi relatado o caso de onze crianças que exibiam um padrão considerado incomum, marcado pela dificuldade central em estabelecer relações interpessoais desde a primeira infância levando à substituição do termo por “autismo infantil precoce” (Kanner, 1944).

Atualmente, o Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-V) identifica dois principais domínios deficientes no TEA: a interação social e o comportamento repetitivo restrito, que são utilizados como marcadores de severidade relacionados ao grau de comprometimento (American Psychiatric Association, 2013). A revisão dos critérios teve como objetivo tornar a definição mais específica, resultando em uma abordagem mais restritiva (Halfon; Kuo, 2013). Embora várias definições possam ser encontradas, como a de Lord et al. (2020), que descreve o TEA como um transtorno do neurodesenvolvimento caracterizado por déficits na comunicação social e padrões comportamentais repetitivos e sensoriais, os pontos em comum entre as diferentes abordagens permanecem: a dificuldade na interação social e a persistência de padrões de comportamento restritos e repetitivos.

O TEA foi considerado como um distúrbio raro na época da sua descoberta, no entanto, a prevalência do mesmo vem aumentando continuamente, fato que pode ser incumbido à evolução dos diagnósticos a partir da publicação do DSM-5, além da crescente consciência atribuída à população com a oportunidade de tratamento (Zylstra et al., 2014).

No Brasil, ainda são escassos os estudos epidemiológicos que abordam a prevalência do TEA, os custos financeiros do tratamento e a assistência oferecida na rede pública de saúde, com pouco relato disponível (Garcia; Nascimento; Pereira,

2017). Por isso, muitas vezes são utilizados dados estatísticos estimados com base em estudos epidemiológicos internacionais.

O aumento progressivo na incidência do autismo é observado desde o início da década de 60, conforme evidenciado a partir do estudo epidemiológico com crianças realizado no condado de Middlesex, no Reino Unido, onde a taxa de prevalência foi de 4,5/10.000, com uma proporção entre meninos e meninas de 2,6 para 1 (Lotter, 1966). Em 2012, as estimativas de prevalência do TEA aumentaram para 62 a cada 10.000 pessoas (Elsabbagh et al., 2012). No entanto, um estudo de maior escala realizado na Islândia encontrou uma prevalência de 120 crianças com TEA a cada 10.000 (Saemundsen et al., 2013). Em 2014, a incidência mundial do autismo foi relatada sendo de aproximadamente 1%, com uma relação de 4 homens a cada 1 mulher (Lai; Lombardo; Baron-Cohen, 2014).

Em 2000, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos Estados Unidos (EUA) instituiu a Rede de Monitoramento de Autismo e Deficiências de Desenvolvimento (ADDM), deste modo, esse sistema de vigilância de saúde pública foi implementado com a finalidade de estimar a prevalência do TEA, além de outras deficiências. A partir do ADDM foi demonstrado um aumento na prevalência do TEA em crianças de 8 anos em 11 localidades dos EUA nos últimos anos. Os dados de prevalência revelam que, em 2016, a taxa de TEA era de 1 em cada 54 crianças (Maenner, 2020). Este número aumentou para 1 em cada 44 crianças em 2018 (Maenner et al., 2021). De acordo com os últimos dados, em 2020 chegou a 1 em cada 36 crianças, sendo que a taxa entre meninos foi aproximadamente 4 vezes maior do que entre meninas (Maenner, 2023). A diferença entre o maior diagnóstico entre homens e mulheres pode estar relacionado a fatores neurobiológicos, culturais e sociais (Green et al., 2019; Ochoa-Lubinoff; Makol; Dillon, 2023).

No Brasil, as políticas públicas em prol dos autistas e seus familiares começaram tardiamente. Atualmente, o Sistema Único de Saúde (SUS) conta com 300 Centros Especializados em Reabilitação distribuídos em todo o território nacional, oferecendo serviços especializados para o TEA, incluindo avaliação e acompanhamento multiprofissional (Oliveira et al., 2017).

2.1.2 Etiologia

A etiologia do TEA é complexa e influenciada por fatores genéticos, com uma heterogeneidade poligênica evidenciada pela diversidade na quantidade de variantes

genéticas envolvidas, de modo que diferentes indivíduos podem apresentar distintas combinações dessas variantes, cada uma contribuindo de maneira única para a manifestação da condição, o que ressalta a complexidade do TEA. (Grove et al., 2019).

Esse transtorno está associado a uma interação entre variações genéticas comuns e mutações espontâneas, denominadas variantes de novo, que aparecem espontaneamente em um indivíduo e não são herdadas dos pais, com uma associação a formas mais graves do TEA, especialmente em indivíduos com comprometimento intelectual e déficits severos de linguagem (Dong et al., 2023; Mitra et al., 2020). Por outro lado, o risco poligênico, ou seja, uma combinação de variações genéticas comuns que, juntas, aumentam a predisposição ao TEA, parece ser mais prevalente em casos menos severos, sem déficits intelectuais marcantes. Esses fatores genéticos combinados explicam parte da herdabilidade do TEA, embora a contribuição total ainda seja parcialmente desconhecida (Dong et al., 2023).

As diferenças sexuais desempenham um papel importante no risco genético do TEA, com os homens sendo diagnosticados em uma proporção significativamente maior do que as mulheres; no entanto, pesquisas recentes sugerem que as mulheres podem precisar de uma carga genética mais alta para desenvolver o TEA, fenômeno conhecido como "efeito protetor feminino" (Jacquemont et al., 2014). Esse efeito implica que, para alcançar o limiar necessário para o diagnóstico, as mulheres exigem uma quantidade maior de fatores de risco genéticos em comparação aos homens, que podem manifestar o transtorno com uma carga genética menor, contribuindo assim para a menor prevalência de TEA em mulheres, apesar da presença de fatores de risco semelhantes. (Desachy et al., 2015; Jacquemont et al., 2014). Além disso, diferenças em genes localizados nos cromossomos sexuais podem influenciar o desenvolvimento do transtorno. Um exemplo é o gene NLGN4X, presente no cromossomo X, que pode sofrer mutações e ter sua função prejudicada, afetando também o NLGN4Y, presente no cromossomo Y. Essa vulnerabilidade genética pode contribuir para o viés masculino observado no TEA, uma vez que homens, por possuírem apenas um cromossomo X, não têm um segundo alelo funcional de NLGN4X para compensar os efeitos deletérios (Nguyen et al., 2020; Nguyen, Lehr e Roche, 2020).

Diversos estudos têm identificado outras variantes genéticas associadas ao TEA, incluindo genes envolvidos na sinaptogênese e função neuronal, como SHANK3,

NRXN1 e NLGN3, além de regiões específicas como o locus 16p11.2 (Liu et al., 2013; De Rubeis et al., 2014; Chair et al., 2024).

Observa-se também que a prevalência do TEA entre irmãos é significativamente superior à média da população em geral. Pesquisas envolvendo gêmeos revelam uma concordância substancialmente maior nos sintomas do TEA entre gêmeos monozigóticos em comparação com gêmeos dizigóticos (Tick et al., 2016). Ademais, o risco de uma criança desenvolver TEA foi considerado proporcional à porcentagem do genoma que ela compartilhava com um irmão ou progenitor com o transtorno (Risch et al., 2014; Sandin et al., 2014)

A relação entre a microbiota intestinal e o TEA tem sido objeto de crescente investigação científica, especialmente no contexto do autismo infantil. Estudos recentes sugerem que a composição e diversidade da microbiota intestinal podem influenciar o desenvolvimento neurocomportamental, com impactos significativos na manifestação dos sintomas do TEA (Liu et al., 2019; Zou et al., 2020). Além disso, a disbiose intestinal, caracterizada por um desequilíbrio na microbiota, tem sido associada a distúrbios gastrointestinais comumente observados em crianças com autismo, potencialmente exacerbando os sintomas comportamentais (Vuong et al., 2017; Krajmalnik-Brown et al., 2015). O estudo de Gałtarek et al. (2020) investigou a presença de ácidos carboxílicos urinários (UCAs) em indivíduos com TEA e sua possível associação com o crescimento excessivo de bactérias intestinais. Os autores observaram que a concentração elevada de UCAs estava correlacionada com disbiose intestinal, o que sugere que o crescimento excessivo de bactérias pode estar envolvido na regulação do eixo intestino-cérebro em pacientes com TEA, podendo contribuir para a inflamação sistêmica e o aumento do estresse oxidativo.

A disfunção mitocondrial tem sido cada vez mais reconhecida como um possível fator subjacente ao TEA (Balachandar et al., 2021). Palmieri e Persico (2010) discutem a possibilidade de essa disfunção ser tanto uma causa quanto uma consequência do transtorno, destacando seu impacto no aumento do estresse oxidativo e na redução da produção de ATP, elementos críticos para o desenvolvimento neuronal. Estudos mais recentes, como o de Balachandar et al. (2021), aprofundam essa hipótese, sugerindo que a disfunção mitocondrial pode atuar como um gatilho oculto no desenvolvimento do TEA, descrevendo como a disfunção energética nas mitocôndrias pode prejudicar o metabolismo celular e os processos neurodesenvolvimentais, contribuindo para a gravidade dos sintomas. Kato et al.

(2023), utilizando tomografia por emissão de pósitrons (PET), demonstraram uma menor disponibilidade do Complexo I mitocondrial no córtex cingulado anterior de indivíduos com TEA. Essa redução na atividade do Complexo I, parte fundamental da cadeia respiratória mitocondrial, reforça a ideia de que a disfunção mitocondrial afeta diretamente regiões cerebrais associadas à regulação do comportamento social e emocional, características centrais no TEA.

Fatores ambientais, como exposição a metais pesados, idade avançada dos pais e complicações no parto, como isquemia e hipóxia, também estão associados a um risco aumentado de TEA. Outros elementos, como obesidade materna e diabetes, também se associam ao TEA, embora com menos relevância, mas ainda de forma significativa (Modabbernia; Velthorst; Reichenberg, 2017).

2.1.3 Aspectos Clínicos

O TEA é uma condição de neurodesenvolvimento complexa, caracterizada por déficits na comunicação social e comportamentos restritos e repetitivos. Os sintomas do autismo podem variar amplamente em termos de tipo e gravidade, afetando cada indivíduo de maneira única (American Psychiatric Association, 2013).

Déficits na interação social e comunicação são sintomas centrais do TEA, incluindo dificuldade em responder ao nome, uso limitado de gestos e falta de brincadeiras imaginativas, além disso, associa-se esses problemas de comunicação e interação social com situações como dificuldades em estabelecer amizades, baixa capacidade de atenção, fobias, hipersensibilidade e alta seletividade em relação a alimentos e brinquedos (Nadeem et al., 2021). A severidade dos interesses restritos e comportamentos repetitivos podem mudar ao longo da infância, afetando cada indivíduo de forma única (Waizbard-Bartov et al., 2024). Intervenções comportamentais, como a Análise Aplicada do Comportamento (ABA), podem auxiliar em fatores tais como a melhora da atenção, linguagem e envolvimento social, sendo consideradas uma das abordagens mais eficazes para o tratamento precoce do TEA (Lord et al., 2020; Smith & Iadarola, 2015). Os sintomas do TEA que surgem precocemente tendem a reduzir com o desenvolvimento, embora, em alguns casos, o comprometimento possa persistir até a idade adulta. Isso reforça a característica variável do transtorno, que se manifesta de maneiras diferentes em cada indivíduo (Riglin et al., 2021).

Sintomas fisiológicos, tais como distúrbios gastrointestinais (constipação e diarreia) e disfunções motoras (hipotonia e dificuldades de coordenação) são comuns em indivíduos com TEA, além de comorbidades tais como ansiedade, depressão e distúrbios do sono, o que afeta significativamente a sua qualidade de vida (Nadeem et al., 2021; Williams & Gotham, 2022; McElhanon et al., 2014).

Estudos recentes também destacam a presença de alterações imunológicas e inflamatórias em indivíduos com TEA, sugerindo uma possível ligação entre disfunções do sistema imune e a manifestação de sintomas comportamentais (Ashwood et al., 2011; Gesundheit et al., 2013). Além disso, evidências apontam para a importância de abordagens multidisciplinares, incluindo terapia ocupacional e intervenções nutricionais, para o manejo dos sintomas e melhoria do bem-estar geral (Hyman et al., 2020).

2.1.4 Diagnóstico e Abordagens Terapêuticas

O aumento nos casos diagnosticados pode ser explicado devido a uma melhoria no reconhecimento do TEA, assim como as mudanças no diagnóstico, incluindo a identificação em idades mais precoces (Lai; Lombardo; Baron-Cohen, 2014). O alargamento dos critérios para o diagnóstico contidos na quinta e última edição do DSM-V ocasionou um crescimento da conscientização pública sobre o TEA em relação a seus sintomas, triagem e intervenções (American Psychiatric Association, 2013). Por conta do TEA ser uma condição genética heterogênea e de origem complexa, o paciente recebe um tratamento personalizado baseado em critérios tais como o diagnóstico, presença de outras condições médicas e a intensidade dos sintomas (Genovese; Butler, 2020).

O TEA pode ser diagnosticado a partir dos 18 meses de idade por meio de uma triagem padronizada e vigilância contínua do desenvolvimento na atenção primária (Hyman et al., 2020). O diagnóstico do TEA é estabelecido por meio de análises referentes à história do desenvolvimento do indivíduo, geralmente fornecida pelos responsáveis, em relação aos sintomas característicos do autismo, além da observação clínica realizada por profissionais de saúde especializados (Shen et al., 2020). No Brasil, diversos instrumentos desenvolvidos internacionalmente são amplamente utilizados para triagem e diagnóstico do TEA. A Childhood Autism Rating Scale (CARS) é uma das ferramentas aplicadas para avaliar a gravidade do autismo (Pereira; Riesgo; Wagner, 2008). O Modified Checklist for Autism in Toddlers (M-

CHAT), adaptado para o contexto brasileiro, é amplamente utilizado para triagem precoce do TEA em crianças pequenas (Losapio; Pondé, 2008). O Autism Diagnostic Interview-Revised (ADI-R) e o Autism Diagnostic Observation Schedule, Second Edition (ADOS-2) são aplicados em centros especializados para um diagnóstico mais detalhado e são mencionados em contextos clínicos (Becker et al., 2012). Além disso, a Social Responsiveness Scale (SRS) é utilizada para avaliar a gravidade das dificuldades sociais associadas ao autismo, conforme descrito em pesquisas brasileiras (Barbosa et al., 2015).

As abordagens farmacológicas para o TEA são complexas por conta da variedade de sintomas e causas. A busca pela descoberta de evidências científicas em relação à segurança e eficácia focado na adoção de protocolos clínicos ainda é um desafio (Eissa et al., 2018). Atualmente, não há um tratamento específico capaz de reverter ou curar os sintomas do TEA, mas medicamentos como os antipsicóticos atípicos e os inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs) têm demonstrado eficácia no controle de manifestações comportamentais, como agressividade, irritabilidade, ansiedade e comportamentos repetitivos (Farmer; Thurm; Grant, 2013; Persico et al., 2021). Segundo Maneeton et al. (2018), o aripiprazol tem se mostrado eficaz no manejo de sintomas como irritabilidade e hiperatividade em crianças e adolescentes com TEA, enquanto a risperidona tem efeito positivo sobre sintomas como letargia e linguagem inadequada (Mano-Sousa et al., 2021). Contudo, a resposta a esses medicamentos pode variar amplamente entre os indivíduos, sendo influenciada por fatores como idade, comorbidades, gravidade do transtorno, perfil metabólico e até mesmo predisposição genética (Biswas et al., 2023).

Estudos recentes têm destacado o papel da farmacogenética na personalização do tratamento para o TEA, com evidências de que variantes no gene CYP2D6 podem afetar o metabolismo de antipsicóticos. Por exemplo, o estudo de Goodson et al. (2023) identificou que 9% dos pacientes com TEA eram metabolizadores lentos do CYP2D6, ou seja, apresentavam capacidade reduzida de metabolizar determinados medicamentos, o que pode levar à maior sensibilidade a efeitos adversos ou à ineficácia do tratamento. De forma complementar, a revisão sistemática de Yoshida et al. (2021) identificou que o gene CYP2D6 está entre os mais frequentemente investigados em estudos farmacogenéticos sobre TEA, com associações descritas entre suas variantes e a resposta à risperidona, incluindo efeitos adversos como hiperprolactinemia.

A farmacoterapia acompanhada de terapia nutricional, tratamentos comportamentais com intervenções educacionais e psicológicas fazem parte do conjunto multidisciplinar de abordagens terapêuticas utilizadas para aliviar os sintomas e ajudar as crianças e os pais a lidarem com o TEA (Vartanian, 2020).

2.2 Espécies Reativas de Oxigênio e Estresse Oxidativo

As Espécies Reativas de oxigênio (EROs) são subprodutos naturais do metabolismo aeróbio celular, sendo a respiração mitocondrial uma fonte significativa de sua geração. Este processo ocorre durante a fosforilação oxidativa, onde o fluxo de elétrons através dos diferentes complexos proteicos mitocondriais pode levar à formação de EROs (Jîtcă et al., 2022; Juan et al., 2021; Liu et al., 2018).

O oxigênio, devido à sua estrutura eletrônica, tem a capacidade de formar radicais livres altamente reativos, sendo o radical hidroxila ($\text{HO}\cdot$) o mais reativo de todos (Kim et al., 2015). As mitocôndrias são responsáveis por consumir aproximadamente a maior parte do oxigênio para a geração de energia, o que as torna uma fonte significativa de EROs, com subprodutos como ânion superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e $\text{HO}\cdot$ (D'Autréaux; Toledano, 2007; Kowaltowski et al., 2009). Além das mitocôndrias, as EROs também podem ser geradas por várias enzimas, como xantina oxidase, componentes peroxissomais, NADPH oxidases (NOXs) e óxido nítrico sintase endotelial. Outras fontes de EROs incluem a metabolização de medicamentos e a exposição à luz solar (Collin, 2019; Magnani; Mattevi, 2019), bem como fatores exógenos como a exposição a metais pesados, pesticidas, tabagismo, alimentação e poluição, que também contribuem para o estresse oxidativo no organismo (Jomova et al., 2023; Mahajan et al., 2018).

Embora as EROs desempenhem funções benéficas no organismo humano, sua produção excessiva pode levar a danos oxidativos e contribuir para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas e outras patologias (Juan et al., 2021; Liu et al., 2018). O estresse oxidativo ocorre quando há uma produção exacerbada dessas espécies, que pode resultar tanto do metabolismo normal do oxigênio quanto de processos inflamatórios que reduzem as defesas antioxidantes do corpo (Biswas, 2016). Esse desequilíbrio, no qual a formação de radicais livres supera a capacidade de eliminação, está associado a diversos distúrbios orgânicos (Jomova et al., 2023). As espécies EROs, sendo quimicamente reativas e altamente tóxicas, podem causar danos significativos a macromoléculas como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos

(Alfadda; Sallam, 2012; Ma, 2010). No entanto, as EROs também podem ser geradas intencionalmente como parte da defesa do organismo contra patógenos. Enzimas como a NOX transferem elétrons do NADPH para o oxigênio, produzindo o radical superóxido $O_2^{\bullet-}$, que desempenha um papel crucial na destruição de bactérias e outros invasores patogênicos (Aviello; Knaus, 2018; Bedard; Krause, 2007). Essa produção controlada de EROs é essencial para a sinalização celular e a regulação de processos fisiológicos, como a apoptose e a diferenciação celular (Sies et al., 2017).

