

PAULA FABIANA SALDANHA TSCHINKEL

**AVALIAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DOS
ELEMENTOS TRAÇO COBRE, ZINCO E SELÊNIO EM
CRIANÇAS COM TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA**

CAMPO GRANDE

2014

PAULA FABIANA SALDANHA TSCHINKEL

**AVALIAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DOS
ELEMENTOS TRAÇO COBRE, ZINCO E SELÊNIO EM CRIANÇAS
COM TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para
obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Lourdes Z. Zanoni Consolo

CAMPO GRANDE

2014

FOLHA DE APROVAÇÃO
PAULA FABIANA SALDANHA TSCHINKEL

**AVALIAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DOS ELEMENTOS
TRAÇO COBRE, ZINCO E SELÊNIO EM CRIANÇAS COM TRANSTORNO DO
ESPECTRO AUTISTA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para
obtenção do título de Mestre.

Resultado: APROVADA

Campo Grande (MS), 05 de Maio de 2014.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Lourdes Z. Zanoni Cônsolo
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Profa. Dra. Carmen Silvia Martimbianco de Figueiredo
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Profa. Dra. Débora Marchetti Chaves Thomaz
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Prof. Dr. Valter Aragão do Nascimento
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

*A minha mãe **Elda** e meu pai **Dálvio** que acreditaram em mim e apoiaram minha carreira durante todos esses anos. Aos meus **irmãos**.*

*Ao meu esposo **Paulo** companheiro de todos os momentos pelo apoio e compreensão pelas horas que deixamos de conviver.*

*A minha sogra **Léa** que em todos os momentos esteve cuidando de minha filha para que eu pudesse e possa sempre desenvolver o meu trabalho, minha eterna gratidão.*

*A razão de meu viver **Tayla Eduarda**, que ainda tão jovem aceita a ausência de sua mãe em vários momentos.*

*As **crianças** participantes do estudo, sem as quais este trabalho seria impossível.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, o Criador, a fonte da qual procuro toda minha fé e força para encarar cada desafio, sempre buscando conforto e sabedoria nas horas necessárias.

É o nosso dever agradecer as seguintes instituições que cooperaram na realização do presente estudo: ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. Ao Complexo de Atendimento Multidisciplinar de Saúde (CAMS)/Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) de Campo Grande/MS, com destaque a nutricionista Weruska Borega. A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), órgão responsável pela oferta da bolsa. A equipe do laboratório de Metabolismo Mineral e biomateriais da UFMS. Em destaque ao Me. Anderson Fernandes pelas horas de análise do material. Agradeço Profa. Dra. Lourdes Z. Zanoni Cênsolo, grande orientadora e pesquisadora, detentora de um conhecimento inquestionável. Obrigado por ter acreditado em mim e por ter toda paciência comigo. Obrigado pelos bons momentos de discussões científicas.

Aos demais membros técnicos não citados destas instituições ficam o meu agradecimento.

“Bom mesmo, é ir a luta com muita determinação e perseverança, abraçando a vida, ajudando nosso semelhante e vivendo com paixão, sabendo perder com classe e vencer com ousadia, pois, o triunfo pertence a quem vai à luta, se atreve e não desiste de seus sonhos. A vida é algo muito importante para ser insignificante.”

Charles Chaplin

RESUMO

O cobre, o zinco e o selênio são oligoelementos essenciais para muitas funções fisiológicas, atuando como co-factor em diferentes processos enzimáticos. As concentrações plasmáticas destes elementos podem ser influenciadas por diversos fatores como os nutricionais, relacionados ao meio ambiente entre outros repercutindo na saúde do indivíduo. Conhecer as concentrações destes micronutrientes nos estados de doença é altamente desejável. O objetivo desse estudo é avaliar as concentrações plasmáticas de cobre, zinco e selênio em crianças com Transtorno do Espectro Autista (TEA). Vinte e três indivíduos de ambos os sexos, abaixo de 18 anos de idade, portadores de TEA, moradores na cidade de Campo Grande/MS participaram do estudo. Os critérios diagnóstico estão de acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtorno Mentais V (DSM V) da Associação Psiquiátrica Americana. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética da UFMS e o termo de consentimento livre esclarecido foi obtido do responsável de cada participante. O estado nutricional foi avaliado e as leituras das concentrações plasmáticas de cobre, zinco e selênio foram realizadas pelo aparelho ICP-OES (Espectrômetro de Emissão Óptica com Plasma de Argônio Indutivamente Acoplado) da marca Thermo®. Os resultados mostram que a prevalência tanto de baixo peso (13%) como de sobrepeso (8,7%) e de obesidade (30,4%) é equivalente daquela relatada para crianças brasileiras. A concentração média de cobre e de zinco está dentro dos limites dos valores de referência, mas a concentração média de selênio está abaixo dos valores de referência, acompanhando resultados obtidos anteriormente em estudo com adultos moradores no município de Campo Grande/MS. Estes resultados sugerem a necessidade de avaliação do perfil do metabolismo mineral de crianças portadoras de TEA visando os benefícios da suplementação.

Palavras chaves: Transtorno do Espectro Autista, Cobre, Zinco, Selênio.

ABSTRACT

Copper, zinc and selenium are essential trace elements for many physiological functions, acting as a cofactor in various enzymatic processes. The plasma concentration of these elements may be influenced by dietary intake habits, environmental factors and other that can play a role in the pathophysiology of Autism Spectrum Disorder (ASD). Knowing the concentrations levels of these micronutrients in disease states individuals is highly desirable. The aim of this study is to evaluate plasma copper, zinc and selenium concentrations in children with autism spectrum disorder (ASD). Twenty-three individuals of both gender, under 18 years of age, with autism spectrum disorder, residents in the city of Campo Grande / MS, were enrolled in the study. The diagnostic criteria are in accordance with the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM - V) published by the American Psychiatric Association. The study was approved by the Ethics Committee of UFMS and the free and informed consent was obtained from each participant's parent. Nutritional status was assessed and the readings of the plasma concentrations of copper, zinc and selenium were performed by ICP-OES instrument (Optical Emission Spectrometer with Inductively Coupled Argon Plasma) Thermo ® brand. The results showed that both the prevalence of underweight (13.0%) and overweight (8.7%) and obesity (30.4 %) is equivalent from that reported for Brazilian children. The average copper and zinc concentration are in the range of the reference values, but the average selenium concentration is below. However, plasma concentrations of copper and zinc remain within normal limits. Already, the plasma selenium concentration is below the benchmarks, monitoring results, in another study, adult residents in the city of Campo Grande / MS. These results suggest the need for evaluation of mineral metabolism in children with ASD seeking the benefits of supplementation listing.

Key words: Autism Spectrum Disorder, Copper, Zinc, Selenium.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Recomendação de ingestão diária de cobre	33
Tabela 2	Limite de ingestão diária de cobre	34
Tabela 3	Recomendação de ingestão diária de zinco	41
Tabela 4	Limite de ingestão diária de zinco	42
Tabela 5	Recomendação de ingestão diária de selênio	50
Tabela 6	Limite de ingestão diária de selênio	51
Tabela 7	Resultados referentes à idade, peso, estatura, IMC, CB e PCT das crianças, de acordo com o gênero e número total	61
Tabela 8	Distribuição das crianças de acordo com o gênero e o estado nutricional dos mesmos	62
Tabela 9	Resultados referentes à concentração plasmática dos elementos traço cobre, zinco e selênio de acordo com o estado nutricional	62
Tabela 10	Resultados referentes à concentração plasmática dos elementos traço cobre, zinco e selênio de acordo com o estado nutricional	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADDM	Austism and Developmental Disabilities Monitoring Network
AMPA	Ácido amino-hidroxi- metil-propriônico
APAE	Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais
APA	American Psychiatric Association
ATP	Adenosina Trifosfato
CDC	Center for Disease Control and Prevention
CARS	Childhood Autism Rating Scale
CAMS	Complexo de Atendimento Multidisciplinar de saúde
CB	Circunferência braço
CID-10	Décima Revisão da Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde
Cu-Zn SOD	Cobre-zinco superóxido dismutase
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DRI	Dietary Reference Intakes
DSM-V	Manual de Classificação de Doenças Mentais da Associação Americana de Saúde
DTP	Vacina Tríplice bacteriana de células inteiras

EUA	Estados Unidos da América
FNB	Food and Nutrition Board
GABA	Ácido gama-butírico
GSH	Glutathione reduzida
GPx	Glutathione peroxidase
H	Altura
ICP-OES	Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry
KA	Cainato
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
Ig	Imunoglobulina
IMC	Índice de Massa Corporal
LOOH	Hidroperóxido Lipídico
LOH	Hidróxido lipídico
NIH	National Institutes of Health
NMDA	N-metil-D-aspartato
Me	Mestre
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCT	Prega cutânea do tríceps
PP1	Phosphoprotein phosphatase

P/I	Peso para a idade
P/A	Peso para altura
RNA	Ácido ribonucleico
RDA	Recommeded Dietary Allowances
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido dismutase
TEA	Transtorno do Espectro Autista
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido

LISTA DE SÍMBOLOS

β	beta
Ca	Cálcio
Cl	Cloro
Cu	cobre
Cu^+	íon cuproso
Cu^{+2}	íon cúprico
g	grama
H_2O_2	peróxido de hidrogênio
H_2S	Sulfeto de hidrogênio
K	Potássio
L	litro
μl	microlitro
Mg	magnésio
Na	Sódio
mg	miligrama
$\text{OH}^\bullet$	radical hidroxila
Se	Selênio
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Transtorno do Espectro Autista.....	16
2.2 Cobre	26
2.3 Zinco.....	36
2.4 Selênio.....	44
3 OBJETIVOS.....	53
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS	54
5 RESULTADOS.....	60
6 DISCUSSÃO.....	65
7 CONCLUSÕES.....	74
8 REFERÊNCIAS.....	75
APÊNDICE 1- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO....	93
APÊNDICE 2 -PROTOCOLO.....	95
ANEXO 1- COMITÊ DE ÉTICA.....	97

1 INTRODUÇÃO

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma desordem caracterizada por alterações da comunicação, interação social, imaginação, com interesses restritos, comportamento repetitivo e maneirismos (KLIN, 2006). Apesar de décadas de pesquisas e investigações a etiologia do TEA continua indefinida uma vez que esta patologia se apresenta de forma complexa, heterogênea e com vários graus de severidade.

O entendimento das causas desta desordem neurológica requer a integração de conceitos genéticos, do conhecimento da neurociência e da observação clínica. Por causa do aparente aumento da prevalência do TEA, que permanece inexplicado suspeita-se que a exposição a agentes tóxicos possa estar implicada na patogênese. Dentre os fatores ambientais, os metais tóxicos, como o mercúrio, tem recebido uma atenção especial (ADAMS *et al.*, 2009).

Apesar da etiologia indefinida do TEA sabe-se que o sistema de neurotransmissores tanto o excitatório quanto o inibitório estão envolvidos na fisiopatologia. O ácido gama amino butírico (GABA-neurotransmissor inibitório) e o glutamato (neurotransmissor excitatório) regulam uma série de processos do comportamento, incluindo o sono, aprendizagem, memória e cognição. As drogas utilizadas no tratamento de indivíduos portadores de TEA atuam no metabolismo destes neurotransmissores (RIBEIRO, FREITAS e OLIVA-TELES, 2013).

Minerais são elementos importantes na manutenção da saúde humana e o desequilíbrio entre eles podem resultar em uma variedade de condições físicas e psiquiátricas (PRYA e GEETHA, 2011). O zinco, importante elemento traço está presente na fenda sináptica, onde desempenha papel modulatório dos receptores GABA e do glutamato, regulando tanto a transmissão sináptica inibitória quanto excitatória. Tem sido demonstrado que crianças com TEA apresentam menores concentrações plasmáticas de zinco quando comparadas com grupos controles (RUSSO, 2008; PRYA e GEETHA 2011).

O cobre é um cofator necessário para atividade de várias enzimas, como a dopamina β -hidroxilase, que atua convertendo a dopamina em noradrenalina, relacionada à excitação física e mental (RUSSO, 2012).

As concentrações de cobre e zinco podem estar alteradas nos portadores de TEA, sendo geralmente maior, para o cobre, quando comparadas com grupos controles (RUSSO, 2008). Também a noradrenalina pode ser detectada em concentrações maiores nos portadores de autismo estando associadas aos sintomas neurológicos.

O selênio é um microelemento que está envolvido em vários processos biológicos importantes para o organismo humano. É considerado um micronutriente com ação antioxidante, por participar como centro ativo de enzimas, como a glutathione peroxidase protegendo o organismo do dano oxidativo (ALMONDES *et al.*, 2010). O estresse oxidativo está implicado na patogênese de doenças neuropsiquiátricas incluindo esquizofrenia, depressão, distúrbio de ansiedade entre outros (RUSSO, 2009). É provável que o TEA possa resultar da interação dos vários fatores associados ao estresse oxidativo. Em relação às concentrações plasmáticas do selênio no TEA os resultados são heterogêneos, tendo sido relatados valores normais, diminuídos e também elevados (JORY, 2008; PRYA e GEETHA, 2011; DE PALMA *et al.*, 2012).

E os bioelementos parecem desempenhar um papel importante no metabolismo do sistema nervoso central podendo contribuir com a etiologia de várias doenças neurológicas. Neste contexto, o presente estudo realizou a análise das concentrações plasmáticas de cobre, zinco e selênio em indivíduos portadores de TEA moradores no município de Campo Grande/MS, visando contribuir com dados para a literatura e constituir base para a suplementação destes elementos como tratamento desta doença.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Transtorno do Espectro Autista

O Transtorno do Espectro Autista (TEA) é uma síndrome comportamental, com alteração significativa do desenvolvimento da criança na área da comunicação e interação social, adotando atividades ritualísticas e com interesses restritos (KLIN, 2006). A palavra “autismo” deriva do grego “autos”, que significa voltar-se para si mesmo (SILVA, 2011).

O médico psiquiatra alemão Wilhelm Griesinger, em 1845, já fazia menção às diferenças que existiam entre a insanidade do adulto e a da criança. No entanto, o médico psiquiatra inglês Henry Maudsley é tido como o prenunciador na literatura desta síndrome. Inicialmente foi denominada psicose da criança e descrita em um capítulo intitulado “Insanity of early life” em seu livro “Physiology and Pathology of Mind”, em 1867 (BRASIL, 2013).

A expressão “autismo” foi utilizada pela primeira vez pelo médico psiquiatra Plouller, em 1906, para descrever o sinal clínico de isolamento que acompanha o transtorno (BRASIL, 2013).

Em 1911, o médico psiquiatra Eugen Bleuler utilizou também a mesma expressão para designar a perda do contato com a realidade, o que acarretava uma grande dificuldade ou impossibilidade de comunicação. Leo Kanner, médico nascido no antigo Império Austro-Húngaro, que mudou-se para os Estados Unidos em 1924, tornando-se chefe do serviço de psiquiatria infantil do Johns Hopkins Hospital de Baltimore, publicou em 1943 o artigo intitulado “Os distúrbios autísticos do contato afetivo”, onde descreveu 11 crianças que tinham em comum um comportamento bastante original. Nessa publicação, Kanner sugeriu que se tratava de uma inabilidade inata dessas crianças para estabelecer contato afetivo e interpessoal. Esta síndrome havia sido descrita como uma entidade rara, apesar do número de casos diagnosticados. Nestes indivíduos, as características eram bastante específicas, tais como: perturbações das relações afetivas com o meio, solidão autística extrema, inabilidade

no uso da linguagem para comunicação, presença de potencialidades cognitivas, aspecto físico aparentemente normal, comportamentos ritualísticos, início precoce na infância e incidência predominante no gênero masculino (KANNER, 1943; BRASIL, 2013).

Segundo a publicação de Kanner, o “isolamento autístico extremo” as levava a esquecer, desprezar ou rejeitar o contato com o ambiente. Desse modo, algumas mães costumavam lembrar que os seus filhos não mostravam uma atitude corporal antecipatória, não inclinando o rosto nem movendo os ombros antes de ser levado ao colo; uma vez no colo, não ajustava seu corpo ao daquele que o carregava. Além disso, a criança podia não apresentar mudanças em sua expressão facial ou posição corporal quando os pais chegavam em casa, se aproximavam e falavam com ela. A maior parte desses sinais muito precoces era assinalado retrospectivamente, de modo que as dificuldades de obtenção da fala costumavam ser os primeiros sinais inequívocos de que algo estava imperfeito. Três das crianças descritas por Kanner não adquiriram a fala ou muito ocasionalmente a usavam; as demais falaram na idade presumida ou pouco depois. Nelas, porém, a linguagem verbal não tinha função de comunicação, consistindo de um agrupamento de palavras sem organização e aparentemente sem sentido, ou de repetições de informações decoradas, como listas de animais, presidentes ou trechos de poemas. Essa “excelente capacidade de memorização decorada” salientava que a linguagem havia sido “consideravelmente desviada para se tornar um exercício de memória autossuficiente, sem valor conversacional e semântico, ou grosseiramente distorcido”. As crianças também tinham bloqueios em generalizar conceitos, tendendo a usá-los de modo restrito e agregado ao contexto no qual foram ouvidos pela primeira vez. Até os cinco ou seis anos de idade, expressavam ecolalia e não usavam o pronome ‘eu’ para se referirem a si mesmas. Para demonstrarem um desejo ou aquiescência repetiam, com a mesma entonação, a frase ou pergunta que haviam escutado de outrem (TAMANAHA, PERISSINOTO e CHIARI, 2008; BRASIL, 2012).

Em 1944, o psiquiatra Hans Asperger descreveu casos em crianças com inteligência normal, que apresentavam algumas características semelhantes ao autismo em relação às dificuldades de comunicação social, como uso pedante da fala, desajeitamento motor e ocorrência apenas nos indivíduos do gênero masculino. Estes casos são denominados de Síndrome de Asperger (GARDIA, TUCHMAN e ROTTA, 2004).

Em 1966, Andreas Rett reconheceu uma condição caracterizada por deterioração neuromotora em crianças do sexo feminino, quadro clínico bastante peculiar, essa condição

somente passou a ser melhor conhecida após a publicação, na qual foram descritas 35 meninas, e a partir do qual foi sugerido o epônimo de síndrome de Rett (SR) (SCHWARTZMAN, 2003).

Na classificação de acordo com o Código Internacional de Doenças (CID 10) o autismo infantil, síndrome de Asperger e outras entidades como síndrome de Rett e o transtorno desintegrativo da infância foram englobados dentro do diagnóstico de Transtornos Globais do Desenvolvimento. Além do CID – 10, outros manuais procuram organizar a classificação dessas doenças, como o manual de classificação de doenças mentais da Associação Americana de Psiquiatria (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders). A edição mais recente deste manual, o DSM V, 2013 propõem modificações em relação ao CID 10 englobando todas as entidades clínicas como Transtorno do Espectro Autista. O argumento é que trata-se de uma única condição clínica com diferentes níveis de gravidade. Para o presente estudo foi escolhido o termo Transtorno do Espectro Autista o mais adequado para descrever o grupo de crianças estudadas.

2.1.1 Considerações da Fisiopatologia

Após a descrição da doença por Leo Kanner, acreditou-se durante algumas décadas, que o autismo constituía uma entidade de causa psicológica. Contudo, o reconhecimento da sua associação com o atraso mental e a epilepsia, que está associada em aproximadamente 30% dos casos, levou a suspeição de uma base orgânica. Influências genéticas foram posteriormente descritas, tendo-se documentado uma maior incidência de autismo em irmãos de crianças afetadas por esta perturbação, principalmente em gêmeos monozigóticos. Desde então, tornou-se globalmente aceito a etiologia biológica do transtorno. Apesar da forte evidência de um componente genético, a herança parece ser complexa, com estimativas de que mais de 15 genes podem estar envolvidos nesta síndrome comportamental (GADIA, TUCHMAN, ROTTA, 2004; PEREIRA, PEGORARO e CENDES, 2012).

