

Mejora de la capacidad antioxidante en niños con autismo: un estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con proteína de suero de leche rica en cisteína

 Ana Maria Castejon ^{1*},  Jordan Ashley Spaw ¹,  Irina Rozenfeld ²,  Nurit Sheinberg ³,  Susan Kabot ³,  Alexander Shaw ¹,  Patrick Hardigan ⁴,  Rogerio Faillace ⁵ y  Edward E. Packer ⁵

- ¹ Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad Nova Southeastern, Fort Lauderdale, FL, Estados Unidos
- ² Centro de Investigación Colaborativa, Instituto de Medicina Neuroinmune, Universidad Nova Southeastern, Fort Lauderdale, FL, Estados Unidos
- ³ Centro Mailman Segal, Universidad Nova Southeastern, Fort Lauderdale, FL, Estados Unidos
- ⁴ Centro de Consulta Estadística, Facultad de Medicina Osteopática, Universidad Nova Southeastern, Fort Lauderdale, FL, Estados Unidos
- ⁵ Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina Osteopática, Universidad Nova Southeastern, Fort Lauderdale, FL, Estados Unidos

Estudios previos indican que los niños con trastorno del espectro autista (TEA) tienen niveles más bajos de glutatión. Las intervenciones nutricionales destinadas a aumentar los niveles de glutatión sugieren un efecto positivo en los comportamientos del TEA, pero los hallazgos son mixtos o no significativos. Un suplemento nutricional disponible

comercialmente que comprende un aislado de proteína de suero de leche rico en cisteína (CRWP), un potente precursor del glutatión, se encontró previamente que era seguro y efectivo para aumentar el glutatión en varias condiciones asociadas con una baja capacidad antioxidante. Por lo tanto, investigamos la efectividad de una intervención CRWP de 90 días en niños con ASD y examinamos si las mejoras intracelulares de glutatión oxidado y reducido se correlacionaban con cambios de comportamiento. Inscribimos a 46 (de 81 evaluados) niños en edad preescolar de 3 a 5 años con TEA confirmado. Utilizando un doble ciego, aleatorizado, En un diseño controlado con placebo, evaluamos la efectividad de CRWP diario (forma de polvo: 0,5 g/kg para niños <20 kg o una dosis de 10 g para aquellos >20 kg), en comparación con placebo (proteína de arroz que imita la carga de proteína en el grupo de intervención), sobre los niveles de glutatión y los comportamientos de TEA evaluados mediante diferentes escalas de comportamiento, como la escala de calificación de autismo infantil, la escala de lenguaje preescolar, el cuestionario de comunicación social, la lista de verificación de comportamiento infantil y la escala de comportamiento adaptativo de Vineland calificada por los padres, 2.^a edición (VABS-II) . Cuarenta niños (CRWP, 21; placebo, 19) completaron el período de tratamiento de 90 días. Las mejoras observadas en algunas escalas de comportamiento fueron comparables. Sin embargo, la evaluación conductual VABS-II, $p = 0,03$). Además, varios puntajes de dominio VABS-II, como el comportamiento adaptativo ($p = 0,03$), la socialización ($p = 0,03$), el comportamiento inadaptado ($p = 0,04$) y el comportamiento de internalización ($p = 0,02$) también indicaron cambios significativos. Los niños asignados al grupo CRWP mostraron aumentos significativos en los niveles de glutatión ($p = 0,04$) en comparación con los del grupo placebo. Un subanálisis de los resultados de la escala VABS-II que comparó a los respondedores (cambio de >1 DE desde el inicio hasta el seguimiento) y los que no respondieron en el grupo CRWP identificó la edad más avanzada y los niveles más altos de glutatión total y reducido como factores asociados con una

respuesta. La intervención nutricional CRWP en niños con ASD mejoró significativamente tanto los niveles de glutatión como algunos comportamientos asociados con ASD. Se necesitan más estudios para confirmar estos resultados.

Registro de ensayos clínicos: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01366859> , identificador: NCT01366859.

Introducción

El autismo es un trastorno complejo del neurodesarrollo que afecta a 1 de cada 54 niños en los Estados Unidos, con cuatro veces más hombres diagnosticados que mujeres (1). El autismo se estandarizó por primera vez como un trastorno mental en 1980 (2), pero su etiología exacta sigue sin determinarse. El espectro de deficiencias observadas en este trastorno ha acuñado el término genérico "Trastorno del espectro autista" (TEA). La quinta edición del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-V) define el TEA como “deficiencias en la interacción social y la comunicación junto con conductas e intereses restringidos y repetitivos” (American Psychiatric Association 2013) (3). Los síntomas clínicos se utilizan para diagnosticar niños con ASD alrededor del inicio a los 3 años. Se utiliza una miríada de evaluaciones de comportamiento para propósitos de diagnóstico, con el Programa de Observación de Diagnóstico de Autismo (ADOS) (4 , 5) como el estándar de oro. A pesar de la extensa investigación, no se ha detectado ningún biomarcador definitivo para el diagnóstico o el tratamiento (6). Los programas de intervención temprana y la educación especial son los más efectivos para las personas con este trastorno del neurodesarrollo y, aunque los resultados de la intervención temprana varían, todos los niños se benefician (7). Una combinación de análisis de comportamiento aplicado junto con otras terapias educativas, del desarrollo, ocupacionales y del habla se aplica comúnmente a los niños afectados con resultados limitados (8). Por lo

tanto, la necesidad de otros tratamientos efectivos para los síntomas centrales del TEA es apremiante.

La heterogeneidad del TEA se puede observar en los sistemas neurológico, metabólico, inmunológico, etc. (9 , 10). Por lo tanto, se especula que es un trastorno multifactorial que involucra factores epigenéticos, genéticos y ambientales. El estrés oxidativo puede servir como enlace entre los diferentes sistemas afectados en esta condición (10). El estrés oxidativo ocurre cuando hay un desequilibrio entre las especies reactivas de oxígeno (ROS) y/o las especies reactivas de nitrógeno y la capacidad antioxidante. El glutatión, el principal antioxidante endógeno, es la principal defensa del cuerpo contra el daño de las ROS y es bajo en las personas con TEA (11-20) .

Los metabolitos en las vías de transmetilación y transsulfuración, responsables de la producción de glutatión, están desequilibrados en las personas con este trastorno. Los niños con ASD también tienen disminuciones significativas en los niveles de metionina y la proporción de S-adenosilmetionina (SAM) en plasma a S-adenosilhomocisteína (SAH) (relación SAM: SAH), un índice de la capacidad de metilación (16 , 21 , 22) .

Lo que es más importante, los niños con ASD también tienen niveles reducidos de glutatión total y la forma reducida o activa de glutatión (16 , 17). La cisteína, el aminoácido limitante de la velocidad en la síntesis de glutatión, se reduce significativamente en los niños con TEA en relación con los niños de control, lo que sugiere que la síntesis de glutatión es insuficiente para mantener la homeostasis redox (16). Estas disminuciones significativas en el glutatión plasmático total y libre y la relación redox (glutatión reducido activo: glutatión oxidado inactivo) en niños con ASD son de particular preocupación debido a la importancia de este sistema para la función celular normal. Aunque las intervenciones nutricionales anteriores que abordaron la capacidad antioxidante han mejorado con éxito los niveles de glutatión, la asociación entre estos cambios y el comportamiento autista ha sido menos convincente. Por ejemplo, la N-acetilcisteína (NAC), que tiene

un mecanismo de acción similar al suplemento utilizado en este estudio, fue eficaz para mejorar la irritabilidad en niños con TEA (23). Sin embargo, en un estudio más reciente que usó NAC, la producción de glutatión aumentó pero no hubo una mejora significativa en las habilidades sociales en jóvenes con TEA (24). También se han investigado otros suplementos, como la metilcobalamina, el ácido fólico, el ácido folínico, la sapropterina (una forma sintética de tetrahidrobiopterina) y los tratamientos combinados para mejorar la capacidad antioxidante y/o los comportamientos del TEA en función de las anomalías en las vías de transmetilación/transsulfuración y su eficacia. parece prometedor (25 – 30). Los ácidos grasos omega 3, la vitamina C, la vitamina D y el sulforafano también se han estudiado en los TEA, dirigidos contra el estrés oxidativo a través de diferentes mecanismos de acción con resultados variables (25 , 31 – 35). Otras intervenciones dietéticas, incluidos los ácidos grasos esenciales, la carnitina, las enzimas digestivas y una dieta sin gluten, sin caseína y sin soya, también han demostrado beneficios para mejorar el coeficiente intelectual no verbal y los síntomas del TEA en niños con TEA durante un año (36). Dado que las alternativas farmacológicas que solo se dirigen a condiciones comórbidas específicas son limitadas, y con una carga significativa de efectos secundarios, se justifican estudios adicionales que utilicen medicina complementaria y alternativa para el tratamiento de los TEA. Un suplemento nutricional compuesto por un aislado de proteína de suero rico en cisteína (CRWP) que sirve como un potente precursor de glutatión, Immunocal®, está disponible comercialmente. Las proteínas específicas de este suplemento, como la lactoferrina, la albúmina sérica, la alfa-lactoalbúmina y las inmunoglobulinas, son ricas en cisteína y residuos de cistina, que están biodisponibles para la absorción celular y la posterior síntesis de glutatión. En ensayos clínicos anteriores, CRWP pudo elevar los niveles de glutatión en personas con enfermedad pulmonar obstructiva (37), disfunción hepática en pacientes con hepatitis B crónica (38), fibrosis quística

(39) y atletas sanos (40 , 41). CRWP resultó ser seguro y tolerable en un estudio abierto de 6 semanas en niños con ASD, lo que demuestra una tendencia hacia una mejora en los comportamientos autistas (40).