Um radical livre é uma espécie que possui um ou mais elétrons não emparelhados, permitindo-lhe interagir com outras moléculas ao transferir esses elétrons para outra molécula ou recebê-los de outra molécula para alcançar estabilidade (Juan et al., 2021). O $O_2^{\bullet-}$, formado pela transferência de um elétron para o oxigênio molecular (O_2), é uma das principais espécies reativas devido à sua capacidade de gerar outras espécies radicalares (Sies; Jones, 2020). Este radical pode sofrer dismutação espontânea ou mediada pela enzima superóxido dismutase (SOD), produzindo H_2O_2 (Jensen, 2003). A presença de metais de transição, como o ferro, pode catalisar a decomposição do H_2O_2 em $HO^{\bullet}$ através da reação de Fenton ou pela combinação de $O_2^{\bullet-}$ com H_2O_2 na reação de Haber-Weiss (Halliwell; Gutteridge, 2015). Devido à sua alta reatividade, o $HO^{\bullet}$ pode interagir com os componentes celulares, oxidando resíduos de aminoácidos e modificando a estrutura e função de enzimas e proteínas. Além disso, ele pode induzir mudanças químicas nas bases purínicas e pirimídicas do DNA, resultando em mutações e até mesmo quebras nas fitas de DNA (Halliwell et al., 2021; Halliwell; Gutteridge, 2015). Em respostas inflamatórias, a atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) converte H_2O_2 e cloreto em ácido hipocloroso ($HClO^-$), que pode então reagir com $O_2^{\bullet-}$, gerando $HO^{\bullet}$ (Hawkins; Davies, 2021).

Outras EROs são produzidas durante as reações de propagação, como os radicais peroxil ($ROO^{\bullet}$) e alcóxil ($RO^{\bullet}$), além de derivados reativos do nitrogênio. O $O_2^{\bullet-}$ não apenas participa na formação do $HO^{\bullet}$, mas também pode reagir com o radical livre óxido nítrico ($\bullet NO$), resultando na formação do peroxinitrito ($ONOO^-$), uma das espécies de nitrogênio mais reativas (Naviliat et al., 2005; Tewari et al., 2021). O ($\bullet NO$), um sinalizador celular, é responsável por importantes processos fisiológicos, como vasodilatação, neurotransmissão e regulação do sistema imunológico (Amir Aslani; Ghobadi, 2016). Além disso, por conter um elétron desemparelhado em seu orbital mais externo, é classificado como uma espécie radicalar. Dessa forma, é o

principal precursor das espécies reativas de nitrogênio (ERNs), como o ONOO-, citado anteriormente, altamente reativo, que pode causar a nitração de ácidos nucleicos, proteínas e lipídios desempenhando um papel significativo em várias doenças inflamatórias (Eddaikra et al., 2021; Goetz; Luch, 2008).

2.3 Defesas antioxidantes de interesse

Devido à formação constante de EROs durante os processos metabólicos do organismo, é essencial que existam mecanismos de defesa para limitar os seus níveis intracelulares, controlando assim os danos a elas associados (Eddaikra et al., 2021; Leverage, 2009).

A tríade formada por radicais livres, antioxidantes e doenças é de extrema importância nos estudos relacionados ao cuidado da saúde (Ighodaro; Akinloye, 2018). O organismo humano dispõe de diversos mecanismos para o combate ao estresse oxidativo, utilizando antioxidantes endógenos ou obtidos externamente por meio da alimentação e/ou suplementação (La; H; C, 2008). As defesas antioxidantes endógenas são cruciais para manter o equilíbrio redox nos sistemas biológicos. Estas defesas incluem uma variedade de mecanismos enzimáticos e não enzimáticos que neutralizam EROs e previnem o estresse oxidativo que está implicado em inúmeras condições patológicas, distúrbios neurodegenerativos e inflamação (Eddaikra et al., 2021; Ighodaro; Akinloye, 2018). Assim, a falha dessas defesas pode influenciar negativamente a progressão da doença em questão (Eddaikra et al., 2021).

O sistema antioxidante endógeno composto por antioxidantes enzimáticos, tais como a catalase (CAT), a glutathione peroxidase (GPXs), as superóxido dismutases (SODs) e a glutathione redutase (GR); e não enzimáticos, tais como o ácido úrico e a glutathione reduzida (GSH) fazem com que o organismo, em seu estado saudável, esteja em equilíbrio na geração e eliminação de EROs; portanto, são considerados importantes marcadores de estresse oxidativo (Mirończuk-Chodakowska; Witkowska; Zujko, 2018; Neha et al., 2019). As enzimas antioxidantes tais como a SOD, a GPx e a CAT são consideradas como parte da primeira linha de defesa e desempenham um papel crucial na neutralização de EROs, como o $O_2^{\bullet-}$ e o H_2O_2 (Chaudhary et al., 2022; Ighodaro; Akinloye, 2018).

2.3.1 Enzimas Antioxidantes

As enzimas antioxidantes endógenas desempenham um papel fundamental na defesa do organismo contra o estresse oxidativo, um estado de desequilíbrio entre a

produção de EROs e a capacidade de neutralizá-las (Ighodaro; Akinloye, 2018). Estudos recentes revelam que a atividade e a expressão dessas enzimas podem ser moduladas por fatores internos e externos, influenciando a susceptibilidade a várias doenças associadas ao estresse oxidativo, tais como doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e câncer (Halliwell, 2024; Jomova et al., 2023).

2.3.1.1 Catalase

A CAT é uma enzima antioxidante endógena que tem a função de neutralizar o peróxido de hidrogênio e é ativada em resposta ao estresse oxidativo (Gebicka; Krych-Madej, 2019). O H_2O_2 é predominantemente produzido principalmente nas mitocôndrias, embora também seja gerado em diferentes compartimentos das células eucarióticas, tais como os peroxissomos e o retículo endoplasmático (Boveris; Chance, 1973; Chance; Sies; Boveris, 1979). A CAT é uma hemoproteína responsável pelo processo de redução do H_2O_2 a H_2O e O_2 e está presente em diversos tecidos do organismo, incluindo os eritrócitos, onde desempenha um papel fundamental na neutralização do H_2O_2 (Halliwell; Gutteridge, 2015; Karakus, 2020).

2.3.1.2 Superóxido Dismutase

A SOD é uma das principais enzimas antioxidantes endógenas responsáveis pela defesa celular contra o estresse oxidativo. Sua função é catalisar a dismutação do $O_2^{\bullet-}$ em H_2O_2 e O_2 , um processo essencial para a proteção das células contra danos causados por EROs (Halliwell; Gutteridge, 2015). Além de neutralizar ROS, ela também participa da sinalização celular ao converter superóxido em peróxido de hidrogênio, regulando vias redox essenciais para a proliferação, diferenciação e regeneração celular, além de contribuir para o metabolismo e o equilíbrio funcional dos tecidos (Fukai e Ushio-Fukai, 2011; Wang et al., 2018). Existem três tipos principais de SODs, cada um contendo diferentes íons metálicos: a SOD de cobre/zinco (Cu/Zn SOD), a SOD de manganês (MnSOD) e a SOD de ferro (FeSOD). A Cu/Zn SOD é encontrada no citoplasma e em espaços extracelulares, enquanto a MnSOD está localizada na matriz mitocondrial. Já a FeSOD é predominante em procariontes e está também presente em algumas plantas (Bannister et al., 1987; Azadmanesh & Borgstahl, 2018). Cada tipo desempenha um papel distinto na defesa celular contra o estresse oxidativo, sendo o MnSOD particularmente importante nas mitocôndrias, onde uma quantidade significativa de ROS é gerada (Azadmanesh & Borgstahl, 2018). Quando a atividade da SOD é insuficiente ou desregulada, há

acúmulo de $O_2^{\bullet-}$, o que pode comprometer a integridade celular e contribuir para processos patológicos diversos (Zelko, Mariani & Folz, 2002; Panda et al., 2024).

2.3.1.3 Gama-Glutamiltransferase

A GGT é uma enzima amplamente utilizada como marcador de função hepática, sendo frequentemente elevada em condições que envolvem lesão hepatobiliar, como colestase, hepatites e uso crônico de álcool. Entretanto, nas últimas décadas, evidências têm mostrado que a GGT também pode estar aumentada em situações sem envolvimento hepático direto, como em estados de estresse oxidativo sistêmico e inflamação crônica, funcionando como um possível indicador de desregulação redox (Lee et al., 2007; Franzini et al., 2014; Ndrepepa; Colleran; Kastrati, 2018). No contexto bioquímico, GGT localiza-se nos microssomos celulares e exerce a função de catalisar a transferência de grupos glutamil, fundamentais para a manutenção do ciclo da glutathione (Avelar et al., 2015). Em meio intracelular, a atividade da GGT promove o aumento da disponibilidade de aminoácidos, especialmente a cisteína, essencial para a síntese da GSH. No ambiente extracelular, essa enzima participa da hidrólise da GSH, facilitando a reciclagem de seus produtos, como a cisteína e a glicina, os quais podem ser reutilizados na ressíntese da GSH (Avelar et al., 2015; Ndrepepa; Colleran; Kastrati, 2018). Em determinadas condições, a GGT também pode contribuir para a geração EROs, particularmente na presença de metais de transição, como o ferro. Nessa situação, os tióis derivados do catabolismo da GSH podem reduzir o ferro, favorecendo a formação do radical $HO^{\bullet}$ por meio da reação de Fenton (Halliwell; Gutteridge, 2015; Nakagawa et al., 2012).

2.3.2 Antioxidantes não-enzimáticos

Os antioxidantes não enzimáticos produzidos endogenamente no organismo incluem a GSH, ácido úrico, bilirrubina, poliaminas e proteínas de ligação a metais, tais como a ceruloplasmina, a ferritina, a transferrina e a albumina (Mironczuk-Chodakowska; Witkowska; Zujko, 2018). Proteínas que se ligam a metais desempenham um papel fundamental na regulação do estresse oxidativo em seres humanos. Elas têm como principal função modular a concentração de metais de transição, tais como o ferro e o cobre, que podem catalisar a formação de EROs por meio de reações, como por exemplo a Reação de Fenton (Halliwell; Gutteridge, 2015; Oettl; Stauber, 2009).

2.3.2.1 Glutationa Reduzida (GSH)

A GSH desempenha um papel essencial na neutralização das EROs e de outros radicais livres, sendo convertida na sua forma oxidada (GSSG) durante esse processo. A razão entre GSH e GSSG é um indicador crucial da capacidade celular de proteger componentes vitais, tais como proteínas, lipídios e DNA, contra danos oxidativos (Averill-Bates, 2023). No organismo, a GSH atua em sinergia com as enzimas GPx e GR em um ciclo contínuo que é fundamental para a manutenção do estado redox celular. A GPx utiliza a GSH como substrato para reduzir peróxidos em compostos menos prejudiciais, resultando na oxidação da GSH em GSSG. Em seguida, a GR catalisa a regeneração da GSH a partir do GSSG, utilizando NADPH como doador de elétrons. Além disso, a GSH também tem um papel importante na detoxificação de xenobióticos, mediada pela enzima glutathione-S-transferase (GST), facilitando a excreção dessas substâncias pelo organismo (Averill-Bates, 2023; Halliwell; Gutteridge, 2015). Ainda existem as defesas antioxidantes não enzimáticas do tipo exógenas ou adquiridas nutricionalmente, tais como a vitamina E, a vitamina C, a vitamina A e os carotenóides, além de polifenóis derivados de fontes vegetais (Duncan; Suzuki, 2017; Kumar; Pandey, 2013; Tsao, 2010).

2.3.2.2 Ácido úrico

O ácido úrico (AU) é um subproduto do metabolismo das purinas que é formado pela oxidação da hipoxantina e da xantina pela enzima xantina oxidase e é eliminado principalmente pelos rins e, em menor grau, pelo trato gastrointestinal (Gherghina et al., 2022; Kushiya et al., 2016). Em situações de equilíbrio fisiológico, atua como um antioxidante no plasma impedindo a formação de oxidantes pela reação da hemoglobina com peróxidos, além de proteger as membranas de eritrócitos da lipoperoxidação (Halliwell; Gutteridge, 2015; Song et al., 2019). No entanto, em condições de desequilíbrio, como na presença de hiperuricemia associada ao estresse oxidativo, pode ter um papel no desenvolvimento de doenças renais crônicas, doenças cardiovasculares e síndrome metabólica (Gherghina et al., 2022; Sautin; Johnson, 2008).

2.4 Inflamação e Estresse Oxidativo

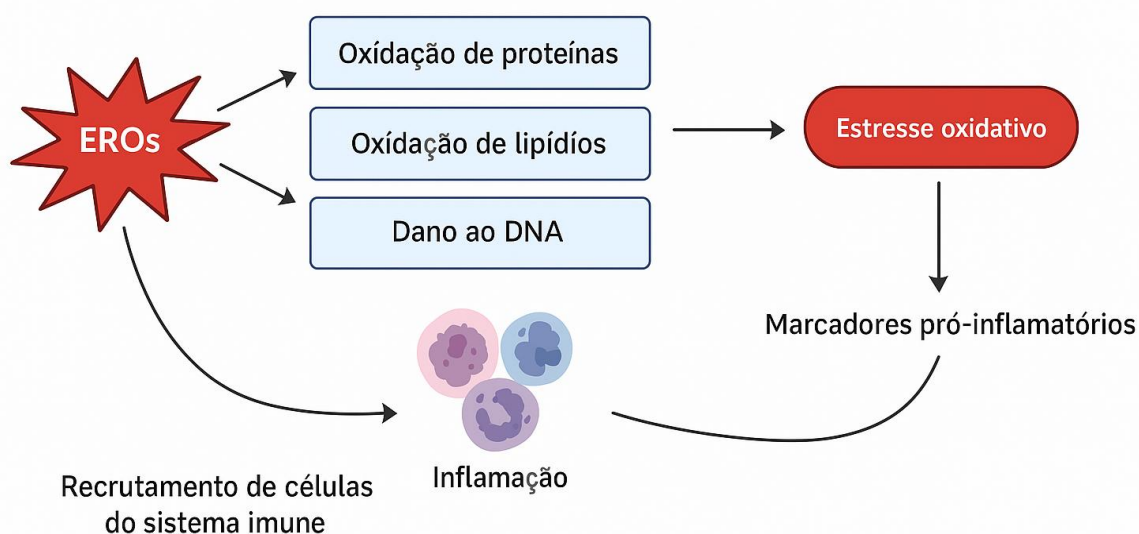
A resposta inflamatória é desencadeada por qualquer perturbação na integridade dos tecidos, com o objetivo de restaurar a homeostase através da ativação de processos de reparo (Herold; Mrowka, 2019). Para garantir a eficácia e evitar a

amplificação descontrolada da inflamação, é essencial que a resposta inflamatória seja adequadamente regulada, prevenindo danos colaterais e patologias (Adelantado-Renau; Beltran-Valls; Moliner-Urdiales, 2020). Durante a inflamação, o recrutamento de células de defesa para o local da lesão aumenta a captação de oxigênio, resultando em uma produção elevada de EROs (Coussens & Werb, 2002; Goldszmid & Trinchieri, 2012; Reuter et al., 2010). O estresse oxidativo desempenha um papel crucial no desenvolvimento e perpetuação da inflamação, contribuindo para várias doenças debilitantes, tais como doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e processos neurodegenerativos (Lugrin et al., 2014). No geral, há conhecimento de que as citocinas desempenham um papel em diversos processos associados à inflamação e necessitam de regulação adequada, porém diversos fatores genéticos e ambientais podem influenciar a expressão, produção ou atividade dessas moléculas (Biobaku et al., 2019; Hashemi et al., 2021). As EROs, incluindo o radical $\text{HO}\cdot$ e o H_2O_2 , podem ativar vias inflamatórias, as quais promovem a transcrição de genes pró-inflamatórios, perpetuando um ciclo que exacerba o quadro inflamatório, o que acarreta danos às células e tecidos (Djordjević, 2004; Oguntibeju, 2019). Contudo, o organismo dispõe de citocinas anti-inflamatórias como a IL-4, IL-10, IL-11, IL-13 e o TGF- β , que atuam no controle da inflamação ao inibir a produção ou a atividade de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IL-1, contribuindo para o restabelecimento da homeostase e a prevenção de danos teciduais excessivos (Opal & DePalo, 2000); (Cavaillon, 2001); (Kumar, 2020); (Shaikh, 2011).

No processo inflamatório, diversos mediadores, tais como as citocinas pró-inflamatórias interleucina 1- β (IL-1 β) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), são liberados com a função de combater patógenos e remover detritos celulares, desempenhando um papel central na resposta imunológica (Ca, 2018; Kany; Vollrath; Relja, 2019). Nesse contexto, células do sistema imune inato, tais como neutrófilos, monócitos e macrófagos, têm papel essencial na primeira linha de defesa (Kraus; Gruber, 2021). Neutrófilos são rapidamente recrutados para o local da inflamação e, juntamente com macrófagos, eliminam os agentes patogênicos através de mecanismos como fagocitose e a produção de EROs (Pillay et al., 2012). Dentro dos neutrófilos, grânulos primários (azurófilos) e secundários (acidófilos) contêm enzimas que facilitam a eliminação de patógenos, entre elas a MPO, que desempenha um papel crucial na defesa antimicrobiana (Aratani, 2018). A MPO é ativada durante o processo de fagocitose, principalmente em neutrófilos, mas também, em menor

proporção, em monócitos e macrófagos. Durante essa fase, a enzima NADPH oxidase é ativada, produzindo EROs, tais como o $O_2^{\cdot-}$, que, ao ser convertido em H_2O_2 , serve como substrato para a MPO (Nguyen; Green; Mecsas, 2017). A MPO, por sua vez, catalisa a formação de HOCl a partir de H_2O_2 e íons cloreto, um potente agente microbicida que também pode causar danos oxidativos aos tecidos do hospedeiro (Klebanoff et al., 2013).

Figura 1 - Inflamação e estresse oxidativo



Representação do ciclo entre inflamação e estresse oxidativo, no qual a produção de EROs leva à oxidação de proteínas, lipídios e danos ao DNA, contribuindo para a ativação de marcadores pró-inflamatórios e o recrutamento de células do sistema imune.

Fonte: Adaptado de Ranneh, Y.; Ali, F.; Akim, A.M. et al. (2017).

2.4.1 Marcadores Inflamatórios

2.4.1.1. Mieloperoxidase (MPO)

A MPO, pertencente à família das heme-peroxidases, é encontrada predominantemente nos grânulos dos neutrófilos e macrófagos, onde desempenha um papel crucial na resposta inflamatória e na defesa contra patógenos (Frangie; Daher, 2022). A MPO catalisa a conversão de H_2O_2 em HOCl e outros compostos clorados, os quais são considerados potentes agentes antimicrobianos (Khan; Alsahli; Rahmani, 2018). Durante processos inflamatórios, como a infecção ou a lesão tecidual, os neutrófilos ativados liberam MPO, resultando em valores elevados de HOCl que podem contribuir para o estresse oxidativo ao causar dano a lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (Hawkins; Davies, 2021; Kopytsia et al., 2020).

2.4.1.2 Interleucina 1- β (IL-1 β)

A interleucina-1, particularmente em suas isoformas IL-1 α e IL-1 β , desempenha um papel central na modulação de processos inflamatórios e imunológicos. A IL-1 β , sintetizada como uma proteína precursora inativa, é ativada pela clivagem mediada pela caspase-1 no inflamassoma, destacando-se como uma peça-chave na resposta imune inata (Keitelman et al., 2022; Pyrillou et al., 2020). A IL-1 β pode induzir a produção de outras citocinas, como IL-6, particularmente em tecidos envelhecidos, destacando seu papel nas respostas inflamatórias relacionadas à idade (Starr et al., 2015). Além disso, a IL-1 β está envolvida na patogênese de várias doenças do sistema nervoso central, como esclerose múltipla e distúrbios neurodegenerativos, de modo a perpetuar respostas imunes e contribuir para a gravidade da doença, tornando-a um alvo para intervenção terapêutica em condições neuroinflamatórias (Mendiola e Cardona, 2018). O estresse oxidativo é um fator relevante na ativação do inflamossomo NLRP3, o qual promove a maturação e liberação de IL-1 β , um processo observado em várias condições neuroinflamatórias, como na doença de Alzheimer, onde contribui não só para a resposta inflamatória, mas também para o comprometimento cognitivo, portanto a liberação de IL-1 β pode amplificar a inflamação, de modo a exacerbar o dano neuronal e agravando o quadro clínico (Mokarizadeh et al., 2020; Shen et al., 2024).