Vários modelos neuroanatômicos, neurobiológicos e endócrinos foram propostos numa tentativa de explicar a sintomatologia do TEA. A etiologia é então bastante complexa, tendo-se sugerido que, em vez de um único fenômeno, existam inúmeros processos

patológicos distintos que contribuem para o desenvolvimento de indivíduos com fenótipos distintos (GADIA, TUCHMAN e ROTTA, 2004).

Os sistemas de neurotransmissores GABAérgico e glutamatérgico estão envolvidos na fisiopatologia do TEA. Os neurotransmissores são os pertencentes à classe dos aminoácidos neuroativos, que são o ácido gama-butírico (GABA), principal aminoácido com ação inibitória e o glutamato, principal aminoácido com ação excitatória. Estes aminoácidos produzem respostas inibitórias e excitatórias através de uma alteração na condução de um ou mais canais iônicos seletivos de K^+ , Cl^+ , Na^+ e Ca^+ , na membrana neuronal. O GABA é o principal neurotransmissor inibitório no SNC dos mamíferos. Em virtude de sua distribuição disseminada no sistema nervoso central, os receptores de GABA influenciam muitos circuitos e funções neurais. Estes neurotransmissores inibitórios e excitatórios regulam uma série de processos do comportamento, incluindo o sono, aprendizagem, memória e sensação dolorosa. Eles podem estar envolvidos em várias doenças neurológicas e psiquiátricas e dentre elas o autismo. Assim, a modulação da sinalização GABA pelo uso de medicamentos constitui um mecanismo importante para o tratamento da hiperatividade neuronal. Os agentes terapêuticos que ativam os receptores GABA também são utilizados para sedação, ansiólise, hipnose e outras condições clínicas (GUPTA e STATE, 2006; REGO, 2012).

O glutamato é o principal e mais abundante neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central, existindo sinapses glutamatérgicas por todo o tecido nervoso. A ligação do glutamato a seus receptores desencadeia eventos moleculares e celulares associados a numerosas processos comportamentais como cognição e memória. Os receptores ionotrópicos de glutamato medeiam as respostas sinápticas excitatórias rápidas. Existem 3 subtipos de canais iônicos regulados pelo glutamato, classificados de acordo com a sua ativação pelos agonistas seletivos AMPA (ácido amino-hidroxi-metil-propiónico), KA (cainato) e NMDA (N-metil-D-aspartato) (REGO, 2012).

A fixação do GABA ao receptor GABA-A causa um aumento da condutância da membrana celular aos íons cloreto, que habitualmente existe em maior concentração no exterior do que no interior da célula. O movimento de anions para dentro da célula aumenta a diferença de potencial entre a face externa e a interna da membrana celular e reduz a excitabilidade neuronal (COSTA, 2009).

Quando o glutamato se liga ao receptor tipo NMDA, o íon cálcio flui através do canal, ativando uma série de enzimas neuronais. Entretanto, diversas ações devem acontecer

antes que o canal abra e admita o íon cálcio. Primeiro, o glutamato e o aminoácido glicina devem ambos ligar-se aos sítios receptores. O metal zinco (Zn) reforça a abertura do canal. Uma vez que o glutamato e a glicina abrem o canal, o íon cálcio ainda não pode entrar, pois quando o neurônio está em repouso, um íon de magnésio (Mg) bloqueia o mesmo. Só quando o neurônio for despolarizado pela ação de suficientes receptores AMPA/Cainato é que o íon Mg “sai da rota” e ao íon cálcio entra. Esse processo fisiológico torna-se crítico na aprendizagem e na memória (HUSSMAN, 2001).

Drogas que atuam como agonistas dos receptores GABA, conhecidas como drogas gabaérgica ou análogos do GABA, ao aumentar o montante disponível do neurotransmissor, têm efeitos relaxante, antiansiedade e anticonvulsivos (FOSTER, 2006).

O zinco está associado com a regulação dos receptores GABA e do glutamato, demonstrado particularmente pela atividade ansiolítica, susceptibilidade a convulsões e modulando a inibição GABAérgica. A ativação do sistema de neurotransmissão glutamatergica depende da recaptação e da liberação do Zn como fator sinalizador intracelular no processo de neurotransmissão (TAKEDA, IMANO e OKU, 2006). O Zn é previamente estocado em granulos secretores que se esvaziam dentro da fenda sináptica, juntamente com o glutamato (QIAN e NOEBELS, 2005). Após a participação na transmissão sináptica, o Zn é provavelmente reabsorvido pelo neurônio pós sináptico agindo como um importante fator trófico, isto é, como um nutriente que poderá ser utilizado como cofator para síntese enzimática.

O cobre, por sua vez, é um potente inibidor das respostas dependentes do GABA. A toxicidade do cobre, notavelmente na doença de Wilson, resulta do bloqueio crônico dos receptores GABA. O potencial neurotóxico do Cu quando em excesso, inclui depressão, irritabilidade, nervosismo, alteração da aprendizagem e comportamentais (MADSEN e GITLIN, 2007). O Cu é cofator requerido para a atividade da dopamina- β -hidroxilase, enzima que converte a dopamina em noradrenalina. O aumento da noradrenalina é detectado nos portadores de TEA (LAKE, ZIEGLER e MURPHY, 1977). Além disso, o aumento do Cu, que é detectado nos portadores de TEA está associado a com inibição da enzima hidroxitriptofano, a qual diminui a produção de serotonina (PRYA e GEETHA, 2011). Em outras patologias neuropsiquiátricas como esquizofrenia, depressão tem sido observado estados de hipercupremia (PRYA e GEETHA, 2011).

2.1.2 Epidemiologia

O aumento da prevalência do TEA nas últimas décadas é constatado pela comunidade científica em muitos países, devido em parte à abordagem diagnóstica padronizada e também ao maior conhecimento e conscientização das práticas médicas.

Na Europa observa-se um crescimento na taxa de prevalência do TEA de 30,0/10.000 para 116,1/10.000, com uma taxa média de 61,9/10.000. O tamanho das amostras de muitos levantamentos variam entre 826 – 490.000 participantes, variando a faixa etária desde o nascimento à idade adulta (ELSABBAGH *et al.*, 2012).

Nos Estados Unidos, tem sido identificado 1 caso em cada 88 crianças, com 8 anos de idade, como portadora deste transtorno. Os dados são do relatório de 2012 da Rede de Monitoramento do Autismo e Deficiências do Desenvolvimento, a *Austism and Developmental Disabilities Monitoring Network* (ADDM), que é um grupo de programas financiados pelo CDC (*Center for Disease Control and Prevention*), para determinar o número de pessoas com TEA em várias comunidades nos Estados Unidos. Dentre os locais onde a rede ADDM atua, a maioria das estimativas de prevalência foi próxima da média de 11,3 por 1.000. Segundo esse relatório quase cinco vezes mais meninos do que meninas foram identificados com TEA (ADDM, 2012).

Na Turquia, em estudo publicado por Bicer e Alsaffar (2013) em portadores de TEA apresenta predomínio de 1:110.

No TEA o gênero masculino é o mais afetado, sendo a incidência na proporção de 4,2 indivíduos do gênero masculino para cada um do gênero feminino (KLIN, 2006; RICE, 2009; FOMBONNE, 2009).

Pesquisas abrangentes de prevalência de TEA na região do Pacífico Ocidental demonstram no Japão e na China resultados que variam na amostra de 3.606 a 609.848 indivíduos. Desde o ano 2000, as taxas de prevalência variam entre 2,8/10.000 a 94/10.000, com um valor médio de 11,6/10.000, sendo a mediana algo semelhante a 13/10.000, quando os estudos mais antigos estão incluídos (ELSABBAGH *et al.*, 2012).

Segundo o estudo de Montiel-Nava e Pena, 2008, realizado na Venezuela com crianças entre 3 a 9 anos de idade, demonstrou uma prevalência de 17/10.000.

No Brasil, os estudos epidemiológicos são insuficientes. Estima-se uma prevalência de aproximadamente 500 mil pessoas com autismo em âmbito nacional, baseando-se no Censo de 2000 (FOMBONNE, 2010), porém se a estimativa internacional for considerada, este número pode ultrapassar 1,5 milhões de pessoas.

Os estudos brasileiros são escassos, podendo ser citado o estudo piloto de De Paula e colaboradores 2011, realizado em uma cidade do estado de São Paulo, que apontou uma prevalência de aproximadamente 0,3% de pessoas com transtornos globais do desenvolvimento, classificado conforme o CID-10. De acordo com os próprios autores, dada a pouca abrangência da pesquisa, não existem ainda estimativas de prevalência confiáveis em nosso país (BRASIL, 2013).

2.1.3 Diagnóstico e Tratamento

O diagnóstico do TEA é obtido através da observação clínica e pela história referida pelos pais ou responsáveis, uma vez que não existem marcadores biológicos que definam o quadro. Alguns exames laboratoriais podem auxiliar na compreensão de fatores associados ao TEA, mas ainda assim o diagnóstico é clínico.

A avaliação clínica do indivíduo portador de TEA requer uma equipe interdisciplinar, o uso de escalas objetivas e técnicas estruturadas que devem ser utilizadas para a análise tanto do comportamento social das crianças, atenção contato visual, expressão facial de afeto e sua capacidade de imitação. Uma das escalas mais usadas de avaliação é a *Childhood Autism Rating Scale* (CARS) (SCHOPLER, REICHLER e RENNER, 1986), que consiste em uma entrevista estruturada, composta de 15 itens, podendo ser aplicada com os pais ou responsáveis. A cada um dos 15 itens, aplica-se uma escala de 7 pontos, o que permite classificar formas leves, moderadas ou severas da doença (SCHOPLER, REICHLER, RENNER, 1988).

Segundo o DSM-V, 2013, para ser considerado portador do TEA, o indivíduo deverá preencher os seguintes critérios:

1. Déficit persistente na comunicação e interação social, sendo obrigatório apresentar déficits na reciprocidade sócio-emocional, falha em

compartilhar e de interagir, déficit da comunicação não-verbal com pouca integração e contato ocular em conjunto com déficit no desenvolvimento da imaginação e interesse nas relações.

2. Comportamento repetitivo e interesses restritivos englobando pelo menos duas das seguintes características:
 - estereotipias e repetições do discurso, de movimentos motores e/ou uso de objetos;
 - adesão excessiva a rotinas e padrões rituais com resistências a mudanças;
 - interesses restritos;
 - hiper ou hipo reatividade à estímulos sensoriais ou interesses sensoriais atípicos;
3. Sintomas presentes na primeira infância
4. Sintomas que prejudicam o cotidiano.

O tratamento clínico deve ser realizado sempre por profissionais capacitados e uma equipe interdisciplinar, composta por médicos psiquiatras, nutricionistas, psicólogos, fonoaudiólogos, entre outros. Além das intervenções medicamentosas e educacionais adequadas, faz-se necessário uma abordagem individualizada e em instituições especializadas. Sendo um transtorno que ainda não dispõe de um tratamento que leve à cura, toda intervenção terapêutica visa a melhor adaptação possível do indivíduo na sociedade (GADIA, TUCHMAN e ROTTA, 2004; DOMINGUES, 2007).

2.1.4 Nutrição e Transtorno do Espectro Autista

As investigações do comportamento alimentar nas crianças portadoras de TEA mostram inadequações que variam entre 30 a 90% dos casos, como seletividade, preferências de acordo com a textura dos alimentos, recusa na aceitação alimentar e comportamento de indisciplina durante as refeições (JOHNSON, *et al.* 2008).

As anormalidades relacionadas à alimentação provavelmente estão associadas aos distúrbios que acompanham os indivíduos com este transtorno. O déficit de interação social somado a falta de modelos adequados de comportamentos para as refeições podem dificultar o

aprendizado de diversas atividades, como por exemplo, comer com utensílios apropriados (LUKENS e LINSCHIED, 2008). A variedade limitada e o consumo inadequado podem acarretar a ingestão insuficiente de nutrientes e calorias, com comprometimento do ganho ponderal e do crescimento linear das crianças (SANTOS, BERNARD e BRECAILO, 2013).

Estudos no Canadá e EUA demonstram que estes indivíduos podem apresentar a ingestão de cálcio, ácido pantotênico, vitamina D, vitamina B6, ácido fólico e vitamina K aquém das quantidades diárias recomendadas (DOSMAN, *et al.*, 2006) este fato pode ser justificado pela monotonia alimentar que apresentam (SCHRECK, WILLIAMS e SMITH, 2004).

Para XIA *et al.*, 2010 em estudo com 111 crianças chinesas portadoras de TEA entre 2 e 9 anos de idade, mostraram em seus resultados que 8,1% eram desnutridas, e dos 102 pacientes restantes, 60,4% eram eutróficos e 31,5% tinham excesso de peso ou obesidade. A ingestão de calorias e proteína apresentou-se adequada na grande maioria, mas o aporte lipídico estava abaixo das recomendações nutricionais. A média da ingestão de vitamina E e niacina ultrapassou os 100% do recomendado e a ingestão de vitamina B1 e B2, magnésio e ferro estavam entre 80% e 90% da faixa recomendada. No entanto, as vitaminas A, B6 e C, ácido fólico e os minerais cálcio e zinco não atenderam aos requisitos nutricionais mínimos.

No estudo realizado por Bicer e Alsaffar (2013) com 164 indivíduos com TEA, demonstrou que 58,5% estava com sobrepeso e obediidade e 11% desnutrido baixo peso. Na pesquisa de Schreck, Williams e Smith, (2004), foram estudados 138 pais de crianças portadoras de TEA e 298 pais de crianças com desenvolvimento caracterizado como não especial, que responderam a um questionário sobre preferência alimentar: os autores observaram que o consumo de frutas, laticínios e hortaliças das crianças com TEA era inferior ao grupo de crianças com desenvolvimento caracterizado como não especial.

Ao examinar somente a ingestão de macronutrientes de 52 crianças portadoras de TEA por 3 dias, Levy *et al.*, (2007) constatou que a ingestão de proteína era elevada, mas a ingestão de calorias, na forma de carboidrato e gordura estavam adequadas.

Por outro lado, no estudo preliminar de Johnson *et al.*, 2008, onde foram avaliados o hábito alimentar e a ingestão de nutrientes de 19 crianças com TEA na faixa etária de 2 a 4 anos e comparados com o grupo controle formado por 15 crianças com desenvolvimento

normal e de faixa etária similar, constatou-se que não foi encontrada diferença significativa na ingestão de nutrientes entre os grupos, avaliados segundo a EAR/DRI's, 2002.

Além das inadequações do comportamento alimentar dos portadores de TEA, Goldberg (2004) verificou nos EUA, que a prevalência de sintomas gastrointestinais nestes indivíduos é alta atingindo de 46% a 76% dos casos, sendo que quando comparada a crianças com desenvolvimento normal, que é de 10% a 30%, o que também afeta a qualidade nutricional desses indivíduos.

Em 1971, Goodwin, Cowen e Goodwin, identificaram em seus estudos possíveis alterações no trato gastro intestinal de crianças com TEA. Assim, identificaram pela primeira vez, neste grupo estudado, um provável quadro de má absorção ou disfunção intestinal. As principais alterações do aparelho digestório dessa população são: a baixa concentração de α -lantitripsina, o que pode levar ao desenvolvimento da doença pulmonar e hepática; elevada excreção fecal de calprotectina, que é um ótimo biomarcador de inflamação e infecção; deficiência de enzimas proteolíticas, o que pode acarretar síndrome de má absorção; permeabilidade intestinal anormal e deficiência da enzima fenol- sulfotransferase (WALKER-SMITH; ANDREWS, 1972; D'EUFEMIA *et al.*, 1996; ALBERTI *et al.*, 1999; REICHELTE e KNIVSBERG, 2009; SMITH *et al.*, 2009).

Outros estudos também descreveram, em subgrupos de crianças com TEA, um quadro inflamatório intestinal caracterizado por grande número de nódulos linfóides na região do duodeno e enterocolite não especificada, com possível etiologia autoimune (WAKEFIELD *et al.*, 2000; FURLANO *et al.*, 2001; TORRENTE *et al.*, 2002).

A composição da microbiota intestinal também com níveis elevados de bactérias do gênero *Clostridium* na cultura de fezes. Uma das prováveis causas é a alta incidência de doenças infecciosas nessa população durante a infância com consumo de antibióticos e como consequência o desequilíbrio da microflora intestinal (WALKER-SMITH e ANDREWS, 1972; REICHELTE *et al.*, 1991; ALBERTI *et al.*, 1999; PARRACHO *et al.*, 2005; SMITH *et al.*, 2009). Os sintomas gastrointestinais descritos são: refluxo, diarreia crônica, constipação, flatulência excessiva, distensão abdominal e alguns pacientes com quadro de doença celíaca (LEVY *et al.*, 2007).

Em um levantamento com pais e parentes de quinhentas crianças com TEA, observou que 50% destes apresentavam sintomas de diarreia, 50% flatulência e 36% constipação moderada ou severa (LIGHTDALE, SIEGEL e HEYMAN, 2001).

O estudo de Smith *et al.*, (2009), demonstrou maior prevalência de sintomas gástricos em crianças com TEA quando comparado com grupos controles formados por crianças não especiais e por crianças especiais com outras doenças do desenvolvimento neurológico.

2.2 COBRE

2.2.1 Considerações Gerais

O cobre (Cu) é um elemento químico pertencente ao grupo 11 (1B) da classificação periódica, com número atômico 29 e massa atômica de 63,54u. É um metal de transição que apresenta 3 estados de oxidação Cu^+ , Cu^{+2} e Cu^{+3} , que confere a este elemento uma grande instabilidade.

No século XIX, foi identificado em plantas e animais e proclamado como catalisador biológico no século XX. Ao longo dos anos, foram surgindo novos conhecimentos acerca deste elemento, que permitiram estabelecer o seu importante papel nas funções fisiológicas dos seres vivos. Estudos delineados para testar a necessidade de cobre em animais de grande porte foram primeiramente incitados pela hemocianina, molécula que transporta oxigênio nos invertebrados e que contém cobre (PEDROSO e LIMA, 2001).

Sua participação no metabolismo foi reconhecida em 1928, quando foi evidenciado aumento da síntese de hemoglobina em ratos que tinham anemia ferropriva após uma dieta contendo cobre na sua composição (HART *et al.*, 2002; DUTRA-DE-OLIVEIRA e MARCHINI, 2008).

O cobre é um elemento-traço essencial para a manutenção de múltiplos processos biológicos, tais como a homeostase do ferro, metabolismo energético, síntese da melanina, catabolismo de dopamina, noradrenalina, serotonina, formação de tecido conjuntivo e mecanismos de proteção antioxidante, pela sua participação na enzima cobre-zinco

superóxido dismutase (Cu-Zn SOD) (DUTRA-DE-OLIVEIRA e MARCHINI, 1998; HART *et al.*, 2002).

Apesar de ser um metal fundamental aos seres vivos, pode ser potencialmente tóxico às células pela facilidade de sofrer mudanças do estado de oxidação, sendo que, o íon cobre precisa estar adequadamente compartimentalizado e presente em concentrações intra e extracelulares adequadas. Contudo, tanto a deficiência quanto o excesso deste mineral podem deteriorar a integridade e funcionalidade celular (GAETKE, 2003 apud KOURY e DONANGELO, 2007).