En este estudio, utilizamos un diseño doble ciego controlado con placebo para explorar la eficacia de una intervención de 90 días con un suplemento nutricional que contiene CRWP para tratar los síntomas conductuales centrales del TEA y elevar los niveles de glutatión en niños en edad preescolar de 3 a 5 años. con TEA. También investigamos si las mejoras en el glutatión intracelular se correlacionaban con cambios de comportamiento. Se utilizó una batería de evaluación conductual integral y específica para la edad que utilizaba un total de ocho pruebas diferentes para evaluar qué áreas centrales del TEA podrían verse afectadas por esta intervención.

Materiales y métodos

Este estudio se adhirió a las pautas CONSORT y fue aprobado por la Junta de Revisión Institucional de la Universidad Nova Southeastern en Fort Lauderdale, FL, EE. UU. Se registró en los Institutos Nacionales de Salud de EE. UU. ([ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01366859)) #NCT01366859. Los padres de los participantes dieron su consentimiento informado por escrito (visita 1). Este estudio doble ciego controlado con placebo se realizó entre mayo de 2011 y octubre de 2016 en la Universidad Nova Southeastern (Fort Lauderdale, FL, EE. UU.) en tres ubicaciones: El Centro Mailman Segal (consentimiento informado y evaluaciones de comportamiento: visitas 1, 3, 4, 5, 6 y 7), Nova Southeastern University Clinic (visitas pediátricas 2 y 8, incluido el muestreo de sangre), y las muestras de sangre se cuantificaron en la Facultad de Farmacia.

Población de estudio

Los participantes fueron reclutados del sur de la Florida por el Centro Mailman Segal utilizando un muestreo de bola de nieve, en el que se reclutan participantes adicionales al escuchar sobre el estudio de los participantes iniciales. Inicialmente, los diagnósticos de TEA fueron autoinformados por los padres; sin embargo, se confirmaron después de la inclusión en el estudio de acuerdo con los criterios del Manual Estadístico de Diagnóstico (DSM-IV y DSM-V) evaluados por psicólogos clínicos utilizando la prueba ADOS y Autism Diagnostic Interview-Revised (ADI-R) al inicio del estudio. Los criterios de inclusión incluían que los participantes tuvieran TEA y tuvieran entre 3 y 5 años de edad al comienzo y durante el período de prueba.

Los criterios de exclusión incluyeron: (i) alergias a la leche, arroz o nueces; (ii) problemas médicos importantes, incluidas enfermedades cardíacas, hepáticas, endocrinas o renales; (iii) antecedentes de trastorno convulsivo o déficit neurológico grave; (iv) tratamiento concomitante con medicación psiquiátrica; (v) suplementación de la dieta actual con N-acetilcisteína, ácido alfa-lipoico, proteína de suero de leche o dosis multivitamínicas de vitamina B12 o ácido fólico superiores a las normales; (vi) diagnóstico comórbido: síndrome de X frágil, esclerosis tuberosa, fenilcetonuria o síndrome alcohólico fetal o (vii) enfermedad aguda. Se excluyeron las condiciones comórbidas del síndrome X frágil, la esclerosis tuberosa, la fenilcetonuria o el síndrome alcohólico fetal porque estos niños presentan algunas características conductuales autistas, pero se conoce el origen. Los investigadores no realizaron pruebas genéticas para confirmar el diagnóstico de exclusión. Sin embargo, los pediatras de los niños confirmaron los criterios de exclusión e inclusión completando el

Formulario de pediatra, que también proporcionó detalles sobre la salud general y el historial médico previo y la recomendación para participar en el ensayo. A los participantes de ambos grupos se les permitió continuar tomando multivitaminas, probióticos y otros medicamentos/suplementos siempre que no fueran los mencionados en los criterios de exclusión (es decir, que se sabe que elevan significativamente los niveles de glutatión).

Visitas de estudio

La línea de tiempo del estudio se muestra en la [Figura 1](#). La visita 1 (Centro Mailman Segal) consistió en una evaluación inicial de los criterios de inclusión y exclusión y el proceso de consentimiento informado. Solo después de que los padres acordaron inscribir a sus hijos en el estudio y firmaron un consentimiento informado, se recopiló un historial médico detallado, la ingesta actual de medicamentos/suplementos y cierta información demográfica sobre el niño y los padres. Los formularios del pediatra, para ser completados por los pediatras de los niños, también se entregaron a los padres/cuidadores en esta visita. El objetivo de este formulario era confirmar los criterios de inclusión/exclusión con el pediatra del niño e informar al médico sobre su participación en un ensayo clínico.

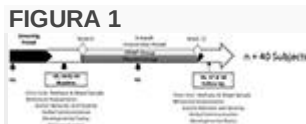


Figura 1. Línea de tiempo del estudio. CRWP, proteína de suero rica en cisteína; V1-V8, Visitas de estudio.

La visita 2 (Clínica de la Universidad Nova Southeastern) se programó después de que los padres devolvieran el formulario del pediatra. Esta cita consistió en un examen de bienestar realizado por pediatras de la Universidad Nova Southeastern para confirmar que, por lo demás, el niño gozaba de buena salud. En esta visita se obtuvo una muestra de

sangre para evaluar el glutatión reducido, oxidado y total como biomarcadores de estrés oxidativo. Se recogieron muestras separadas para evaluar la función hepática y renal, así como el hemograma y se enviaron a un laboratorio independiente (Quest Diagnostic™, Davie, FL). Los pediatras que participaron en este estudio pudieron confirmar la continuación o no en el estudio después de que los resultados del laboratorio clínico estuvieran disponibles.

Las visitas 3 y 4 para las mediciones de referencia (Mailman Segal Center) consistieron en evaluaciones de comportamiento realizadas por psicólogos clínicos de Nova Southeastern University. Estas visitas consecutivas se realizaron a más tardar 15 días después de la visita 2. Las ocho evaluaciones de comportamiento (ver a continuación) se dividieron entre estas dos visitas, con una duración promedio de 2 h cada una. Cuando fue necesario, se programó una tercera cita para evitar abrumar al niño con pruebas excesivas y minimizar los errores de evaluación. Estas dos visitas se programaron dentro de una ventana de 15 días. Al final de la visita 4, los niños fueron aleatorizados para recibir placebo (proteína de arroz) o intervención (CRWP) y los padres recibieron un diario para medir los efectos adversos o eventos inusuales, junto con el bote que contenía el producto del estudio en forma de polvo con un indicador de medición. cucharón.

La visita 5 (Centro Mailman Segal) se programó entre las semanas 6 y 7 (visita intermedia) para recolectar el polvo restante en el bote y los diarios de los padres y proporcionar nuevos botes para el siguiente período. En esta visita, se entregó a los padres una tarjeta de regalo de Walmart de \$25 como compensación. El propósito principal de esta visita fue evaluar el cumplimiento y registrar los eventos adversos.

Las visitas 6 y 7 para la evaluación de seguimiento en la semana 12 se realizaron como se indica para las visitas de línea de base 3 y 4. Los mismos psicólogos clínicos realizaron las pruebas de comportamiento en la misma secuencia que en la línea de base. Se instruyó a los padres para que continuaran con la dosis diaria del producto del estudio hasta la siguiente y última visita 8.

La visita 8, la visita de seguimiento/final (Clínica de la Universidad Nova Southeastern), se programó a más tardar siete días después de la visita 7 (semanas 12 y 13). La visita 8 se realizó como se indicó anteriormente para la visita 2. En este momento se recogieron el recipiente final y los diarios de los padres. Se entregó a los padres una tarjeta de regalo adicional de \$25 de Walmart después de completar esta visita.