2.5 Estresse Oxidativo e Consequências Biológicas

2.5.1 Dano ao DNA e às proteínas

O dano ao DNA induzido por estresse oxidativo é um processo crítico que pode afetar tanto o genoma nuclear quanto o mitocondrial, comprometendo a integridade celular, onde as EROs, ao interagirem com o DNA, podem causar uma série de lesões, como quebras de fita simples e dupla, além da oxidação de bases nitrogenadas, o que resulta em mutações e comprometimento da função celular (Gonzalez-Hunt; Wadhwa; Sanders, 2018). A geração de radicais, como HO $\bullet$ se dá, principalmente, por meio da adição de dupla ligação nas bases pirimidinas e pela abstração de hidrogênio da porção glicosídica, o que desencadeia uma série de reações deletérias nas moléculas de DNA. A oxidação das bases nitrogenadas, especialmente a guanina, gera produtos como a 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8OHdG), um marcador amplamente utilizado para avaliar o dano oxidativo ao DNA (Graille et al., 2020). Crianças autistas apresentam aumento do dano oxidativo ao DNA e redução da taxa de reparo em

linfócitos, o que pode contribuir para o aumento do risco de câncer e desempenhar um papel na patogênese do autismo (Attia et al., 2020)

As proteínas são particularmente vulneráveis à oxidação, com a adição de grupos carbonila às cadeias laterais de aminoácidos, tais como arginina, lisina e prolina sendo uma ocorrência comum em ambientes com alta concentração de EROs (Akagawa, 2020; Davies, 2016; Stadtman; Levine, 2003). Além dessa modificação, outros processos oxidativos podem afetar sítios catalíticos e resíduos aminoácidos levando à fragmentação das cadeias polipeptídicas e à formação de novos grupos reativos (Cecarini et al., 2007; Hawkins; Davies, 2001). Esta forma de alteração nas proteínas pode causar a perda de suas funções, a formação de agregados e, eventualmente, sua degradação, o que contribui para a disfunção celular e o surgimento de diversas patologias, tais como doenças neurodegenerativas e envelhecimento prematuro das células (Davies, 2016). Pesquisas indicam que a carbonilação de proteínas é um processo irreversível e está correlacionado com a evolução de várias enfermidades crônicas, uma vez que as PCs tendem a se acumular ao longo do tempo, principalmente em situações de estresse oxidativo prolongado (Dalle-Donne et al., 2006; Fedorova; Bollineni; Hoffmann, 2014). Os danos proteicos não só comprometem a função celular, mas também podem servir como biomarcadores úteis para a avaliação do estado redox das células e da gravidade do estresse oxidativo em condições patológicas (Akagawa, 2020).

2.5.2 Peroxidação Lipídica

A peroxidação lipídica é um processo bioquímico em que os lipídios das membranas celulares sofrem oxidação, resultando na formação de produtos que podem perturbar a homeostase celular. Esse processo ocorre principalmente em lipídios contendo ácidos graxos poliinsaturados, que são suscetíveis às EROs (Ayala; Muñoz; Argüelles, 2014).

Esse fenômeno tem início quando um átomo de hidrogênio é abstraído de um ácido graxo poli-insaturado, que reage rapidamente com oxigênio molecular. A partir dessa interação, surge o radical peroxil lipídico (LOO•), capaz de desencadear uma cadeia reativa com outros lipídios, levando à formação de hidroperóxidos lipídicos (LOOH) como intermediários primários. Se esses intermediários não forem devidamente neutralizados, eles se decompõem em compostos tóxicos, tais como

MDA e o 4-hidroxinonenal (HNE), danificando proteínas, DNA e outras macromoléculas essenciais (Ayala; Muñoz; Argüelles, 2014; Catalá, 2009).

Além disso, a peroxidação lipídica pode ser exacerbada em diversas condições em que há um aumento na produção de EROs ou uma falha nas defesas antioxidantes do corpo. Patologias tais como inflamação crônica, doenças neurodegenerativas (Alzheimer e Parkinson), câncer, diabetes, e até mesmo a exposição a toxinas ambientais ou radiação ultravioleta (UV) são exemplos de situações que intensificam o estresse oxidativo, promovendo danos celulares e teciduais profundos (Birben et al., 2012; Jenner, 2003).

O estresse oxidativo é um fator central que impulsiona a peroxidação lipídica, especialmente em situações em que há uma alta concentração de ROS ou uma deficiência de antioxidantes endógenos, como a GSH, SOD, catalase e as vitaminas C e E (Halliwell; Gutteridge, 2015). Quando o sistema antioxidante é sobrecarregado ou comprometido, as EROs reagem com os lipídios das membranas celulares, desencadeando a cascata de peroxidação lipídica e, conseqüentemente, danos celulares (Yin; Xu; Porter, 2011).

Estudos indicam que crianças com TEA apresentam valores elevados de produtos da peroxidação lipídica, tais como o MDA, em comparação com crianças neurotípicas (Chauhan; Chauhan, 2006). Esse aumento pode estar associado a um desequilíbrio entre a produção de EROs e a atividade antioxidante, possivelmente devido a deficiências nutricionais, inflamação crônica ou disfunção mitocondrial comumente observadas em indivíduos com TEA (Frustaci et al., 2012).

2.6 Estresse Oxidativo e TEA

Embora as bases biológicas do TEA ainda sejam pouco elucidadas, desde a última década houve uma crescente no interesse em pesquisar evidências referentes à patogênese desse distúrbio com um foco nas populações pediátricas (Adams et al., 2009). Biomarcadores clínicos específicos para o TEA ainda não foram identificados, devido à escassa compreensão das causas e dos processos subjacentes à condição. No entanto, estudos mais recentes começaram a apontar para uma correlação entre o autismo e o estresse oxidativo, bem como para os danos que esse desequilíbrio redox pode causar ao organismo dos pacientes (Adams et al., 2009; Shen et al., 2020).

De acordo com Liu et al (2022), estudos demonstraram uma relação entre o TEA e o aumento significativo de estresse oxidativo, sugerindo que este poderia ser

utilizado como um auxílio para possíveis intervenções terapêuticas. Uma meta-análise publicada em 2021 mostrou que crianças com TEA apresentam marcadores de estresse oxidativo mais elevados, tais como GSSG, MDA, S-adenosilhomocisteína (SAH) e homocisteína, porém, em contrapartida, a concentração de defesas antioxidantes do organismo, tais como glutathione total (tGSH) e reduzida (GSH), metionina, S-adenosilmetionina (SAM)/SAH, vitaminas (B9, B12, D e E) e cálcio foram reduzidas nestes pacientes (Chen et al., 2021).

Diversos estudos têm correlacionado ao TEA a ocorrência de disfunções mitocondriais, tais como o estresse oxidativo e variações no número de cópias do DNA mitocondrial (mt-DNA) (Balachandar et al., 2020; Singh et al., 2020). A disfunção mitocondrial, caracterizada por baixo conteúdo de mt-DNA e pela presença de mutações patogênicas no mt-DNA, é frequentemente observada em indivíduos com TEA e deficiência intelectual. Essas mutações são identificadas principalmente por sequenciamento do mt-DNA, seguido de análises bioinformáticas e funcionais, que avaliam o impacto das variantes na eficiência da cadeia respiratória e na produção de ATP (Valiente-Pallejà et al., 2018). A regressão no desenvolvimento, presente em aproximadamente um terço das crianças com TEA, pode estar associada a anormalidades na função mitocondrial (Singh et al., 2020). Assim, a disfunção mitocondrial emerge como um novo alvo molecular no estudo do TEA, com potencial para melhorar os resultados terapêuticos (Frye, 2020).

O estresse oxidativo pode impactar o TEA de diversas maneiras, incluindo alterações pós-traducionais de proteínas, metabolismo anormal como a peroxidação lipídica e acúmulo tóxico de EROs, além da relação com uma microbiota desequilibrada e distúrbios do trato gastrointestinal (Hu et al., 2020; Liu et al., 2022a). Além disso, o estresse oxidativo está ligado à neuroinflamação, que é um fator contribuinte no TEA. A ativação imunológica materna (MIA) durante a gravidez pode induzir estresse oxidativo e inflamação no cérebro fetal, levando a deficiências no neurodesenvolvimento (Usui; Kobayashi; Shimada, 2023). O estado dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) na mãe influencia a atividade das células microgлияis e as vias relacionadas à neuroinflamação durante o desenvolvimento do cérebro infantil. Em crianças com TEA, acredita-se que o metabolismo dos PUFAs seja inadequado ou alterado, o que pode resultar em um aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias, elevação do estresse oxidativo e um desequilíbrio na síntese e funcionamento dos neurotransmissores (Veselinović et al., 2021). Ademais, alguns

estudos evidenciam que a concentração de antioxidantes enzimáticos, como SOD, GPx e GR, estão aumentados em células T CD4+ de indivíduos com TEA em comparação com crianças neurotípicas, tanto em termos de expressão proteica quanto de atividade enzimática. Esse aumento das defesas antioxidantes parece desempenhar um papel crucial na modulação da sinalização inflamatória, particularmente na regulação da citocina pró-inflamatória IL-17A (Al-Harbi et al., 2020; Nadeem et al., 2017, 2020). Além disso, estudos evidenciaram sinais de inflamação em outras células, tais como monócitos e neutrófilos de crianças com TEA (Nadeem et al., 2019).

Segundo Micangeli et al (2022) o estresse oxidativo desempenha um papel importante em várias síndromes pediátricas, podendo levar ao envelhecimento precoce e à morte celular. Portanto, o estresse oxidativo e a inflamação são fatores que podem influenciar a patogênese e a gravidade do TEA, apontando para possíveis novas abordagens terapêuticas (Pangrazzi; Balasco; Bozzi, 2020).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar marcadores de estresse oxidativo e inflamação em crianças com Transtorno do Espectro Autista (TEA).

3.2 Objetivos Específicos

3.2.1 Verificar as diferenças na atividade enzimática das defesas antioxidantes intraeritrocitárias, tais como catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD), bem como na atividade sérica da gama glutamil-transferase (GGT), em crianças com TEA, comparativamente aos controles.

3.2.2 Verificar as diferenças das defesas antioxidantes não enzimáticas, tais como glutathiona reduzida (GSH) e ácido úrico (AU), presentes no extrato sanguíneo e plasma, respectivamente, destas crianças, comparativamente aos controles.

3.2.3 Analisar o comportamento de indicadores de dano oxidativo, tais como proteína carbonilada (PC) e valores de lipoperoxidação ou concentração de TBARS, presentes no plasma destas crianças, comparativamente aos controles.

3.2.4 Avaliar marcadores de inflamação, tais como a atividade de mieloperoxidase (MPO) e a concentração de interleucina 1-beta (IL-1 β), presentes no soro destas crianças, comparativamente aos controles.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento do estudo e abordagem dos pacientes

Trata-se de um estudo caso-controle de caracterização de estresse oxidativo em crianças diagnosticadas com TEA e comparativa aos mesmos biomarcadores em crianças sem o diagnóstico. As crianças, diagnosticadas com TEA, envolvidas no estudo eram atendidas no Centro Especializado em Reabilitação da APAE (CER-APAE) de Campo Grande/MS, a qual apresenta atendimento por equipe multiprofissional aos pacientes autistas pediátricos na cidade de Campo Grande/MS. A abordagem dos pais ou responsáveis acontecia enquanto esperavam a consulta pré-agendada para as crianças com a equipe CER-APAE. Após a resolução de todas as dúvidas, caso existissem, e a concordância em participar (assinando o TCLE/TALE), a coleta de sangue era agendada para a data da próxima consulta da criança.

4.1.1 Considerações éticas

Para a realização deste estudo, o presente protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, cujo Certificado de Apresentação e Apreciação Ética (CAAE) 70494823.7.0000.0021 e parecer nº 6.271.737. O protocolo experimental atendeu ao que determina a Resolução nº 466/2012, do Conselho Nacional de Saúde, sobre pesquisas envolvendo seres humanos. Os responsáveis pelos participantes preencheram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (ANEXO A) e as crianças preencheram o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido - TALE (ANEXO B).

4.1.2 Critérios de inclusão

Foram incluídas no estudo crianças com diagnóstico de TEA, com idade de até 12 anos, que, no momento da triagem, estavam em atendimento no Centro Especializado em Reabilitação da APAE de Campo Grande/MS (CER/APAE). A participação foi voluntária, mediante decisão espontânea dos pais ou responsáveis legais, que receberam informações detalhadas sobre o projeto e assinaram o TCLE. As crianças, por sua vez, foram orientadas de forma apropriada à faixa etária, por meio da apresentação do TALE.

4.1.3 Critérios de exclusão

Não são elegíveis para participação no projeto: crianças sem diagnóstico confirmado de TEA; uso de suplementos antioxidantes; recebimento de transfusão sanguínea nos 90 dias anteriores.

4.1.4 Dados obtidos

As informações obtidas dos participantes foram coletadas através de questionários contendo dados pessoais relacionados às condições de saúde de cada participante, os quais foram respondidos em entrevista com os responsáveis.

4.1.5 Definições

Os indivíduos deste estudo foram admitidos como diagnosticados com TEA com base na confirmação do diagnóstico realizada pelo estabelecimento CER/APAE, bem como pela confirmação fornecida pelos pais ou responsáveis legais.

4.1.6 Coleta de amostras biológicas

Para análise das defesas antioxidantes e biomarcadores de dano oxidativo no presente trabalho, foram coletadas amostras de sangue em um tubo seco para a obtenção de soro e tubo com anticoagulante EDTA para a obtenção de plasma e sangue total. O material biológico, após processado, foi armazenado em ultrafreezer (-80°C) até a realização das análises propostas, sendo desprezado posteriormente. Foram observados os mesmos cuidados técnicos de coleta e conservação do material biológico até a análise laboratorial final. Para o grupo controle, foram coletadas amostras de 13 crianças saudáveis (marcadores inflamatórios dentro da faixa de normalidade), da mesma faixa etária, recrutadas pelos pais que são funcionários do Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (LAC-UFMS). Nenhuma amostra foi excluída e os responsáveis legais de todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

4.2 Protocolo experimental

A coleta de amostra venosa foi realizada em tubos contendo anticoagulante EDTA, e sem anticoagulante para obtenção de soro. Logo em seguida, procedeu-se a separação do material da seguinte forma: do tubo com anticoagulante EDTA, uma alíquota de 200 µL de sangue total foi precipitada em 800 µL ácido tricloroacético (TCA) 12% (1:5, v:v) com processo de centrifugação em seguida, amostra esta

denominada extrato ácido, que foi utilizada para a determinação do conteúdo de GSH e estocada imediatamente em ultrafreezer (-80°C). Na sequência, a separação dos eritrócitos e plasma que foram utilizados para os ensaios dos marcadores de estresse oxidativo/defesas antioxidantes, foi realizada por centrifugação (5000 g durante 3 min) do sangue total, para obtenção da fração plasmática (para determinação de TBARS, PC e AU) e eritrócitos. Após a retirada do material coletado (plasma), os eritrócitos foram lavados duas vezes com solução salina e depois centrifugadas (5000 g durante 3 min), para posteriormente, sofrerem lise em água destilada (diluição 1:5, v:v) e por dois sucessivos congelamentos e descongelamentos. Uma última centrifugação (5000 g, durante 5 min) forneceu o sobrenadante (hemolisado). Para a determinação da atividade da CAT e SOD, utilizou-se o sobrenadante do hemolisado (diluição 1:5, v:v). As análises de todos os marcadores foram mensuradas em duplicata. Dos tubos sem anticoagulante, foi obtido o soro separado para a determinação da atividade da GGT, MPO e IL-1 β . No final do processamento, as amostras foram fracionadas em extrato ácido, plasma, hemolisado e soro, e armazenadas em ultrafreezer (-80°C) até a análise correspondente.

4.3 Defesas antioxidantes e marcadores de estresse oxidativo

4.3.1 Análise das defesas antioxidantes enzimáticas

4.3.1.1 Gama Glutamil Transferase (GGT)

A atividade da enzima GGT foi determinada utilizando o método cinético-colorimétrico conforme descrito no kit comercial da Analisa®. A GGT catalisa a transferência do grupamento gama-glutamil da gama-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida para a glicilglicina, liberando p-nitroanilina. A p-nitroanilina possui elevada absorção a 405 nm, sendo que a quantidade liberada é diretamente proporcional à atividade da GGT presente na amostra. A atividade catalítica foi determinada a partir da velocidade de formação da p-nitroanilina, medida em absorbância a 405 nm. Preparou-se o reagente de trabalho misturando-se 4 volumes do tampão (glicilglicina 197 mmol/L) com 1 volume do substrato (gama-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida 21 mmol/L). O procedimento experimental consistiu na adição de 1000 μ L do reagente de trabalho a cubetas, seguidos pela adição de 50 μ L de soro. Após a homogeneização, a cubeta foi inserida no fotômetro e a leitura da absorbância foi realizada em 405 nm. A leitura inicial foi feita após 1 minuto (A0), e leituras subsequentes foram realizadas após 1, 2

e 3 minutos. A variação média da absorbância por minuto ($\Delta A/\text{min}$) foi calculada para garantir a linearidade do método. Os resultados foram expressos em U/L, onde uma unidade corresponde a formação de 1 micromol de p-nitroanilina por minuto.

4.3.1.2 Catalase (CAT)

A atividade da enzima catalase foi determinada segundo o método descrito por Aebi (1984), que quantifica a velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio, em 240 nm durante 20 s, pela enzima presente na amostra. Utiliza-se a solução de peróxido de hidrogênio 10 mM em tampão fosfato 50 mM pH 7,0 preparada e titulada no dia da análise. Para isso, adicionou-se 2 mL desta solução na cubeta, com acréscimo de 20 μL da amostra, em seguida realizou-se leitura da queda da absorbância. Os resultados da atividade da enzima catalase foram expressos em μmol de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) decompostos por minuto, por mililitro de amostra.

4.3.1.3 Superóxido Dismutase (SOD)

A atividade da SOD foi determinada por espectrofotometria, com leitura em 480 nm, utilizando o método descrito por Misra e Fridovich (1972), posteriormente modificado por Boveris et al. (1983). Esse método baseia-se na autooxidação da adrenalina em meio alcalino (pH elevado), que leva à formação do ânion superóxido e, conseqüentemente, do composto colorido adrenocromo. A presença da SOD na amostra reduz a taxa de formação do adrenocromo, permitindo inferir sua atividade enzimática. As amostras foram previamente tratadas com uma solução de clorofórmio:etanol (3:5, v/v) para eliminar a interferência da hemoglobina e evitar a produção artefactual de ânion superóxido durante o ensaio. A reação foi realizada em uma cubeta contendo 1,95 mL de tampão glicina 50 mM (pH 10,2), à qual foram adicionados 50 μL de solução de adrenalina 60 mM (preparada em pH ~2,0, mantida sob refrigeração e protegida da luz). A formação do adrenocromo foi monitorada por aproximadamente 100 segundos, com leituras de absorbância registradas a cada 15 segundos. Em seguida, uma alíquota da amostra (variando de 20 a 100 μL , conforme a concentração e atividade da enzima) foi adicionada à mistura reacional. A atividade da SOD foi determinada com base na redução da velocidade de formação do adrenocromo, e os resultados foram expressos em unidades de SOD por mililitro

(USOD·mL⁻¹), sendo uma unidade definida como a quantidade de enzima capaz de reduzir à metade a velocidade da reação.

4.3.2 Análise das defesas antioxidantes não enzimáticas

4.3.2.1 Glutationa Reduzida (GSH)

A concentração de GSH no sangue total foi determinada através dos tióis não proteicos, já que a GSH representa aproximadamente 95% destes tióis (BEUTLER; DURON; KELLY, 1963). Para avaliar a concentração eritrocitária de pequenos tióis em precipitado ácido (TCA 12%, 1:5, v:v), foi empregado o método de Beutler e colaboradores (1963), onde a adição de 0,2 ml de ácido 2-nitrobenzóico (DTNB) 2,5 mM nas cubetas contendo 1,9 ml de tampão fosfato 0,2 M pH 8,0 e 0,1 ml da amostra, permite, após cerca de 3 min e agitação intermitente da cubeta, a obtenção máxima de formação do ânion tiolato (TNB) de cor amarela, mensurável em 412 nm. Os valores foram expressos em micromoles de grupos tiol (–SH) por mililitro de amostra (μmol.mL⁻¹).