A concentração plasmática de referência para o Cu é de 0,8 a 1,2mg/L (SARGENTELLI, MAURO e MASSABNI, 1996).

2.2.2 Importância do Cobre

Nos sistemas biológicos este elemento predomina como íon cúprico, Cu^{+2} . O íon cuproso (Cu^{+}) é instável sendo facilmente oxidado a íon cúprico (Cu^{+2}). A facilidade com que ocorre alteração do estado de oxidação fornece a este elemento propriedades redox, como a formação do radical hidroxila ($\text{OH}^{\bullet}$) a partir do peróxido de hidrogênio, reação esta denominada como reação de Fenton e Haber-Weis (BARCELOS, 2008).

Estudos realizados nos anos 60 em crianças desnutridas do Peru e nos anos 70 no Chile, revelaram a recuperação dos doentes portadores de anemia ferropriva refratária ao tratamento com ferro, após suplementação da dieta com cobre (UAUY, OLIVARES e GONZALES, 1998). Além destas ações, estudos estabeleceram que o cobre é necessário para o crescimento, mecanismos de defesa, mineralização óssea, maturação de eritrócitos e leucócitos, transporte de ferro, metabolismo do colesterol, contratilidade do miocárdio, metabolismo da glicose e desenvolvimento cerebral (LINDER *et al.*, 1998; UAUY, OLIVARES e GONZALEZ, 1998; TURSKI e THIELE, 2008).

2.2.3 Fontes de Cobre

A forma de ingresso do cobre no organismo humano é através da dieta. O teor de cobre nos alimentos varia amplamente, refletindo as condições sob as quais o alimento foi produzido, manipulado e preparado para sua utilização.

O cobre é bem distribuído nos alimentos, sendo suas maiores fontes os produtos de origem animal como: ostras (4,40 mg/100g), mariscos, crustáceos, fígado (4,48 mg/100g), nozes e sementes (1,10–2,22 mg/100g), legumes secos, frutas secas (0,19–0,34 mg/100g), farelo e gérmen dos cereais. As batatas (0,20mg /100g), os grãos integrais (0,13/0,29 mg /100g) e o cacau (3,79 mg/100g) também são boas fontes de cobre (BONHAM *et al.*, 2002; KOURY e DONANGELO, 2007; MAHAN, ESCOTT-STUMP e RAYMOND, 2012). Quanto as outras fontes de cobre, o leite humano contém maior concentração do mineral (0,02 mg a 0,03 mg/100g) quando comparado ao leite de vaca (0,009mg/100g) (GROPPER, SMITH e GROFF, 2009; MACEDO *et al.*, 2010).

2.2.4 Funções do Cobre

O cobre é um mineral considerado essencial no organismo humano pois atua como cofactor e como componente alostérico de várias enzimas, sendo intermediário na transferência de elétrons (GROPPER, SMITH e GROFF, 2009).

Ceruloplasmina

A ceruloplasmina é uma proteína plasmática de cor azul, também chamada ferroxidase I. É uma α_2 – glicoproteína que contém 7 átomos de cobre em sua molécula. Uma importante função da ceruloplasmina, após sua síntese no fígado, é transportar cobre. No ser humano adulto saudável, aproximadamente 90% a 95% do total do cobre circulante está ligado a ela.

Quanto ao metabolismo do ferro, a ceruloplasmina e a ferrosidade II oxidam o ferro ferroso de modo que ele possa ser transportado do lúmen intestinal e dos locais de armazenamento para os locais de eritropoiese. Isso explica por que a anemia ferropriva desenvolve-se na deficiência de cobre.

Estudos demonstram que a atividade da ceruloplasmina como agente oxidante é determinada pela estrutura da proteína, que permite remover um dos átomos de cobre ligados a ela. A ceruloplasmina pode estimular a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) na presença de radicais $O\cdot$, que reduz um dos átomos de cobre ligados a ela (MUKHOPADHYAY e FOX, 1998).

Superóxido Dismutase

A Cu-Zn superóxido dismutase contém dois átomos de cobre por molécula e está presente dentro da maioria das células do organismo humano, principalmente no interior do citosol. Altas concentrações dessa enzima são encontradas no cérebro, tireóide, fígado, hipófise, eritrócitos e no rim dos seres humanos. Esta enzima protege os componentes celulares da lesão oxidativa, convertendo os íons superóxido em peróxido de hidrogênio. Para sua ação catalítica, além dos íons de cobre, exige também a presença do zinco. Suas propriedades têm sido marcadamente resistentes às modificações evolutivas (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1985; THAKUR, GURTA e KAKKA, 2004; BRANDT, *et al.*, 2007).

Citocromo C Oxidase

A enzima citocromo C oxidase contém três átomos de cobre por molécula, atuando na função de transferência de elétron. Esta enzima intra-mitochondrial participa principalmente na etapa oxidativa, reduzindo o oxigênio molecular para formar as moléculas de água e de energia livre na forma de ATP. A atividade desta enzima é alta no coração, cérebro, fígado e rins, que são órgãos com alta atividade metabólica (GROPPE, SMITH e GROFF, 2009).

Dopamina β -Hidroxilase

A catecolaminas dopamina, adrenalina e noradrenalina, partilham a mesma via biossintética, que inicia com o aminoácido tirosina. A tirosina é convertida em dopamina pela enzima tirosina hidroxilase. A dopamina, por sua vez, é convertida em noradrenalina pela dopamina β -hidroxilase. Na medula da supra-renal a noradrenalina recebe um radical metil e é convertida então em adrenalina (GROPPER, SMITH e GROFF, 2009).

Lisil Oxidase

Na formação do tecido conjuntivo, o cobre atua como integrante da enzima lisil oxidase, que é essencial para a ligação cruzada do colágeno e da elastina, necessários para a formação de tecido conjuntivo forte e flexível. É uma enzima importante na formação de tecido morfológicamente normal. Sua deficiência leva à formação defeituosa do colágeno, com diminuição da resistência mecânica dos ossos e do tecido conjuntivo cardiovascular, predispondo assim a instalação de osteoporose e aneurismas. A concentração dessa enzima é máxima durante o desenvolvimento do indivíduo. Assim o cobre desempenha um papel na formação do osso, mineralização esquelética e integridade do tecido conjuntivo do coração e do sistema vascular.

Diamina Oxidase

Essa enzima atua no tubo digestivo onde a histamina estimula a secreção ácida e em reações alérgicas em todo corpo, onde a histamina é liberada em resposta à exposição de antígenos. Também inativa poliaminas envolvidas na proliferação celular, o que sugere que essa enzima pode desempenhar um papel inibidor do crescimento

Monoamino Oxidase

A monoamino oxidase é uma enzima envolvida no metabolismo da serotonina e dos neurotransmissores catecolaminérgicos, tais como adrenalina, noradrenalina e dopamina. Havendo uma redução na atividade da monoamino oxidase, produz-se um aumento da concentração desses neurotransmissores nos locais de armazenamento, em todo o sistema nervoso central ou no sistema nervoso simpático. Os antidepressivos clássicos, inibidores da monoamina oxidase, promovem o aumento da disponibilidade da serotonina através da inibição dessa enzima responsável pela degradação intracelular do neurotransmissor.

Tirosinase

A tirosinase é uma enzima que promove a síntese da melanina a partir da tirosina. A deficiência congênita de tirosinase é a causa do albinismo (DUTRA-DE-OLIVEIRA e MARCHINI, 2008).

2.2.5 Deficiência de Cobre

As principais manifestações clínicas reconhecidas como decorrentes da deficiência de cobre são a anemia hipocrômica, leucopenia, hipopigmentação da pele, anormalidades ósseas, principalmente desmineralização e disfunção cardiovascular.

De forma geral, a deficiência de cobre em seres humanos não é comum, o que sugere que a ingestão dietética é suficiente para prevenir sua carência. Porém, a deficiência do mineral pode ser observada em lactentes recuperando-se de desnutrição, crianças prematuras e de baixo peso ao nascimento alimentadas com fórmulas lácteas e pacientes recebendo nutrição parenteral total prolongada. A probabilidade de deficiência de cobre aumenta em pessoas que consomem quantidades excessivas de zinco (40 mg/dia) (GROPPER, SMITH e GROFF, 2009; MACEDO *et al.*, 2010).

O déficit de cobre também pode ser observado nos indivíduos com condições clínicas que promovem uma perda aumentada, como ocorre na mal absorção intestinal, como na doença celíaca, enteropatias e nas doenças renais.

2.2.6 Absorção, Metabolismo e Excreção do Cobre

Nos mamíferos, o cobre é absorvido no estômago e no intestino delgado. No estômago esta absorção pode ser atribuída ao efeito solubilizante do ambiente ácido, o que facilita o seu transporte através da mucosa gástrica. Na mucosa intestinal, é carregado pela membrana basolateral por transporte ativo. Durante absorção há competição entre íons cobre e outros cátions divalentes, incluindo o zinco, o ferro, o molibdênio, o chumbo e o cádmio (BARCELOS, 2008) .

Dentro das células intestinais, os íons de cobre encontram-se ligados a metalotioneína com maior afinidade que o zinco e outros íons, estando a quantidade de cobre absorvida na dependência da quantidade de metalotioneína nas células da mucosa. A variação de absorção de cobre presente na dieta varia entre 25% e 60%, sendo significativamente maior durante os períodos de baixa ingestão do elemento. Assim a absorção poderá ser apenas de cerca de 20% quando a ingestão de cobre for maior que 5mg/dia, porém aumenta para mais de 50% quando a ingestão for menor que 1mg/dia (GROPPER, SMITH e GROFF, 2009).

Alguns nutrientes podem auxiliar na absorção do cobre, como alguns aminoácidos, especialmente a histina, aminoácidos contendo enxofre como a metionina e a cisteína (SCHÜMANN *et al.*, 2002; CABALLERO 2005; BARCELOS, 2008; MAHAN, ESCOTT-STUMP e RAYMOND, 2012). Os nutrientes que podem alterar a biodisponibilidade de cobre são o ferro, o fitato, o zinco, o molibdênio, o ácido ascórbico e os carboidratos (SHILS *et al.*, 2003).

O cobre é transportado ligado à albumina, que serve como local de estoque temporário. No fígado o cobre se liga à metalotioneína, que também funciona como estoque de Cu e é então associado à ceruloplasmina, transportado no plasma para ser utilizado pelas células. O metal também é eliminado pelo fígado como um componente da bile, sendo esta sua maior forma de excreção, em torno de 80% (MAHAN, ESCOTT-STUMP e RAYMOND,

2012). Apenas uma pequena quantidade é excretada pelos rins, menos que 20µg/dia (GROPPER, SMITH e GROFF, 2008).

2.2.7 Recomendações de Ingestão de Cobre

A ingestão diária recomendada (RDA) de selênio segundo a FNB 2001, do Instituto de Medicina, das Academias Nacionais dos EUA é de:

Tabela 1 – Recomendação de ingestão diária de cobre

Idade	Homens	Mulheres	Gestantes	Lactantes
0–6 meses	200 µg/dia	200 µg/dia		
6meses–12 meses	220 µg/dia	220 µg/dia		
1–3 anos	340 µg/dia	340 µg/dia		
4–8 anos	440 µg/dia	440 µg/dia		
9–13 anos	700 µg/dia	700 µg/dia	1000 µg/dia	
14–18 anos	890 µg/dia	890 µg/dia	1000 µg/dia	1300 µg/dia

Adaptado de Food and Nutrition Board, 2001.

2.2.8 Toxicidade do Cobre

É relatado na literatura, o caso de um jovem que, diariamente por 3,5 anos, ingeriu entre 30 a 60mg/dia de sais de cobre e que desenvolveu insuficiência hepática decorrente da toxicidade exercida pelo mineral. A ingestão de cobre acima de 64mg (250mg de sulfato de

cobre) resulta em dor epigástrica, náuseas, vômitos e diarreia. Outros sintomas de toxicidade incluem hematúria, danos hepáticos e renais (BARCELOS, 2008).

Quanto à toxicidade do cobre pode ser citada a doença de Wilson, uma doença genética que resulta da presença da mutação no gene para a decodificação do transportador ATP7B. Na ausência ou disfunção deste gene codificado ATP7B ocorre interrupção do movimento de cobre através do complexo de Golgi para a bÍlis e para a via secretora para incorporação nas proteínas selecionadas. Na doença de Wilson, o cobre se acumula nos tecidos, resultando na disfunção de Órgãos, especialmente no fÍgado, rins e cérebro (GROPPER, SMITH e GROFF, 2009).

Os valores de referência que indicam o limite de ingestão diária de cobre de acordo com a FNB 2001, do Instituto de Medicina dos EUA, são:

Tabela 2 – Limite de ingestão diária de cobre

Idade	Homens	Mulheres	Gestantes	Lactantes
0–6 meses	–	–		
6meses–12 meses	–	–		
1–3 anos	1000 µg/dia	1000 µg/dia		
4–8 anos	3000 µg/dia	3000 µg/dia		
9–13 anos	5000 µg/dia	5000 µg/dia	–	–
14–18 anos	8000 µg/dia	8000 µg/dia	8000 µg/dia	8000 µg/dia

Adaptado de Food and Nutrition Board, 2001.

2.2.9 Cobre e Transtorno do Espectro Autista

Chauhan, *et al.*, (2008), em um estudo realizado com 19 crianças com TEA e seus respectivos irmãos não portadores da doença, reportou um menor nível de ceruloplasmina no plasma das crianças portadoras de TEA, sugerindo que o metabolismo do cobre pode ser alterado.

Priya e Geetha (2011) realizaram um estudo com 45 crianças de 4 a 12 anos de idade, portadoras de TEA que foram divididas em 3 grupos de acordo com a severidade da sintomatologia clínica. Este grupo foi comparado com um grupo controle composto de 50 crianças normais da mesma idade e sexo. Os autores constataram uma significativa elevação na concentração de cobre tanto nas unhas como nos cabelos das crianças com TEA em comparação com o grupo controle. Os autores sugerem haver uma associação entre o TEA e o metabolismo do cobre.

Russo *et al.* (2012), realizaram um estudo onde foram comparados os níveis séricos de cobre dos indivíduos com TEA com a severidade dos sintomas da doença neurológica. As crianças com TEA apresentaram um elevado nível de cobre no sangue, em torno de 108,9 µg/dL, quando comparadas com o grupo controle que foi em torno de 86,5 µg/dL.

De um modo geral, os estudos apontam que a concentração de Cu no TEA está aumentada, quando comparada com grupo controle. No entanto, deve ser constatado que estes valores, apesar de estarem no limite superior, ainda estão muito próximo do valor de referência. Isto denota uma alteração no metabolismo do cobre, ainda não totalmente esclarecida.

2.3 ZINCO

2.3.1 Considerações Gerais

O zinco (Zn) é um elemento químico pertencente ao grupo 12 (2B) da classificação periódica, sendo seu número atômico 30 e massa atômica 65,38 u. O zinco é um dos principais micronutrientes essenciais para a nutrição humana, o segundo elemento-traço em maior concentração no organismo, que contém entre 2 a 3g, é um oligoelemento que representando apenas 0,003% do peso corporal (WYNGAARDEN, SMITH e BENNETT, 1992; CANTERO, 1989).

O zinco é um íon intracelular e funciona como sítio ativo de 300 enzimas distribuídas em diferentes classes. Evidências de sua essencialidade foram demonstradas em plantas em 1869 e em animais em 1934. Em virtude da sua ampla concentração nos alimentos, a deficiência de zinco foi considerada improvável até 1955, quando foi então demonstrado que a paraceratose suína era uma doença causada por deficiência desse metal. O significado clínico da deficiência de Zn no homem adquiriu magnitude de saúde pública após 1961, quando foi observado que o hipogonadismo e o nanismo endêmicos no Irã eram devidos à deficiência desse elemento (SHILS *et al.*, 2003).

2.3.2 Importância do Zinco

O Zn é o elemento-traço intracelular mais abundante, desempenhando várias funções reguladoras, estruturais e catalíticas. Este elemento é encontrado em diversas enzimas, como a anidrase carbônica, fosfatase alcalina, carboxipeptidases, álcool desidrogenase, superóxido dismutase, proteína C quinase, ácido ribonucleico polimerase e transcriptase reversa. Desta forma, o Zn está envolvido em funções fundamentais em todo organismo incluindo a metabolismo de RNA e DNA, metabolismo de lipídeos e carboidratos, metabolismo energético, síntese protéica, entre outras (SANDSTEAD, 1994; McCALL, HUANG e FIERKE, 2000).

O Zn tem relação direta com as células do sistema imune, participando na maturação e diferenciação de linfócitos T e produção de células CD4+, através do hormônio denominado timulina. A menor produção de citocinas e de interferon pelos leucócitos também está associada à deficiência de zinco. Esse elemento também estimula os monócitos a produzirem interleucina-1, interleucina-6 e inibe a produção do fator de necrose tumoral, que está implicado na fisiopatologia da caquexia na síndrome da imunodeficiência adquirida (BAUM, SHOR-POSNER e CAMPA, 2000).

O zinco age como regulador da apoptose celular, inibindo a atividade da endonuclease; enzima que destrói o DNA desencadeando a morte celular. Geralmente as células envelhecidas e anormais enviam um sinal que ativa uma série de eventos intracelulares eliminando as mesmas. Na deficiência deste metal, há uma maior atividade da endonuclease e as células relativamente saudáveis também sofrem apoptose (KEEN e GERSHWIN, 1990).

O mineral está envolvido na estabilização de membranas estruturais e na proteção celular, prevenindo a oxidação de lipídeos e de proteínas. Difere dos outros metais de transição, pois contém a camada eletrônica "d" completa e assim não participa de reações redox, mas age como ácido de Lewis para aceitar um par de elétrons, fazendo com que seja um íon estável. Os mecanismos pelos quais o Zn atua como antioxidante incluem a regulação da expressão da metalotioneína, a atividade da Cu-Zn superóxido dismutase e a proteção de grupos sulfidrilas das proteínas das membranas celulares (POWELL, 2000; MARET, 2000).

2.3.3 Fontes de Zinco

O teor de Zn nos alimentos varia, sendo consideradas ótimas fontes do mineral as carnes vermelhas (1 mg/100g), especialmente vísceras (3.1- 3.9 mg/100g), e os frutos do mar, principalmente ostras (75 mg/100mg). Também são fontes de Zn os ovos (0,02 mg/100g), o leite e seus derivados (0,4 mg/100mg), cereais integrais (0,3 – 1 mg/100g) e outros (GROPPER, SMITH e GROFF, 2009; ANDRADE e MARREIRO, 2011).

2.3.4 Funções do Zinco

O zinco faz parte de diversas proteínas como um importante componente estrutural, atuando no centro ativo de mais de 300 enzimas, em reações que envolvem tanto a degradação como a síntese de lipídeos, carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos. Também atua na sinalização intracelular de neurônios, onde é armazenado em vesículas sinápticas, sendo essencial para o funcionamento regular do sistema nervoso central.

Sob condições fisiológicas, o zinco não é sujeito a reações de oxido-redução, de modo que é relativamente não-tóxico (HOTZ e BROWN, 2004).

Nos animais e seres humanos, o zinco é necessário em quantidades pequenas, é o único metal a ser envolvido em todas as seis classes de enzimas: oxido-redutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases. Estima-se que cerca de 3.000 proteínas contêm Zn em seus grupos prostéticos (SHARMA et al., 2009).