Todas las familias cuyos hijos participaron y completaron el período de prueba de 90 días recibieron un formulario firmado por el investigador principal con instrucciones sobre cómo comunicarse con el fabricante de CRWP (Immunocal®, Immunotec Inc., Montreal, Canadá) para obtener el suplemento trimestralmente sin cargo. costo adicional por hasta 3 años (esto era voluntario si el padre firmaba y daba su consentimiento).

Intervención y Placebo

El grupo de intervención recibió CRWP, disponible comercialmente como Immunocal® y proporcionado por Immunotec® Inc. Cabe señalar que Immunocal® está incluido en Physician's Desk Reference (42). La proteína de arroz se usó como placebo para imitar la carga de proteína en el grupo de intervención y se obtuvo de Thera-Plantes Inc. (Montreal, Canadá). Ambos tratamientos CRWP (Immunocal®) y placebo (proteína de arroz) se proporcionaron a los padres y cuidadores en forma de polvo en botes sin etiqueta. Los niños de ambos brazos del estudio tomaron una dosis diaria de 0,5 g/kg para niños de menos de 20 kg o una dosis de 10 g para los de más de 20 kg durante al menos 90 días. Se dieron instrucciones claras a los padres y cuidadores sobre cómo reconstituir los polvos usando líquidos y/o alimentos evitando el uso de una licuadora o calor. A los padres se les dijo cómo medir la dosis usando cucharas medidoras proporcionadas por el personal del estudio. El tutor del niño recibió el CRWP o el

placebo al azar en forma de polvo en dos visitas diferentes. La primera mitad del producto requerido para el estudio (con algún exceso) se entregó en un bote en la visita 4. En la visita 5, al devolver los diarios, también se devolvió el bote para su pesaje para comprobar el cumplimiento, y la otra mitad del el producto del estudio se proporcionó en un recipiente nuevo durante el resto del estudio. Estos botes se devolvieron luego en la semana 12 (seguimiento), y se usaron el peso del bote y el producto restante y las entradas en el formulario del diario de los padres para evaluar el cumplimiento.

La aleatorización simple (1:1) fue realizada utilizando un sitio web de aleatorización por el coordinador de investigación clínica cegado. Se crearon identificadores únicos (números de aleatorización que coincidían con los números de recipiente) para corresponder con cada participante en el ensayo. Además, el coordinador de investigación clínica cegado también completó la ocultación de la asignación, que solo se compartió con el director de investigación clínica de la institución y que no participó en el estudio. Los investigadores del ensayo y los participantes desconocían la asignación de los pacientes a los grupos durante el ensayo. Todo el personal del estudio, los participantes y los padres/tutores legales estaban cegados a la asignación del grupo de tratamiento.

Mediciones de resultados

Todos los resultados primarios (medidas de comportamiento) y secundarios (niveles de glutatión intracelular y eventos adversos) se obtuvieron al inicio y al final del estudio. Se solicitó la devolución de los diarios entregados a los padres en las visitas 4 y 5 para registrar cualquier efecto secundario y/o eventos inusuales después de completar el estudio.

Evaluaciones de comportamiento

Se realizaron análisis de comportamiento en áreas de comportamiento y gravedad del TEA, comunicación, estado de desarrollo y problemas de comportamiento en las visitas iniciales 3 y 4, así como al final del estudio durante las visitas de seguimiento 6 y 7. Evaluadores capacitados administraron la batería de evaluaciones, ocho pruebas diferentes en total, durante un período de 2 días consecutivos. Los evaluadores lograron confiabilidad entre ellos antes de comenzar el proceso de evaluación para minimizar las fuentes de error; el mismo evaluador fue responsable de administrar la batería completa para un participante (línea de base y seguimiento). Además, los equipos de evaluación del comportamiento desconocían los resultados de los demás.

Se realizaron tres evaluaciones conductuales en el dominio de conductas y gravedad del TEA: (1) ADOS, (2) escala de calificación de autismo infantil (CARS) y (3) ADI-R. El ADOS y el ADI-R se utilizaron únicamente como medidas de criterios de inclusión. El ADOS es una evaluación semiestructurada administrada por un evaluador capacitado que consta de diversas actividades que permiten la observación de comportamientos sociales y de comunicación relacionados con el diagnóstico de TEA (5). En este estudio, a los participantes se les dio el Módulo 1 o el Módulo 2. El Módulo 1 está destinado a aquellos que no usan el lenguaje de frases de manera consistente, mientras que el Módulo 2 se usa para aquellos que usan el lenguaje de frases pero no tienen fluidez verbal. El CARS es una escala de calificación del comportamiento de 15 elementos que se utiliza para identificar a los niños con TEA y distinguir la gravedad del trastorno (43). El ADI-R es una entrevista integral administrada a los padres que brinda una evaluación exhaustiva de las personas con TEA (44). Se enfoca en tres dominios funcionales: lenguaje/comunicación, interacciones sociales recíprocas y comportamientos e intereses restringidos/repetitivos y estereotipados.

La comunicación se evaluó mediante el Cuestionario de Comunicación Social (SCQ) y la Escala de Lenguaje Preescolar 5ª Edición (PLS-5). El

PLS-5 proporciona una evaluación integral del vocabulario receptivo y expresivo de los niños y lo administra un evaluador capacitado (45). El SCQ es un instrumento breve que evalúa las habilidades de comunicación y el funcionamiento social en niños con TEA (46) y es completado por el cuidador principal del niño.

El estado de desarrollo de cada participante se midió utilizando las Escalas Mullen de Aprendizaje Temprano (MSEL) administradas por un evaluador capacitado y la Escala de Comportamiento Adaptativo de Vineland, 2da edición (VABS-II) completada por una entrevista con los padres. El MSEL es un sistema integrado en el desarrollo que evalúa las habilidades de lenguaje, motoras y perceptivas de los niños desde el nacimiento hasta los 68 meses de edad (47). Contiene cinco escalas: motricidad gruesa, recepción visual, motricidad fina, lenguaje expresivo y lenguaje receptivo. Esta evaluación identifica las fortalezas y debilidades de un niño y evalúa el desarrollo intelectual temprano y la preparación para la escuela. El VABS-II lo completa el cuidador principal del niño y es una medida de conducta adaptativa administrada individualmente, especialmente en aquellos con trastornos del desarrollo (48 , 49). Se puede dar desde el nacimiento hasta la edad adulta y se compone de los siguientes dominios: Comunicación (Receptivo, Expresivo, Escrito); Habilidades de la Vida Diaria (Personal, Doméstica, Comunitaria); Socialización (Relaciones Interpersonales, Juego y Tiempo Libre, Habilidades de Afrontamiento); Habilidades motoras (finas, gruesas) y un índice de comportamiento desadaptativo opcional (internalización, externalización y otros). El VABS-II se utiliza para evaluar la suficiencia personal y social con estos cuatro dominios principales.

Las preocupaciones de comportamiento se midieron mediante la Encuesta de Desarrollo del Lenguaje de la Lista de Verificación de Comportamiento Infantil 1½-5 (CBCL). El CBCL es un instrumento que se usa para calificar las conductas problemáticas y las competencias de un niño (50 , 51) y fue completado por el cuidador del niño.

Mediciones de glutatión

Se evaluaron los niveles intracelulares de glutatión reducido, oxidado y total en células sanguíneas de muestras de tratamiento y control recolectadas durante las semanas 0 (línea de base) y la semana 12 (seguimiento). Un flebotomista pediátrico capacitado realizó todos los procedimientos de extracción de sangre. Las muestras de sangre se recogieron mediante venopunción en tubos de preparación de células mononucleares Vacutainer® CPT™ (BD, Franklin Lakes, NJ) con heparina sódica, se colocaron inmediatamente en agua helada y luego se centrifugaron a $2000 \times g$ a 4 °C durante 10 min. Las cantidades de glutatión total reducido y oxidado se cuantificaron usando un método de Tietze modificado por Adams (52). Brevemente, en este ensayo de reciclaje de enzimas, el GSH se oxida mediante el ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoico) (DTNB), lo que resulta en la formación de GSSG y ácido 5-tio-2-nitrobenzoico (TNB). Luego, GSSG se reduce a GSH por la glutatión reductasa (GR) utilizando el equivalente reductor proporcionado por NADPH. La tasa de formación de TNB es proporcional a la suma de GSH y GSSG presentes en la muestra y se determina midiendo la formación de TNB a 412 nm. Los patrones que contenían la forma reducida de glutatión o la forma oxidada de glutatión de 20 a 0,015 uM en ácido sulfosalicílico al 2,5% se usaron como patrones para las curvas de calibración. La diferencia de absorbancia registrada a 412 nm antes y 6 minutos después de la adición de fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina en presencia de glutatión reductasa se utilizó para calcular la cantidad de glutatión total. El glutatión oxidado se cuantificó en presencia de vinilpiridina y trietanolamina utilizando el mismo procedimiento. El glutatión reducido se calculó restando la concentración de glutatión inactivo del contenido de glutatión total.