4.3.2.2 Ácido úrico (AU)

O conteúdo de AU foi determinado através de kit comercial da Analisa®. O AU é oxidado pela uricase em alantoína, CO₂ (gás carbônico) e peróxido de hidrogênio. Através de uma reação de copulação oxidativa, catalisada pela peroxidase, o peróxido de hidrogênio formado reage com o diclorohidroxibenzeno sulfonato (DHBS) e 4-aminoantipirina (4-AMP), produzindo uma antipirilquinonimina, de cor vermelha. A absorbância do complexo formado, medida em 520 nm, é diretamente proporcional à concentração de AU da amostra. A realização da dosagem de AU foi realizada de acordo com as instruções do Kit utilizado. Assim, foram adicionados 20 μL do plasma e padrão nos seus respectivos tubos contendo 1 ml de reagente de trabalho, constituído de tampão e uricase (4:1). Em seguida, os tubos foram homogeneizados e incubados por 10 min, a 37°C. Na sequência foi realizada leitura das absorbâncias em 520 nm, acertando o zero com o branco (1 ml do reagente de trabalho). A análise de todas as amostras foram feitas em duplicata e os resultados foram expressos em mg de ácido úrico.dL⁻¹.

4.3.3 Determinação dos marcadores de dano oxidativo

4.3.3.1 Lipoperoxidação tecidual (TBARS)

A avaliação da peroxidação lipídica foi realizada através da detecção no plasma, dos produtos derivados de oxidação decorrentes do processo de lipoperoxidação, por meio de TBARS, destacando-se como produto majoritário o MDA, produzindo uma base de Schiff de coloração rosa (Bird; Draper, 1984). O método consiste na precipitação de 100 μL de plasma em 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 12%, seguido de agitação e incubação em tampão Tris-HCl 60 mM pH 7,4 (0,1 mM DPTA) e 1 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,73% durante 60 min a 100°C. O material é, então, resfriado durante 30 minutos a 5°C, centrifugado (5 min a 10000 g) e a mensuração do cromóforo rosa foi detectada em 535 nm, sendo os valores calculados expressos em nmol de MDA.mL⁻¹.

4.3.3.2 Proteína Carbonilada (PC)

A concentração plasmática de PC foram determinados conforme o método descrito por Levine et al. (1990). Em microtubos tipo Eppendorf contendo 600 μL de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH), foram adicionados 100 μL de plasma e a mistura foi homogeneizada em vórtex. A seguir, as amostras foram incubadas por 1 hora, à temperatura ambiente, protegidas da luz e sob agitação. Após esse período, foram adicionados 600 μL de TCA a 20%, seguido de agitação e resfriamento em banho de gelo por 10 minutos. As amostras foram então centrifugadas a 800 g por 5 minutos, formando um pellet. O pellet foi lavado três vezes com 600 μL de uma solução etanol:acetato de etila (1:5, v/v), com nova centrifugação a cada lavagem (800 g, 5 min). Após a última lavagem, o excesso de solvente foi cuidadosamente removido com auxílio de um cotonete estéril, e 800 μL de solução de guanidina foram adicionados ao pellet. A mistura foi incubada a 37 °C por 60 minutos e, em seguida, a absorbância foi medida em 360 nm. Para fins de normalização, a concentração de proteínas totais foi determinada utilizando o método de Bradford (1976). Esse método baseia-se na interação do corante Coomassie Brilliant Blue G-250 com resíduos básicos das proteínas, promovendo uma mudança de cor cuja intensidade, medida em 595 nm, é proporcional à concentração proteica. Os resultados da proteína carbonilada foram expressos em mmol.mg⁻¹, levando-se em consideração a quantidade de proteínas totais da amostra.

4.3.4 Determinação de marcadores de inflamação

4.3.4.1 Mieloperoxidase (MPO)

A atividade da MPO foi mensurada segundo o método descrito por Rao e colaboradores (1993). Primeiramente, as amostras foram descongeladas gradualmente e 20 μL foram transferidos para placas contendo 150 μL de meio de reação (0,167 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de odianisidina 2HCl, 0,0005% de H_2O_2 , H_2O destilada e NaH_2PO_4 50 mM). Após 15 minutos de incubação em temperatura ambiente a reação foi interrompida com a adição de 30 μL de azida sódica 1%. Após incubação de 10 minutos à temperatura ambiente, a densidade óptica foi medida em 450 nm em microplacas e comparadas com uma curva padrão de atividades conhecidas de MPO (0,7 a 140 $\text{mU}\cdot\text{mL}^{-1}$). Os resultados foram expressos em $\text{mU}\cdot\text{mL}^{-1}$, com auxílio da equação da reta.

4.3.4.2 Interleucina-1 β (IL-1 β)

A concentração sérica de IL-1 β foi determinada utilizando o kit Human IL-1 beta ELISA Kit (Sigma-Aldrich, RAB0273), de acordo com as instruções do fabricante. Trata-se de um ensaio imunoenzimático tipo sandwich, quantitativo, baseado na técnica de ELISA. As amostras foram previamente diluídas em Assay Diluent A, conforme orientação do protocolo. Em seguida, 100 μL de cada amostra ou padrão foram adicionados aos poços da placa previamente sensibilizada com anticorpo anti-IL-1 β . Após incubação por 2,5 horas à temperatura ambiente com agitação suave, os poços foram lavados quatro vezes com solução tampão de lavagem 1X. Posteriormente, foram adicionados 100 μL de anticorpo biotinilado anti-IL-1 β e a placa foi incubada por 1 hora em temperatura ambiente. Após nova lavagem, 100 μL de solução de estreptavidina conjugada à peroxidase (HRP-Streptavidina) foram adicionados, com incubação por mais 45 minutos. Após nova etapa de lavagem, adicionou-se 100 μL de substrato cromogênico TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) a cada poço, incubando-se no escuro por 30 minutos. A reação foi interrompida com 50 μL de solução de parada (ácido sulfúrico 0,2 M), e a leitura da absorbância foi realizada imediatamente a 450 nm em leitor de microplacas. As concentrações de IL-1 β foram calculadas com base na curva padrão gerada por diluições seriadas do padrão fornecido pelo kit (intervalo de 0 a 100 pg/mL), utilizando-se software específico para análise de ELISA.

4.4 Análise estatística

A análise estatística empregada foi teste t de Student não pareado, considerando um nível de significância de $p < 0,05$. O teste foi empregado para comparar os valores dos marcadores entre o grupo controle saudável e o grupo com TEA. Todas as análises foram conduzidas no software GraphPad Prism 8.0.1, com os resultados apresentados como média, erro padrão da média (SEM) e número de amostras (N).

5. RESULTADOS

5.1 Características dos participantes da pesquisa

Os 22 participantes com TEA deste estudo têm idade média de $6,14 \pm 1,32$ anos (4 a 9 anos), sendo 17 do gênero masculino (77,27%) e 5 do gênero feminino (22,73%). No grupo com TEA, 3 faziam uso de Aripiprazol 5 mg/dia e 2 estavam tomando Risperidona 1,5 mg/dia. Não foram encontradas diferenças significativas nos resultados dos parâmetros bioquímicos avaliados entre os participantes que faziam uso de medicamentos e o restante do grupo. Os 13 participantes do grupo controle saudável têm idade média de $9,46 \pm 2,44$ (5 a 12 anos), sendo 7 do gênero masculino (53,85%) e 6 do gênero feminino (46,15%). Nenhum dos participantes estava realizando algum tipo de tratamento e alegaram estar em perfeito estado de saúde.

5.2 Análise das defesas antioxidantes

5.2.1 Crianças com TEA apresentam redução em defesas antioxidantes enzimáticas e não-enzimáticas em relação ao grupo controle

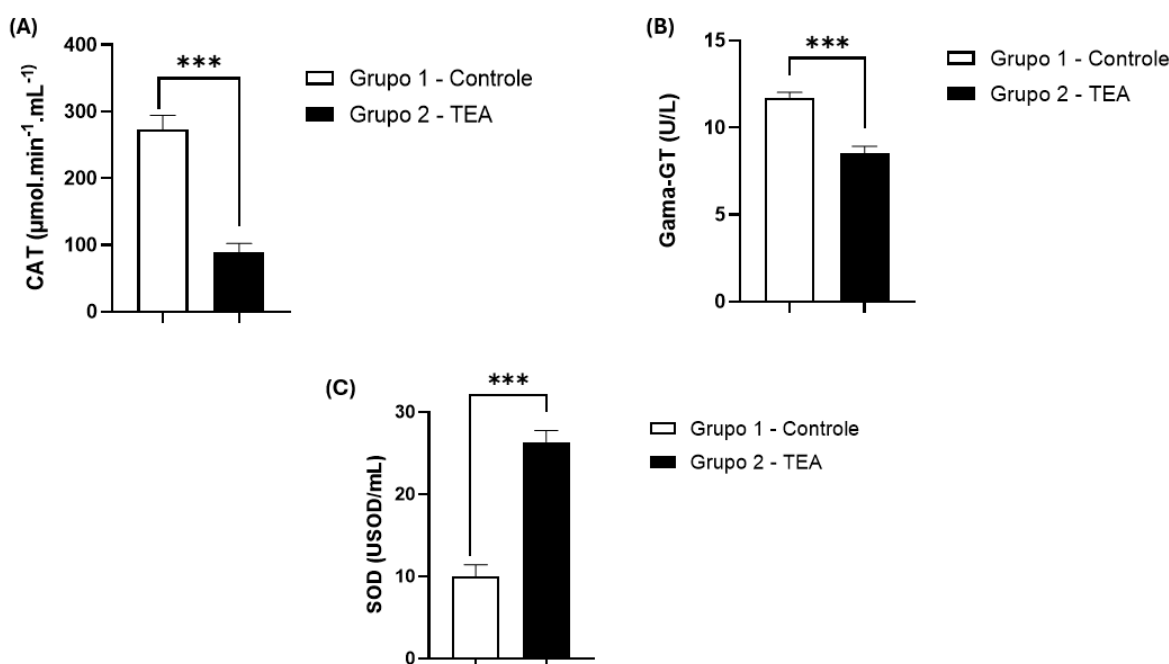
A concentração média de atividade da CAT no grupo controle foi de $273,18 \pm 21,03 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$, enquanto no grupo com TEA foi menor, com média de $88,49 \pm 13,59 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$. A diferença entre os grupos ($p < 0,001$), indica uma redução acentuada na atividade da catalase em indivíduos com TEA em comparação ao grupo controle. A atividade da catalase no grupo TEA foi reduzida em aproximadamente 67,6% em comparação ao grupo controle.

A concentração média de atividade da GGT no grupo controle foi de $11,73 \pm 0,30 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$, enquanto no grupo com TEA foi menor, com média de $8,54 \pm$

0,39 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$. A diferença entre os grupos ($p < 0,001$), indica uma redução de 27,2% na atividade da GGT em indivíduos com TEA.

A concentração média de atividade da SOD no grupo controle foi de $9,99 \pm 1,43$ U/mL, enquanto no grupo com TEA foi maior, com média de $26,37 \pm 1,39$ U/mL. Houve diferença entre os grupos ($p < 0,001$), indicando um aumento de 164,4% na atividade da SOD em indivíduos com TEA.

Figura 2 - Atividade das defesas antioxidantes enzimáticas nos grupos controle e TEA

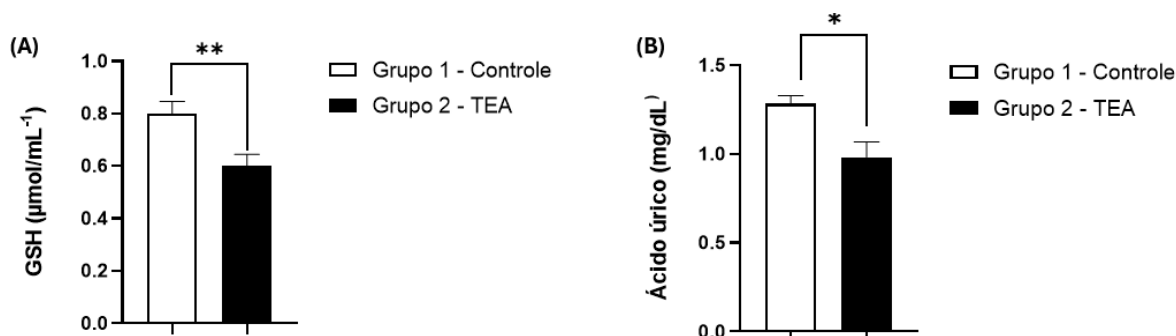


(A) Atividade média da CAT: controle = $273,18 \pm 21,03 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n = 13$); TEA = $88,49 \pm 13,59 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n = 22$). (B) Atividade média da GGT: controle = $11,73 \pm 0,30$ U/L ($n = 13$); TEA = $8,54 \pm 0,39$ U/L ($n = 22$). (C) Atividade média da SOD: controle = $9,99 \pm 1,43$ U·mL⁻¹ ($n = 13$); TEA = $26,37 \pm 1,39$ U·mL⁻¹ ($n = 22$). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. Diferenças significativas determinadas pelo teste t de Student (***) $p < 0,001$.

A concentração média de GSH no grupo com TEA foi de $0,599 \pm 0,045 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$. Em comparação aos indivíduos do grupo controle ($0,799 \pm 0,047 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$), o grupo TEA apresentou uma diminuição ($p < 0,01$) para as quantidades de GSH no sangue total, em torno de 25%.

A concentração média de AU no grupo com TEA foi de $0,982 \pm 0,086 \text{ mg/dL}^{-1}$. Em comparação aos indivíduos do grupo controle ($1,282 \pm 0,047 \text{ mg/dL}^{-1}$), o grupo TEA apresentou uma diminuição ($p < 0,05$) nas concentrações de ácido úrico no sangue, correspondendo a uma redução de aproximadamente 23,4%.

Figura 3 - Defesas antioxidantes não-enzimáticas



(A) Concentração média de GSH: controle = $0,799 \pm 0,047 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n = 13$); TEA = $0,599 \pm 0,045 \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n = 22$). (B) Concentração média de ácido úrico: controle = $1,282 \pm 0,047 \text{ mg/dL}$ ($n = 13$); TEA = $0,982 \pm 0,086 \text{ mg/dL}$ ($n = 22$). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. Diferenças significativas determinadas pelo teste t de Student com * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$.

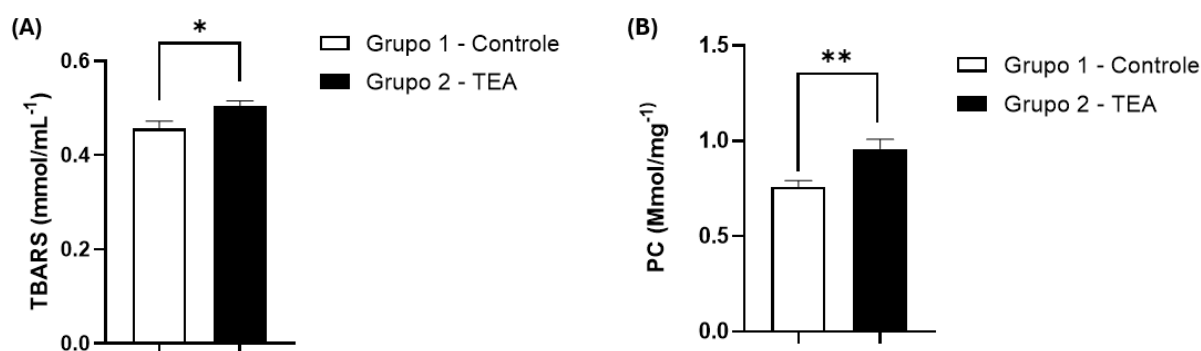
5.3 Análise dos marcadores de dano oxidativo

5.3.1 Crianças com TEA apresentam aumento de marcadores de dano oxidativo em relação ao grupo controle

O nível médio de concentração de TBARS no grupo com TEA foi de $0,504 \pm 0,011 \text{ mmol}\cdot\text{mL}^{-1}$. Já o grupo controle apresentou uma concentração média de $0,456 \pm 0,015 \text{ mmol}\cdot\text{mL}^{-1}$. O grupo TEA demonstrou um aumento ($p < 0,05$) para TBARS presentes na amostra, em torno de 10,53% em comparação ao grupo controle.

A concentração média de PC no grupo com TEA foi de $0,959 \pm 0,049 \text{ mmol/mg}^{-1}$. Em comparação aos indivíduos do grupo controle ($0,760 \pm 0,032 \text{ mmol/mg}^{-1}$), o grupo TEA apresentou um aumento ($p < 0,01$) nas concentrações de proteína carbonilada no sangue total, em torno de 26%.

Figura 4 - Marcadores de dano oxidativo



(A) Concentração média de TBARS: controle = $0,456 \pm 0,015 \text{ mmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n = 13$); TEA = $0,504 \pm 0,011 \text{ mmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($n = 22$). (B) Concentração média de PC: controle = $0,760 \pm 0,032 \text{ mmol}\cdot\text{mg}^{-1}$ ($n = 13$); TEA = $0,959 \pm 0,049$

mmol·mg⁻¹ (n = 22). Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média. Diferenças significativas determinadas pelo teste t de Student com *p < 0,05 e **p < 0,01.

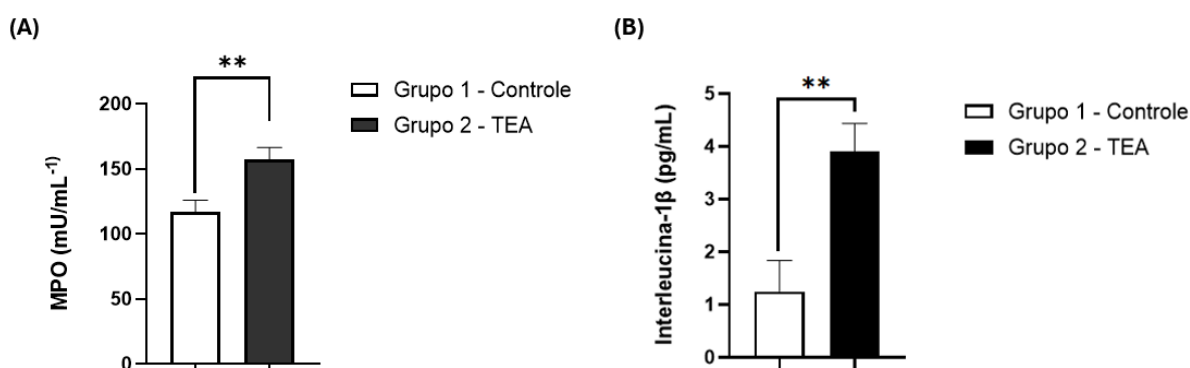
5.4 Determinação de marcadores de inflamação

5.4.1 Crianças com TEA apresentam valores aumentados de marcadores inflamatórios em relação ao grupo controle

A concentração média de atividade de MPO no grupo com TEA foi de $157,18 \pm 9,37$ mU.ml⁻¹. Já o grupo controle apresentou uma concentração média de $116,77 \pm 9,21$ mU.ml⁻¹. O grupo TEA demonstrou um aumento significativo (p < 0,01) para atividade de MPO, em torno de 34,6% em comparação ao grupo controle.

A concentração média de IL-1β no grupo controle foi de $1,25 \pm 0,59$ pg/mL, enquanto no grupo com TEA foi maior, com média de $3,90 \pm 0,93$ pg/mL. A diferença entre os grupos foi estatisticamente (p < 0,001), indicando um aumento de 212,0% na concentração de IL-1β em indivíduos com TEA.