A metalotineína é a proteína mais abundante que contém zinco, sendo uma proteína de baixo peso molecular rica em cisteína. O papel da metaloteneína pode envolver a detoxificação de metais pesados, doando zinco para outras proteínas, o que talvez possa ajudar na redução do stress oxidativo (MAHAN, ESCOTT-STUMP e RAYMOND, 2012).

Ainda, este mineral desempenha um papel chave no crescimento e desenvolvimento físico, no funcionamento do sistema imunológico, na saúde reprodutiva, na função e desenvolvimento neurocomportamental e sensorial (HOTZ e BROWN, 2004).

2.3.5 Deficiência do Zinco

O significado clínico da deficiência de Zn no homem adquiriu magnitude de saúde pública após 1961, quando foi observado o hipogonadismo e o nanismo, condições clínicas endêmicas no Irã devido à deficiência desse mineral.

A primeira manifestação clinicamente identificável da deficiência de zinco foi a acrodermatite enteropática, uma desordem congênita que ocorre durante a infância e

caracterizam-se por alopecia, diarreia, lesões de pele e imunodeficiência celular (MAFRA e COZZOLINO, 2004).

A deficiência de Zn afeta de forma semelhante grupos populacionais tanto de países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento e é caracterizada por anorexia e alterações no paladar, resultando em ingestão reduzida de alimentos. Algumas patologias também podem levar ao desenvolvimento da deficiência deste nutriente, como a doença de Crohn, alcoolismo, cirrose hepática, doenças renais crônicas, diabetes, entre outras (SALGUEIRO *et al.*, 2000; PRASAD, 2001).

Primeiramente ocorre uma mobilização das reservas funcionais e, com a deficiência prolongada, podem ocorrer anorexia, pelos altos níveis de norepinefrina e alterações no hipotálamo, retardo no crescimento e defeito no crescimento fetal, cicatrização lenta de feridas, intolerância à glicose pela diminuição de produção de insulina, hipogonadismo, impotência sexual e atrofia testicular, atraso na maturação sexual e esquelética, restrição da utilização de vitamina A, fragilidade osmótica dos eritrócitos, disfunções imunológicas, hipogeusia, desordens de comportamento, aprendizado e memória, diarreia, dermatite e alopecia (MAFRA e COZZOLINO, 2004).

2.3.6 Absorção, Metabolismo e Excreção de Zinco

A absorção do Zn ocorre na maior parte, na porção proximal do intestino delgado (jejuno) e este processo depende de sua concentração no lúmen. Sua captação ocorre na superfície da borda em escova através de mecanismos de transporte mediados por duas maneiras: transportadores e por difusão simples. O mecanismo mediado por carreador predomina quando há baixa concentração de zinco na dieta, enquanto que por difusão simples é predominante quando a ingestão do mineral é elevada. (FEITOSA, LIMA e MARREIRO, 2012; MAHAN, ESCOTT-STUMP e RAYMOND, 2012).

Nos enterócitos, o zinco liga-se à metalotioneína, uma das proteínas encarregadas de regular sua absorção. Outro carreador do Zn presente na borda do enterócito é a proteína ZIP4. Esta proteína faz parte de uma família de transportadores de Zn, presentes em praticamente todos os tecidos do organismo. Após a absorção, o Zn é liberado pela célula

intestinal, passando para os capilares mesentéricos e transportado até o sistema portal, sendo captado pelo fígado e posteriormente distribuído para os demais tecidos (MAFRA e COZZOLINO, 2004).

Várias substâncias endógenas auxiliam na absorção do zinco, como exemplo, o ácido cítrico, ácido picolínico, prostaglandinas e os aminoácidos. Por outro lado, muitos compostos inibem a absorção de Zn, como o fitato (ácido fítico, inositol hexafosfato, ou inositol polifosfato) encontrado em alimentos de origem vegetal como os legumes, cereais, milho e farelo. As secreções pancreáticas contêm um constituinte ainda não identificado que aumenta a absorção do Zn (GROPPER, SMITH e GROFF, 2009).

Os polifenóis como os taninos presentes no chá e certas fibras encontrados em grãos integrais, frutas e legumes também se ligam zinco, inibindo a sua absorção. As interações entre o zinco e outros nutrientes, tais como o ácido fólico e uma variedade de cátions divalentes podem ocorrer comprometendo a absorção deste mineral (GROPPER, SMITH e GROFF, 2009).

Após sua entrada no fígado o Zn é transportado ligado à albumina, podendo estar unido também à transferrina, α -2 macroglobulina e imunoglobulina (Ig) G para ser utilizado pelos tecidos. A albumina transporta 60% deste elemento enquanto a transferrina, a α -2 macroglobulina e a imunoglobulina Ig G transportam de 15% a 40%. Dois aminoácidos, histidina e cisteína, se ligam fracamente ao Zn e representam entre <1% e 8% do transporte do mesmo (GROPPER, SMITH e GROFF, 2009).

O zinco é excretado do organismo através dos rins, da pele e do intestino. As perdas endógenas intestinais variam de 0,5 a 3,0mg/dia, sendo, a maioria do zinco da fração filtrável do plasma, reabsorvido na parte distal do túbulo renal. As perdas urinárias podem variar de 300 a 600mg/dia, influenciadas por mecanismos de secreção no túbulo proximal do néfron (MAFRA e COZZOLINO, 2004).

2.3.7 Recomendações de Ingestão de Zinco

A ingestão diária recomendada (RDA) de zinco segundo a FNB 2001, do Instituto de Medicina, das Academias Nacionais dos EUA é de

Tabela 3 – Recomendação de ingestão diária de zinco

Idade	Homens	Mulheres	Gestantes	Lactantes
0–6 meses	2 mg/dia	2 mg/dia		
6 meses–12 meses	3 mg/dia	3 mg/dia		
1–3 anos	3 mg/dia	3 mg/dia		
4–8 anos	5 mg/dia	5 mg/dia		
9–13 anos	8 mg/dia	8 mg/dia	12 mg/dia	13 mg/dia
14–18 anos	11 mg/dia	9 mg/dia	12 mg/dia	13 mg/dia

Adaptado de Food and Nutrition Board, 2001.

2.3.8 Toxidade do Zinco

De acordo com Mahan (2012), a ingestão máxima (UL) de zinco para adultos é de 40mg/dia. A suplementação excessiva de zinco é conhecida por inibir a absorção de cobre e outros minerais. A forma mais notável de toxidade por zinco é relatada em pacientes em hemodiálise, tanto por causa de falência renal, como devido à contaminação pelos fluidos da diálise ou pelos materiais utilizados no circuito dialítico. Os sinais clínicos de toxidade nesses pacientes são caracterizados por anemia, febre e distúrbios do sistema nervoso central. Outra fonte de toxidade é a inalação de fumos de zinco durante trabalhos de soldagem, que pode ser prevenida com as medidas de precaução.

Os valores de referência que indicam o limite de ingestão diária de zinco de acordo com a FNB 2001, do Instituto de Medicina dos EUA, são

Tabela 4 – Limite de ingestão diária de zinco

Idade	Homens	Mulheres	Gestantes	Lactantes
0–6 meses	4mg/dia	4mg/dia		
6 meses–12 meses	5mg/dia	5mg/dia		
1–3 anos	7mg/dia	7mg/dia		
4–8 anos	12mg/dia	12mg/dia		
9–13 anos	23mg/dia	23mg/dia	–	–
14–18 anos	34mg/dia	34mg/dia	34mg/dia	34mg/dia

Adaptado de Food and Nutrition Board, 2001.

2.3.9 Zinco, Doenças Relacionadas e Transtorno do Espectro Autista

O estudo realizado por Priya e Geetha (2011), mostrou que os níveis de zinco foram relativamente menores em crianças com TEA, quando comparadas com o grupo controle. Assim como um estudo realizado por Russo (2009), demonstrou que o nível de Cu/Zn SOD foi mais baixo em crianças portadoras de TEA do que em crianças não portadoras de TEA.

O estudo realizado por Russo e DeVito (2011) com 79 crianças portadoras de TEA evidenciou baixos níveis de Zn plasmático e níveis mais elevados de cobre. Este grupo de crianças foi comparado com um grupo controle de crianças portadoras de outras desordens neurológicas. Os autores sugerem nesse estudo que o nível baixo de Zn pode modular a síntese do neurotransmissor GABA, diminuindo sua ação. Já, a maior concentração de cobre estaria associada aos altos níveis de norepinefrina que é também detectada nas crianças portadoras de TEA. Desta forma, a abaixa concentração de GABA, associado a alta concentração de epinefrina poderia se manifestar como hiperatividade que é um dos sintoma do indivíduo autista.

2.3.10 Metalotioneínas

As metalotioneínas são proteínas intracelulares de baixo peso molecular, ricas em cisteína e com alta afinidade pelos metais. Como a principal proteína ligadora de metal, o sistema das metalotioneínas é essencial na detoxicação de metais do organismo, como, por exemplo o mercúrio. O zinco é o metal mais eficiente como indutor da síntese de metalotioneínas tanto na mucosa intestinal, como nos tecidos cerebrais. Em estudos animais, a reposição de zinco diminui a neurotoxicidade em ratos expostos ao mercúrio, aumentando a sua eliminação, diminuindo a produção de radicais livres, atuando, portanto, como antioxidante (FABER *et al.*, 2009).

As metalotioneínas aprisionam o cobre dentro das células intestinais prevenindo sua absorção. Desta forma, pode haver uma associação entre o cobre e o zinco plasmático nos indivíduos com TEA. Estudo com terapia de reposição de zinco mostra que ocorre uma melhora dos sintomas como a consciência, linguagem, atenção, inclusive das convulsões (RUSSO, 2008).

Nos humanos, as metalotioneínas também são as responsáveis pela detoxicação do mercúrio, cádmio e outros metais danosos ao organismo. É possível que, nos portadores de TEA, a síntese inadequada das metalotioneínas resulte nos níveis aumentados de mercúrio observado nestes pacientes. De modo geral, a exposição das crianças ao mercúrio pode ser significativa, uma vez que esta substância pode estar presente em inseticidas, na poluição ambiental, nas vacinas como a DTP, hepatite e outras.

Assim, o estudo das alterações das metalotioneínas se constitui em outra vertente atualmente incluída nas pesquisas do TEA (WALSH *et al.*, 2002).

2.4 SELÊNIO

2.4.1 Considerações Gerais

O selênio é um elemento químico pertencente ao grupo 6A, ou família dos calcogênios da classificação periódica, com o número atômico 34 e massa atômica 78,96u.

O selênio é um elemento traço que foi desvelado em 1817 pelo químico sueco Jöns Jacob Berzélius. Em 1957, foi demonstrado que a suplementação de selênio evitava a necrose hepática em ratos que eram submetidos à dieta deficiente em vitamina E, sendo portanto reconhecido como um mineral fundamental para o metabolismo dos mamíferos (SCHWARZ e MOLTZ, 1957). Em 1973, descobriu-se que esse micronutriente faz parte do sítio ativo da enzima glutathione peroxidase, responsável por proteger o organismo dos radicais livres. Em 1979, foi demonstrada a sua essencialidade para seres humanos, quando um paciente mantido com nutrição parenteral total durante longo período, apresentou um quadro de hipotrofia e fraqueza muscular tendo sido revertido com suplementação do mineral (ROTRUCK *et al.*, 1973; BROWN e ARTHUR, 2001; ALISSA, BAHJRI e FERNS, 2003).

O selênio é um oligoelemento que está naturalmente presente em muitos alimentos, adicionado a outros ou disponível como suplemento dietético. Este mineral é o componente ativo de mais de 25 selenoproteínas, divididas em grupos como a glutathione peroxidase, a iotironina deiodinase e a tioredoxina redutase, além de outras selenoproteínas, sendo os diferentes tipos caracterizados por letras alfabéticas. Desta forma, o selênio é um elemento químico de fundamental importância para a manutenção da saúde do ser humano, presente em vários processos fisiológicos, principalmente na reprodução, metabolismo dos hormônios tireoidianos, síntese de DNA, proteção contra danos oxidativos e infecção (COMINETTI *et al.*, 2011; ROSS *et al.*, 2012).

Concentrações séricas desse mineral maiores do que 100 µg/L representam um estado nutricional adequado para esse mineral (CALIXTO-LIMA e REIS, 2012).

2.4.2 Fontes de Selênio

Uma das questões relevantes em relação ao selênio é a grande variação da sua concentração nos solos, que pode ser bastante diferente dentro de um mesmo país e entre países. A concentração média mundial de selênio no solo varia de 0,005 a 1200 mg/kg (CORTECCI, 2011).

Altas concentrações ocorrem em algumas partes do mundo como nas planícies dos Estados de Nebraska e Dakota nos EUA e na Irlanda. Por outro lado, o solo da Europa, principalmente na Espanha, Grécia e Leste Europeu apresenta baixos índices do mineral. Particularmente na China e a Finlândia os teores de selênio são extremamente baixos. Desde a década de 70, o governo finlandês promove a fertilização do solo da região com sais de selênio visando melhorar sua concentração nos alimentos (CASTEEL e BLODGETT, 2004; CORTECCI, 2011).

No Brasil, estudos sobre a concentração de selênio no solo foram realizados para o estado de São Paulo e Minas Gerais, que mostrou baixa concentração do mineral. Considerando que o estado de MS apresenta uma vegetação tipo cerrado, semelhante ao estado de Minas Gerais, é possível que os teores de selênio no solo também sejam baixos (MOURA *et al.*, 2009).

Em consequência da grande variação na concentração de selênio do solo o conteúdo nos alimentos é extremamente variado, cereais e grãos podem conter desde menos que 10 µg/100g até mais que 80 µg/100g. Produtos animais, especialmente as carnes, contém aproximadamente de 40 a 150 µg/100g. Os frutos do mar também representam uma boa fonte alimentar do mineral (BURK e HILL, 1993; GROPPER, SMITH e GROFF, 2005).

Em geral, os vegetais são os responsáveis pela entrada de selênio na cadeia alimentar, tanto para o ser humano quanto para os animais, influenciando desta maneira a concentração de selênio do organismo humano. Segundo Ferreira *et al.* (2002), em pesquisa realizada no sudeste do Brasil, os teores de selênio nos produtos de origem animal, sobretudo nos pescados, foi mais elevado do que nos de origem vegetal, sendo a média de 6 µg/100g na carne bovina, 9,1 µg/100g na carne das aves e 40,5 µg/100g em pescados. Provavelmente, devido aos custos mais elevados dos preços das carnes bovinas e pescados, grupos populacionais de baixo poder aquisitivo talvez tenham acesso restrito aos produtos de origem

animal, constituindo um grupo de risco para deficiência deste mineral.

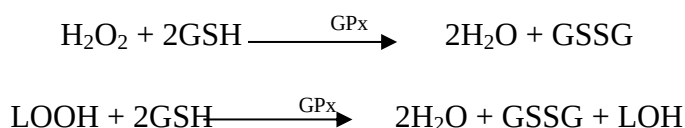
A castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*), também conhecida como castanha do Pará é considerada uma das melhores fontes desse mineral, contendo em média 520 µg/100g, ultrapassando o limite diário de ingestão recomendado (FREITAS *et al.*, 2008). Dentre as hortaliças, as melhores fontes são o alho, couve flor, couve de Bruxelas, brócolis repolho e cogumelos sendo as demais juntamente com as frutas, consideradas fontes pobres do mineral (RAYMAN, 2000; ALISSA, BAHIJRI e FERNS, 2003). Há de se considerar que a maioria deste tipo de hortaliça não faz parte dos hábitos alimentares da população brasileira.

Na criança portadora de TEA, a aceitação alimentar inadequada devido a seletividade e monotonia, juntamente com a possibilidade de baixa oferta destes alimentos podem ser causa de baixas concentrações plasmáticas de selênio (JOHNSON *et al.*, 2008).

2.4.3 Funções do Selênio

O selênio está intimamente relacionada às complexas funções enzimáticas e metabólicas, fazendo parte da enzima glutathiona peroxidase, que catalisa a oxidação da glutathiona reduzida para a oxidada. A glutathiona reduzida protege os lipídios das membranas e outros constituintes celulares contra a lesão oxidativa através do desdobramento do peróxido de hidrogênio e dos hidroperóxidos dos ácidos graxos (BROOME *et al.*, 2004; HOFFMAN *et al.*, 2010).

Para Daniels (2004, 2008), Rayman (2000) e Combs (2001), a função mais conhecida do selênio é a sua ação antioxidante, eliminando ou neutralizando peróxidos de hidrogênio (HOOH) e peróxidos orgânicos.



H₂O₂ - Peróxido de hidrogênio

LOOH – Hidroperóxido Lipídico

LOH – Hidróxido lipídico

Além de atuar na detoxificação do peróxido de hidrogênio e de outros peróxidos orgânicos, a glutathione peroxidase também desempenha um papel importante na manutenção de grupos sulfidrilas vitais na forma reduzida, na produção de hormônios derivados do ácido araquidônico e no metabolismo de compostos estranhos ao organismo, como por exemplo, os compostos aromáticos derivados de plantas e pesticidas (FERREIRA *et al.*, 2002).

O selênio em conjunto com a vitamina E reforçam as suas atividades antioxidantes, pela sobreposição de suas ações protetivas contra os danos oxidativos que ocorrem nas células. As enzimas compostas de selênio são caracterizadas em diferentes tipos, designadas por números, agindo da mesma forma, catalisando a mesma reação básica diferenciando-se uma da outra pelo seu local de ação (GROPPER, SMITH, e GROFF, 2009). Por exemplo, a GPx1 é encontrada na maioria dos tecidos humanos principalmente no fígado, rim e glóbulos vermelhos, enquanto a GPx2 é encontrada no trato gastro intestinal e fígado (ALMONDES *et al.*, 2010).

A GPx age no citoplasma e matriz mitocondrial, enquanto a vitamina E exerce seus efeitos dentro das membranas celulares (MAHAN, ESCOTT-STUMP e RAYMOND, 2012).

A função mais pesquisada do selênio em relação à saúde humana está associada a prevenção de câncer. Devido às funções antioxidantes das variadas selenoproteínas este elemento está envolvido em vários aspectos da fisiologia celular no câncer (STEINBRECHER *et al.*, 2010; KLEIN *et al.*, 2011). É demonstrado que a suplementação de Se reduz a incidência de câncer hepático, esofágico, pancreático, colônico e mamário (DUFFIELD-LILLICO *et al.*, 2002).

Concentrações adequadas de selênio são fundamentais ao funcionamento do sistema imunológico, influenciando o desenvolvimento e a expressão de respostas humorais e celulares. A suplementação do mineral, mesmo em indivíduos aparentemente sem depleção, induz efeito imuno-estimulante evidente, aumentando a proliferação e ativação das células T, dos linfócitos citotóxicos e *natural killers*. A diferenciação de linfócitos T-CD4, polarizando a resposta preferencialmente de T-helper 1 do que T-helper 2 é outro efeito benéfico da suplementação (BROOME *et al.*, 2004; HOFFMAN *et al.*, 2010).

A principal proteína transportadora de Se no plasma, a Se PP1, desempenha a função de distribuir o Se para o tecido cerebral, por se ligar a um receptor de superfície apoER2 (receptor E2, que contém cisteína), um membro das famílias dos receptores lipoproteicos.

Tem função neuroprotetora, aumentando a sobrevivência neuronal e prevenindo a apoptose celular.