Medidas de seguridad

Cualquier evento adverso durante el curso del estudio fue monitoreado e informado al personal del estudio en la semana 6 (visita 5) o la semana 12 (visita 8) en la clínica o directamente al investigador principal durante todo el estudio. Los eventos adversos se consideraron relacionados con el tratamiento si comenzaron o empeoraron después del inicio del ensayo. Si eran persistentes o graves, se ofreció a los padres la opción de interrumpir el estudio.

Además, una filial local de Quest Laboratories (Davie, FL) evaluó la función hepática y renal y el hemograma en sangre y orina en las semanas 0 y 12. Los médicos revisaron el perfil metabólico completo y lo compararon con rangos de referencia conocidos.

Análisis estadístico

Los cálculos del tamaño de la muestra se realizaron al comienzo de este ensayo exploratorio ($n = 40$). Se calcularon estadísticos descriptivos para todas las variables del estudio. Esto incluyó medias y errores estándar de la media para datos continuos y conteos y porcentajes para medidas categóricas. Evaluamos las diferencias en las medidas demográficas entre los dos grupos al inicio mediante pruebas de chi-cuadrado.

Los grupos estaban cegados al estadístico para las diferencias entre los grupos de control y CRWP para todas las variables excepto para el análisis de respondedores versus no respondedores. Se realizó una serie de modelos lineales generalizados mixtos para buscar diferencias entre los grupos CRWP y placebo para las evaluaciones

fisiológicas. Todos los modelos incluyeron el género, las edades, las edades de las madres, las edades de los padres y las razas de los participantes como covariables. Se realizaron pruebas *post-hoc* utilizando un ajuste de Bonferroni. Para buscar diferencias en los cambios entre los grupos CRWP y placebo para las mediciones psicológicas, una serie de *t* pareadas y no pareadas. Las pruebas se realizaron utilizando un ajuste de Bonferroni. Se realizaron pruebas de dos colas a menos que se probara una hipótesis de dirección, en cuyo caso se utilizó una prueba de una cola. Se utilizó la D de Cohen para determinar el tamaño del efecto entre los dos grupos. RStudio y R-3.2.2 (53) (<https://cran.r-project.org/bin/windows/base/>) se utilizaron para todos los análisis estadísticos, y se aceptó la significancia en $p < 0,05$.

Resultados

Características de línea base

En este estudio se examinaron un total de 81 participantes; 46 fueron aleatorizados (CRWP, 21; placebo, 24). Un total de 40 participantes completaron el período de tratamiento de 90 días (CRWP, 21; placebo, 19). De los 24 asignados al azar al placebo, 22 recibieron la intervención asignada, dos no y tres interrumpieron la intervención antes de la visita de seguimiento. El grupo CRWP recibió 22 asignaciones y uno interrumpió la intervención antes de la visita de seguimiento (Figura 2).

FIGURA 2

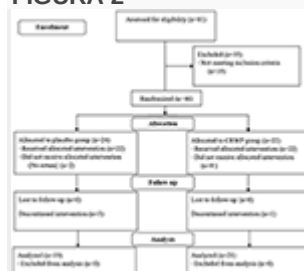


Figura 2 . Diagrama de flujo de la disposición de los participantes del estudio.

Al inicio del estudio, las características demográficas y de diagnóstico de los participantes fueron similares en ambos grupos ([Tabla 1](#)). La edad promedio ($\pm$ SEM) de los participantes en ambos grupos fue de 3,9 ($\pm$ 0,03) y 3,9 ($\pm$ 0,04) años en los grupos de placebo y CRWP, respectivamente. La mayoría de los participantes eran hombres (placebo = 83 % y CRWP = 90 %). Una amplia variedad de razas estuvo representada en el estudio, lo cual es indicativo de la diversidad dentro de la comunidad del Sur de la Florida. La información demográfica de los padres también fue similar entre los grupos, sin diferencias significativas en la edad media de los padres entre los grupos. Sin embargo, el porcentaje de madres que solo se graduaron de la escuela secundaria fue significativamente diferente en el grupo placebo en comparación con el grupo CRWP ($p= 0,04$). Tampoco hubo diferencias entre los grupos al inicio del estudio en términos de criterios de diagnóstico o puntajes en las evaluaciones ADI-R y ADOS ([Tabla 1](#)). Finalmente, no hubo diferencias significativas en los medicamentos/suplementos tomados por los grupos de placebo o CRWP.

TABLA 1

Participant information	Placebo (n = 24)	Intervention (n = 21)	p-value
Age (years)	3.9	3.9	0.72
Male, n (%)	20 (83)	19 (90)	0.48
Ethnicity, n (%)			
Hispanic	3 (13)	13 (62)	0.11
Not Hispanic or Latino	4 (17)	3 (14)	0.37
Race, n (%)			
Asian	9 (38)	1 (5)	0.28
Native Hawaiian or other Pacific Islander	1 (5)	0 (0)	0.34
Black or African American	7 (29)	3 (14)	0.23
White	11 (46)	12 (57)	0.45
Other	9 (38)	7 (33)	0.12
Paternal information			
Paternal age at child's birth (years)	30.8	30.2	0.77
High school graduate, n (%)	3 (13)	6 (29)	0.18
Some college/technical, n (%)	4 (17)	5 (24)	0.35
College/university, n (%)	11 (46)	8 (38)	0.18
Maternal information			
Maternal age at child's birth (years)	34.1	34.8	0.77
High school graduate, n (%)	4 (17)	9 (43)	0.04*
Some college/technical, n (%)	5 (21)	4 (19)	0.55
College/university, n (%)	17 (72)	10 (48)	0.88
Diagnostic characteristics			
ADI-R			
ADI-R (reciprocal social interaction)	12.9 $\pm$ 1.54	11.7 $\pm$ 1.47	0.41
ADI-R (verbal)	9.11 $\pm$ 1.02	10.2 $\pm$ 1.31	0.22
ADI-R (non-verbal)	8.42 $\pm$ 1.12	9.58 $\pm$ 1.10	0.42
ADI-R (restricted behavior)	9.08 $\pm$ 0.50	9.29 $\pm$ 0.49	0.90
Total	39.50 $\pm$ 1.71	39.11 $\pm$ 2.19	0.54
ADOS			
Composite Score Module 1	13.3 $\pm$ 1.10	14.3 $\pm$ 1.82	0.73
Composite Score Module 2	10.7 $\pm$ 1.48	11.2 $\pm$ 1.85	0.88

ADI-R, Autism Diagnostic Interview-Revised; ADOS, Autism Diagnostic Observation Schedule. Values are mean $\pm$ SEM.

Tabla 1 . Información demográfica para los grupos de intervención y placebo tomada al inicio.

Las evaluaciones de comportamiento al inicio del estudio se realizaron con éxito en 24 participantes en el grupo de placebo y 20 participantes en el grupo CRWP ([Tabla 2](#)). En general, las puntuaciones promedio

entre los grupos fueron similares para la mayoría de las evaluaciones de comportamiento; sin embargo, se observaron algunas diferencias. En la VABS-II, el grupo placebo tuvo una puntuación significativamente más alta en habilidades de la vida diaria ($p = 0,04$), habilidades de afrontamiento ($p = 0,02$), habilidades motoras ($p = 0,04$) y habilidades motoras finas ($p = 0,03$) en comparación con el grupo CRWP. Las puntuaciones más altas en la VABS-II indican conductas más adaptativas, lo que sugiere que el grupo placebo exhibió manifestaciones clínicas menos graves de TEA según esta medida. Además, en la Lista de Verificación de Comportamiento Infantil, el grupo CRWP tuvo puntajes T de problemas de estrés más altos ($p = 0.04$).

TABLA 2

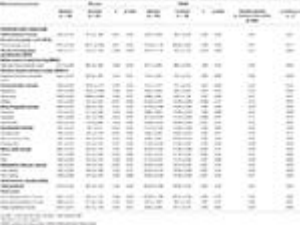


Tabla 2 . Cambios en las evaluaciones de comportamiento en el grupo placebo y CRWP desde el inicio hasta el seguimiento.

Al inicio, se midió la cantidad de glutatión total, glutatión oxidado, glutatión reducido y la proporción de glutatión oxidado a reducido en los leucocitos de los participantes. La Tabla 3 muestra estas mediciones iniciales para 24 participantes en el grupo de placebo y 20 participantes en el grupo CRWP (Tabla 3). No hubo diferencias significativas entre los grupos en ninguna de las mediciones de glutatión tomadas al inicio (Tabla 3).