Figura 5 - Marcadores de inflamação

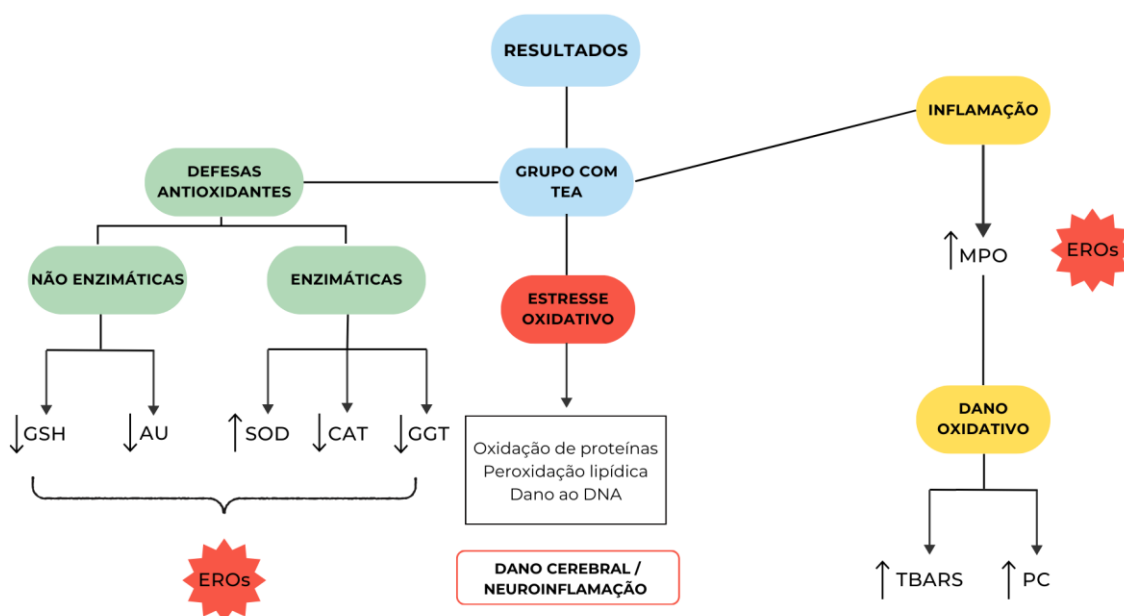


(A) Atividade média de MPO: controle = $116,77 \pm 9,21$ mU/mL (n = 13); TEA = $157,18 \pm 9,37$ mU/mL (n = 22), com diferença significativa (p < 0,01). (B) Concentração média de IL-1β: controle = $1,25 \pm 0,59$ pg/mL (n = 13); TEA = $3,90 \pm 0,93$ pg/mL (n = 22), com diferença significativa (p < 0,001). Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média. Diferenças significativas determinadas pelo teste t de Student com **p < 0,01.

A figura a seguir apresenta um esquema ilustrativo que sintetiza os principais achados deste estudo, destacando as alterações observadas nos biomarcadores de estresse oxidativo e inflamação em crianças com TEA. O diagrama organiza os resultados em três eixos centrais: defesas antioxidantes, estresse oxidativo e inflamação. Reduções significativas em GSH, AU, CAT e GGT, associadas ao aumento de SOD, sugerem um desequilíbrio no sistema antioxidante. Esse cenário favorece o acúmulo de EROs, levando ao aumento de TBARS, PC e MPO. Esses processos interligados reforçam a hipótese de que o estresse oxidativo e a inflamação

estão envolvidos na fisiopatologia do TEA, possivelmente contribuindo para dano cerebral e neuroinflamação.

Figura 6 - Resultados das defesas antioxidantes, marcadores de dano oxidativo e inflamação em crianças com TEA



Fonte: Elaborado pela autora.

6. DISCUSSÃO

A predominância de participantes do gênero masculino (77,27% no grupo TEA) está de acordo com a literatura existente, que sugere uma maior prevalência de TEA em meninos em comparação com meninas (Maenner, 2023). Estudos sugerem que fatores genéticos e hormonais podem contribuir para essa disparidade de gênero (Werling; Geschwind, 2013).

As mulheres podem ser subdiagnosticadas devido às diferenças na apresentação dos sintomas e ao uso de ferramentas de diagnóstico que não são totalmente adaptadas para capturar manifestações específicas do TEA em mulheres (Beggiato et al., 2017; Loomes, Hull e Mandy, 2017). As meninas, geralmente, exibem menos comportamentos restritos e repetitivos, o que pode levar ao subdiagnóstico do transtorno (Werling e Geschwind, 2013).

A teoria do "efeito protetor feminino" sugere que mulheres possuem um limiar mais alto para fatores de risco genéticos e ambientais associados ao TEA, devido a diferenças biológicas como os efeitos protetores do estrogênio e influências hormonais (Enriquez, Gupta e Hoffman, 2021).

Além disso, a exposição precoce a hormônios androgênicos e a ativação imunológica materna, aliada a diferenças na sinalização celular e na expressão gênica entre os sexos, indica uma interação multifatorial de fatores biológicos e ambientais que afetam a predominância masculina no TEA (Schaafsma e Pfaff, 2014). No entanto, a amostra relativamente pequena e a faixa etária restrita são limitações que devem ser consideradas ao interpretar os resultados.

Os resultados deste estudo indicam que crianças com TEA apresentam um desequilíbrio oxidativo sistêmico, evidenciado pela diminuição das defesas antioxidantes, tanto enzimáticas quanto não enzimáticas, e pelo aumento de marcadores de dano oxidativo e inflamação. Esses achados sugerem uma possível relação entre o estresse oxidativo e a fisiopatologia do TEA, indicando que processos inflamatórios e alterações nas defesas antioxidantes podem contribuir para os sintomas observados no transtorno.

Foi identificado uma redução significativa nos valores de GSH no grupo TEA em comparação ao grupo controle. A diminuição nos valores de GSH em aproximadamente 25% nos indivíduos com TEA corrobora estudos anteriores que relataram uma redução das defesas antioxidantes em pacientes com TEA. Chauhan e Chauhan (2006) investigaram o estresse oxidativo em indivíduos com autismo, com amostras de sangue de 30 crianças com autismo e 30 crianças controles, utilizando ensaios enzimáticos para medir a concentração de GSH, observando uma redução significativa nas defesas antioxidantes. Chen et al. (2021), em uma meta-análise de 87 estudos envolvendo 9109 crianças, analisaram diversos marcadores de estresse oxidativo, incluindo GSH, e encontraram uma redução significativa na concentração de GSH em crianças com TEA, corroborando com os achados da literatura. da mesma forma, Frustaci et al. (2012), realizaram uma revisão sistemática e meta-análise de 16 estudos com 864 pacientes, investigando biomarcadores relacionados ao estresse oxidativo em indivíduos com TEA, observando uma diminuição nas concentrações de GSH.

Sendo um antioxidante intracelular essencial, a GSH protege as células contra danos oxidativo, pois exerce papel crucial na proteção celular ao atuar como cofator para enzimas detoxificantes como a GPx e a GST, além de sequestrar espécies reativas de oxigênio como o H_2O_2 e o 1O_2 , facilitar o transporte de aminoácidos pelas membranas celulares e regenerar antioxidantes importantes como as vitaminas C e E, restaurando-os às suas formas reduzidas. (Halliwell; Gutteridge, 2015).

Estudos recentes sugerem que a redução dos valores de GSH pode estar associada a um aumento na produção de EROs e a uma capacidade antioxidante prejudicada, o que pode contribuir para os danos neurológicos observados no TEA (Bjørklund et al., 2020; Liu et al., 2022b). Um estudo post-mortem mostrou que a GSH estava significativamente reduzida no cérebro de pacientes com TEA em relação aos controles, sugerindo uma diminuição notável na capacidade redox associada ao sistema de glutathiona no cérebro desses pacientes contribuindo para o quadro de estresse oxidativo nestes pacientes (Rose et al., 2012). Evidências sugerem que a suplementação com precursores da GSH, tais como a N-acetilcisteína (NAC), pode ajudar a restaurar os valores de GSH e melhorar os sintomas comportamentais em pacientes com TEA (Hardan et al., 2012; Lee et al., 2020; Wink et al., 2016).

A redução observada nos valores de GGT no grupo com TEA, em comparação ao grupo controle saudável, pode indicar uma disfunção no metabolismo de GSH, potencialmente contribuindo para um ambiente de estresse oxidativo elevado frequentemente associado ao TEA. A GGT desempenha um papel crucial na homeostase da glutathiona, sendo responsável pela transferência de grupos gama-glutamil de peptídeos para aminoácidos ou peptídeos, e na catálise da quebra de glutathiona, portanto a diminuição na atividade da GGT pode resultar em uma redução na disponibilidade de GSH, exacerbando o quadro de estresse oxidativo no organismo (Avelar et al., 2015; Raj Rai et al., 2021). Embora este estudo forneça dados sobre a concentração de GGT em crianças com TEA, ainda faltam evidências científicas sólidas que esclareçam o papel desse marcador no contexto do autismo. No entanto, em outras doenças neurodegenerativas, tais como a demência, a variabilidade na concentração de GGT tem sido associada a um risco maior de desenvolvimento da doença. Estudos de Lee et al. (2020) e Hong et al. (2020) indicam que a elevação da GGT está relacionada à disfunção do sistema antioxidante e ao aumento do estresse oxidativo, fatores cruciais na patogênese de condições neurodegenerativas. Portanto, este achado, no presente estudo, pode fazer relação com os valores de GSH neste grupo com TEA, evidenciando a interdependência entre a função da GGT e a capacidade antioxidante do organismo (Raj Rai et al., 2021).

Observou-se uma redução significativa na atividade da catalase em indivíduos com TEA, com uma diminuição de aproximadamente 67,6% em comparação ao grupo controle. Esta redução pode indicar uma disfunção no sistema antioxidante desses indivíduos, sugerindo uma capacidade diminuída para lidar com o estresse oxidativo.

A CAT é um tetrâmero composto por quatro subunidades, cada uma contendo um grupo heme, essencial para sua função de converter o H_2O_2 em H_2O e O_2 , utilizando NADPH como equivalente redutor para evitar a inativação oxidativa da enzima pelo H_2O_2 à medida que é reduzido a água (Manivasagam et al., 2020). Estudos anteriores demonstraram consistentemente uma redução na atividade da CAT em indivíduos com TEA, reforçando que o desequilíbrio antioxidante é um fator relevante na fisiopatologia do transtorno (Frustaci et al., 2012; Kondolot et al., 2016; Vergani et al., 2011; Zoroglu et al., 2004).

Além disso, um estudo recente de Zhang et al. (2023) encontrou que a diminuição da atividade da CAT em crianças com TEA está associada a um encurtamento do comprimento dos telômeros, sugerindo que o estresse oxidativo pode desempenhar um papel no envelhecimento celular precoce e na disfunção metabólica nesses indivíduos. Essa diminuição pode estar associada ao aumento do estresse oxidativo e a uma possível disfunção na homeostase de metais no sangue de pacientes com TEA, de modo a exacerbar a produção de EROs e reduzir a capacidade do organismo de neutralizar esses compostos nocivos, contribuindo para o quadro de estresse oxidativo (Vergani et al., 2011).

Neste presente estudo, observou-se um aumento significativo na atividade da SOD em crianças com TEA em comparação ao grupo controle. Esse achado é consistente com investigações clínicas que relatam elevação da SOD em indivíduos com TEA, sugerindo uma resposta compensatória ao aumento das EROs (Manivasagam et al., 2020; Thorsen et al., 2021; Nadeem et al., 2019). Essa resposta, embora inicialmente protetora, pode tornar-se disfuncional caso não seja acompanhada de uma atividade proporcional de outras enzimas antioxidantes, como a CAT e a GPx. De acordo com Kowald, Lehrach e Klipp (2006), a superexpressão isolada da SOD pode levar ao acúmulo de H_2O_2 , favorecendo a formação de $\text{OH}^\bullet$ que intensificam o estresse oxidativo e a peroxidação lipídica. De forma semelhante, Su et al. (2019) ressaltam que a peroxidação lipídica induzida por EROs está fortemente associada à indução de vias de morte celular programada, como apoptose e autofagia. Assim, o aumento da SOD em conjunto com a redução de CAT e GSH, como observado em nosso estudo, corrobora um cenário de desbalanceamento funcional no sistema antioxidante de indivíduos com TEA, no qual a elevação da SOD isoladamente pode não ser suficiente para mitigar os efeitos do estresse oxidativo e, ao contrário, contribuir para danos celulares adicionais.

A redução da concentração de GSH, como observado em nosso estudo, é compatível com evidências anteriores que apontam para o esgotamento do sistema antioxidante em pacientes com TEA (Imataka et al., 2021). Esse esgotamento pode ser reflexo de um esforço contínuo para regenerar antioxidantes e neutralizar o excesso de H_2O_2 gerado pela ação da SOD. Além disso, a diminuição da atividade da CAT observada em nosso estudo reforça esse quadro de sobrecarga redox, sugerindo um desequilíbrio funcional que agrava a vulnerabilidade ao dano oxidativo (Lu et al., 2020; Manivasagam et al., 2020).

Os valores aumentados de TBARS no grupo TEA indicam uma elevação significativa na lipoperoxidação, um marcador de dano oxidativo lipídico. O aumento de aproximadamente 10,53% nos valores de TBARS em crianças com TEA, em comparação com o grupo controle, corroboram com outros estudos que relataram aumentos semelhantes na peroxidação lipídica em indivíduos com TEA (Chen et al., 2021; Yui et al., 2020). A lipoperoxidação resulta na formação de aldeídos tóxicos, como o MDA, que pode danificar proteínas, lipídios e DNA, contribuindo para a neuroinflamação e neurodegeneração associadas ao TEA (Akagawa, 2020). Kondolot et al. (2016) relataram que a concentração de TBARS foram significativamente maiores no grupo autista em comparação ao grupo controle. Ademais, estudos sugerem que o aumento da peroxidação lipídica pode estar associado a deficiências cognitivas e comportamentais observadas em crianças com TEA (Pangrazzi; Balasco; Bozzi, 2020). Foi observado em um estudo que a neuroinflamação pode estar relacionada à liberação de peroxirredoxina-2 (PRDX2) após a oxidação de proteínas nos indivíduos com TEA, e a ação das EROs causam peroxidação lipídica e de proteínas/DNA, que por sua vez induzem a este quadro inflamatório, podendo provocar a morte do neurônio (Salzano et al., 2014).

Também foi observado um aumento nos valores de PC no grupo TEA (aproximadamente 26% maior em relação ao grupo controle). As PCs são formadas quando as EROs atacam as cadeias laterais dos aminoácidos nas proteínas, levando à sua disfunção e contribuindo para a intensificação do quadro de estresse oxidativo no organismo (Akagawa, 2020). Kondolot et al. (2016) relataram uma correlação significativa entre a concentração aumentada de PC e a elevação dos valores de TBARS em crianças autistas, evidenciando um desequilíbrio oxidante/antioxidante, no qual subprodutos da peroxidação lipídica podem atacar diversos alvos celulares, incluindo proteínas.

Corroborando esses achados, Feng et al. (2017) identificaram, por meio da abordagem de proteômica redox, concentrações elevadas de carbonilação proteica em indivíduos com TEA. O estudo destacou, de maneira específica, a carbonilação elevada em duas proteínas presentes no plasma: a cadeia alfa do componente C8 do sistema complemento (C8A), envolvida na resposta imune inata, e a cadeia constante kappa da imunoglobulina (IGKC), associada à resposta imunológica adaptativa. A modificação oxidativa dessas proteínas reforça a hipótese de que o estresse oxidativo contribui para alterações imunológicas observadas no TEA, ampliando o impacto funcional dessas proteínas na imunorregulação e defesa do organismo.

Além disso, Sajdel-Sulkowska et al. (2011) revelaram uma correlação uma alta concentração de neurotrofina-3 (NT-3) e 3-nitrotirosina, um marcador de nitratação de proteínas associado ao estresse oxidativo e inflamação, no cérebro de indivíduos com TEA. A presença de 3-nitrotirosina indica danos oxidativos significativos nas proteínas, enquanto o aumento de NT-3 pode refletir uma resposta adaptativa do cérebro frente ao estresse oxidativo.

Em estudo conduzido por Melnyk et al. (2012), foi observada uma redução da concentração de cisteína, aminoácido essencial para a síntese da glutatona, associada a um aumento da concentração de cistina, sua forma dissulfeto oxidada, indicando uma possível disfunção no equilíbrio redox celular, além de desregulação dos processos de metilação e desequilíbrios metabólicos, fatores que podem contribuir para a oxidação de proteínas e outros danos celulares. Os resultados do presente estudo corroboram esses dados da literatura, ao demonstrarem uma correlação entre a concentração elevada PC e a diminuição da concentração de GSH em crianças com TEA.

Os valores reduzidos de ácido úrico observados no grupo de crianças com TEA (aproximadamente 23,4%) quando comparados ao grupo controle, sugerem um potencial comprometimento do equilíbrio redox nesses pacientes. É importante destacar que o ácido úrico, o produto da degradação das purinas, atua como um antioxidante hidrofílico e exerce propriedades neuroprotetoras, portanto valores diminuídos de AU nesses pacientes podem indicar uma menor capacidade de neutralização de EROs de modo a agravar o quadro de estresse oxidativo nesses indivíduos (Dai et al., 2023; Singh et al., 2022; Wang et al., 2016). Pesquisas recentes indicam que o AU oferece benefícios durante o estresse oxidativo causado por H_2O_2 , protegendo contra a peroxidação lipídica nas membranas dos eritrócitos,

interrompendo a lise peroxidativa e funcionando como um eliminador de O_2^- e $HO^\bullet$ (Halliwell, 1990; Halliwell et al., 2021; Pallavi et al., 2023). Um estudo demonstrou a inibição da peroxidação lipídica a partir de análogos metilados do ácido úrico, deste modo, os valores reduzidos de ácido úrico observados neste estudo corroboram com a concentração elevada de TBARS no grupo TEA, sugerindo uma deficiência no sistema antioxidante que resulta em um aumento da peroxidação lipídica no organismo desses indivíduos (Nishida, 1991).

O aumento significativo nos valores de MPO no grupo TEA (34,6% maior do que no grupo controle) sugere a presença de inflamação crônica nos indivíduos com TEA. A MPO é uma enzima produzida por neutrófilos e monócitos ativados e está envolvida na resposta inflamatória, contribuindo para a produção de radicais (Ceylan et al., 2021; Khan; Alsahli; Rahmani, 2018). Um estudo demonstrou que os valores de MPO são mais elevados em indivíduos com TEA em comparação ao grupo controle saudável, associando esse aumento com marcadores de estresse oxidativo e inflamação (Ceylan et al., 2021). Outras pesquisas indicam que a inflamação crônica e a ativação de células microgлияis estão presentes em indivíduos com TEA e podem afetar o desenvolvimento neurocognitivo (Siniscalco et al., 2018). A peroxidação lipídica é estimulada por intermediários reativos produzidos pela MPO, onde a capacidade de oxidar tirosina e nitrito, na presença de H_2O_2 , para produzir dióxido de nitrogênio (NO_2) e radical tirosil, faz com que esses intermediários reativos tenham a capacidade de oxidar os lipídios presentes na membrana celular (Zhang et al., 2002). A interferência na membrana leva à peroxidação de fosfolipídios de lipoproteína, que resulta na disfunção celular (Khan; Alsahli; Rahmani, 2018).