O aumento do estresse oxidativo tem sido relacionado com a patogênese de várias doenças neurodegenerativas, incluindo a doença de Alzheimer e Parkinson. Nos indivíduos portadores destas doenças, os níveis da GPx4 e SePP 1, bem como a expressão dos seus genes reguladores, estão alterados. Na doença de Alzheimer ocorre a formação das placas β -amilóide que está associada à baixa concentração de selênio e ao estresse oxidativo (TAKEMOTO, BERRY e BELLINGER, 2010).

2.4.4 Deficiência de Selênio

Em algumas áreas da China e leste da Sibéria, onde ocorre deficiência deste elemento, são relatadas principalmente a doença de Keshan, uma cardiomiopatia que acomete principalmente mulheres e crianças e a doença de Kashin-Beck, uma osteoartropatia degenerativa. A baixa ingestão deste elemento pelos habitantes destas áreas é decorrente do fluxo insuficiente através da cadeia solo-planta-animal-ser humano.

Pacientes com certos tipos de câncer tem mostrado concentrações plasmáticas baixas desse mineral, uma possível explicação seria a falha na ação da enzima GSH GPx em eliminar os radicais livres produzidos pela célula de maneira eficaz, desencadeando alterações estruturais e consequentemente divisão celular anormal (LATAVAYOVA *et al.*, 2006).

Quando se considera as deficiências nas fontes alimentares deve ser levado em conta a relação direta existente entre a quantidade de selênio no solo, o que determina a concentração deste mineral nos alimentos (MERIAN, *et al.*, 2004; BURTS e ASHWOOD, 2001).

2.4.5 Absorção, Metabolismo e Excreção do Selênio

O Se pode ser absorvido pelo organismo humano a partir das formas orgânicas (selenometionina e selenocisteína) e inorgânicas (selenato de sódio e selenito de sódio)

(BRITO, 2007). O duodeno parece ser o primeiro local de absorção, seguido pelo jejuno e íleo (MAHAN, ESCOTT-STUMP e RAYMOND, 2012).

A selenometionina após ser absorvida no intestino delgado, por um processo transporte ativo acoplado ao sódio e por difusão facilitada, entra na corrente sanguínea no *pool* de metionina. O selênio contido na selenometionina entra no sangue e se liga à grupos de sulfidrilos, enzimas α e β -globulinas e lipoproteínas de baixa densidade. É transportado para o fígado através da circulação portal, onde uma porção é extraída pelos hepatócitos e incorporada a L-metionina até ocorrer a metabolização por transulfuração. O restante é transportado pela circulação sanguínea através da selenoproteína P para os vários tecidos do organismo (BRITO, 2007). Os metabólitos metilados são excretados em sua maioria pela urina (ESAKI, 1982; DA SILVA, 2006).

O aumento da ingestão de selênio resulta no aumento da excreção desse mineral na urina. A avaliação do *status* de selênio pode ser feita através da medida diretamente do selênio ou da atividade da enzima GPX no plasma, plaquetas, eritrócitos ou do sangue total. A dosagem da concentração de sanguínea de selênio é um indicador da ingestão de curto período de selênio, sendo que a medida de unha e cabelo reflete uma ingestão de longo período (MAHAN, ESCOTT-STUMP e RAYMOND, 2012).

2.4.6 Recomendações Diárias de Selênio

A ingestão diária recomendada (RDA) de selênio segundo a FNB 2000, do Instituto de Medicina, das Academias Nacionais dos EUA é de:

Tabela.5 – Recomendação de ingestão diária de selênio

Idade	Homens	Mulheres	Gestantes	Lactantes
0–6 meses	15 µg/dia	15 µg/dia	-	-
6 meses–12 meses	20 µg/dia	20 µg/dia	-	-
1–3 anos	20 µg/dia	20 µg/dia	-	-
4–8 anos	30 µg/dia	30 µg/dia	-	-
9–13 anos	40 µg/dia	40 µg/dia	60 µg/dia	70 µg/dia
14–18 anos	55 µg/dia	55 µg/dia	60 µg/dia	70 µg/dia

Adaptado de Food and Nutrition Board, 2001.

As necessidades de selênio podem aumentar se o consumo de gorduras saturadas for elevado, por causa da exigência de atividade antioxidante da enzima GSH Px (ASHTON *et al.*, 2009; MAHAN, ESCOTT-STUMP e RAYMOND, 2012).

2.4.7 Toxicidade de Selênio

A toxicidade acontece quando a concentração do mineral no organismo excede a capacidade de excreção, que pode ser observado em indivíduos expostos, como consumidores de suplementos contendo excesso desse micronutriente ou em trabalhadores em minas. Os primeiros sintomas da selenose, incluem especialmente o hálito com odor de alho, náusea, erupções na pele, dermatite, distúrbios gastrintestinais, anomalias do sistema nervoso, artrite, fadiga e queda de cabelos (BURTIS e ASHWOOD, 2001).

Em estudo realizado por Cozzolino (2007) na cidade de Macapá, onde a farinha de castanha-do-brasil é utilizada na merenda escolar, foi observado que todos os parâmetros

bioquímicos analisados em crianças estavam muito acima dos valores de referência, indicando a necessidade de cuidado quanto aos possíveis efeitos adversos. O Se quando ingerido em doses acima de 400µg ao dia e por tempo prolongado possui efeito tóxico.

Tabela 6 – Limite de ingestão diária de selênio

Idade	Homens	Mulheres	Gestantes	Lactantes
0–6 meses	45 µg/dia	45 µg/dia	-	-
6 meses–12 meses	60 µg/dia	60 µg/dia	-	-
1–3 anos	90 µg/dia	90 µg/dia	-	-
4–8 anos	1500 µg/dia	150 µg/dia	-	-
9–13 anos	280 µg/dia	280 µg/dia	-	-
14–18 anos	400 µg/dia	400 µg/dia	400 µg/dia	400 µg/dia

Adaptado de Food and Nutrition Board, 2001.

2.4.8 O Papel do Selênio nas Crianças Portadoras do Transtorno do Espectro Autista

A importância do conhecimento das concentrações de Se está na fato deste elemento químico participar das enzimas como a glutathione peroxidase, promovendo a defesa antioxidante. Evidências crescentes sugerem o papel do stresse oxidativo nas manifestações do autismo (CHAUHAN *et al.*, 2004; MCGINNIS, 2004).

O Mato Grosso do Sul é uma região com vegetação tipo cerrado, por isso apresenta baixas concentrações de Se. A concentração deste elemento na população está abaixo dos valores de referência propostos pela OMS (MOURA *et al.*, 2009).

Assim, espera-se que nos indivíduos portadores de TEA as concentrações plasmáticas sejam ainda menores, considerando as particularidades destes indivíduos.

Priya and Geetha (2011) em estudo com crianças com TEA observaram que as concentrações de selênio no cabelo e unhas foi menor do que a concentrações encontradas no grupo controle.

Por outro lado, o estudo De Palma *et al.*, (2012) mostrou que as concentrações de Se no cabelo de crianças autistas apresentou-se mais alta do que o grupo controle. Já Jory (2008), mostrou que a concentração de Se nos globulos vermelhos de crianças autistas e do grupo controle foi similar.

E os outros estudos (MUNTAU, 2002; XIA, 2004; XIA 2010) descrevem os efeitos da suplementação de Se e seus biomarcadores (Selenoproteína P), mas não sobre a concentração de Se em crianças autistas. Assim observa-se a necessidade de mais estudos nas crianças portadoras de TEA.

Assim, conhecer a concentração plasmática de Se nos indivíduos portadores de TEA no município de Campo Grande é altamente desejável.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as concentrações plasmáticas dos elementos traço cobre, zinco e selênio em crianças portadoras com transtorno do espectro autista.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Avaliar o estado nutricional das crianças com transtorno do espectro autista;
- 2) Dosar a concentração plasmática dos elementos traços: cobre, zinco e selênio;
- 3) Comparar os resultados da avaliação nutricional e das concentrações dos elementos traços, dos indivíduos com o conjunto de dados disponíveis na literatura nacional e internacional;
- 4) Discutir os resultados com as informações da literatura.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4. 1 Tipo de Estudo

Trata-se de um estudo prospectivo transversal e descritivo analítico, realizado na Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais –APAE/ e Complexo de Atendimento Multidisciplinar de Saúde – CAMS, localizado no município de Campo Grande/MS.

4. 2 Aspectos Éticos

O protocolo de estudo foi devidamente aprovado pelo Comitê de Ética para Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Anexo 1). O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foi obtido previamente dos pais e/ou responsáveis de cada participante do trabalho (Apêndice 1).

Em atendimento à Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, foi assegurada a confidencialidade, a privacidade, a proteção da imagem e a não estigmatização dos sujeitos da pesquisa. O protocolo de coleta de dados encontra-se no Apêndice 2.

Este estudo foi realizado entre os meses de novembro a dezembro de 2012.

4.3 Sujeitos da Pesquisa

Foram estudados 23 indivíduos de ambos os gêneros, abaixo de 18 anos de idade, portadores do Transtorno do Espectro Autista, cadastrados no CAMS/APAE de Campo Grande/MS e moradores desta cidade. O diagnóstico foi confirmado por médico neurologista da instituição.

Não participaram ou foram excluídos os indivíduos portadores de doenças do metabolismo, insuficiência hepática ou insuficiência renal. Também não foram incluídas as crianças em uso de medicação contendo cobre, zinco ou selênio ou com suplementação indireta destes elementos químicos. As crianças indígenas e de região de fronteira não participaram do estudo.

4.4 Coleta de Dados

Após o preenchimento do protocolo de dados os indivíduos foram submetidos a punção venosa para coleta de material biológico para que os níveis plasmáticos dos elementos fossem determinados.

4.4.1 Avaliação do Estado Nutricional

O peso e a altura foram registrados no início da avaliação. O estado nutricional foi verificado através dos índices peso para a idade (P/I), altura para idade (A/I) e peso para altura (P/A), tomando-se como referência as curvas de crescimento da OMS, 2007 preconizadas pela Sociedade Brasileira de Pediatria.

O valor do peso foi obtido usando uma balança mecânica da marca Filizola® comumente utilizada em pediatria.

As crianças até os 2 anos de idade foram pesadas na mesma balança tipo pediátrica. O paciente foi despido e posicionado de maneira que o peso fosse igualmente distribuído na superfície da balança, proporcionando maior conforto e menor risco de acidentes.

A partir da idade de 2 anos, o peso foi medido com balança do tipo adulto, com graduação de 100g. Em qualquer caso a criança ou o adolescente manteve-se em pé sem apoio, com os braços estendidos ao longo do corpo, descalço, com roupas leves, posicionado no centro da plataforma e evitando movimentar-se.

A estatura nos menores de 2 anos de idade foi medida com a mesma régua antropométrica em decúbito dorsal. A criança manteve-se deitada sobre superfície plana horizontal, vestindo apenas roupas leves, com o limite superior fixo (zero) ajustado ao pólo cefálico, os olhos voltados para cima, evitando-se a flexão ou extensão do pescoço e o limite inferior, móvel, ajustado ao plano dos pés (PETROSKI, 2003).

A estatura das crianças maiores foi medida com o estadiômetro vertical da balança. O calcanhar, a região glútea, as costas e o pólo occipital cefálico foram posicionados junto ao

anteparo vertical do estadiômetro, com os braços ao lado, acompanhando o corpo (PETROSKI, 2003).

Também para avaliação nutricional dos pacientes, foram coletadas as medidas da circunferência braço (CB) e prega cutânea do tríceps (PCT).

Para a mensuração da circunferência do braço a técnica utilizada foi a seguinte:

O indivíduo flexionaram o cúbito a 90° com a palma da mão voltada para cima, calculou-se então a distância entre os pontos de referência anatômica e marcou-se o ponto central com lápis demográfico, envolvendo o braço com a fita antropométrica, de forma que esta repouse sobre o ponto marcado, fez-se a aferição (PETROSKI, 2003).

Para a prega cutânea do tríceps a técnica de mensuração foi:

O avaliado na posição ortotática, braços estendido e relaxados ao longo do corpo

A dobra foi medida/ pinçada com compasso de dobras cutâneas Lange® verticalmente no ponto médio da face posterior do braço, entre o processo acromial da escápula e o processo do olécrano da ulna (PETROSKI, 2003).

4.4.2 Análises Laboratoriais

As amostras de sangue para análise dos dados laboratoriais foram coletadas por enfermeira, pela manhã com os indivíduos em jejum. Cada amostra foi imediatamente transferida para um tubo de polipropileno a vácuo, próprio para coleta de elementos traços (BD Vacutainer Systems) e centrifugado durante 15 minutos com uma força relativa de

centrifugação de 3000g. O plasma foi distribuído em tubos Eppendorf de polipropileno e imediatamente congelados a -18°C .

Todos os materiais de plástico ou de vidro utilizados no estudo foram previamente imersos por um período mínimo de 24 horas em solução de Extran (Merck) a 5%, enxaguados abundantemente em água corrente e novamente imersos por um período de pelo menos, 24 horas em solução de ácido nítrico (Merck) a 10%, para descontaminação de qualquer resíduo de metal. Em seguida, foram lavados cuidadosamente com água ultrapura do tipo Milli-Q (Millipore, Bedford, Estados Unidos) e secados em estufa a 70°C .

As leituras das concentrações plasmáticas de cobre, zinco e selênio foram realizadas pelo aparelho ICP-OES (Espectrômetro de Emissão Óptica com Plasma de Argônio Indutivamente Acoplado) da marca Thermo®. O ICP-OES é uma técnica de análise sequencial/simultânea que se baseia nas observações de emissões de radiação dos elementos constituintes da amostra, em um plasma de argônio acoplado. Somente para leitura de Se, foi utilizado a solução de geração de hidretos (hidróxido de sódio e borohidreto de sódio), na qual potencializa o espectro de leitura, por ser um elemento que está na concentração de partes por bilhão (ppb). Os comprimentos de ondas para leitura de cobre, zinco e selênio, foram 324,75 nm, 213,86 nm e 196,09 nm respectivamente.

Para a determinação dos elementos traços as amostras foram previamente descongeladas e 0,5ml de cada uma delas foi diluída em uma solução de 4,5ml água ultrapura do tipo Milli-Q com ácido nítrico (HNO_3) a 1%, e Triton X® a 0,01% (surfactante), atingindo um volume final de 5 ml.

Para a construção das curvas de calibração de cobre e zinco foram utilizadas soluções padrão multielementar nas concentrações de 50, 100, 150 e 200 mg/L e para o selênio na concentração de 50, 100, 150 e 200 $\mu\text{g/L}$. Todas as amostras foram lidas em triplicatas.

4.5 Análise Estatística

A comparação entre os gêneros em relação às variáveis idade, peso, estatura, IMC, CB e PCT, foi realizada por meio do teste t-student. O mesmo teste foi utilizado para a comparação entre os gêneros, em relação aos níveis dos elementos traços cobre, zinco e selênio. A avaliação da associação entre o gênero das crianças e o estado nutricional das mesmas foi realizada por meio do teste do qui-quadrado. A comparação entre os estados nutricionais, em relação aos níveis dos elementos traços cobre, zinco e selênio foi realizada por meio do teste ANOVA de uma via. A avaliação da correlação linear entre a circunferência do braço, bem como da prega cutânea tricipital, com os níveis dos elementos traços foi realizada por meio do teste de correlação linear de Pearson. Os demais resultados das variáveis avaliadas neste estudo foram apresentados na forma de estatística descritiva ou na forma de tabelas. Para a análise estatística foi utilizado o “software” SigmaStat, versão 3.5 ou InStat, versão 3.0. Foi adotado como significativo o valor de $p \leq 0,05$.

5 RESULTADOS

Neste estudo foram avaliados 23 indivíduos portadores de transtorno do espectro autista, sendo que 43,5% (n = 10) deles eram do gênero masculino e 56,5% (n = 13) deles eram do gênero feminino. A idade dos indivíduos variou entre 1 a 12 anos, sendo a idade média de $6,87 \pm 3,32$ anos (média $\pm$ desvio padrão da média). De forma geral, o peso dos indivíduos foi de $33,72 \pm 26,21$ kg, a estatura foi de $1,27 \pm 0,27$ m, o IMC foi de $18,43 \pm 5,87$ kg/m², a circunferência do braço foi de $22,09 \pm 6,33$ cm e a prega cutânea tricipital foi de $16,44 \pm 12,00$ mm.

Não houve diferença significativa entre os gêneros em relação às variáveis citadas (teste t-student, valor de p variando entre 0,098 e 0,791). Os resultados referentes à idade, peso, estatura, IMC, CB e PCT dos indivíduos, de acordo com o gênero e no total estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7: Resultados referentes à idade, peso, estatura, IMC, CB e PCT das crianças, de acordo com o gênero e número total.

Variável	Gênero			Valor de p [§]
	Total (n= 23)	Masculino (n= 10)	Feminino (n= 13)	
Idade (anos)	6,87 ± 3,32	8,00 ± 3,59	6,00 ± 2,94	0,157
Peso (kg)	33,72 ± 26,21	40,93 ± 32,67	28,18 ± 19,56	0,257
Estatura (m)	1,27 ± 0,27	1,37 ± 0,30	1,19 ± 0,22	0,098
IMC (kg/m²)*	18,43 ± 5,87	18,82 ± 6,94	18,14 ± 5,18	0,791
CB (cm)**	22,09 ± 6,33	22,70 ± 7,15	21,62 ± 5,88	0,694
PCT (mm)***	16,44 ± 12,00	14,70 ± 11,18	17,77 ± 12,87	0,555

Os resultados estão apresentados na forma de média ± desvio padrão da média. *IMC – Índice de massa corporal; ** CB – Circunferência do braço; *** PCT – Prega cutânea tricipital. [§] Valor de p no teste t-student.

A distribuição dos indivíduos de acordo com o gênero e o estado nutricional das mesmas está apresentada na Tabela 8. Dos 23 indivíduos avaliados, 13,0% (n= 3) foram classificados como apresentando baixo peso, 47,8% (n= 11) estavam eutróficos, 8,7% (n= 2) estavam com sobrepeso e 30,4% (n= 7) foram classificados como obesos. Não houve associação significativa entre o gênero e o estado nutricional dos indivíduos (teste do qui-quadrado, p 0,529).

Tabela 8: Distribuição dos indivíduos de acordo com o gênero e o estado nutricional dos mesmos.

Estado nutricional (p 0,529*)	Amostra total (n= 23)	Gênero	
		Masculino (n= 10)	Feminino (n= 13)
Baixo peso	13,0 (3)	20,0 (2)	7,7 (1)
Eutrófico	47,8 (11)	50,0 (5)	46,1 (6)
Sobrepeso	8,7 (2)	0,0 (0)	15,4 (2)
Obeso	30,4 (7)	30,0 (3)	30,8 (4)

Os resultados estão apresentados na forma de frequência relativa (frequência absoluta).
teste do qui-quadrado.

* Valor de p no

Também não houve diferença entre os gêneros, em relação à concentração aos elementos traço cobre (teste t-student, p 0,691), zinco (p 0,949) e selênio (p 0,282). De forma geral a concentração de cobre foi de $0,83 \pm 0,37$ mg/L, o de zinco foi de $1,05 \pm 0,73$ mg/L, o de selênio foi de $50,23 \pm 27,00$ µg /L. Estes resultados estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Resultados referentes à concentração plasmática dos elementos traço cobre, zinco e selênio de acordo com o gênero e total.