TABLA 3



Tabla 3 . Cambio en los niveles de glutatión desde el inicio hasta el seguimiento en los grupos de placebo y CRWP.

Evaluaciones de comportamiento y mediciones de glutatión

Los cambios en las diferentes evaluaciones de comportamiento utilizadas en este estudio: CARS, PLS, SCQ, Mullen, VABS-II y CBCL para ambos grupos se muestran en [la Tabla 2](#). Al comparar los cambios iniciales con los de seguimiento en los grupos CRWP ($n = 21$) y placebo ($n = 19$), se observaron mejoras conductuales en ambos grupos; sin embargo, el grupo CRWP mejoró en más áreas que el grupo placebo.

Al comparar los cambios entre el inicio y el seguimiento en los dos grupos (Δ vs. Δ), no se observaron diferencias significativas a los 3 meses en las escalas de comportamiento CARS, PLS, SCQ o CBC ([Tabla 2](#)). Sin embargo, la evaluación conductual evaluada por los padres VABS-II demostró mejoras significativas en el grupo CRWP en comparación con el grupo placebo en la puntuación compuesta (tamaño del efecto 0,98; IC del 95 %: 1,42–4,02; $p = 0,03$). Además, se observaron cambios significativos en múltiples dominios/subdominios que representan diferentes aspectos de los comportamientos adaptativos asociados con los síntomas del TEA en el grupo de intervención. Específicamente, el dominio de socialización (tamaño del efecto 1,07; IC 95% 1,82–4,28; $p = 0,04$), habilidades de la vida diaria doméstica (tamaño del efecto 0,73; IC 95% 0,34–1,55; $p = 0,05$), dominio de comportamiento desadaptativo (tamaño del efecto 0,54; IC del 95 %: -1,12 a 0,10; $p = 0,04$) y subdominio de internalización (tamaño del efecto: 0,73; IC del 95 %: -1,40 a 0,34; $p = 0,02$) mostraron mejoras significativas con la suplementación CRWP después de 3 meses.

Los niveles de glutatión se evaluaron con éxito en 16 participantes en el grupo de placebo y 20 participantes en el grupo CRWP al final del estudio ([Tabla 3](#)). Se observaron mayores aumentos de glutatión total y reducido desde el inicio hasta el seguimiento en el grupo CRWP

([Figura 3](#)). Por el contrario, no se observaron cambios significativos en los niveles de glutatión total, reducido u oxidado en el grupo de placebo ([Tabla 3](#)). Después de la suplementación de 90 días, los cambios tanto en el glutatión total ($p = 0,02$) como en el reducido ($p = 0,04$) en el grupo CRWP fueron significativamente mayores que los cambios en el grupo placebo ([Tabla 3](#) ; [Figura 3](#)). Sin embargo, las mejoras en el comportamiento observadas con el VABS-II no se correlacionaron significativamente con los cambios en los niveles de glutatión.

FIGURA 3

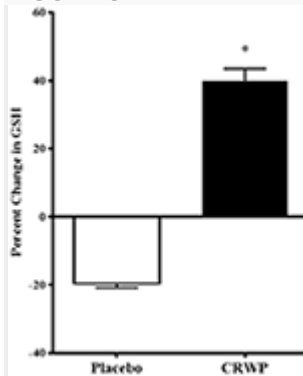


Figura 3 . Cambio porcentual desde el inicio de los niveles reducidos de glutatión en los grupos de placebo y CRWP. * $p < 0,05$. CRWP, proteína de suero de leche rica en cisteína.

Sub-análisis del Grupo CRWP

Debido a que hubo un número significativo de participantes en el grupo CRWP en quienes se observaron mejoras significativas en el comportamiento adaptativo utilizando el VABS-II, exploramos las características comunes en este grupo de respondedores. El objetivo de este subanálisis fue identificar características comunes en los que respondieron a la suplementación CRWP utilizando la evaluación VABS-II. Se usaron cambios de >2 puntos o 1 SD en las puntuaciones compuestas de VABS-II para discriminar a los "respondedores". De los 19 que completaron las evaluaciones conductuales en el grupo CRWP, 12 fueron identificados como respondedores frente a solo 5 de los 21

que completaron las evaluaciones conductuales en el grupo placebo ($p = 0,03$). Al comparar a los que respondieron del grupo CRWP ($n = 12$) con los que no respondieron en el mismo grupo ($n = 7$), hubo una diferencia significativa en la edad, siendo los respondedores significativamente mayores ($4,23 \pm 0,22$ años) que los no respondedores ($3,48 \pm 0,18$ años; $p = 0,03$). Además, los que respondieron tenían niveles significativamente más altos de glutatión total ($p = 0,01$) y glutatión reducido ($p = 0,01$) al inicio del estudio en comparación con los que no respondieron (Figura 4) dentro de este grupo. Sin embargo, no se encontraron diferencias entre los dos grupos al comparar los cambios en los niveles de glutatión total (respondedores $p = 0,05$, no respondedores $p = 0,06$) (Tabla 4).

FIGURA 4

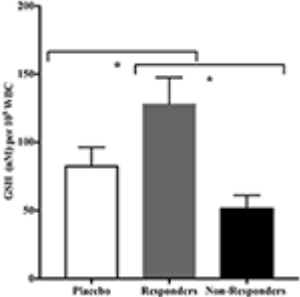


Figura 4. Niveles basales de glutatión en grupos de placebo, respondedores y no respondedores. * $p < 0,05$.

TABLA 4

Characteristics of responders and non-responders in the CRWP group	Responders (n = 12)	Non-responders (n = 7)	p-value
Age (mean ± SEM)	4.23 ± 0.22	3.48 ± 0.18	0.03*
Parent information (mean ± SEM)			
Paternal age at child's birth (years)	34.3 ± 0.84	38.5 ± 0.2	0.45
Maternal age at child's birth (years)	33.1 ± 0.47	36.9 ± 0.3	0.35
Baseline glutathione levels			
GSH (μM/10 ⁹ WBC)	144.8 ± 21.4	68.6 ± 15.7	0.01*
GSH (μM/10 ⁹ WBC)	121.8 ± 19.8	58.27 ± 9.9	0.01*
Change in glutathione			
GSH (μM/10 ⁹ WBC)	6.60 ± 6.7	6.49 ± 6.0	0.93
GSH (μM/10 ⁹ WBC)	3.65 ± 5.6	6.17 ± 3.7	0.36

*Significant difference between placebo and non-responders subgroups (chi-square) $p < 0.05$. CRWP, custom-tailored whole protein; SEM, standard error of the mean; WBC, white blood cells; GSH, glutathione (gamma-L-glutamyl-L-cysteinylglycine); GSH, glutathione (gamma-L-glutamyl-L-cysteinylglycine); GSH, total glutathione.

Tabla 4. Datos demográficos y niveles de glutatión de respondedores ($n = 12$) y no respondedores ($n = 7$).

Se utilizó un análisis adicional de la VABS-II para comparar los cambios de comportamiento en los que respondieron frente a los que no respondieron en el grupo de intervención (Figura 5). Los que respondieron mostraron una mejora mucho mayor en los dominios/subdominios dados de la VABS-II, incluida la puntuación compuesta de comportamiento adaptativo general ($p < 0,0001$ y $p =$

0,0003 en comparación con los que no respondieron y el placebo, respectivamente). Además, se observaron diferencias en la puntuación del dominio de comunicación ($p = 0,008$ y $p = 0,01$ en comparación con los que no respondieron y el placebo, respectivamente), con diferencias observadas en la puntuación de la escala V receptiva ($p = 0,01$ en comparación con los que no respondieron), y la puntuación de la escala v expresiva ($p = 0,03$ en comparación con los no respondedores); en la puntuación del dominio de habilidades de la vida diaria ($p = 0,008$ y $p = 0,007$ en comparación con los no respondedores y el placebo, respectivamente) con diferencias observadas en la puntuación personal de la escala v ($p = 0,03$ y $p = 0,004$ en comparación con los no respondedores y el placebo), respectivamente). También se observaron mejoras en la puntuación del dominio de socialización de los respondedores ($p = 0,04$ y $p = 0,02$ en comparación con los no respondedores y el placebo, respectivamente), con diferencias significativas en el juego y el tiempo libre ($p = 0,03$ y $p = 0,04$ en comparación con los no respondedores), y placebo, respectivamente), habilidades de afrontamiento ($p = 0,03$ y $p = 0,04$ en comparación con los que no respondieron y el placebo, respectivamente), y en la puntuación del dominio de habilidades motoras ($p = 0,02$ en comparación con los que no respondieron) incluida la puntuación de motricidad gruesa ($p = 0,01$ en comparación con los que no respondieron). Además, las disminuciones en la internalización ($p = 0,04$ y $p = 0,0003$ en comparación con los no respondedores y el placebo, respectivamente), la externalización ($p = 0,02$ y $p = 0,008$ en comparación con los no respondedores y el placebo, respectivamente) y las puntuaciones de comportamiento desadaptativo ($p = 0,01$ y $p = 0,003$ en comparación con los no respondedores y el placebo, respectivamente) también se observaron en el grupo de respondedores (Tabla 5). Es importante resaltar que no se encontraron diferencias en las puntuaciones compuestas basales de VABS-II entre respondedores y no respondedores ($p = 0,24$). Estos resultados muestran un efecto favorable de CRWP en una variedad de

medidas de comportamiento en aquellos que respondieron a esta intervención.