Nossos resultados indicam que crianças com TEA apresentam uma concentração significativamente elevada de IL-1 β em comparação com os indivíduos do grupo controle saudável. Este achado está alinhado com estudos anteriores que identificaram um perfil inflamatório exacerbado em indivíduos com TEA, caracterizado por aumentos em citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-1 β , IL-6, IL-17, TNF- α e IFN- γ (Saghazadeh et al., 2019; Wared et al., 2022). Uma pesquisa conduzida por Shmarina et al. (2020) teve como objetivo explorar a interação entre DNA celular oxidado livre e marcadores inflamatórios, incluindo a IL-1 β , em pacientes com TEA. O estudo buscou compreender como o DNA oxidado, um fator de sinalização de estresse, poderia contribuir para a ativação de processos inflamatórios no TEA, especialmente por meio da regulação de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1 β . Os

resultados sugerem que a concentração elevada de IL-1 β observados em pacientes autistas podem estar relacionados à presença de DNA oxidado, destacando o papel de vias inflamatórias e de estresse oxidativo na fisiopatologia do TEA. Outra pesquisa demonstrou que polimorfismos nos genes Interleucina-1 β -511 (IL-1 β -511) e Antagonista do Receptor de Interleucina-1 (IL-1RA) estão associados a uma concentração elevada de IL-1 β em crianças com TEA, indicando que essas variações genéticas podem aumentar o risco de desenvolvimento do transtorno (Saad et al., 2020). A IL-1 β -511 é um polimorfismo localizado no gene que codifica a IL-1 β situada na posição 511 da região promotora, o qual pode influenciar a produção desta citocina pró-inflamatória, de modo a contribuir para a alta concentração encontrada em pacientes com TEA (Saad et al., 2020). A IL-1RA é um antagonista natural da IL-1 β , que regula a sua ação e diminui a intensidade da resposta inflamatória (Dayer, Oliviero e Punzi, 2017). O aumento de IL-1RA observado no TEA pode refletir um mecanismo compensatório frente a elevada concentração de IL-1 β , onde estudos indicaram, em modelo animal, que a administração de IL-1RA durante períodos do neurodesenvolvimento pode impactar de forma adversa processos como neurogênese, memória, comportamento e a estrutura cerebral (Goines e Ashwood, 2013; Spulber et al., 2011).

Diante dos achados apresentados, observa-se que os indivíduos com TEA apresentam um perfil de estresse oxidativo caracterizado por desequilíbrio entre a produção de EROs e a capacidade antioxidante, além de um estado inflamatório crônico evidenciado por alterações marcadores inflamatórios. Esses resultados reforçam a hipótese de que processos oxidativos e inflamatórios desempenham papel central na fisiopatologia do TEA, contribuindo não apenas para os danos celulares, mas possivelmente para manifestações clínicas e comportamentais do transtorno.

Apesar das limitações relacionadas ao tamanho amostral e à ausência de biomarcadores específicos para diagnóstico, os dados deste estudo contribuem para ampliar o entendimento sobre os mecanismos bioquímicos envolvidos no TEA e sinalizam a importância de abordagens terapêuticas que considerem a modulação do estresse oxidativo e da inflamação como potenciais estratégias de suporte ao tratamento.

7. CONCLUSÕES

Esta pesquisa evidenciou um desequilíbrio oxidativo sistêmico em crianças com TEA. Os resultados demonstraram uma redução significativa das defesas antioxidantes, tanto nos componentes não enzimáticos, como GSH e AU, quanto nos enzimáticos, com diminuição da atividade de CAT e GGT. Em contrapartida, observou-se um aumento na atividade de SOD, possivelmente refletindo uma resposta compensatória ao estresse oxidativo exacerbado. Paralelamente, a alta concentração de TBARS e PC indicam intensificação da peroxidação lipídica e do dano oxidativo às proteínas. O aumento de MPO e IL-1 β reforça a presença de um estado inflamatório, demonstrando a interconexão entre estresse oxidativo e inflamação na fisiopatologia do TEA. A redução de GSH e GGT aponta para um possível comprometimento no metabolismo da glutathione, essencial para a neutralização de EROs. Da mesma forma, a diminuição da concentração de AU pode estar associada a uma menor capacidade antioxidante sistêmica, agravando o desequilíbrio redox. Esses achados sustentam a hipótese de que o estresse oxidativo e a inflamação desempenham papéis centrais na fisiopatologia do TEA. A identificação de alterações em múltiplos marcadores reforça a necessidade de estudos adicionais, que contribuam para a validação de biomarcadores capazes de auxiliar no diagnóstico precoce e no desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes para crianças com TEA.

8. LIMITAÇÃO DO ESTUDO

Este estudo apresenta algumas limitações que devem ser consideradas na interpretação dos resultados. A principal limitação está relacionada ao número reduzido de amostras de sangue analisadas, o que pode restringir a generalização dos achados, além de dificultar a realização de análises mais abrangentes, como possíveis correlações entre o grau de comprometimento clínico do TEA e os biomarcadores investigados. Outro ponto limitante foi a dificuldade no acesso e na análise de prontuários médicos dos participantes, em virtude de entraves administrativos internos na instituição parceira (CER-APAE), o que inviabilizou a obtenção de dados clínicos complementares. Tais restrições comprometem a possibilidade de análises mais aprofundadas e de correlações clínicas entre os dados bioquímicos obtidos e os perfis individuais dos participantes.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, J. B. et al. The severity of autism is associated with toxic metal body burden and red blood cell glutathione levels. *Journal of Toxicology*, v. 2009, art. 532640, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1155/2009/532640>.
- ADELANTADO-RENAU, M.; BELTRAN-VALLS, M. R.; MOLINER-URDIALES, D. Inflammation and cognition in children and adolescents: a call for action. *Frontiers in Pediatrics*, v. 8, art. 583, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2020.00583>.
- AEBI, H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, v. 105, p. 121–126, 1984. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3).
- AKAGAWA, M. Protein carbonylation: molecular mechanisms, biological implications, and analytical approaches. *Free Radical Research*, v. 55, n. 4, p. 307–320, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1851027>.
- ALFADDA, A. A.; SALLAM, R. M. Reactive oxygen species in health and disease. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, v. 2012, art. 936486, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/936486>.
- AL-HARBI, N. O. et al. Elevated expression of toll-like receptor 4 is associated with NADPH oxidase-induced oxidative stress in B cells of children with autism. *International Immunopharmacology*, v. 84, art. 106555, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106555>.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. *Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5*. 5. ed. Tradução de Maria Inês Corrêa da Silva Nascimento. Porto Alegre: Artmed, 2014.
- AMIR ASLANI, B.; GHOBADI, S. Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life Sciences*, v. 146, p. 163–173, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.01.014>.
- ARATANI, Y. Myeloperoxidase: its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 640, p. 47–52, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.01.004>.
- ASHWOOD, P.; KRAKOWIAK, P.; HERTZ-PICCIOTTO, I.; HANSEN, R.; PESSAH, I. N.; VAN DE WATER, J. Elevated plasma cytokines in autism spectrum disorders provide evidence of immune dysfunction and are associated with impaired behavioral outcome. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 25, n. 1, p. 40–45, jan. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.08.003>.
- ATTIA, S. M. et al. Evaluation of DNA repair efficiency in autistic children by molecular cytogenetic analysis and transcriptome profiling. *DNA Repair*, v. 85, art. 102750, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2019.102750>.
- AVELAR, T. M. T. et al. Oxidative stress in the pathophysiology of metabolic syndrome: which mechanisms are involved?. *Jornal Brasileiro de Patologia e*

Medicina Laboratorial, v. 51, p. 231–239, 2015. DOI: <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20150039>.

AVERILL-BATES, D. A. The antioxidant glutathione. *Vitamins and Hormones*, v. 121, p. 109–141, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2022.09.002>.

AVIELLO, G.; KNAUS, U. G. NADPH oxidases and ROS signaling in the gastrointestinal tract. *Mucosal Immunology*, v. 11, n. 4, p. 1011–1023, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0021-8>.

AWASTHI, Y. C. et al. Regulatory roles of glutathione-S-transferases and 4-hydroxynonenal in stress-mediated signaling and toxicity. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 111, p. 235–243, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.10.493>.

AYALA, A.; MUÑOZ, M. F.; ARGÜELLES, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2014, art. 360438, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/360438>.

AZADMANESH, J.; BORGSTAHL, G. A. A review of the catalytic mechanism of human manganese superoxide dismutase. *Antioxidants*, v. 7, n. 2, p. 25, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox7020025>.

BALACHANDAR, V. et al. Mitochondrial dysfunction: a hidden trigger of autism?. *Genes & Diseases*, v. 8, n. 5, p. 629–639, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2020.07.002>.

BANNISTER, J. V.; BANNISTER, W. H.; ROTILIO, G. Aspects of the structure, function, and applications of superoxide dismutase. *CRC Critical Reviews in Biochemistry*, v. 22, n. 2, p. 111–180, 1987. DOI: <https://doi.org/10.3109/10409238709083738>.

BARBOSA, I. G. et al. Psychometric properties of the Social Responsiveness Scale-2 for Autism Spectrum Disorders. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria*, v. 64, n. 3, p. 230–237, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/0047-20850000000083>.

BECKER, M. M. et al. Translation and validation of Autism Diagnostic Interview-Revised (ADI-R) for autism diagnosis in Brazil. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, v. 70, n. 3, p. 185–190, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0004-282x2012000300006>.

BEDARD, K.; KRAUSE, K.-H. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, v. 87, n. 1, p. 245–313, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.00044.2005>.

BEGGIATO, A. et al. Gender differences in autism spectrum disorders: divergence in specific core symptoms. *Autism Research*, v. 10, n. 4, p. 680–689, Apr. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/aur.1715>.

BETANCUR, C. Etiological heterogeneity in autism spectrum disorders: more than 100 genetic and genomic disorders and still counting. *Brain Research*, v. 1380, p. 42–77, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.11.078>.

BEUTLER, E.; DURON, O.; KELLY, B. M. Improved method for the determination of blood glutathione. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, v. 61, p. 882–888, 1963.

BIOBAKU, F. et al. Macronutrient-mediated inflammation and oxidative stress: relevance to insulin resistance, obesity, and atherogenesis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 104, n. 12, p. 6118–6128, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2018-01833>.

BIRBEN, E. et al. Oxidative stress and antioxidant defense. *The World Allergy Organization Journal*, v. 5, n. 1, p. 9–19, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1097/wox.0b013e3182439613>.

BIRD, R. P.; DRAPER, H. H. Comparative studies on different methods of malonaldehyde determination. *Methods in Enzymology*, v. 105, p. 299–305, 1984. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05038-2](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05038-2).

BISWAS, M. et al. Pharmacogenomics and non-genetic factors affecting drug response in autism spectrum disorder. *Frontiers in Pharmacology*, v. 14, p. 1285967, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1285967>.

BISWAS, S. K. Does the interdependence between oxidative stress and inflammation explain the antioxidant paradox? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2016, art. 5698931, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/5698931>.

BJØRKLUND, G. et al. Oxidative stress in autism spectrum disorder. *Molecular Neurobiology*, v. 57, n. 5, p. 2314–2332, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12035-019-01742-2>.

BOVERIS, A. Determination of the production of superoxide radicals and hydrogen peroxide in mitochondria. *Methods in Enzymology*, v. 105, p. 429–435, 1984. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05060-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05060-6).

BOVERIS, A.; CHANCE, B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide: general properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochemical Journal*, v. 134, n. 3, p. 707–716, 1973. DOI: <https://doi.org/10.1042/bj1340707>.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, n. 1-2, p. 248–254, 1976. DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).

CATALÁ, A. Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chemistry and Physics of Lipids*, v. 157, n. 1, p. 1–11, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/imr.12621>.

CAVAILLON, J. M. *Pro- versus anti-inflammatory cytokines: myth or reality*. Cellular and Molecular Biology, v. 47, n. 4, p. 695–702, 2001.

CECARINI, V. et al. Protein oxidation and cellular homeostasis: emphasis on metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1773, n. 2, p. 93–104, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.08.039>.

CEYLAN, M. F. et al. Serum ischemia-modified albumin levels, myeloperoxidase activity and peripheral blood mononuclear cells in autism spectrum disorder (ASD). *Journal of Autism and Developmental Disorders*, v. 51, n. 7, p. 2511–2517, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10803-020-04834-4>.

CHAIR, S.-Y. et al. Structural variations identified in patients with Autism Spectrum Disorder (ASD) in the Chinese population: a systematic review of case-control studies. *Genes, Basel*, v. 15, n. 8, p. 1082, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes15081082>.

CHANCE, B.; SIES, H.; BOVERIS, A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological Reviews*, v. 59, n. 3, p. 527–605, 1979. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.1979.59.3.527>.

CHAUDHARY, N. et al. Understanding the role of free radicals and antioxidant enzymes in human diseases. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, v. 23, n. 10, p. 1–10, 2022. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389201024666221121160822>

CHAUHAN, A.; CHAUHAN, V. Oxidative stress in autism. *Pathophysiology*, v. 13, n. 3, p. 171–181, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2006.05.007>.

CHEN, L. et al. Oxidative stress marker aberrations in children with autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis of 87 studies (N = 9109). *Translational Psychiatry*, v. 11, n. 1, art. 15, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01135-3>.

COLLIN, F. Chemical basis of reactive oxygen species reactivity and involvement in neurodegenerative diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 20, n. 10, art. 2407, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20102407>.

COUSSENS, L. M.; WERB, Z. Inflammation and cancer. *Nature*, v. 420, n. 6917, p. 860–867, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature01322>.

D'AUTRÉAUX, B.; TOLEDANO, M. B. ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 8, n. 10, p. 813–824, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrm2256>.

DAI, S. et al. Purine signaling pathway dysfunction in autism spectrum disorders: evidence from multiple omics data. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, v. 16, art. 1089871, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1089871>.

DALLE-DONNE, I. et al. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, v. 10, n. 2, p. 389–406, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2006.tb00407.x>.

DAVIES, M. J. Protein oxidation and peroxidation. *Biochemical Journal*, v. 473, n. 7, p. 805–825, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1042/bj20151227>.

DAYER, J.; OLIVIERO, F.; PUNZI, L. A brief history of IL-1 and IL-1 Ra in rheumatology. *Frontiers in Pharmacology*, v. 8, p. 293, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00293>.

DE RUBEIS, S. et al. Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. *Nature*, v. 515, n. 7526, p. 209–215, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature13772>.

DESACHY, G. et al. Increased female autosomal burden of rare copy number variants in human populations and in autism families. *Molecular Psychiatry*, v. 20, n. 2, p. 170–175, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1038/mp.2014.179>.

DINARELLO, C. A. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunological Reviews*, v. 281, n. 1, p. 8–27, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/imr.12621>.

DJORDJEVIĆ, V. B. Free radicals in cell biology. *International Review of Cytology*, v. 237, p. 57–89, 2004. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0074-7696\(04\)37002-6](https://doi.org/10.1016/s0074-7696(04)37002-6).

DONG, L. et al. Interactions of genetic risks for autism and the broad autism phenotypes. *Frontiers in Psychiatry*, v. 14, art. 1110080, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2023.1110080>.

DUNCAN, K. R.; SUZUKI, Y. J. Vitamin E nicotinate. *Antioxidants*, v. 6, n. 1, art. 20, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox6010020>.

EDDAIKRA, A.; EDDAIKRA, N. Endogenous enzymatic antioxidant defense and pathologies. In: SHARMA, R. (ed.). *Antioxidants – Benefits, Sources, Mechanisms of Action*. London: IntechOpen, 2021. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.95504>.

EISSA, N. et al. Current enlightenment about etiology and pharmacological treatment of autism spectrum disorder. *Frontiers in Neuroscience*, v. 12, art. 304, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00304>.

ELSABBAGH, M. et al. Global prevalence of autism and other pervasive developmental disorders. *Autism Research*, v. 5, n. 3, p. 160–179, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/aur.239>.

ENRIQUEZ, K.; GUPTA, A.; HOFFMAN, E. Signaling pathways and sex differential processes in autism spectrum disorder. *Frontiers in Psychiatry*, v. 12, p. 716673, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2021.716673>.

FARMER, C.; THURM, A.; GRANT, P. Pharmacotherapy for the core symptoms in autistic disorder: current status of the research. *Drugs*, v. 73, n. 4, p. 303–314, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40265-013-0021-7>.

FEDOROVA, M.; BOLLINENI, R. C.; HOFFMANN, R. Protein carbonylation as a major hallmark of oxidative damage: update of analytical strategies. *Mass*

Spectrometry Reviews, v. 33, n. 2, p. 79–97, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/mas.21381>.

FENG, C. et al. Redox proteomic identification of carbonylated proteins in autism plasma: insight into oxidative stress and its related biomarkers in autism. *Clinical Proteomics*, v. 14, art. 2, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12014-017-9138-0>.

FORNACIARI, I. et al. Gamma-glutamyltransferase fractions in human plasma and bile: characteristic and biogenesis. *PLoS ONE*, v. 9, n. 2, e88532, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088532>.

FRANGIE, C.; DAHER, J. Role of myeloperoxidase in inflammation and atherosclerosis (Review). *Biomedical Reports*, v. 16, n. 6, art. 53, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3892/br.2022.1536>.

FRUSTACI, A. et al. Oxidative stress-related biomarkers in autism: systematic review and meta-analyses. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 52, n. 10, p. 2128–2141, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.03.011>.

FRYE, R. Mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorder: unique abnormalities and targeted treatments. *Seminars in Pediatric Neurology*, v. 35, art. 100829, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.spen.2020.100829>.

FUKAI, T.; USHIO-FUKAI, M. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, v. 15, n. 6, p. 1583–1606, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2011.3999>.

GALOZZI, P. et al. The revisited role of interleukin-1 alpha and beta in autoimmune and inflammatory disorders and in comorbidities. *Autoimmunity Reviews*, v. 20, n. 4, p. 102785, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2021.102785>.

GARCIA, S. C. M.; NASCIMENTO, M. A. do; PEREIRA, M. Autismo infantil: acolhimento e tratamento pelo sistema único de saúde. *Revista Valore*, v. 2, n. 1, p. 155–167, 2017. DOI: <https://doi.org/10.22408/rev.12201735124-135>.

GAȚAREK, P.; JÓŹWIK-PRUSKA, J.; BJØRKLUND, G.; CHIRUMBOLO, S.; KAŁUŻNA-CZAPLIŃSKA, J. Urinary carboxylic acids (UCAs) in subjects with autism spectrum disorder and their association with bacterial overgrowth. *Reviews in Analytical Chemistry*, v. 39, n. 1, p. 78–87, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1515/revac-2020-0109>.

GEBICKA, L.; KRYCH-MADEJ, J. The role of catalases in the prevention/promotion of oxidative stress. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 197, art. 110699, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110699>.

GENOVESE, A.; BUTLER, M. G. Clinical assessment, genetics, and treatment approaches in autism spectrum disorder (ASD). *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 13, art. 4726, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21134726>.

GESUNDHEIT, B. et al. Immunological and autoimmune considerations of autism spectrum disorders. *Journal of Autoimmunity*, v. 44, p. 1–7, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2013.05.005>.

GHERGHINA, M. E. et al. Uric acid and oxidative stress—relationship with cardiovascular, metabolic, and renal impairment. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 6, art. 3188, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23063188>.

GOETZ, M. E.; LUCH, A. Reactive species: a cell damaging route assisting to chemical carcinogens. *Cancer Letters*, v. 266, n. 1, p. 73–83, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.02.035>.

GOINES, P. E.; ASHWOOD, P. Cytokine dysregulation in autism spectrum disorders (ASD): possible role of the environment. *Neurotoxicology and Teratology*, v. 36, p. 67–81, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2012.07.006>.

GOLDSZMID, R. S.; TRINCHIERI, G. The price of immunity. *Nature Immunology*, v. 13, n. 10, p. 932–938, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1038/ni.2422>.

GONZALEZ-HUNT, C. P.; WADHWA, M.; SANDERS, L. H. DNA damage by oxidative stress: measurement strategies for two genomes. *Current Opinion in Toxicology*, v. 7, p. 87–94, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2017.11.001>.

GOODSON, R. et al. Pharmacogenetic testing in patients with autism spectrum disorder evaluated in a precision medicine clinic. *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics*, v. 44, n. 8, p. e505–e510, out./nov. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1097/DBP.0000000000001215>.

GRAILLE, M.; WILD, P.; SAUVAIN, J.-J.; HEMMENDINGER, M.; GUSEVA CANU, I.; HOPF, N. B. Urinary 8-OHdG as a biomarker for oxidative stress: a systematic literature review and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 11, art. 3743, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21113743>.