Variável	Total (n= 23)	Gênero		Valor de p*
		Masculino	Feminino	
		(n= 10)	(n= 13)	
Elementos traço				
Cobre (mg/L)	0,83 ± 0,37 (0,35 a 1,65)	0,79 ± 0,39	0,86 ± 0,37	0,691
Zinco (mg/L)	1,05 ± 0,73 (0.32 a 3)	1,07 ± 0,64	1,05 ± 0,82	0,949

Selênio (µg/L)	50,23 ± 27,00 (16,8 a 142)	43,18 ± 20,44	55,65 ± 30,82	0,282
----------------	-------------------------------	---------------	---------------	-------

Os resultados estão apresentados na forma de média ± desvio padrão da média. * Valor de p no teste t-student.

A concentração média dos elementos traço cobre e zinco avaliados neste estudo ficou dentro da faixa dos valores de referência para cada elemento, já a avaliação de selênio ficou abaixo dos valores de referência para o elemento.

Os resultados referentes à concentração plasmática dos elementos traço cobre, zinco e selênio, de acordo com o estado nutricional, estão apresentados na Tabela 10. Não houve diferença entre os estados nutricionais, em relação ao nível de cobre, zinco e selênio (teste ANOVA de uma via, valor de variando entre 0,599 e 0,706).

Tabela 10: Resultados referentes à concentração plasmática dos elementos traço cobre, zinco e selênio de acordo com o estado nutricional.

e Selênio de acordo com o estado nutricional.					
Variável	Estado nutricional				Valor de p*
	Baixo Peso (n= 3)	Eutrófico (n= 11)	Sobrepeso (n= 2)	Obeso (n= 7)	
Elementos traço					
Cobre (mg/L)	0,83 ± 0,56	0,73 ± 0,31	0,83 ± 0,45	0,98 ± 0,40	0,609
Zinco (mg/L)	1,38 ± 0,89	1,14 ± 0,95	0,90 ± 0,07	0,82 ± 0,26	0,706
Selênio (µg/L)	45,13 ± 6,91	45,58 ± 21,93	41,60 ± 6,50	62,23 ± 40,08	0,599

Os resultados estão apresentados na forma de média ± desvio padrão da média. * Valor de p no teste ANOVA de uma via.

Não houve correlação linear entre os elementos traço cobre, zinco, e selênio, com as medidas de circunferência do braço e prega cutânea tricipital (teste de correlação linear de

Pearson, valor de p variando entre 0,482 e 0,697). Estes resultados estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Resultados referentes à avaliação da correlação linear entre as medidas CB e PCT com as variáveis concentração plasmática dos elementos traço cobre, zinco e selênio.

Variável	Medida	
	Circunferência do braço	Prega cutânea tricipital
Elementos traço		
Cobre (mg/L)	p 0,611; r 0,112; r ² 0,013	p 0,697; r 0,086; r ² 0,007
Zinco (mg/L)	P 0,635; r 0,104; r ² 0,011	p 0,482; r 0,154; r ² 0,024
Selênio (µg/L)	p 0,488; r 0,152; r ² 0,023	p 0,681; r -0,091; r ² 0,008

p valor de p no teste de correlação linear de Pearson; r coeficiente de correlação linear; r² quadrado do coeficiente de correlação linear.

6 DISCUSSÃO

O transtorno do espectro do autismo é caracterizado principalmente pelo comprometimento das interações sociais e da comunicação, bem como do comportamento limitado e repetitivo. Estimativas recentes mostram que a prevalência do TEA, tanto na Europa como nos EUA tem aumentado entre 5 a 10 vezes nos últimos anos, sendo parte atribuída à melhoria das práticas diagnósticas (GARDIA, 2004; KLIN, 2006; REGO, 2012).

Apesar de décadas de pesquisas e investigações, a etiologia do autismo permanece indefinida, pois se trata de um distúrbio complexo e heterogêneo, provavelmente de causas multifatoriais e multidimensionais. Além dos fatores genéticos, os fatores ambientais, como exposições tóxicas, contribuem significativamente na patogênese, afetando o desenvolvimento da doença através dos mecanismos epigenéticos (GUPTA e STATE, 2006).

Várias regiões cerebrais podem estar envolvidas no processo de desenvolvimento da patologia, incluindo o cerebelo, o hipocampo, a amígdala, os gânglios da base e o corpo caloso, porém as anormalidades celulares e metabólicas, base para o desenvolvimento cerebral anormal permanecem desconhecidas (DE PALMA *et al.*, 2012).

Apesar das várias anormalidades metabólicas que são identificadas na criança com TEA, como alteração na função de neurotransmissores, ainda não existem marcadores biológicos recomendados para a avaliação destes pacientes.

Os bioelementos desempenham um papel importante no metabolismo das células do sistema nervoso central. Tanto a deficiência quanto o excesso de minerais essenciais e elementos traços podem causar uma série de disfunções neurológicas. Estudos evidenciam que crianças portadoras de TEA apresentam um quantidade mais elevada de alguns metais no organismo quando comparadas com crianças normais (KERN *et al.*, 2012; ADAMS *et al.*, 2013; BJORKLUND, 2013). É sabido que a

concentração de minerais na alimentação diária varia em função de fatores ligados à produção, como por exemplo, a fertilização do solo, região onde o alimento foi produzido, bem como as condições de manipulação e industrialização. Por outro lado, a aceitação alimentar da criança com TEA geralmente apresenta diferenças quando comparada com a criança não portadora desta doença, devido à seletividade e pela alteração da absorção intestinal apresentada pelos pacientes (SANTOS, BERNARDI e BRECAILO, 2013).

Desta forma, a avaliação das concentrações plasmáticas de alguns elementos químicos como cobre, zinco e selênio na criança portadora de TEA moradoras no município de Campo Grande é de grande interesse. Além disso, contribuirá com seus resultados para os futuros estudos de metanálise referentes ao assunto.

O CAMS, onde a coleta de material do presente estudo foi realizada, é um local de assistência às crianças portadoras de necessidades especiais vinculado ao SUS. A procura dos pais pela instituição é por livre demanda ou encaminhamento médico, de qualquer unidade de saúde do estado de Mato Grosso do Sul. Assim, esta instituição atende a crianças portadoras de várias patologias neurológicas proveniente de todo o estado.

O TEA acomete predominantemente indivíduos do gênero masculino em uma proporção que varia de 3:1 a 5:1 em relação ao gênero feminino (CAMARGO *et al.*, 2005; FOMBONNE, 2005). Neste estudo, que incluiu 23 indivíduos, esta proporção não foi observada, sendo a proporção entre os gêneros masculino e feminino foi de 0,77:1.

A organização e distribuição dos indivíduos atendidos com TEA, em seus diferentes graus de comprometimento nos diversos locais de Campo Grande/MS, poderia ser uma explicação razoável para a diferente proporção entre os gêneros observados neste estudo. Estes fatos, provavelmente, contribuíram para que a proporção entre meninos e meninas do presente estudo, fosse diferente daquela conhecida na literatura mundial e também no Brasil, onde há uma clara predominância no gênero masculino com esta doença.

De qualquer modo, como não há diferença das concentrações plasmáticas dos elementos traço entre os gêneros, portanto a predominância do gênero feminino no presente estudo, não influenciou nos resultados.

A população brasileira esta passando por um processo de transição nutricional onde se observa uma diminuição da prevalência de subnutrição e um evidente aumento do sobrepeso e da obesidade infantil (ABRANTES *et al.*, 2002; GIGANTE *et al.*, 2003, BARRETO, BRASIL e MARANHÃO, 2007).

Já para as indivíduos portadores de TEA, em estudo realizado no estado de Oregon (EUA), 18,1% delas apresentavam sobrepeso e 17% obesidade (ZUCKERMAN *et al.*, 2014). Um estudo turco de Bicer e Alsaffar 2013, mostrou 58% dos indivíduos com sobrepeso e obesidade e 11% com desnutrição e baixo peso. Segundo Abreu (2011) indivíduos autistas tem entre 2 a 3 vezes mais possibilidades de serem obesas quando comparadas à população geral.

No presente estudo a porcentagem de crianças portadoras de obesidade (30,4%) é mais elevada à aquela encontrada na população brasileira, em estudo recente Flores *et al.*, (2013), mostrou a prevalência de baixo peso em menos de 5%, de sobrepeso e 22% e obesidade de 12,2%. A tendência à monotonia alimentar que acompanha a criança com TEA, devido a dificuldade de aceitar mudanças, insistindo em manter o mesmo tipo de alimento, quer seja pela sua cor, textura ou consistência, pode justificar uma ingestão alimentar desbalanceada. Por outro lado, a prevalência de baixo peso foi elevada. Desta forma, tanto o baixo peso como o sobrepeso e até mesmo a obesidade podem advir numa proporção diferente das crianças não portadoras de TEA, como observado neste estudo (BALABAN E SILVA, 2001; RIBEIRO *et al.*, 2006).

Os bioelementos desempenham um papel importante no metabolismo do sistema nervoso central. Tanto a falta como o excesso podem causar uma variedade de alterações clínicas contribuindo para a fisiopatologia das doenças neurológicas e psiquiátricas.

Uma vez que a causa do TEA ainda é elusiva, fatores genéticos ambientais, imunológicos e a maior vulnerabilidade ao estress oxidativos são considerados. Neste contexto, as enzimas envolvidas

na eliminação direta dos radicais livres, como a superóxido dismutase, a glutathione peroxidase e a catalase, necessitam dos minerais cobre, zinco, selênio, além do ferro e manganês para sua atividade catalítica plena.

Na criança portadora de TEA, as alterações relativas ao metabolismo do cobre são frequentemente estudadas, porém não são totalmente esclarecidas. Uma maior concentração de cobre é observada no cabelo, unha e no plasma de crianças portadoras de TEA (PRIYA e GEETHA, 2011; RUSSO *et al.* 2012).

Por outro lado, Chauhan *et al.*, (2008) relatam em seu estudo que os níveis de ceruloplasmina estão reduzidos nas crianças com TEA, porém não há relatos dos valores das concentrações de cobre neste estudo. É sabido que a ceruloplasmina transporta 95% do cobre circulante no plasma, refletindo diretamente a concentração de cobre. Assim, pode ser especulado que no estudo de Chauhan *et al.*, (2008) o cobre poderia igualmente se apresentar em concentrações inferiores.

Kasama, Tanaka e Hirayama (1989), registraram em crianças autistas, valores iguais ao grupo controle no que se refere às concentrações de cobre e zinco.

Outro estudo mais recente mostra igualmente valores normais para a concentração plasmática de cobre para crianças portadoras de TEA (VERGANI *et al.*, 2011).

Deve ser ponderado que os níveis de cobre estão elevados nos portadores de TEA quando são comparados com grupos controles. Isto não significa necessariamente que os níveis de cobre estejam de fato acima dos valores superiores de referência. As concentrações de cobre relatadas nos estudos, apesar de mais elevadas que os controles, mesmo assim estão dentro dos valores de referência (RUSSO, *et al.*, 2011; RUSSO e DE VITO, 2011).

No presente estudo, a média da concentração plasmática do cobre está dentro dos valores de referência. A concentração plasmática de cobre depende basicamente da quantidade ingerida através da dieta ou da água (OMS, 1998). É possível que estes dados observados para uma população de crianças portadoras de TEA, moradoras na cidade de Campo Grande/MS, decorram de hábitos

alimentares destes pacientes associados a monotonia alimentar e às alterações do metabolismo do cobre que ocorrem na doença. Entre os 23 indivíduos que participaram do estudo, 2 (9%) deles apresentaram valores plasmáticos de cobre acima do limite superior de referência, porém muito próximos à normalidade, conforme também relatado na literatura (PRIYA E GEETHA, 2011).

No que se refere ao zinco, indivíduos com deficiência deste mineral podem desenvolver alterações neuropsicológicas, tais como: instabilidade emocional, irritabilidade e depressão (MAFRA e COZZOLINO, 2004; RUSSO *et al.*, 2012).

O estudo realizado por Priya e Geetha (2011), mostrou que os níveis de zinco foram relativamente menores em crianças com TEA, quando comparadas com o grupo controle. As alterações plasmáticas de Cu e Zn também podem refletir nas concentrações de Cu/Zn SOD. A diminuição da concentração desta importante enzima antioxidante, contribui para o maior estresse oxidativo nestes pacientes. A perda da homeostase do Cu e do Zn é supostamente um indicador provável da deficiência das metalotineínas (RUSSO, 2009).

O estudo realizado por Russo e De Vito (2011), com 79 crianças portadoras de TEA evidenciou baixos níveis de Zn plasmático e níveis mais elevados de cobre. Este grupo de crianças foi comparado com um grupo controle de portadores de outras desordens neurológicas. Os autores sugerem que o nível baixo de Zn pode modular a síntese do neurotransmissor GABA, diminuindo sua ação. Já, a maior concentração de cobre estaria associada aos altos níveis de norepinefrina que é também detectada nestas crianças. A dopamina β -hidroxilase é uma neuro enzima que cataliza a formação de norepinefrina e o Cu é um cofactor requerido para a atividade desta enzima (RUSSO, 2011). Desta forma, a baixa concentração de GABA, associado a alta concentração de norepinefrina poderia se manifestar como hiperatividade que é um sintoma da criança autista.

Um estudo com 230 crianças americanas do estado da *Pennsylvania*, portadoras de TEA, demonstrou a concentração plasmática média de 131,5 mcg/L para o cobre e 76,9 mcg/L para o zinco. O estudo foi realizado na cidade de *Pittsburg*, é a região do país onde a indústria é responsável por 76% da emissão de mercúrio na atmosfera (GBOR *et al.*, 2006). Palmer *et al.*, (2006, 2009)

estabeleceram a relação entre a exposição ambiental de mercúrio proveniente da fumaça das centrais termoelétricas que utilizam carvão como combustível e aumento da prevalência de autismo. Os efeitos deletérios no sistema de metalotioneínas humanas, desencadeado pela exposição aos metais pesados como o mercúrio, podem causar uma rápida utilização do zinco, por seu efeito antioxidante. Isto seria mais uma causa possível para a menor concentração observada para o zinco em indivíduos expostos a outros metais tóxicos.

No presente estudo, a média da concentração de zinco esta dentro dos valores de referência, porém é maior quando comparada com os estudos da literatura. É possível que fatores nutricionais e ambientais justifiquem tais achados. Apesar das características da ingestão alimentar das crianças portadoras de TEA, a ingestão de zinco não esta comprometida.

O zinco e o cobre se comportam no organismo de maneira antagônica, sendo que o zinco é um metal que, preferencialmente, se liga as metalotioneínas em relação ao cobre. Uma explicação razoável para os resultados do presente estudo está no fato da média das concentrações plasmáticas de zinco estarem dentro dos valores de referência, que em função da maior ligação com as metalotioneínas, deslocaria o cobre para seus valores normais (BJORKLUND, 2013). Devido a essas alterações do metabolismo, também a suplementação de Zn em pacientes com TEA leva à normalização dos níveis de Cu (RUSSO, 2011).

No presente estudo, a normalidade das concentrações plasmáticas de cobre e zinco pode, afinal, refletir parcialmente a falta ou menor exposição ambiental aos outros metais tóxicos, que desequilibram as relações entre cobre e zinco. Este fato isoladamente está longe de explicar os achados do presente estudo, pois é sabido que a criança portadora de TEA apresenta uma marcada inabilidade nos processos de excreção dos elementos tóxicos (PRIYA e GEETHA, 2011). Também, é possível que em função das preferências alimentares, o balanço entre estes elementos fique em desequilíbrio.

É concebível que os distúrbios da mucosa gastro intestinal, que pode acontecer no TEA, favoreçam o crescimento de uma flora bacteriana anaeróbica, com o aumento da produção de H_2S na

luz intestinal que por sua vez propicia a formação de tiomolibdato. Os estudos de Blaurock-Busch *et al.*, (2012) e Bjorklung (2013) sugerem que o baixo nível de molibdênio e zinco afeta diretamente o cobre nestes pacientes. A deficiência de molibdênio na dieta pode ser um fator de risco por aumentar a toxicidade de cobre. Uma interpretação alternativa para estes dados poderia ser que a má absorção do molibdênio causada pela produção anormal de H₂S no intestino, poderia agravar a sintomatologia dos pacientes no que diz respeito ao cobre. No campo da nutrição animal é bem conhecido e documentado que o excesso da concentração de cobre no fígado de ovelhas pode ser prevenido pela adição de molibdênio na dieta destes animais.

Nos últimos 20 anos, o conhecimento do significado do selênio para saúde humana tem sido ampliado de modo considerável. Os estudos aumentaram a compreensão do complexo papel metabólico deste elemento no organismo, que dependendo da sua concentração tanto no meio ambiente como dos alimentos ingeridos, pode apresentar um comportamento combinado, atuando tanto como um microelemento essencial ao metabolismo como um elemento tóxico. A concentração de Se no organismo humano varia entre as diferentes áreas geográficas do mundo, dependendo do conteúdo do elemento no solo, plantas, ingestão pela dieta, biodisponibilidade, retenção e também interação com outros minerais.

O selênio é um importante nutriente com função antioxidante que protege as membranas e organelas celulares dos danos oxidativos, provocados pelos radicais livres. O aumento do estresse oxidativo no TEA tem sido demonstrado através da redução das enzimas antioxidantes glutathione peroxidase, Cu/Zn SOD e aumento da lipoperoxidase (CHAUHAN e CHAUHAN, 2006; FRUSTACI *et al.*, 2012). Facilitando a união entre o oxigênio e hidrogênio no final da cadeia metabólica, também transfere íons através de membranas celulares e ajudar na síntese de imunoglobulina e ubiquinona, assim este pode estar diretamente ligado com a prevenção do stress oxidativo que ocorre no TEA (FRUSTACI *et al.*, 2012).

A ação mais importante e conhecida do selênio se relaciona com as defesas antioxidantes, conferindo proteção aos tecidos contra o estresse oxidativo, que está presente em várias condições clínicas. A essencialidade do Se é baseada principalmente na formação das selenoproteínas, como a

glutathione peroxidase e tioredoxina redutase, as quais exercem um papel essencial como enzimas antioxidantes protegendo a célula dos danos oxidativos.

Nos indivíduos portadores de TEA, alguns estudos evidenciam uma concentração plasmática menor de selênio, enquanto outros mostram concentrações mais elevadas que o grupo controle (PRIYA e GEETHA, 2011; DE PALMA, 2012).

Em estudo recentemente realizado no município de Campo Grande, foi evidenciado em 76% dos participantes, indivíduos livres de doenças, uma concentração plasmática média de selênio abaixo dos valores considerados atualmente como os mais adequados (FINOTTI e CONSOLO, 2013). Assim sendo, é possível supor que outros grupos da população brasileira, mais vulneráveis às deficiências nutricionais, ou relacionadas à condição clínica, como as doenças neurológicas, poderiam apresentar déficits ainda maiores.

A presença de Se corrobora para a proteção antioxidante eficaz contra outros metais tóxicos. Esses metais, dentre eles o mercúrio, apresenta um efeito sinérgico negativo na qualidade do desenvolvimento cognitivo da criança. O mercúrio tem sido o fator tóxico mais testado na última década. Alguns dos efeitos documentados da exposição a este metal inclui os déficits de aprendizagem, alterações do comportamento, atraso mental, hiperatividade e autismo. (BROCKEL e CORY-SLECHTA, 1998; WINDHAM, 1999).

Sabe-se que a criança portadora de TEA apresenta maior acúmulo destas substâncias, não simplesmente porque estão mais expostas, mas por marcada inabilidade nos processos de eliminação do organismo (WALSH *et al.*, 2002; MUTTER *et al.*, 2005; RUSSO, 2009).