FIGURA 5

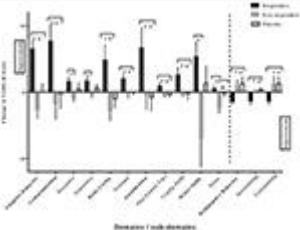


Figura 5 . Diferencias significativas en varios dominios/subdominios de VABS-II en los grupos de respondedores, no respondedores y placebo. † Diferencia significativa entre los grupos de respondedores y placebo. ‡ Diferencia significativa entre los grupos de respondedores y no respondedores. § Diferencia significativa entre los grupos de respuesta y placebo. ¶ Diferencia significativa entre los grupos de no respondedores y placebo. Se utilizaron pruebas *t* de una cola con significación alcanzada en *p* < 0,05. VABS-II, Escala de Comportamiento Adaptativo de Vineland, 2ª edición.

TABLA 5

Adverse events, N (%)	Placebo (n = 10)	Intervention (n = 20)	<i>p</i> -value
Bronchitis/cough/respiratory infection	2 (20)	1 (5)	0,45
Cold symptoms	7 (70)	9 (45)	0,70
Constipation	3 (30)	1 (5)	0,28
Dermatitis	1 (10)	2 (10)	0,79
Emotional/behavior	4 (40)	7 (35)	0,59
Fever	2 (20)	1 (5)	0,46
Nausea	0 (0)	1 (5)	0,34
Others	3 (30)	1 (5)	0,77

Tabla 5 . Cambios en las puntuaciones VABS-II en los grupos de respondedores, no respondedores y placebo.

La seguridad

No se informaron eventos adversos graves en ninguno de los grupos de tratamiento. [La Tabla 6](#) detalla todos los eventos adversos informados a lo largo de este estudio. El cumplimiento se evaluó por el peso de los botes antes y después de los tratamientos y no mostró diferencias significativas entre los grupos (90,5 % utilizado en el grupo placebo vs. 89,9 % en el grupo CRWP; *p*= 0,91). Hubo más abandonos en el grupo de placebo en comparación con el grupo CRWP. Según los diarios de los padres y los registros de la visita 5, las náuseas se informaron principalmente en las primeras semanas del ensayo en cada grupo,

pero tendieron a mejorar a medida que los padres adaptaron su técnica para reconstituir el suplemento en polvo con diferentes jugos/comidas. Tampoco hubo cambios significativos en ninguno de los valores del hemograma completo y del panel metabólico completo obtenidos a lo largo del estudio.

TABLA 6

Adverse event, N (%)	Placebo (n = 15)	Intervention (n = 25)	p-value
Bronchitis/cough/respiratory infection	2 (6)	4 (16)	0.45
Cold symptoms	7 (58)	9 (36)	0.30
Constipation	3 (20)	1 (4)	0.28
Diarrhea	1 (6)	4 (16)	0.39
Emesis/vomiting	4 (27)	7 (28)	0.39
Fever	2 (6)	4 (16)	0.45
Rash	0 (0)	1 (4)	0.34
Other(s)	3 (18)	4 (16)	0.77

Tabla 6. Eventos adversos o complicaciones de salud agudas informados a lo largo del estudio.

Discusión

En este estudio, buscamos determinar si la suplementación con CRWP mejoraría los comportamientos y los niveles de glutatión intracelular en niños con TEA de 3 a 5 años. Utilizamos una evaluación conductual integral para explorar el impacto de esta suplementación, lo que hace que este enfoque sea único en la evaluación de múltiples aspectos conductuales en esta condición. Además, utilizamos un polvo de proteína de arroz, que imita la cantidad de proteína obtenida del suero, como placebo. Aunque varias de las escalas conductuales no mostraron diferencias significativas al comparar los cambios entre los dos grupos desde el inicio hasta el seguimiento, la VABS-II demostró un efecto favorable de este suplemento en varios aspectos del comportamiento del TEA. Además, se demostró una mejora en la capacidad antioxidante mediante el aumento de los niveles de glutatión.

Se observaron mejoras significativas en ambos grupos cuando se compararon las evaluaciones de puntajes conductuales iniciales con las de seguimiento en algunas pruebas. Se esperaba que todos los niños que participaron en este estudio mostraran alguna mejora en el comportamiento, particularmente porque tuvieron acceso a un alto

nivel de atención durante el estudio que consiste en centros preescolares y terapias que brindan servicios especiales a esta población. Sin embargo, al comparar la magnitud de los cambios entre los dos grupos después del período de prueba de 3 meses (Δ vs. Δ), se observaron mejoras conductuales significativas con tamaños de efecto medianos a grandes en las habilidades adaptativas conductuales de los niños, según lo medido por el VABS-II. en el grupo CRWP. Por lo tanto, solo los estudios aleatorizados, doble ciego y controlados con placebo pueden revelar mejoras precisas con intervenciones específicas.

En niños con TEA, varias mejoras conductuales se han asociado con intervenciones nutricionales. La suplementación con NAC se asoció con una disminución de la irritabilidad usando la Lista de Verificación de Comportamiento Aberrante ABC y de los comportamientos repetitivos usando las evaluaciones de la Escala de Comportamiento Repetitivo-Revisada (RBS-R) y la Escala de Respuesta Social (SRS) en un estudio piloto ([23](#)). Por el contrario, Wink et al. ([24](#)) no encontraron mejoras conductuales con un diseño de estudio similar. La suplementación con vitamina B6 se asoció con cambios positivos en el sueño y problemas gastrointestinales en un estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo de 3 meses en 20 niños con TEA mediante una escala calificada por los padres ([25](#)). Otros suplementos estrechamente relacionados con la vía de transmetilación/transulfuración también se asociaron con mejores habilidades motoras en un estudio de caso ([54](#)) y múltiples dominios de las evaluaciones de comportamiento ([26](#)) al enfocarse en un subgrupo de participantes. El enfoque adoptado para distinguir un subgrupo de niños que mejor respondió a una intervención nutricional en términos de comportamiento, es comparable al presente estudio. Además, nuestro estudio reflejó los resultados de otra investigación ([28](#)), que mostró aumentos significativos en muchas de las mismas puntuaciones VABS-II después de la suplementación con metilcobalamina más ácido fólico. Cada estudio utilizó un médico, un

padre o una combinación de escalas para evaluar los cambios en el comportamiento. Los diferentes estudios utilizan una variedad de escalas y diseños de estudio diversos para evaluar los cambios de comportamiento, lo que hace que sea muy difícil comparar nuestros resultados con la mayoría de los estudios anteriores que utilizan otras intervenciones nutricionales.

Un total de 12 de 20 (60 %) niños fueron reconocidos como respondedores a la intervención debido a la mejora de más de 2 puntos en la puntuación compuesta adaptativa general de VABS-II. Recientemente, Chatham et al. (55) mostró que la diferencia clínicamente significativa mínima en niños con TEA osciló entre 2 y 3,75 puntos, lo que respalda nuestro enfoque para identificar a estos niños como respondedores. Además, es convincente el hecho de que los padres cegados a la intervención informaron diferencias significativas en el comportamiento adaptativo de sus hijos (VABS-II) en escalas que evalúan varios dominios afectados más las actividades de la vida diaria. También se observaron mejoras en el VABS-II de 4-5 puntos en el ensayo clínico de fase II de balovaptán en adultos autistas. Aunque medir el comportamiento adaptativo no fue un resultado primario de ese ensayo, las mejoras en esta evaluación ganaron la etiqueta de terapia innovadora de la FDA (56). Debido a que el TEA abarca un fenotipo amplio en términos de su presentación conductual sin una etiología conocida, se espera que no todos los pacientes respondan por igual a una intervención. Por lo tanto, los niños diagnosticados con ASD y problemas de comportamiento en áreas que demostraron mejoras significativas con esta intervención pueden ser buenos candidatos para esta suplementación nutricional. Se necesitarán más estudios para confirmar estos resultados preliminares y probar este suplemento en personas mayores con esta condición.