GREEN, R. M.; TRAVERS, A. M.; HOWE, Y.; MCDUGLE, C. J. Women and autism spectrum disorder: diagnosis and implications for treatment of adolescents and adults. *Current Psychiatry Reports*, v. 21, n. 4, art. 22, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11920-019-1006-3>.

GROVE, J. et al. Identification of common genetic risk variants for autism spectrum disorder. *Nature Genetics*, v. 51, n. 3, p. 431–444, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0344-8>.

HALFON, N.; KUO, A. A. What DSM-5 could mean to children with autism and their families. *JAMA Pediatrics*, v. 167, n. 7, p. 608–613, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2013.2188>.

HALLIWELL, B. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical Research Communications*, v. 9, n. 1, p. 1–32, 1990. DOI: <https://doi.org/10.3109/10715769009148569>.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. *Free radicals in biology and medicine*. 5. ed. Oxford: Oxford University Press, 2015.

HALLIWELL, B.; ADHIKARY, A.; DINGFELDER, M.; DIZDAROGLU, M. Hydroxyl radical is a significant player in oxidative DNA damage in vivo. *Chemical Society Reviews*, v. 50, n. 15, p. 8355–8360, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1039/D1CS00044F>.

HALLIWELL, B. Understanding mechanisms of antioxidant action in health and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 25, n. 1, p. 13–33, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41580-023-00645-4>.

HARDAN, A. Y. et al. A randomized controlled pilot trial of oral N-acetylcysteine in children with autism. *Biological Psychiatry*, v. 71, n. 11, p. 956–961, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.01.014>.

HASHEMI, M. et al. Relationship of urinary phthalate metabolites with cardiometabolic risk factors and oxidative stress markers in children and adolescents. *Journal of Environmental and Public Health*, v. 2021, art. 5514073, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/5514073>.

HAWKINS, C. L.; DAVIES, M. J. Generation and propagation of radical reactions on proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, v. 1504, n. 2, p. 196–219, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(00\)00252-8](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(00)00252-8).

HAWKINS, C. L.; DAVIES, M. J. Role of myeloperoxidase and oxidant formation in the extracellular environment in inflammation-induced tissue damage. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 172, p. 633–651, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.07.007>.

HEROLD, K.; MROWKA, R. Inflammation—dysregulated inflammatory response and strategies for treatment. *Acta Physiologica*, v. 226, n. 3, art. e13284, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/apha.13284>.

HONG, S. et al. Gamma-glutamyl transferase variability and risk of dementia in diabetes mellitus: a nationwide population-based study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 105, n. 3, p. dgaa019, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa019>.

HU, T. et al. The gut microbiota and oxidative stress in autism spectrum disorders (ASD). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2020, art. 8784502, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/8784502>.

HYMAN, S. L.; LEVY, S. E.; MYERS, S. M. Identification, evaluation, and management of children with autism spectrum disorder. *Pediatrics*, v. 145, n. 1, e20193447, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1542/peds.2019-3447>.

HYMAN, S. L.; LEVY, S. E.; MYERS, S. M. Identification, evaluation, and management of children with autism spectrum disorder. *Pediatrics*, v. 145, n. 1, e20193447, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1542/peds.2019-3447>.

IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants—superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, v. 54, n. 4, p. 287–293, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>.

IMATAKA, G. et al. Urinary and plasma antioxidants in behavioral symptoms of individuals with autism spectrum disorder. *Frontiers in Psychiatry*, v. 12, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2021.684445>.

JACQUEMONT, S. et al. A higher mutational burden in females supports a “female protective model” in neurodevelopmental disorders. *The American Journal of Human Genetics*, v. 94, n. 3, p. 415–425, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.02.001>.

JENNER, P. Oxidative stress in Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, v. 53, n. S3, p. S26–S36, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1002/ana.10483>.

JENSEN, S. J. K. Oxidative stress and free radicals. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, v. 666–667, p. 387–392, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theochem.2003.08.037>.

JÎTCĂ, G. et al. Positive aspects of oxidative stress at different levels of the human body: a review. *Antioxidants*, v. 11, n. 3, p. 572, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox11030572>.

JOMOVA, K. et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Archives of Toxicology*, v. 97, n. 10, p. 2499–2574, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03562-9>.

JUAN, C. A. et al. The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 9, p. 4642, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22094642>.

KANNER, L. Autistic disturbances of affective contact. *Nervous Child*, v. 2, p. 217–250, 1943.

KANNER, L. Early infantile autism. *Journal of Pediatrics*, v. 25, p. 211–217, 1944.

KARAKUS, Y. Y. Typical catalases: function and structure. In: *Glutathione system and oxidative stress in health and disease*. London: IntechOpen, 2020. DOI: 10.5772/intechopen.90048.

KATO, Y. et al. Lower availability of mitochondrial complex I in anterior cingulate cortex in autism: a positron emission tomography study. *American Journal of Psychiatry*, v. 180, n. 4, p. 277–284, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.22010014>.

KEITELMAN, I. et al. The interaction between serine proteases and caspase-1 regulates interleukin-1 beta secretion mediated by autophagy in human neutrophils.

Frontiers in Immunology, v. 13, 2022. DOI:
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.832306>.

KHAN, A. A.; ALSAHLI, M. A.; RAHMANI, A. H. Myeloperoxidase as an active disease biomarker: recent biochemical and pathological perspectives. *Medical Sciences*, v. 6, n. 2, p. 33, 2018. DOI: 10.3390/medsci6020033.

KIM, G. H. et al. The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Experimental Neurobiology*, v. 24, n. 4, p. 325–340, 2015. DOI: 10.5607/en.2015.24.4.325.

KLEBANOFF, S. J. et al. Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms. *Journal of Leukocyte Biology*, v. 93, n. 2, p. 185–198, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1189/jlb.0712349>.

KONDOLOT, M. et al. Plasma phthalate and bisphenol A levels and oxidant-antioxidant status in autistic children. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 43, p. 149–158, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.03.006>.

KOPYTSIA, M. et al. The role of myeloperoxidase as a diagnostic and prognostic factor in cardiovascular pathology (acute coronary syndrome). *Pathologia*, 2020. DOI: <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2021.2.235805>.

KOWALD, A.; LEHRACH, H.; KLIPP, E. Alternative pathways as mechanism for the negative effects associated with overexpression of superoxide dismutase. *Journal of Theoretical Biology*, v. 238, n. 4, p. 828–840, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2005.06.034>.

KOWALTOWSKI, A. J. et al. Mitochondria and reactive oxygen species. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 47, n. 4, p. 333–343, 2009. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.004.

KRAJMALNIK-BROWN, R. et al. Gut bacteria in children with autism spectrum disorders: challenges and promise of studying how a complex community influences a complex disease. *Microbial Ecology in Health and Disease*, v. 26, p. 26914, 2015. DOI: 10.3402/mehd.v26.26914.

KRAUS, R. F.; GRUBER, M. A. Neutrophils—From bone marrow to first-line defense of the innate immune system. *Frontiers in Immunology*, v. 12, 2021. DOI: 10.3389/fimmu.2021.767175.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, v. 2013, p. 162750, 2013. DOI: 10.1155/2013/162750.

KUMAR, S. *Cytokines, inflammation and breast cancer*. 2020.

KUSHIYAMA, A. et al. Role of uric acid metabolism-related inflammation in the pathogenesis of metabolic syndrome components such as atherosclerosis and nonalcoholic steatohepatitis. *Mediators of Inflammation*, v. 2016, p. 8603164, 2016. DOI: 10.1155/2016/8603164.

LAI, M. C.; LOMBARDO, M. V.; BARON-COHEN, S. Autism. *The Lancet*, v. 383, n. 9920, p. 896–910, 2014. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61539-1.

LEE, D. S. et al. Gamma glutamyl transferase and metabolic syndrome, cardiovascular disease, and mortality risk: the Framingham Heart Study. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 27, n. 1, p. 127–133, jan. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000251993.20372.40>.

LEE, T.-M. et al. Effectiveness of N-acetylcysteine in autism spectrum disorders: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*, v. 55, p. 196–206, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1177/0004867420952540>.

LEE, Y. et al. Gamma-glutamyl transferase variability and risk of dementia: A nationwide study. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, v. 35, p. 1105–1114, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/gps.5332>.

LEVERVE, X. Stress oxydant et antioxydants? *Cahiers de Nutrition et de Di  t  tique*, v. 44, p. 17-25, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2009.09.001>.

LEVINE, R. L. et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, v. 186, p. 464–478, 1990. DOI: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86141-H](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86141-H).

LEVINE, R. L. et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, v. 186, p. 464–478, 1990. DOI: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86141-h](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86141-h).

LIU, F. et al. Altered composition and function of intestinal microbiota in autism spectrum disorders: a systematic review. *Translational Psychiatry*, v. 9, n. 1, p. 1–13, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0389-6>.

LIU, X. et al. Oxidative Stress in Autism Spectrum Disorder—Current Progress of Mechanisms and Biomarkers. *Frontiers in Psychiatry*, v. 13, 2022. DOI: 10.3389/fpsy.2022.813304.

LIU, Y. et al. Lack of association between NLGN3, NLGN4, SHANK2 and SHANK3 gene variants and autism spectrum disorder in a Chinese population. *PLoS ONE*, v. 8, n. 2, e56639, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056639>.

LIU, Z. et al. Role of ROS and Nutritional Antioxidants in Human Diseases. *Frontiers in Physiology*, v. 9, p. 477, 2018. DOI: 10.3389/fphys.2018.00477.

LORD, C. et al. Autism spectrum disorder. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 6, n. 1, p. 1–23, 2020. DOI: 10.1038/s41572-019-0138-4.

LORD, C. et al. Autism spectrum disorder. *The Lancet*, v. 392, n. 10146, p. 508–520, 2018. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31129-2.

LOSAPIO, M. F.; PONDE, M. P. Tradução para o português da escala M-CHAT para rastreamento precoce de autismo. *Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul*, v. 30, n. 3, p. 221–229, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-81082008000400011>.

LOTTER, V. Epidemiology of autistic conditions in young children. *Social Psychiatry*, v. 1, n. 3, p. 124–135, 1966. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00584048>.

LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, v. 193, n. 1, p. 265–275, 1951. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6).

LU, J. et al. Maternal diabetes induces immune dysfunction in autistic offspring through oxidative stress in hematopoietic stem cells. *Frontiers in Psychiatry*, v. 11, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.576367>.

LUGRIN, J. et al. The role of oxidative stress during inflammatory processes. *Biological Chemistry*, v. 395, n. 2, p. 203–230, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1515/hsz-2013-0241>.

MA, Q. Transcriptional responses to oxidative stress: pathological and toxicological implications. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 125, n. 3, p. 376–393, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2009.11.004>.

MAENNER, M. J. et al. Prevalence and Characteristics of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2018. *Morbidity and Mortality Weekly Report. Surveillance Summaries* (Washington, D.C.: 2002), v. 70, n. 11, p. 1-16, 2021. DOI: 10.15585/mmwr.ss7011a1.

MAENNER, M. J. Prevalence and Characteristics of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2020. *Morbidity and Mortality Weekly Report. Surveillance Summaries*, v. 72, 2023. DOI: 10.15585/mmwr.ss7202a1.

MAENNER, M. J. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2016. *Morbidity and Mortality Weekly Report. Surveillance Summaries*, v. 69, 2020. DOI: 10.15585/mmwr.ss6904a1

MAGNANI, F.; MATTEVI, A. Structure and mechanisms of ROS generation by NADPH oxidases. *Current Opinion in Structural Biology*, v. 59, p. 91-97, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2019.03.001>.

MAHAJAN, L. et al. Alteration in thiols homeostasis, protein and lipid peroxidation in renal tissue following subacute oral exposure of imidacloprid and arsenic in Wistar rats. *Toxicology Reports*, v. 5, p. 1114-1119, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.11.003>.

MANEETON, N. et al. Aripiprazole in acute treatment of children and adolescents with autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis.

Neuropsychiatric Disease and Treatment, v. 14, p. 3063-3072, 2018. DOI: 10.2147/NDT.S174622.

MANIVASAGAM, T. et al. Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Autism. In: ESSA, M. Mohamed; QORONFLEH, M. W. *Personalized Food Intervention and Therapy for Autism Spectrum Disorder Management*. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 193-206. DOI: 10.1007/978-3-030-30402-7_7.

MANO-SOUSA, B. J. et al. Effects of Risperidone in Autistic Children and Young Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Current Neuropharmacology*, v. 19, n. 4, p. 538-552, 2021. DOI: <https://doi.org/10.2174/1570159x18666200529151741>.

McELHANON, B. O. et al. Gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorder: a meta-analysis. *Pediatrics*, v. 133, n. 5, p. 872–883, maio 2014. DOI: <https://doi.org/10.1542/peds.2013-3995>.

MELNYK, S. et al. Metabolic Imbalance Associated with Methylation Dysregulation and Oxidative Damage in Children with Autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, v. 42, p. 367-377, 2012. DOI: 10.1007/s10803-011-1260-7.

MENDIOLA, A.; CARDONA, A. The IL-1 β phenomena in neuroinflammatory diseases. *Journal of Neural Transmission*, v. 125, p. 781–795, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00702-017-1732-9>.

MICANGELI, G. et al. The Impact of Oxidative Stress on Pediatrics Syndromes. *Antioxidants*, v. 11, n. 10, p. 1983, 2022. DOI: 10.3390/antiox11101983.

MIROŃCZUK-CHODAKOWSKA, I.; WITKOWSKA, A. M.; ZUJKO, M. E. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in Medical Sciences*, v. 63, n. 1, p. 68-78, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.05.005>.

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, v. 247, n. 10, p. 3170–3175, 1972. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)45228-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)45228-9).

MITRA, I. et al. Patterns of de novo tandem repeat mutations and their role in autism. *Nature*, v. 589, p. 246-250, 2020. DOI: 10.1038/s41586-020-03078-7.

MODABBERNIA, A.; VELTHORST, E.; REICHENBERG, A. Environmental risk factors for autism: an evidence-based review of systematic reviews and meta-analyses. *Molecular Autism*, v. 8, n. 1, p. 13, 2017. DOI: 10.1186/s13229-017-0121-4.

MOKARIZADEH, N. et al. β -Lapachone attenuates cognitive impairment and neuroinflammation in beta-amyloid induced mouse model of Alzheimer's disease. *International Immunopharmacology*, v. 81, p. 106300, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106300>.

MONDAL, A. et al. Role of glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency and its association to Autism Spectrum Disorders. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease*, v. 1867, n. 10, p. 166185, 2021. DOI: 10.1016/j.bbdis.2021.166185.

NADEEM, A. et al. Dysregulated enzymatic antioxidant network in peripheral neutrophils and monocytes in children with autism. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 88, p. 352-359, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2018.08.020>.

NADEEM, A. et al. Toll-like receptor 4 signaling is associated with upregulated NADPH oxidase expression in peripheral T cells of children with autism. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 61, p. 146-154, 2017. DOI: 10.1016/j.bbi.2016.12.024.

NADEEM, A. et al. Upregulation of enzymatic antioxidants in CD4+ T cells of autistic children, *Biochimie*, v. 171-172, p. 205-212, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.03.009>.

NADEEM, M. S. et al. Autism - A Comprehensive Array of Prominent Signs and Symptoms. *Current Pharmaceutical Design*, v. 27, n. 11, p. 1418-1433, 2021. DOI: <https://doi.org/10.2174/1381612827666210120095829>.

NAKAGAWA, H. et al. Serum gamma-glutamyltransferase level is associated with serum superoxide dismutase activity and metabolic syndrome in a Japanese population. *Journal of Gastroenterology*, v. 47, n. 2, p. 187-194, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00535-011-0477-8>.

NAVILIAT, M. et al. Protein 3-nitrotyrosine formation during Trypanosoma cruzi infection in mice. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 38, p. 1825-1834, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2005001200011>.

NDREPEPA, G.; COLLERAN, R.; KASTRATI, A. Gamma-glutamyl transferase and the risk of atherosclerosis and coronary heart disease. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, v. 476, p. 130-138, 2018. DOI: 10.1016/j.cca.2017.11.026.

NEHA, K. et al. Medicinal prospects of antioxidants: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 178, p. 687–704, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.010>.

NGUYEN, G. T.; GREEN, E. R.; MECSAS, J. Neutrophils to the ROScue: Mechanisms of NADPH oxidase activation and bacterial resistance. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 7, p. 373, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00373>.

NGUYEN, T. A. et al. A cluster of autism-associated variants on X-linked NLGN4X functionally resemble NLGN4Y. *Neuron*, v. 106, n. 5, p. 759–768.e7, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.03.008>.

NGUYEN, T. A.; LEHR, A. W.; ROCHE, K. W. Neuroligins and neurodevelopmental disorders: X-linked genetics. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, v. 12, 2020. doi: <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2020.00033>

NISHIDA, Y. Inhibition of lipid peroxidation by methylated analogues of uric acid. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 43, n. 12, p. 885–887, 1991. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1991.tb03204.x>.

OCHOA-LUBINOFF, C.; MAKOL, B. A.; DILLON, E. F. Autism in women. *Neurologic Clinics*, v. 41, n. 2, p. 381–397, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2022.10.006>.

OETTL, K.; STAUBER, R. E. Physiological and pathological changes in the redox state of human serum albumin critically influence its binding properties. *British Journal of Pharmacology*, v. 151, n. 5, p. 580–590, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707251>.

Oguntibeju OO. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*. 2019 Jun 15;11(3):45-63. PMID: 31333808; PMCID: PMC6628012.

OLIVEIRA, B. D. C. de et al. Políticas para o autismo no Brasil: entre a atenção psicossocial e a reabilitação. *Physis: Revista de Saúde Coletiva*, v. 27, p. 707–726, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-73312017000300017>.

OPAL, S.; DEPALO, V. Anti-inflammatory cytokines. *Chest*, v. 117, n. 4, p. 1162–1172, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1378/CHEST.117.4.1162>.

PALLAVI, M. et al. Influence of uric acid on erythrocytes subjected to H₂O₂-induced oxidative stress. *Applied In Vitro Toxicology*, v. 9, n. 2, p. 37–43, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1089/aivt.2023.0001>.

PALMIERI, L.; PERSICO, A. M. Mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorders: Cause or effect? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, v. 1797, n. 6, p. 1130–1137, 2010. DOI: [10.1016/j.bbabi.2010.04.018](https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.04.018).

PANDA, B. et al. Imperative connotation of SODs in cancer: emerging targets and multifactorial role of action. *IUBMB Life*, v. 76, n. 9, p. 592–613, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/iub.2821>.

PANGRAZZI, L.; BALASCO, L.; BOZZI, Y. Oxidative stress and immune system dysfunction in autism spectrum disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 9, p. 3293, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21093293>.

PEREIRA, A.; RIESGO, R. S.; WAGNER, M. B. Autismo infantil: tradução e validação da Childhood Autism Rating Scale para uso no Brasil. *Jornal de Pediatria*, v. 84, p. 487–494, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0021-75572008000700004>.

PERSICO, A. M. et al. The pediatric psychopharmacology of autism spectrum disorder: A systematic review - Part I: The past and the present. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, v. 110, p. 110326, 2021. DOI: [10.1016/j.pnpbp.2021.110326](https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2021.110326).

PHAM-HUY, L. A.; HE, H.; PHAM-HUY, C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, v. 4, n. 2, p. 89-96, 2008. PMID: 23675073; PMCID: PMC3614697. DOI: 10.59566/IJBS.2008.4089.

PHETOE, B. K. et al. As experiências de famílias que criam uma criança autista: uma revisão rápida. *The Open Psychology Journal*, v. 16, 2023. DOI: <https://doi.org/10.22235/cp.v15i1.2347>

PILLAY, J. et al. A subset of neutrophils in human systemic inflammation inhibits T cell responses through Mac-1. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 122, n. 1, p. 327-336, 2012. DOI: 10.1172/JCI57990.