No presente estudo, a média de concentração plasmática de Se, foi 50,23 µg/L, valor este ainda menor do que as concentrações observadas para a população de Campo Grande que foi de 68,26 µg/L (FINOTTI e CONSOLO, 2013). Fatores ambientais próprios da região centro-oeste associados à peculiaridades próprios dos indivíduos portadores de TEA, provavelmente explicam estes resultados. É possível considerar que, localmente, os indivíduos portadores de TEA estão ainda mais expostos aos efeitos da deficiência de Se.

É necessário que outros estudos para faixa etária pediátrica sejam realizados em indivíduos não portadoras de doenças para estabelecer dados comparativos. Também é possível considerar a necessidade de avaliação das concentrações plasmáticas de minerais, em especial do Se, visando a possível suplementação nutricional.

7 CONCLUSÕES

- 1- A avaliação nutricional dos indivíduos da pesquisa mostrou que mais da metade destes são eutróficos, predominando a obesidade como distúrbio nutricional.
- 2- A concentração plasmática de cobre e zinco são normais nas crianças portadoras de TEA deste estudo
- 3- A concentração plasmática de selênio é baixo de acordo com o valor de referência para a faixa estudada
- 4- O estado nutricional não influencia na concentração plasmática de cobre, zinco e selênio
- 5- Não houve correlação entre a avaliação nutricional e a concentração dos elementos traços
- 6- Tais resultados sugerem a necessidade de avaliação do perfil mineral do paciente com TEA visando benefícios da suplementação

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRANTES MM; LAMOUNIER JA; COLOSIMO EA e ENRICO A. Prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes das regiões Sudeste e Nordeste. Overweight and obesity prevalence among children and adolescents from Northeast and Southeast regions of Brazil, **J Ped**, v. 78, 2002.

ABREU LC. Condições relacionadas à obesidade secundária na interface do crescimento e desenvolvimento. **Rev. bras. crescimento desenvolv. hum.**, v. 21, São Paulo, Abr. 2011.

ADDM- Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network. **CDC (Center for Disease Control and Prevention)**, 2012.

ADAMS JB; AUDHYA T; MCDONOUGH-MEANS S; RUBIN RA; QUIG D; GEIS E; GEHN E; LORESTO M; MITCHELL J; ATWOOD S; BARNHOUSE S; LEE W. Toxicological status of children with autism vs. neurotypical children and the association with autism severity. **Biol Trace Elem Res**, v.151, p. 171-180, 2013.

ADAMS JB; BARAL M; GEIS E; MITCHELL J; INGRAM J; HENSLEY A; ZAPPIA I; NEWMARK S; GEHN E; RUBIN AR; MITCHELL K; BRADSTREET J; EL-DAHR M. The severity of autism is associated with toxic metal body burden and red blood cell glutathione levels. **J Toxicol**, v.1, 2009.

ALBERTI A; PIRRONE P; ELIA M; WARING RH; ROMANO C. Sulphation deficit in “low-functioning” autistic children: a pilot study. **Biol. Psychiatry**, v.46, p. 420-424, 1999.

ALISSA EM; BAHJURI SM; FERNS GA. The controversy surrounding selenium and cardiovascular disease: a review of the evidence. **Med Sci Monit**, v.9, p. RA9-18, 2003.

ALMONDES KGS; LEAL GVS; COZZOLINO SMF; PHILIPPI ST e RONDÓ PHC. O papel das selenoproteínas no câncer. **Rev Assoc Med Bras.** v.56, p.484-488, 2010.

ANDRADE LS; MARREIRO DN. Aspectos sobre a relação entre exercício físico, estresse oxidativo e zinco. **Rev. Nutri**, v. 24, p. 629-640, 2011.

ASHTON K; HOOPER L; HARVEY LJ; HURST R; CASGRAIN A; FAIRWEATHER-TAIT SJ. Methods of assessment of selenium status in humans: a systematic review. **Am J Clin Nutr**, v. 89, 2009.

BARCELOS TDJ. Cobre: vital ou prejudicial para saúde humana? 2002. Dissertação (Mestrado em Medicina), **UBI**, Covilhã, 2008.

BARRETO ACDN G; BRASIL LDMP; MARANHÃO HDS. Sobrepeso: Uma Nova Realidade no Estado Nutricional de Pré-Escolares de Natal, RN. **Rev Assoc Med Bras**, v.53, p. 311-316, 2007.

BAUM MK; SHOR-POSNER; CAMPA A. Zinc status in human immunodeficiency virus infection. **J Nutr**, v.130, p. 1421S-1423S, 2000.

BALABAN G; SILVA GAP. Prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes de uma escola da rede privada de Recife. **J Ped**, v. 77, 2001.

BICER AH; ALSAFFAR AA. Body mass index, dietary intake and feeding problems of Turkish children with autism spectrum disorder (ASD). **Res Dev Disabil**, v. 34, p. 3978-3987, 2013.

BLAUROCK-BUSCH E; AMIN OR; DESSOKI HH; RABAH T. Toxic metals and essential elements in hair and severity of symptoms among children with autism. **Maedica (Buchar)** v. 7, pg. 38–48, 2012.

BJORKLUND G. The role of zinc and copper in autism spectrum disorders. **Acta Neurobiol Exp (Wars)**, v.73, pg. 225-236, 2013.

BONHAM M; O'CONNOR JM; HANNIGAN BM; STRAIN JJ. The immune system as a physiological indicator of marginal copper status? **Br J Nutr**, v. 87, p. 393-403, 2002.

BRANDT CT; LEITE CR; MANHAES-DE-CASTRO FM; MACEDO EM; SILVA RP; CASTRO CM. Níveis de superóxido dismutase produzidos por monócitos em portadores de esquistossomose hepatoesplênica submetidos a esplenectomia, ligadura da veia gástrica esquerda e auto-implante de tecido esplênico no omento maior. **Rev do Col Bras Cir**, v. 34, p. 25-30, 2007.

BRASIL, **MINISTÉRIO DA SAÚDE**, Linha de cuidado a atenção integral às pessoas com transtorno do espectro do autismo e suas famílias no sistema único de saúde, 2013.

BRITO C. Importância do selênio sobre produção animal e saúde humana. **Art Tec-Polinutr**. 2007.

BROCKEL BJ; CORY-SLECHTA DA. Lead, attention and impulsive behavior. **Pharmacol Biochem Behav**, v.2, p. 545-552, 1998.

BROOME CS; MCARDLE F; KYLE JA; ANDREWS F; LOWE NM; HART CA, ARTHUR JR; JACKSON MJ. An increase in selenium intake improves immune function and poliovirus handling in adults with marginal selenium status. **Am J Clin Nutr**. Vol 80, p.154-162, 2004.

BROWN KM; ARTHUR JR. Selenium, selenoproteins and human health: a review. **Public Health Nutr.**, v. 4, p. 593-599, 2001.

BURK R; HILL K. Advanced nutrition and human metabolism. **Ann Rev Nutr**, vol 12, p. 506-623 1993.

BURTIS CA; ASHWOOD ER. In: Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 5º ed. W.B.Company, USA, 2001.

CABALLERO B; ALLEN L; PRENTICE A. **Encyclopedia of Human Nutrition**, Oxford: Elsivier, 2 ed., 2005, p. 471-476, 2005.

CANTERO BB. Estudio sobre el mecanismo de acción del zincum metalico. **La Homeopatía de México**, v. 2, p. 2-14, 1989.

CAMARGOS JR; WALTER et al. Transtornos invasivos do desenvolvimento: 3º Milênio. Brasília: CORDE, p.260, 2005.

CASTEEL SW; BLODGETT DJ. Selenium, Metals and Minerals. p. 214-17. In: PLUMLEE KH, Clinical Veterinary Toxicology, Missouri: Mosby Incorporation St. Louis, p. 477, 2004.

CALIXTO-LIMA L; REIS NT. Interpretação de Exames Laboratoriais Aplicados à Nutrição Clínica. Editora Rubio. 1º Ed. 2012.

CHAUHAN A; CHAUHAN V; BROWN WT; COHEN IL. Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferring-the antioxidant proteins. **Life Sci**. v.75, p.2539–2549, 2004.

CHAUHAN A; CHAUHAN V. Oxidative stress in autism. **Pathophysiology**, v. 13. p.171-181, 2006.

CHAUHAN A; SHEIKH AM; CHAUHAN V. Increased copper-mediated oxidation of membrane phosphatidylethanolamine in autism. **Am J Biochem Biotech**.vol 4, pg. 95–100, 2008.

CID-10 - Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde. Versão: 1.6c. Data da versão: 30/09/1998.

COMBS GF. Selenium in global food systems. **British Journal of Nutrition**, v. 85, p. 517-547, 2001.

COMINETTI C; BORTOLI MC; ABDALLA DSP; COZZOLINO SMF. Considerations about oxidative stress, selenium and nutrigenetics. **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, São Paulo, v. 36, p. 131-153, 2011.

CORTECCI G. Geologia e saúde. 2011.

COZZOLINO SMF. Deficiência de minerais. Alimentação e educação II, v. 21, p.119- 126, 2007.

COSTA MD. Potássio Extracelular e a Regulação do Cloreto Intracelular em Cultura Orgânica Dissociada de Neurônios. [Dissertação Universidade Federal de São João Del-Rei]. São João Del-Rei, 2009.

DANIELS L. Selenium: does selenium status have health outcomes beyond overt deficiency. **Medical J Aust**, v. 4, p. 180-373, 2004.

DANIELS L; GIBSON R; SIMMER K. Glutathione peroxidase is not a functional marker of selenium status in the neonatal period. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.** v. 26, p. 263– 268. 2008.

DA SILVA CR. Avaliação do estado nutricional relative ao selênio de pré-escolares institucionalizados. [Dissertação]. São Paulo: Universidade Estadual de Campinas; 2006.

DE PALMA G; CATALANI G; FRANCO A; BRIGHENTI M; APOSTOLI P. Lack of Correlation Between Metallic Elements Analyzed in Hair by ICP-MS and Autism. **J Autism Dev Disord.** v.42, p.342–353, 2012.

DOMINGUES G. Relação entre medicamentos e ganho de peso em indivíduos portadores de autismo e outras síndromes relacionadas, 16f, Monografia (Graduação de Nutrição).- Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande/MS, 2007.

DOSMAN CF; DRMIC IE; BRIAN JA; SENTHILSELVAN A; HARFORD M; ROBERTS SW. Ferritin as an indicator of suspected iron deficiency in children with autism spectrum

disorder: prevalence of low serum ferritin concentration. **Dev Med Child Neurol.** v. 48. p. 1008-1009. 2006.

DUFFIELD-LILLICO AJ; REID ME; TURNBULL BW; COMBS GF Jr; SLATE EH; FISCHBACH LA; MARSHALL JR; CLARK LC. Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial: a summary report of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. **Cancer Epidemiol Biomark Prev.** v.11, p. 630–639, 2002.

DUTRA-DE-OLIVEIRA JE; MARCHINI JS. Ciências Nutricionais. 2 ed, Ed. São Paulo: Sarvier , 2008.

DSM-5 - Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Fonte: <http://www.dsm5.org/Pages/Default.aspx>, visitado em 24/02/2014.

ELSABBAGH M; DIVAN G; YUN-JOO KOH; KIM YS; KAUCHALI S; MARCÍN C; MONTIEL-NAVA C; PATEL V; PAULA CS; WANG C; YASAMY MT; FOMBONNE E. Global Prevalence of Autism and Other Pervasive Developmental Disorders. **Autism Research**, v 5, p.160–179, 2012.

ESAKI N; NAKAMURA T; TANAKA H; SODA K. Selenocysteine lyase, a novel enzyme that specifically acts on selenocysteine. Mammalian distribution and purification and properties of pig liver enzyme. **J Biol Chem**, v. 257, p. 4386-4391, 1982.

FABER S; ZINN GM; KERN JC; KINGSTON HM. The plasma zinc/serum copper ratio as a biomarker in children with autism spectrum disorders. **Biomarkers**, v. 14, p.171–180, 2009.

FEITOSA MCP; LIMA VBS; MARREIRO DN. Inflamação e metabolismo do zinco. **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr./ J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, São Paulo, v. 37, p. 93-104, 2012.

FERREIRA KS; GOMES JC; BELLATO CR; JORDÃO CP. Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil, **Pan American Journal of Public**, v. 11, p. 172-177, 2002.

FINOTTI TH; CÔNSOLO LZZ. Concentração plasmática de selênio em indivíduos saudáveis em Campo Grande/Mato Grosso do Sul. Campo Grande; [Dissertação-Universidade Federal de Mato Grosso do Sul], 2013.

FLORES LS; GAYA AR; PETERSEN RCS; GAYA A. Tendência do baixo peso, sobrepeso e obesidade de crianças e adolescentes brasileiros. **J Pediatr** (Rio J). v.89, p. 456-61, 2013.

FOMBONNE E. Epidemiology of autistic disorder and other pervasive developmental disorders. **J Clin Psychiatry**, v.10, p.3-8, 2005.

FOMBONNE, E. Epidemiology of autism. **Paper presented at the 1º. Encontro Brasileiro para Pesquisa em Autismo**, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Abril, 2010.

FOOD AND NUTRITION BOARD, Institute of Medicine. Dietary reference values for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. Washington, **DC: National Academy Press**, 2001.

FOOD AND NUTRITION BOARD. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington: **National Academy of Sciences**, 2001.

FOSTER AC; KEMP JA. Glutamate- and GABA-based CNS therapeutics. **Curr Opin Pharmacol**. v. 6, p. 7-17, 2006.

FREITAS SC; GONÇALVES EB; ANTONIASSI R; FILBERG I; OLIVEIRA SP. Meta-análise do teor de selênio em castanhas-do-brasil. **Braz J Food Technol**. v.11, p.54-62, 2008.

FRUSTACI A; NERI M; CESARIO; ADAMS JB; DOMENICI E; BERNARDINA BD; BONASSI S. Oxidative stress-related biomarkers in autism: Systematic review and meta-analyses. **Free Radic Biol Med**. v. 52, p. 2128-2141, 2012.

FURLANO RI; ANTHONY A; DAY R; BROWN A; GARVEY L; THOMSON, MA; DAVIES SE; BERELOWITZ, M; FORBES A; WAKEFIELD AJ; WALKER-SMITH JA; MUCH SH. Colonic CD 8 and $\gamma\delta$ T-cell infiltration whit epithelial damage in children with autism. **J Ped**, v. 138, p. 366-372, 2001.

GARDIA CA; TUCHMAN R; ROTTA NT. Autismo e doenças invasivas de desenvolvimento. **J Ped**, v. 80, p. 84-85, 2004.

GIGANTE DP; VICTORA CG; ARAÚJO CL; BARROS FC. Tendências no perfil nutricional das crianças nascidas em 1993 em Pelotas,Rio Grande do Sul, Brasil: análises longitudinais. **Cad SaudePublica**. v. 19, p.141-147, 2003.

GOLDBERG EA.The link between gastroenterology and autism. **Gastroenterology Nursing**, Baltimore, v. 27, p. 16-19, 2004.

GOODWIN MS; COWEN MA; GOODWIN TC. Malabsorption and cerebral function: a multivariate and comparative study of autistic children. **J Autism Child Schizophr**, New York, v. 1, p. 48-62, 1971.

GROPPER SS, SMITH JL; GROFF JL. Adavanced Nutrition and Human Metabolism. Belmont, USA: Wadsworth, Cengage Learning. 5 ed., p. 504, 2008.

GROPPER SS, SMITH JL; GROFF JL. Microminerals: Selenium In: Adavanced Nutrition and Human Metabolism. 5 ed. Belmont, USA: Wadsworth, Cengage Learning. 2005/2009.

GBOR PK; WEN D; MENG F; YANG F; ZHANG B; SLOAN JJ. Improved model for mercury emission transport and deposition. **Atmos Environ**, v.40, p. 983, 2006.

GUPTA AR; STATE MW. Autismo: genética. **Rev Bras Psiquiatr**, V 28, p. 29-38, 2006.

HALLIWELL B; GUTTERIDGE JM. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. **Mol Aspects Med**, v. 8, p. 189-193, 1985.

HART EB; STEENBOCK H; WADDELL J; ELVEHJEM CA. Iron in nutrition. VII. Copper as a supplement to iron for hemoglobin building in the rat. 1928, apud **J Biol Chem**, v. 277, p. 797 – 833, 2002.

HOFFMANN FW; HASHIMOTO AC; SHAFER LA; DOW S; BERRY MJ; HOFFMANN PR. Dietary selenium modulates activation and differentiation of CD4+ T cells in mice through a mechanism involving cellular free thiols. **J Nutr**. v.140, p.1155–1161, 2010.

HOTZ C e BROWN KH. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 25, p. S91–S204, 2004.

HUSSMAN JP. Supressed GABAergic inhibition as a common factor in suspected etiologies of autism. **J of Autism Dev Dis**. 2001.

INSTITUTE OF MEDICINE, FOOD AND NUTRITION BOARD. Dietary Reference Intakes: Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. National Academy Press, Washington, DC, 2000.

JOHNSON CR; HANDEN BL; COSTA M; SACCO K. Eating Habits and Dietary Status in Young Children with Autism. **J Dev Phys Disabil**, v. 20, p. 437-448, 2008.

JORY J; MCGINNIS WR. Red-Cell Trace Minerals in Children with Autism. **Am J Biochem Biotechnol** v.4, p.101-104, 2008.

KANNER L. (1943). "Autistic disturbances of affective contact". *Nerv Child* 2: 217–50, Kanner, L (1968). "Reprint". **Acta Paedopsychiatr** v.4, p.100–136.

KASAMA T; SUZUKI H; TANAKA H; HIRAYAMA Y. Hair copper and zinc concentrations in the Rett syndrome. **Brain Dev**; v.11, p.433-435, 1989.

KEEN CL; GERSHWIN ME. Zinc deficiency and immune function. **Annu Rev Nutri**, v.10, p. 415-431, 1990.

KERN DAGJK; KING PG; SYKES LK; GEIER MR. Hair Toxic Metal Concentrations and Autism Spectrum Disorder Severity in Young Children. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v.9, p. 4486-4497, 2012.

KLIN A. Autismo e Asperger: uma visão geral. **Rev Bras Psiquiatr**. v. 28, p. S3 – S11, 2006.

KLEIN EA; THOMPSON IMJR; CATHERINE M; CROWLEY JJ; SCOTT ML; PHYLLIS J, GOODMAN; MINASIAN LM; FORD LG; PARNES HL; GAZIANO JM; KARP DD; LIEBER MM; WALTHER JP; KLOTZ L; PARSONS JK; CHIN JL; DARKE AK; LIPPMAN SM; GOODMAN GE; MEYSKENS FL; BAKER LH. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the selenium and vitamin E cancer prevention. Trial (SELECT). **J Am Med Assoc**, v.306, p. 1549–1556, 2011.

KOURY JC; DONANGELO CM. Homeostase de cobre e atividade física. **Rev. de Educ. Fis.** v. 136, p. 47-56, 2007.

LAKE CR; ZIEGLER MG; MURPHY DL. Increased norepi-nephine levels and decreased dopamine-beta-hydroxy- lase activity in primary autism. **Arch Gen Psychiatry**, v.34, p. 553–556, 1977.

LATAVAYOVA L; KOVÁ V; BROZMANOVÁ J. *et al*: Selenium: from câncer prevention to DNA damage, **Toxicology**, v.1, p. 227, 2006.

LEVY SE; SOURDERS MC; ITTENBACH RF; GIARELLI E; MULBERG AE; PINTO-MARTIN JA. Relationship of dietary intake to gastrointestinal symptoms in children with autistic spectrum disorders. **Biological Psychiatry**, v. 61. p. 492-497, 2007.