De hecho, otros también han encontrado que enfocarse en la capacidad antioxidante usando diferentes intervenciones como metilcobalamina, ácido folínico (28, 30) o n-acetilcisteína (23, 57) puede ser más beneficioso en un subgrupo de niños con esta condición. Hasta la

fecha, no hay genotipos o fenotipos asociados con respondedores a estas intervenciones; sin embargo, los médicos y cuidadores se beneficiarán significativamente al identificar pacientes que puedan responder potencialmente a estos tratamientos. También es posible que se encuentren efectos beneficiosos aditivos al combinar estas terapias como en el caso de la metilcobalamina más ácido folínico (28 , 30).

En este estudio también se confirmaron mejoras significativas en los niveles de glutatión de los niños con TEA utilizando un enfoque nutricional conocido por aumentar la biosíntesis de glutatión. Como era de esperar, los niños asignados al suplemento experimentaron un aumento del 40 % en la forma reducida de glutatión porque este suplemento proporciona una fuente natural de cisteína, el paso limitante de la biosíntesis del glutatión, que en última instancia conduce a un aumento de los niveles intracelulares.

Otras intervenciones han demostrado aumentos de glutatión comparables a los de nuestro grupo CRWP. La combinación de metilcobalamina y ácido folínico indujo aumentos del 15 % en el glutatión total y del 20 % en el glutatión reducido, respectivamente (28), mientras que el tratamiento con NAC demostró un aumento del 60 % desde el inicio (24). La importancia de enfocarse en los niveles de glutatión es relevante porque se han encontrado diferencias significativas en el glutatión y sus metabolitos relacionados en plasma (16 , 17), glóbulos blancos (58 , 59) y cerebros post-mortem (11 , 21).) de participantes con TEA. Este hallazgo también está respaldado por varias variaciones genéticas observadas en pacientes con TEA relacionadas con la vía de transmetilación/transulfuración, donde el glutatión es uno de los subproductos (16 - 18). La hipótesis de que los niveles bajos de glutatión están relacionados con los síntomas del TEA se ha validado parcialmente porque se ha demostrado que varios tratamientos dirigidos a esta deficiencia son eficaces para modificar los síntomas conductuales en niños con esta afección (29).

Luego investigamos la correlación entre las mejoras de comportamiento y los cambios en las concentraciones de glutatión intracelular. Aunque podría anticiparse que la magnitud de los aumentos de glutatión se correlacionaría con las mejoras conductuales como en otros estudios ([23](#) , [28](#)), no encontramos ninguna correlación entre los cambios en los niveles de glutatión y la mejora en las puntuaciones VABS-II. Sin embargo, tanto las áreas centrales de los comportamientos de ASD como la capacidad antioxidante se vieron afectadas positivamente por esta intervención. También es posible que el beneficio de CRWP no se limite a su eficacia para aumentar la capacidad antioxidante, sino a su capacidad para mejorar la salud en general.

Al examinar la relación entre los niveles iniciales de glutatión, los que respondieron ($n = 12$) tenían concentraciones iniciales significativamente más altas de glutatión total y reducido que los que respondieron al inicio y los que no respondieron ($n = 8$). Esto sugiere que estos participantes estaban más cerca de obtener un umbral en sus niveles de glutatión que condujo a cambios positivos en el comportamiento. Es posible que los niños con niveles basales de glutatión más bajos necesiten una dosis más alta o una intervención más prolongada para lograr resultados conductuales similares.

Se necesitan intervenciones efectivas y seguras basadas en evidencia en ASD para aliviar algunos de los desafíos de comportamiento que se observan en esta condición. Se ha informado que el uso de medicina complementaria y alternativa es de alrededor del 74 % en niños con TEA ([60](#) – [63](#)). Al evitar los tratamientos farmacológicos establecidos que pueden producir efectos secundarios significativos, los padres intentan aliviar los problemas de conducta y las condiciones comórbidas asociadas mediante tratamientos alternativos. Por lo tanto, existe una necesidad significativa de investigar la eficacia de las terapias complementarias y alternativas y su tolerabilidad en niños con TEA, al mismo tiempo que se identifican aquellas que responden a estas intervenciones.

Las limitaciones de este estudio exploratorio incluyen el pequeño tamaño de la muestra, la muestra de edad estrecha y la intervención de tratamiento breve. Sin embargo, creemos que nuestro sólido diseño de estudio logró nuestros objetivos de estudio en una población desafiante y bien definida de niños en edad preescolar. Se justifican estudios futuros que incluyan un grupo de edad más amplio y que utilicen evaluaciones y escalas conductuales específicas. También sería pertinente incluir una cohorte de niños neurotípicos en un estudio similar para comparar cualquier cambio en los niveles de glutatión y los comportamientos en esa población con los de los niños con TEA. Nuestro estudio también contó con niños predominantemente varones. Sería interesante investigar una población de estudio más extensa para evaluar los posibles efectos beneficiosos de CRWP en niñas con TEA, ya que las manifestaciones de TEA pueden diferir entre hombres y mujeres (64).

Conclusión

En conclusión, este estudio demostró que la intervención nutricional con CRWP mejoró efectivamente los niveles de glutatión en niños con ASD, mejoró algunos dominios de comportamiento afectados en ASD y fue bien tolerado. Se necesitan estudios futuros con resultados específicos, tamaños de muestra más grandes, diferentes edades, que tengan en cuenta los niveles iniciales de glutatión, para evaluar mejor los resultados del tratamiento. Si se revela más evidencia de un efecto positivo, se podrían recomendar suplementos como CRWP para ayudar a respaldar los aspectos conductuales del TEA.

Declaración de disponibilidad de datos

Los conjuntos de datos presentados en este artículo no están disponibles fácilmente porque pertenecen a Nova Southeastern

University e Immunotec Inc. y solo pueden estar disponibles previa solicitud al IP después de la aprobación de las fuentes de financiación. Las solicitudes para acceder a los conjuntos de datos deben dirigirse a Ana Maria Castejon, castejon@nova.edu.

Declaración de Ética

Los estudios con participantes humanos fueron revisados y aprobados por la Junta de Revisión Institucional de la Universidad Nova Southeastern en Fort Lauderdale, FL, EE. UU. El tutor legal/pariente más cercano de los participantes proporcionó el consentimiento informado por escrito para participar en este estudio.

Contribuciones de autor

AC, NS y SK contribuyeron a la concepción y diseño del estudio. JS y AS organizaron la base de datos y realizaron mediciones de GSH. IR contribuyó con las buenas prácticas de la normativa de ensayos clínicos. RF y EP contribuyeron con mediciones clínicas. PH realizó el análisis estadístico. AC y JS escribieron el primer borrador del manuscrito. NS y SK escribieron secciones del manuscrito. Todos los autores contribuyeron a la revisión del manuscrito, leyeron y aprobaron la versión enviada.

Fondos

Este estudio fue financiado en parte por Immunotec Inc. y Nova Southeastern University. Los financiadores no tuvieron ningún papel en el diseño del estudio, en la recopilación, el análisis y la interpretación de los datos, o en la redacción del manuscrito.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Nota del editor

Todas las afirmaciones expresadas en este artículo pertenecen únicamente a los autores y no representan necesariamente las de sus organizaciones afiliadas, o las del editor, los editores y los revisores. Cualquier producto que pueda ser evaluado en este artículo, o afirmación que pueda hacer su fabricante, no está garantizada ni respaldada por el editor.

Expresiones de gratitud

Nos gustaría agradecer a los niños y padres que participaron en este ensayo clínico. Además, nos gustaría reconocer a Immunotec Inc. y Nova Southeastern University por financiar nuestra investigación. Mostramos nuestro mayor agradecimiento a Judy Magnum CCRC, CRA y Rita Silverman MPS por ayudar con la coordinación del estudio desde la oficina de investigación clínica. A continuación, nos gustaría agradecer a Luis Puig MD por estandarizar el método utilizado para medir los niveles de glutatión y Luigi Cubeddu MD, Ph.D. por su guía y apoyo científico.

abreviaturas

ADI-R, Entrevista de Diagnóstico de Autismo-Revisada; ADOS, Programa de Observación de Diagnóstico de Autismo; TEA, Trastorno del Espectro Autista; CARS, escala de valoración del autismo

infantil; CBC, hemograma completo; CBCL, Lista de verificación de comportamiento infantil; CMP, panel metabólico integral; CRWP, proteína de suero de leche rica en cisteína; GSH, glutatión (forma activa reducida); GSSG, Glutatión (forma inactiva, oxidada); MSEL, Escalas Mullen de Aprendizaje Temprano; NAC, N-acetilcisteína; PLS-5, Escala de Lenguaje Preescolar - 5ª edición; ROS, especies reactivas de oxígeno; RRBI, Comportamientos e intereses restringidos y repetitivos; SAM, S-adenosilmetionina; SAH, S-adenosilhomocisteína; SCQ, Cuestionario de Comunicación Social; tGSH, glutatión total (reducido + oxidado); VABS-II, Escala de Comportamiento Adaptativo de Vineland, 2ª edición.