PYRILLOU, K.; BURZYNSKI, L.; CLARKE, M. Alternative pathways of IL-1 activation, and its role in health and disease. *Frontiers in Immunology*, v. 11, p. 613170, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.613170>.

RAJ RAI, S. et al. Glutathione: Role in Oxidative/Nitrosative Stress, Antioxidant Defense, and Treatments. *ChemistrySelect*, v. 6, n. 18, p. 4566-4590, 2021. DOI: 10.1002/slct.202100773

RANNEH, Y. et al. Crosstalk between reactive oxygen species and pro-inflammatory markers in the development of various chronic diseases: a review. *Applied Biological Chemistry*, v. 60, p. 327–338, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13765-017-0285-9>.

RAO, T. S. et al. Comparative evaluation of arachidonic acid (AA)- and tetradecanoylphorbol acetate (TPA)-induced dermal inflammation. *Inflammation*, v. 17, n. 6, p. 723-741, 1993.

REUTER, S. et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology & Medicine*, v. 49, n. 11, p. 1603-1616, 2010. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006.

RIGLIN, L. et al. Variable Emergence of Autism Spectrum Disorder Symptoms From Childhood to Early Adulthood. *American Journal of Psychiatry*, v. 178, n. 8, p. 752-760, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2020.20071119>.

RISCH, N. et al. Familial Recurrence of Autism Spectrum Disorder: Evaluating Genetic and Environmental Contributions. *American Journal of Psychiatry*, v. 171, n. 11, p. 1206-1213, 2014. DOI: 10.1176/appi.ajp.2014.13101359.

ROSE, S. et al. Evidence of oxidative damage and inflammation associated with low glutathione redox status in the autism brain. *Translational Psychiatry*, v. 2, n. 7, p. e134, 2012. DOI: 10.1038/tp.2012.61.

SAAD, K. et al. Interleukin-1 receptor antagonist gene and interleukin-1 gene polymorphisms in children with autism spectrum disorders. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 103, p. 109999, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.109999>

SAEMUNDSEN, E. et al. Prevalence of autism spectrum disorders in an Icelandic birth cohort. *BMJ Open*, v. 3, n. 6, p. e002748, 2013. DOI: 10.1136/bmjopen-2013-002748.

SAGHAZADEH, A. et al. A meta-analysis of pro-inflammatory cytokines in autism spectrum disorders: effects of age, gender, and latitude. *Journal of Psychiatric Research*, v. 115, p. 90–102, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2019.05.019>.

SAJDEL-SULKOWSKA, E. M. et al. Brain region-specific changes in oxidative stress and neurotrophin levels in autism spectrum disorders (ASD). *Cerebellum*, v. 10, n. 1, p. 43-48, 2011. DOI: 10.1007/s12311-010-0223-4

SALZANO, S. et al. Linkage of inflammation and oxidative stress via release of glutathionylated peroxiredoxin-2, which acts as a danger signal. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 111, n. 33, p. 12157-12162, 2014. DOI: 10.1073/pnas.1401712111.

SANDIN, S. et al. The Familial Risk of Autism. *JAMA*, v. 311, n. 17, p. 1770-1777, 2014. DOI: 10.1001/jama.2014.4144.

SAUTIN, Y. Y.; JOHNSON, R. J. URIC ACID: THE OXIDANT-ANTIOXIDANT PARADOX. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, v. 27, n. 6, p. 608-619, 2008. DOI: 10.1080/15257770802138558.

SCHAAFSMA, S.; PFAFF, D. Underlying etiologies of sex differences in autism spectrum disorders. *Frontiers in Neuroendocrinology*, v. 35, p. 255–271, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2014.03.006>.

SHAIKH, P. *Cytokines & their physiologic and pharmacologic functions in inflammation: A review*. 2011.

SHEN, C. et al. Microbe-derived antioxidants protect IPEC-1 cells from H₂O₂-induced oxidative stress, inflammation, and tight junction protein disruption via activation of the Nrf2 pathway to inhibit ROS/NLRP3/IL-1 β signaling pathway. *Antioxidants*, v. 13, n. 5, p. 533, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox13050533>.

SHEN, L. et al. Biomarkers in autism spectrum disorders: Current progress. *Clinica Chimica Acta*, v. 502, p. 41-54, 2020. DOI: 10.1016/j.cca.2019.12.009.

SHMARINA, G. et al. Cell-free oxidized DNA as a stress signaling factor that activates the chronic inflammatory process in patients with autism spectrum disorders. *Journal of Neuroinflammation*, v. 17, n. 1, p. 212, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01881-7>.

SIES, H.; BERNDT, C.; JONES, D. P. Oxidative stress. *Annual Review of Biochemistry*, v. 86, p. 715–748, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037>.

SIES, H.; JONES, D. P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 21, n. 7, p. 363-383, 2020. DOI: 10.1038/s41580-020-0230-3.

SINGH, J. et al. The Role of Uric Acid as an Antioxidant in Selected Neurodegenerative Disease Pathogenesis. *International Journal of Scientific Research in Science and Technology*, v. 9, n. 2, p. 274-280, 2022. DOI: 10.32628/IJSRST229254.

SINGH, K. et al. Developmental regression and mitochondrial function in children with autism. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, v. 7, n. 5, p. 683-694, 2020. DOI: 10.1002/acn3.51034.

SINISCALCO, D. et al. Inflammation and Neuro-Immune Dysregulations in Autism Spectrum Disorders. *Pharmaceuticals*, v. 11, n. 2, p. 56, 2018. DOI: 10.3390/ph11020056.

SMITH, T.; IADAROLA, S. Evidence base update for autism spectrum disorder. *Journal of Clinical Child & Adolescent Psychology*, v. 44, n. 6, p. 897–922, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/15374416.2015.1077448>

SONG, Y. et al. Uric Acid Provides Protective Role in Red Blood Cells by Antioxidant Defense: A Hypothetical Analysis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2019, p. 3435174, 2019. DOI: 10.1155/2019/3435174.

SPULBER, S. et al. Morphological and behavioral changes induced by transgenic overexpression of interleukin-1ra in the brain. *Journal of Neuroscience Research*, v. 89, n. 2, p. 142–152, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1002/jnr.22534>.

STADTMAN, E. R.; LEVINE, R. L. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*, v. 25, n. 3–4, p. 207–218, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00726-003-0011-2>.

STARR, M. et al. Age-associated increase in cytokine production during systemic inflammation-II: the role of IL-1 β in age-dependent IL-6 upregulation in adipose tissue. *The Journals of Gerontology: Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, v. 70, n. 12, p. 1508–1515, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/gerona/glu197>.

SU, L.-J. et al. Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2019, p. 1–13, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/5080843>.

TEWARI, D. et al. Role of nitric oxide in neurodegeneration: function, regulation, and inhibition. *Current Neuropharmacology*, v. 19, n. 2, p. 114–126, 2021. DOI: <https://doi.org/10.2174/1570159X18666200429001549>.

THORSEN, M. et al. Oxidative stress in adults with autism spectrum disorder: a case-control study. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, v. 52, p. 275–282, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10803-021-04897-x>.

TICK, B. et al. Heritability of autism spectrum disorders: a meta-analysis of twin studies. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, v. 57, n. 5, p. 585–595, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcpp.12499>.

TSAO, R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, v. 2, n. 12, p. 1231–1246, 2010. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu2121231>.

USUI, N.; KOBAYASHI, H.; SHIMADA, S. Neuroinflammation and oxidative stress in the pathogenesis of autism spectrum disorder. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 6, p. 5487, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24065487>.

VESELINOVIĆ, A. et al. Neuroinflammation in autism and supplementation based on omega-3 polyunsaturated fatty acids: a narrative review. *Medicina*, v. 57, n. 9, p. 893, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicina57090893>.

VUONG, H. E.; YANO, J. M.; FUNG, T. C.; HSIAO, E. Y. The Microbiome and Host Behavior. *Annual Review of Neuroscience*, v. 40, p. 21–49, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-072116-031347>

WAIZBARD-BARTOV, E. et al. Changes in the severity of autism symptom domains are related to mental health challenges during middle childhood. *Autism*, v. 28, n. 5, p. 1216–1230, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1177/13623613231195108>.

WANG, H. et al. Potential serum biomarkers from a metabolomics study of autism. *Journal of Psychiatry & Neuroscience: JPN*, v. 41, n. 1, p. 27–37, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1503/jpn.140009>.

WANG, L.; JIA, J.; ZHANG, J.; LI, K. Serum levels of SOD and risk of autism spectrum disorder: a case-control study. *International Journal of Developmental Neuroscience*, v. 51, p. 12–16, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2016.04.004>.

WANG, Y. et al. Superoxide dismutases: dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *The Journal of Cell Biology*, v. 217, p. 1915–1928, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1083/jcb.201708007>.

WARED, N.-E. et al. In search of immune cellular sources of abnormal cytokines in the blood in autism spectrum disorder: a systematic review of case-control studies. *Frontiers in Immunology*, v. 13, p. 950275, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.950275>.

WERLING, D. M.; GESCHWIND, D. H. Sex differences in autism spectrum disorders. *Current Opinion in Neurology*, v. 26, n. 2, p. 146–153, 2013. DOI: [10.1097/WCO.0b013e32835ee548](https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e32835ee548).

WERLING, D.; GESCHWIND, D. Sex differences in autism spectrum disorders. *Current Opinion in Neurology*, v. 26, n. 2, p. 146–153, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e32835ee548>.

WILLIAMS, Z. J.; GOTHAM, K. O. Current and lifetime somatic symptom burden among transition-aged autistic young adults. *Autism Research*, v. 15, n. 4, p. 761-770, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/aur.2671>.

WINK, L. K. et al. A randomized placebo-controlled pilot study of N-acetylcysteine in youth with autism spectrum disorder. *Molecular Autism*, v. 7, p. 26, 2016. DOI: 10.1186/s13229-016-0088-6.

YIN, H.; XU, L.; PORTER, N. A. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical Reviews*, v. 111, n. 10, p. 5944-5972, 2011. DOI: 10.1021/cr200084z.

YOSHIDA, K. et al. Pharmacogenomic studies in intellectual disabilities and autism spectrum disorder: a systematic review. *Canadian Journal of Psychiatry*, v. 66, n. 12, p. 1019–1041, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1177/0706743720971950>.

YU, B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews*, v. 74, n. 1, p. 139-162, 1994. DOI: 10.1152/physrev.1994.74.1.139.

YUI, K. et al. The role of lipid peroxidation in individuals with autism spectrum disorders. *Metabolic Brain Disease*, v. 35, n. 7, p. 1101-1108, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11011-020-00585-4>.

ZELKO, I. N.; MARIANI, T. J.; FOLZ, R. J. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 33, n. 3, p. 337–349, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00905-X](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00905-X).

ZHANG, R. et al. Myeloperoxidase Functions As a Major Enzymatic Catalyst for Initiation of Lipid Peroxidation at Sites of Inflammation. *Journal of Biological Chemistry*, v. 277, n. 48, p. 46116-46122, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.m209124200>.

ZHANG, T. et al. Shorter telomere length in children with autism spectrum disorder is associated with oxidative stress. *Frontiers in Psychiatry*, v. 14, p. 1209638, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2023.1209638>.

ZOROGLU, S. S. et al. Increased oxidative stress and altered activities of erythrocyte free radical scavenging enzymes in autism. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, v. 254, n. 3, p. 143-147, 2004. DOI: 10.1007/s00406-004-0456-7.

ZOU, R. et al. Changes in the Gut Microbiota of Children with Autism Spectrum Disorder. *Autism Research: Official Journal of the International Society for Autism Research*, v. 13, n. 9, p. 1614-1625, 2020. DOI: 10.1002/aur.2358.

ZYLSTRA, R. et al. Autism: Why the rise in rates? *The Journal of Family Practice*, v. 63, n. 6, p. 316-320, 2014.

ANEXOS

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO APROVADO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

_____ está sendo convidada(o) a participar da pesquisa intitulada “AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA GLICOSE-6-FOSFATO-DESIDROGENASE (G6PD) E ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES DIAGNOSTICADOS COM O TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA (TEA)”, desenvolvida pelos pesquisadores Renata Trentin Perdomo e Iara Duenha Garanhani.

O objetivo central do estudo é realizar uma avaliação da atividade da enzima glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD) e alguns marcadores de estresse oxidativo em pacientes diagnosticados com o Transtorno do Espectro Autista (TEA) para futuramente podermos correlacionar ou não essa deficiência com o grau de autismo do paciente.

O convite para a participação dele/a se deve ao fato do mesmo ser diagnosticado com o Transtorno do Espectro Autista (TEA) e estar em acompanhamento pela equipe do CER/APAE. Além disso, o participante não poderá ter recebido transfusão sanguínea nos últimos 90 dias.

Não poderão participar da pesquisa os pacientes que possuem o diagnóstico, porém não são acompanhados pela equipe do CER/APAE.

O consentimento dele é um ato voluntário, isto é, não obrigatório, e ele tem plena autonomia para decidir se quer ou não participar, bem como retirar a anuência do mesmo a qualquer momento. O participante não terá prejuízo algum caso decida não consentir com a participação, ou desistir da mesma. Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa. Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações prestadas pelo participante.

Qualquer dado que possa identificar o participante será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa, e o material será armazenado em local seguro. A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, o responsável e/ou participante poderão solicitar do pesquisador informações sobre a participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo.

A participação dele consistirá em uma coleta de 5 mL sangue total sem tratamento e 3 mL de sangue total com anticoagulante. As amostras serão armazenadas para a realização da pesquisa da atividade da enzima G6PD e dos marcadores enzimáticos e não enzimáticos. A coleta terá duração

de, aproximadamente, 5 minutos e o material biológico será armazenado de modo que apenas a equipe de pesquisa terá acesso, bem como os dados do participante.

Ao final da pesquisa, todo material será mantido em arquivo, sob guarda e responsabilidade do pesquisador responsável, por pelo menos 5 anos, conforme Resolução CNS nº 466/2012.

Existe a possibilidade de que o local da coleta no corpo do participante fique arroxado, podendo ocasionar edema e desconforto local. Como forma de minimização, o mesmo poderá colocar gelo durante 15 minutos após a coleta, além de realizar compressas geladas nas próximas 24 horas no caso de roxidão. Além disso, há o risco relacionado à quebra de sigilo das informações coletadas referente aos dados dos participantes. Para isso, será utilizada uma planilha no Excel para tabulação de dados onde a amostra do paciente receberá uma numeração e somente a equipe de pesquisa poderá ter acesso a esses dados.

O benefício relacionado com a participação nesta pesquisa é a contribuição com a sociedade vinculada com a possibilidade de muitos pacientes diagnosticados com TEA serem auxiliados através de diagnósticos precoces e procedimentos terapêuticos eficazes de forma a ajudar de forma direta os pacientes e seus familiares. Há ainda a contribuição com a sociedade, tanto pela elucidação científica e auxílio aos profissionais envolvidos no atendimento destes pacientes.

A participação dele/a não terá custo, sendo todo o processo de forma gratuita. Em caso de gastos decorrentes da participação na pesquisa relacionados a transporte e alimentação, o participante (e seu acompanhante, se houver) será ressarcido, porém as coletas serão feitas preferencialmente em dias em que o ele/a já tenha atendimento marcado no CER/APAE. Em caso de eventuais danos decorrentes da participação na pesquisa, o participante será indenizado.

Rubrica Responsável _____

Rubrica Pesquisador _____

Os resultados desta pesquisa serão divulgados em palestras dirigidas ao público participante, relatórios individuais para os entrevistados, artigos científicos e no formato de dissertação/tese.

Este termo é redigido em duas vias, sendo que uma ficará com o participante e outra com o pesquisador. Em caso de dúvidas quanto a sua participação, o responsável e/ou participante pode entrar em contato com o pesquisador responsável através do email iaraduenhagaranhani@gmail.com, do telefone (67) 984881007, ou por meio do endereço Rua Araújo Lima, 315, bairro Vilas Boas, CEP: 79051330, Campo Grande – MS.

Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS (CEP/UFMS), localizado no Campus da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, prédio das Pró-Reitorias 'Hércules Maymone' – 1º andar, CEP: 79070900. Campo Grande – MS; e-mail: cepconep.propp@ufms.br; telefone: 67-3345- 7187; atendimento ao público: 07:30-11:30 no período matutino e das 13:30 às 17:30 no período vespertino. O Comitê de Ética é a instância que tem por objetivo defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. Dessa forma, o comitê tem o papel de avaliar e monitorar o andamento do projeto de modo que a pesquisa respeite os princípios éticos de proteção aos direitos humanos, da dignidade, da autonomia, da não maleficência, da confidencialidade e da privacidade.

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, _____, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa. Declaro que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a realização da pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Campo Grande, ____/____/____

Telefone: _____

Participante: _____

Assinatura do participante da pesquisa

Assinatura do pesquisador
Renata Trentin Perdomo
Telefone de contato/Whats: (67) 98403-7393
Email: renata.trentin@ufms.br
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Av. Costa e Silva, s/nº – Bairro Universitário
CEP: 79070-900 – Campo Grande – MS

ANEXO B – TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TALE)

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TALE)

Você está sendo convidado para participar da pesquisa “AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA GLICOSE-6-FOSFATO-DESIDROGENASE (G6PD) E ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES DIAGNOSTICADOS COM O TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA (TEA)”, coordenada por Lara Duenha Garanhani. Seus pais ou responsáveis permitiram que você participe.

Para a pesquisa vamos precisar pegar um pouquinho de sangue no seu dedo para procurar uma enzima chamada G6PD e alguns outros constituintes relacionados ao estresse oxidativo.

Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu, não terá problema nenhum se desistir.

A pesquisa será feita no CER/APAE (CENTRO ESPECIALIZADO EM REABILITAÇÃO DA APAE DE CAMPO GRANDE) localizado na rua Carlinda Tognini, 251 - Vila Progresso, Campo grande - MS, 79050-140, onde uma enfermeira deste estabelecimento irá coletar 2 tubinhos (8 mL) do seu sangue, utilizando uma seringa, no dia em que você possuir uma consulta particular agendada no CER/APAE para que não necessite vir em outro horário. A coleta será segura, mas é possível que fique arroxado. Caso isso aconteça, você pode colocar uma compressa de gelo em cima do local.

Mas há coisas boas que podem acontecer, como ajudar outros pacientes diagnosticados com Transtorno do Espectro Autista (TEA) na descoberta de possíveis tratamentos.

Caso aconteça algo de errado, você pode ligar para o telefone (67) 98488-1007 da pesquisadora Lara Duenha Garanhani, além disso, se precisar de alguma ajuda você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) localizado na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Você pode pedir ajuda dos seus pais ou responsáveis para fazer isso.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos para outras pessoas, nem daremos as suas informações para pessoas estranhas. Os resultados da pesquisa serão publicados, mas sem identificar as crianças que participaram. Caso você queira saber os resultados da pesquisa poderá falar com a pesquisadora Lara através do número de telefone.

Você possui a garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa estabelecida pela Resolução nº 466/2012, isso significa que se alguma coisa ruim acontecer você poderá ser ajudado na hora de resolver esses problemas.



EU ACEITO PARTICIPAR



EU NÃO ACEITO PARTICIPAR



CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO

Eu _____ aceito participar da pesquisa “AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA GLICOSE-6-FOSFATO-DESIDROGENASE (G6PD) E ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES DIAGNOSTICADOS COM O TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA (TEA)”.

Entendi o que pode acontecer de ruim.

Entendi que posso aceitar participar, mas se eu não quiser mais, posso dizer “não” e desistir de fazer parte da pesquisa sem ninguém ficar chateado comigo.

Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus pais ou responsáveis.

Recebi uma cópia deste termo de assentimento, li e concordo em participar da pesquisa.

Campo Grande, ____/____/____

Assinatura do menor

Assinatura do pesquisador responsável

HORA DA COLETA - Como vamos coletar seu sangue!

1º: Vamos limpar seu dedinho com álcool 70%:



2º: Vamos colocar uma agulhinha para tirar um pouco de sangue:



3º: Vamos colocar seu sangue dentro de uns tubinhos:



4º: Prontinho!