LIGHTDALE JR; SIEGEL B; HEIMAN MB. Gastrointestinal symptoms in autistic children. **Clinical Perspect in Gastroenterol**, v.1, p. 56-58, 2001.

LINDER MC; WOOTEN L; CERVEZA P; COTTON S; SHULZE R; LOMELI N. Copper transport, **Am J Clin Nutr**, v. 67, p. 965S-971S. 1998.

LUKENS CT; LINSCHIED TR. Development and Validation of an Inventory to Assess Mealtime Behavior Problems in Children with Autism. **J Autism Dev Disord**. v. 38, p. 342-352, 2008.

MACEDO EMC; AMORIM MAF; SILVA ACS; CASTRO CMMB. Efeitos da deficiência de cobre, zinco e magnésio sobre o sistema imune de crianças com desnutrição grave. **Rev Paul Pediatr**, v. 28, p.329-36, 2010.

MADSEN E; GITLIN JD. Copper and iron disorders of the brain. **Annu Rev Neurosci**, v. 30, p.317–337, 2007.

MAFRA D; COZZOLINO SMF. Importância do zinco na nutrição humana. **Rev Nutr**, v. 17, p. 79-87, 2004.

MAHAN LK; ESCOTT-STUMP S; RAYMOND JL. **Krause's Food and Nutrition Care Process**, 13 ed, ELSIVIER, 2012.

MARET W. The function of zinc metallothionein: a link between cellular zinc and redox state. **J Nutr**, v.130, p. 1455S-1458S, 2000.

MERIAN E; ANKE M; IHNAT M; STOEPPLE M. Elements and their compounds in the environment. Occurrence, analysis and biological relevance. Weinheim: Ed. VCA. v.7, p.1365- 1392, 2004.

MCCALL KA; HUANG CC; FIERKE CA. Function and mechanism of metalloenzymes. **J Nutri**, v. 130, p. 143s-146s, 2000.

MCGINNIS WR. Oxidative stress in autism. **Altern Ther Health Med**. v.10, p. 22–36. 2004.

MONTIEL-NAVA C; PEÑA JA. Epidemiological findings of pervasive developmental

disorders in a Venezuelan study. *Autism*. v. 2, p. 191-202, 2008.

MOURA MF; WELCH RM; NUTTI MR; CARVALHO JLV; WATANABE E. Evidences of selenium deficiency in Brazil: from soil to human nutrition. In: International Conference of selenium in the environment and human nutrition. **University of Science and Technology of China Press**. p. 73-74, 2009.

MUTTER J; NAUMANN J; SCHNEIDER R; WALACH H; HALEY B. Mercury and autism: accelerating evidence. **Neuro Endocrinol Lett**. vol 26, p. 439–446, 2005.

MUKHOPADHYAY CK; FOX PL. Ceruloplasmin copper induces oxidant damage by a redox process utilizing cell-derived superoxide as reductant. **Biochemistry**, v. 37, p. 14222-14229, 1998.

MUNTAU AC; STREITER M; KAPPLER M; RÖSCHINGER W; SCHMID I; REHNERT A; SCHRAMEL P; ROSCHER AA. Age-related reference values for serum selenium concentrations in infants and children. **Clin Chem**, v.48, p.555-560, 2002.

NACIONAL INSTITUTE OF HEALTH, Zinc - Fact Sheet for Health Professionals, Disponível em: acessado em 22/03/20114.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, GENEBRA. Elementos traço na nutrição e saúde humanas. São Paulo, Roca, 1998.

PALMER RF, BLANCHARD S, WOOD R. Proximity to point sources of environmental Mercury realease as a predictor of autismo prevalence. *Health Place* v.15, p.18-24, 2009.

PALMER RF; BLANCHARD S; STEIN Z; MANDELL D; MILLER C. Environmental Mercury release, special education rates and autismo disorder: an ecological study of Texas. **Health Place**, v.12, p.203-209, 2006.

PARRACHO HMRT; BINGHAM MO; GIBSON, GR; McCARTNEY AL. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. **J Med Microbiol**, v.54, p. 987-991, 2005.

PEDROSO MF; LIMA I V. Ecotoxicologia do cobre e seus compostos. Salvador. **Série Cadernos de Referência Ambiental**, v.2, 2001.

PEREIRA A; PEGORARO LFL; CENDES F. Autismo e Epilepsia: Modelos e Mecanismos. **J Epilepsy Clin Neurophysiol**, v.18, p. 92-96, 2012.

PETROSKI EL. Antropometria – Técnicas e Padronizações. Porto Alegre. 2º Ed. Pallotti, 2003.

PRASAD AS. Discovery of human zinc deficiency: impact of human health. **Nutrition**, v.17, p.685-686, 2001.

PRIYA MDL; GEETHA A. Level of Trace Elements (Copper, Zinc, Magnesium and Selenium) and Toxic Elements (Lead and Mercury) in the Hair and Nail of Children with Autism. **Biol Trace Elem**, v.142, p.148–158, 2011.

POWELL SR. The Antioxidant Properties of Zinc. **Am Soc Nutr Scienc**. v. 130, p. 1447S-1454S, 2000.

QIAN J; NOEBELS JL. Visualization of transmitter release with zinc fluorescence detection at the mouse hippocampal mossy fibre synapse. **J Physiol**, v.566, p. 747–758, 2005.

RAYMAN MP. Selenium and human health. **The Lancet**. vol 379, p. 1256-1268, 2012.

RAYMAN MP. The importance of selenium to human health. **The Lancet**, v. 356, p. 233–241, 2000.

REGO SWSE. Autismo - Fisiopatologia e biomarcadores. [Dissertação- Universidade da Beira Interior]. Covilhã, 2012.

REICHELT KL; KNIVSBERG AM, The possibility and probability of a gut-to-brain connection in autismo, **Annals of Clinical Psychiatry**, v.21, p. 205-211, 2009.

RIBEIRO RQC; LOTUFO PA; LAMOUNIER JA; OLIVEIRA RG; SOARES JF; BOTTER DA. Fatores Adicionais de Risco Cardiovascular Associados ao Excesso de Peso em Crianças e Adolescentes. O Estudo do Coração de Belo Horizonte. **Arq Bras Cardiol**. v.86, 2006.

RIBEIRO IP; FREITAS M; OLIVA –TELES N. As Perturbações do Espectro do Autismo – Avanços da Biologia Molecular. *Nascer e Crescer*, vol. 22, 2013.

RICE C. Prevalence of autism spectrum disorders- **autism and developmental disabilities monitoring network**. United States, v. 58, p. 1-20, 2009.

ROSS AC; CABALLERO B; COUSINS RJ; TUCKER KL; ZIEGLER TR. **Modern Nutrition in Health and Disease**. 11th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2012.

ROTRUCK JT; POPE AL; GANTHER HE; SWANSON AB; HAFEMAN DG; HOEKSTRA WG. Selenium: Biochemical Role as a Component of Glutathione Peroxidase. **Science**, v. 179, p. 588-590, 1973.

RUSSO AJ; BAZIN AP; BIGEGA R; CARLSON III RS; COLE MG, et al. Plasma Copper and Zinc Concentration in Individuals with Autism Correlate with Selected Symptom Severity. **Nutrition and Metabolic Insights**. 2012.

RUSSO AJ; DEVITO R. Analysis of copper and Zinc plasma concentration and the Efficacy of Zinc Therapy in Individuals with Asperger's Syndrome, Pervasive Developmental Disorder Not Otherwise Specified (PDD-NOS) and Autism. **Biomarker Insights**, v.6, p. 127–133, 2011.

RUSSO, A.J. Decreased serum cu/Zn sOD in children with Autism. **Nutrition and Metabolic Insights**, v.2, p.27–35: 2009.

RUSSO, A. F. Anti-metallothionein IgG and levels of metallothionein in autistic families. **Swiss Medical Weekly**, v.138, p.70–77, 2008.

SANDSTEAD HH, Understanding Zinc: recent observations and interpretations. **J Lab Clin Med**, v.124, p 322-327, 1994.

SALGUEIRO MJ; ZUBULLAGA M; LYSIONEK A; SARABIA M; CARO PT; HAGER A; WEILL R; BOCCIO J. Zinc as an essential micronutrient: a review. **Nutricion Res.** v. 20, p. 737-755, 2000.

SANTOS EF; BERNARDI L; BRECAILO MK. Análise do Comportamento Seletivo de Indivíduos com a Desordem do Espectro Autista. *Nutrire*, v.38, p.232-232, 2013.

SARGENTELLI V; MAURO AE; MASSABNI AC. Aspectos do metabolismo do cobre no homem. **Química Nova**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 290- 293, 1996.

SCHOPLER E; REICHLER R; RENNER B. Childhood autism rating scale (CARS). **Western Psychol Serv.** Los Angeles, 1986.

SCHRECK KA; WILLIAMS K; SMITH AF. A comparison of eating behaviors between children with and without autism. **J Autism Dev Disord.** v. 34, p. 433-438, 2004.

SHARMA A; PATNI B; SHANKHDHAR D; SHANKHDHAR SC. Zinc - an indispensable micronutrient. **Am. Fam. Phys**, v. 79, p. 768-772, 2009.

SHILS ME; OLSON JA; SHIKE M; ROSS AC. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença.** v.1, Ed. 9. São Paulo: Manole, 2003.

SCHWARTZMAN JS. Síndrome de Rett. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 2, p.110-113, 2003.

SCHÜMANN K; CLASSEN HG; DIETER HH; KONIG J; MULTHAUP G; SUMMER K H; BEMHARDT J; BIESALSKI HK; 2002, Hohenheim consensus workshop: copper, **Europ J Clin Nutri**, v. 56, p.469-483, 2002.

SCHWARZ K; MOLTZ CM. Selenium as an integral part of a factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. **J Am Chem Soc**. v.70, p. 3292-3293, 1957.

SMITH RA; FARNWORTH H; WRIGHT B; ALLGAR V. Are there more bowel symptoms in children with autism compared to normal children and children with other developmental and neurological disorders? **Autism**, Stanford, v. 13, p. 343-355, 2009.

SILVA NI. Relação entre hábito alimentar e síndrome do espectro autista. 132f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - **Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, Piracicaba, 2011.

STEINBRECHER A; MÉPLAN C; HESKETH J; SCHOMBURG L; ENDERMANN T; JANSEN E; AKESSON B; ROHRMANN S; LINSEISEN J. Effects of selenium status and polymorphisms in selenoprotein genes on prostate cancer risk in a prospective study of European men. **Cancer Epidemiol Biomark Prev**. v.19 p. 2958-2968, 2010.

TAKEDA A; ITOH H; IMANO S; OKU N. Impairment of GABAergic neurotransmitter system in the amygdala of young rats after 4-week zinc deprivation. **Neurochem Int**, v.49, p.746–750, 2006.

TAKEMOTO AS; BERRY MJ; BELLINGER FP. Role of selenoprotein P in Alzheimer’s disease. **Ethn Dis**, v.20, p.92-95, 2010.

TAMANAHARA AC; PERISSINOTO J; CHIARI BM. Uma breve revisão histórica sobre a construção dos conceitos do autismo infantil e da síndrome de asperger. **Rev Soc Bras Fonoaudiol**, v. 13, p. 296-299, 2008.

THAKUR S; GUPTA N; KAKKAR P. Serum copper and zinc concentrations and their relation to superoxide dismutase in severe malnutrition. **Eur J Pediatr**, v, 163, p. 742-744, 2004.

TORRENTE F; ASHWOOD P; DAY R; MACHADO N; FURLANO RI; ANTHONY A; DAVIES SE; WAKEFIELD AJ; THOMSON MA; WALKER-SMITH JA; MURCH SH. Small intestinal enteropathy with epithelial IgG and complement deposition in children with regressive autism. **Mol Psychiatry**, v. 7, p. 375-382, 2002.

TURSKI LM; THIELE DJ. New Roles for Copper Metabolism in Cell Proliferation, Signaling, and Disease. **J Biol Chem**, v. 284, p. 717-721, 2008.

UAUY R; OLIVARES M; GONZALEZ M. Essentiality of copper in humans, **Am J Clin Nutri**, v.67, p.952S-959S, 1998.

VERGANI L; LANZA C; RIVARO P; ABELMOSCHI ML; GENTI S; VENESELLI E; MINNITI G; GRASSELLI E; CANESI L; VOCI A. Metals, metallothioneins and oxidative stress in blood of autistic children. **Res Autism Spect Dis**, v.5, pg. 286–292, 2011.

WAKEFIELD AJ; MUCH SH; ANTHONY A; THOMPSON MA.; MONTGOMERY SM; DAVIES SE; O'LEARY JJ; BERELOWITZ M; WALKER-SMITH JA. Enterocolitis in children with developmental disorders. **Am. J. Gastroenterol**, v. 95, p. 2285-2295, 2000.

WALSH WJ; USMAN A; TARPEY J; KELLY T. Metallothionein and Autism [Monografia], 2 ed. Naperville, IL: **Health Research Institute Pfeiffer Treatment Center**, 2002.

WALKER-SMITH, J; ANDREWS J. Alpha-1-antitrypsin, autism, and coeliac disease. **Lancet**, v. 2, p. 883-884, 1972.

WINDHAM B. Annotated bibliography: health effects related to mercury from amalgam fillings and documented clinical results of replacement of amalgam fillings, 1999.

WYNGAARDEN JB; SMITH LH; BENNETT JC. editors Cecil. **Tratado de Medicina Interna**. 19^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v. 1, 1992, p. 1204-1207

XIA Y; HILL KE; BYRNE DW; XU J; BURK RF. Effectiveness of selenium supplements in a low-selenium area of China **Am J Clin Nutr** v.81, p. 829–834, 2005.

XIA W; ZHOU Y; SUN C; WANG J; WU L. A preliminary study on nutritional status and intake in Chinese children with autism. **Eur J Pediatr**. v. 169. p. 1201-1206. 2010.

ZUCKERMAN KE; HILL AP; GUION K; VOLTOLINA L; FOMBONNE E. Overweight and Obesity: Prevalence and Correlates in a Large Clinical Sample of Children with Autism Spectrum Disorder. **J Autism Dev Disord**, 2014.

APÊNDICE 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

Seu filho (a) foi convidado a participar em uma pesquisa e você vai decidir se quer que ele participe ou não. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte todas as dúvidas que tiver. Este estudo está sendo conduzido pela Pesquisadora Paula Fabiana Saldanha Tschinkel. A enfermeira Vanessa Cristina Schroder Rosa procederá a coleta de material.

Por que o estudo está sendo feito?

A finalidade deste estudo é verificar as concentrações plasmáticas do zinco, cobre e selênio em crianças com autismo e em conjunto avaliar a estado nutricional. Com o objetivo de avaliar o perfil do metabolismo mineral e nutricional neste grupo.

Quem participará deste estudo?

Poderão participar deste estudo, após o consentimento dos pais ou responsável, 20 crianças autistas.

Como será feito a verificação das concentrações plasmáticas dos minerais?

As dosagens serão feitas através de uma coleta de sangue que será realizada no laboratório de metabolismo e nutrição do NHU/UFMS.

Que prejuízo pode acontecer com a criança analisada?

Não esperamos que tal fato ocorra.

Que benefício eu posso esperar?

O seu filho estará contribuindo para a realização de um estudo onde, a partir dos resultados, muitas conclusões poderão ser tiradas. Poderemos mantê-lo informado dos resultados se assim desejar.

Quem poderá ver os registros e saber se quem está participando?

Se você permitir a participação no estudo, o nome e identidade dos participantes serão mantidos em sigilo. A menos que requerido por lei, somente o pesquisador, e a equipe do estudo, terão acesso as informações.

Quem deve chamar se tiver qualquer dúvida ou problema?

A Pesquisadora Paula Fabiana Saldanha Tschinkel pelo telefone (67) 9222-4529 o qual será disponibilizado todos os dados, e para esclarecimentos éticos ou denúncia o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS pelo telefone (67) 3345-7187.

Eu posso recusar a participar ou pedir para sair do estudo?

Sua participação no estudo é voluntária. Você pode escolher não fazer parte do estudo ou desistir a qualquer momento. A recusa em participar do estudo não influenciará em nada em seu tratamento.

Você receberá uma via assinada deste termo de consentimento.

Declaro que li e entendi esse formulário de consentimento e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas e que assino voluntariamente este termo para este estudo.

Nome do paciente _____

Assinatura e nome do responsável _____

Assinatura do pesquisador _____ data _____

A Pesquisadora Paula Fabiana Saldanha Tschinkel pelo telefone (67) 9222-4529

APÊNDICE 2 – Protocolo de coleta

Prontuário nº: _____

Data: ____/____/____

Identificação:

Sangue/ Amostra:

Tubo Número:

Melhor dia para consulta:

Nome criança:.

Idade/ Nasc.:.

Telefones celular e residencial com nome de contato:

Responsável:

Naturalidade:

Endereço completo:

Procedência:

Email:

História:

MEDICAÇÃO E SUPLEMENTOS EM USO ATUALMENTE:

Doenças Atuais e pregressas:

EXAMES:

Antecedentes Familiares:

Antropometria:

H:

Peso:

Pressão:

Circunferência braço (CB):

Pregas cutâneas do tríceps (PCT):

Acompanhamento Nutricional/ Evolução:

ANEXO 1 - Aprovação do Comitê de Ética em Seres Humanos

UFMS

**PARECER DO COLEGIADO****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: ¿PERFIL DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS: CÁLCIO, COBRE, MAGNÉSIO, SELÊNIO E ZINCO DE CRIANÇAS COM AUTISMO¿

Pesquisador: Paula Fabiana Saldanha Tschinkel

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 08399612.5.0000.0021

Instituição Proponente: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 132.431

Data da Relatoria: 25/10/2012

Apresentação do Projeto:

Essa pesquisa interdisciplinar é relevante porque fará enfoque na análise do cálcio, cobre, magnésio, selênio e zinco nas crianças portadoras de autismo. A pesquisa abrangerá 4 áreas diferentes: a química bioinorgânica, metabolismo mineral, a nutrição e a pediatria. A pesquisa permitirá estabelecer de modo objetivo a dinâmica do cálcio, cobre, magnésio, selênio e zinco na criança portadora desta grave doença neurológica. Esperase com este estudo verificar o comportamento destes minerais na criança autista, visando contribuir para o preenchimento de lacunas existente na literatura em relação a este assunto.

Objetivo da Pesquisa:

- Verificar as concentrações plasmáticas do zinco, magnésio, cobre, selênio e cálcio em crianças com autismo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme consta no projeto não caracteriza pesquisa (rotina do laboratório). Enquanto pesquisa deverá ser informado os riscos no projeto e no TCLE, como, possível hematoma, sangramento, desconforto devido a utilização de agulha.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de relevância social.

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS

Bairro: Caixa Postal 549

CEP: 79.070-110

UF: MS

Município: CAMPO GRANDE

Telefone: ((67) 33)45-7-187

Fax: ((67) 33)45-7-187

E-mail: bioetica@propp.ufms.br

Edison dos Reis
Vice-coordenador
CEP/UFMS

UFMS

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Adequado.

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Adequado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPO GRANDE, 26 de Outubro de 2012

Assinado por:
Edilson dos Reis
(Coordenador)

Edilson dos Reis
Vice-coordenador
CEPIUMS

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS**Bairro:** Caixa Postal 549**CEP:** 79.070-110**UF:** MS**Município:** CAMPO GRANDE**Telefone:** ((67) 33)45-7-187**Fax:** ((67) 33)45-7-187**E-mail:** bioetica@propp.ufms.br