Referencias

1. Maenner MJ, Shaw KA, Baio J, Washington A, Patrick M, DiRienzo M, et al. Prevalencia del trastorno del espectro autista en niños de 8 años: red de monitoreo de autismo y discapacidades del desarrollo, 11 sitios, Estados Unidos, 2016. Informe semanal de morbilidad y mortalidad. *Resúmenes de vigilancia*. (2020) 69:1–12. doi: 10.15585/mmwr.ss6904a1
[Texto completo de referencia cruzada | Google Académico](#)
2. Asociación Americana de Psiquiatría. *Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales*. Washington, DC: Asociación Estadounidense de Psiquiatría (1980).
[Google Académico](#)
3. Asociación Americana de Psiquiatría. *Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales*. Arlington, VA: Publicación psiquiátrica estadounidense (2013).
[Google Académico](#)
4. Lord C, Risi S, Lambrecht L, Cook EH Jr, Leventhal BL, DiLavore PC, et al. El cronograma de observación de diagnóstico de autismo-genérico: una medida estándar de los déficits sociales y de

comunicación asociados con el espectro del autismo. *J Autism Dev Disord.* (2000) 30:205–23. doi: 10.1023/A:1005592401947

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

5. Lord C, Rutter M, Goode S, Heemsbergen J, Jordan H, Mawhood L, et al. Programa de observación de diagnóstico de autismo: una observación estandarizada del comportamiento comunicativo y social. *J Autism Dev Disord.* (1989) 19:185–212. doi: 10.1007/BF02211841

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

6. Loke YJ, Hannan AJ, Craig JM. El papel del cambio epigenético en los trastornos del espectro autista. *Neurol frontal.* (2015) 6:107. doi: 10.3389/fneur.2015.00107

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

7. Alabdali A, Al-Ayadhi L, El-Ansary A. Asociación de deterioro social y cognitivo y biomarcadores en trastornos del espectro autista. *J Neuroinflamación.* (2014) 11:4. doi: 10.1186/1742-2094-11-4

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

8. Frye RE, Slattery JC, Quadros EV. Anomalías en el metabolismo del folato en el autismo: biomarcadores potenciales. *Biomark Med.* (2017) 11:687–99. doi: 10.2217/bmm-2017-0109

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

9. Ratajczak HV. Aspectos teóricos del autismo: biomarcadores: una revisión. *J Immunotoxicol.* (2011) 8:80–94. doi: 10.3109/1547691X.2010.538749

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

10. Zimmerman AW, Jyonouchi H, Comi AM, Connors SL, Milstien S, Varsou A, et al. Líquido cefalorraquídeo y marcadores séricos de inflamación en el autismo. *Pediatr Neurol.* (2005) 33:195–201. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2005.03.014

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

11. Chauhan A, Audhya T, Chauhan V. Desequilibrio redox de glutatión específico de la región cerebral en el autismo. *Res. neuroquímica.* (2012) 37:1681–9. doi: 10.1007/s11064-012-0775-4

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

12. Chauhan A, Chauhan V. Estrés oxidativo en el autismo. *Fisiopatología*. (2006) 13:171–81. doi: 10.1016/j.pathophys.2006.05.007

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

13. Geier DA, Audhya T, Kern JK, Geier MR. Niveles de mercurio en sangre en el trastorno del espectro autista: ¿existe un nivel umbral? *Acta Neurobiol Exp*. (2010) 70:177–86.

[Google Académico](#)

14. Geier DA, Kern JK, Garver CR, Adams JB, Audhya T, Geier MR. Un estudio prospectivo de biomarcadores de transsulfuración en trastornos autistas. *Res. neuroquímica*. (2009) 34:386–93. doi: 10.1007/s11064-008-9782-x

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

15. Ghanizadeh A, Akhondzadeh S, Hormozi M, Makarem A, Abotorabi-Zarchi M, Firoozabadi A. Factores relacionados con el glutatión y estrés oxidativo en el autismo, una revisión. *Curr Med Chem*. (2012) 19:4000–5. doi: 10.2174/092986712802002572

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

16. James SJ, Cutler P, Melnyk S, Jernigan S, Janak L, Gaylor DW, et al. Biomarcadores metabólicos de estrés oxidativo aumentado y capacidad de metilación alterada en niños con autismo. *Soy J Clin Nutr*. (2004) 80:1611–7. doi: 10.1093/ajcn/80.6.1611

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

17. James SJ, Melnyk S, Jernigan S, Cleves MA, Halsted CH, Wong DH, et al. El endofenotipo metabólico y los genotipos relacionados están asociados con el estrés oxidativo en niños con autismo. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. (2006) 141b:947–56. doi: 10.1002/ajmg.b.30366

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

18. James SJ, Melnyk S, Jernigan S, Hubanks A, Rose S, Gaylor DW. Metabolismo anormal de transmetilación/transsulfuración e

hipometilación del ADN entre padres de niños con autismo. *J Autism Dev Disord.* (2008) 38:1966–75. doi: 10.1007/s10803-008-0591-5

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

19. Kern JK, Jones AM. Evidencia de toxicidad, estrés oxidativo e insulto neuronal en el autismo. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* (2006) 9:485–99. doi: 10.1080/10937400600882079

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

20. Zoroglu SS, Armutcu F, Ozen S, Gurel A, Sivasli E, Yetkin O, et al. Aumento del estrés oxidativo y actividades alteradas de las enzimas captadoras de radicales libres de eritrocitos en el autismo. *Eur Arch Psiquiatría Clin Neurosci.* (2004) 254:143–7. doi: 10.1007/s00406-004-0456-7

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

21. Rose S, Melnyk S, Pavliv O, Bai S, Nick TG, Frye RE, et al. Evidencia de daño oxidativo e inflamación asociados con un bajo estado redox de glutatión en el cerebro autista. *Transl Psiquiatría.* (2012) 2:e134. doi: 10.1038/tp.2012.61

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

22. Rose S, Melnyk S, Trusty TA, Pavliv O, Seidel L, Li J, et al. Estado redox intracelular y extracelular y generación de radicales libres en células inmunitarias primarias de niños con autismo. *Tratamiento del autismo Res.* (2012) 2012:986519. doi: 10.1155/2012/986519

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

23. Hardan AY, Fung LK, Libove RA, Obukhanych TV, Nair S, Herzenberg LA, et al. Un ensayo piloto controlado aleatorio de N-acetilcisteína oral en niños con autismo. *Psiquiatría Biol.* (2012) 71:956–61. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.01.014

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

24. Wink LK, Adams R, Wang Z, Klaunig JE, Plawecki MH, Posey DJ, et al. Un estudio piloto aleatorio controlado con placebo de N-acetilcisteína en jóvenes con trastorno del espectro autista. *Mol Autismo.* (2016) 7:26. doi: 10.1186/s13229-016-0088-6

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

25. Adams JB, Holloway C. Estudio piloto de un suplemento multivitamínico/mineral de dosis moderada para niños con trastorno del espectro autista. *J Altern Complemento Med.* (2004) 10:1033–9. doi: 10.1089/acm.2004.10.1033
[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)
26. Bertoglio K, Jill James S, Deprey L, Brule N, Hendren RL. Estudio piloto del efecto del tratamiento con metil B12 en medidas conductuales y de biomarcadores en niños con autismo. *J Altern Complemento Med.* (2010) 16:555–60. doi: 10.1089/acm.2009.0177
[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)
27. Delhey LM, Tippet M, Rose S, Bennuri SC, Slattery JC, Melnyk S, et al. Comparación de tratamientos para trastornos metabólicos asociados con el autismo: nuevo análisis de tres ensayos clínicos. *Neurociencia frontal.* (2018) 12:19. doi: 10.3389/fnins.2018.00019
[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)
28. Frye RE, Melnyk S, Fuchs G, Reid T, Jernigan S, Pavliv O, et al. La eficacia del tratamiento con metilcobalamina y ácido folínico sobre el comportamiento adaptativo en niños con trastorno autista está relacionada con el estado redox del glutatión. *Tratamiento del autismo Res.* (2013) 2013:609705. doi: 10.1155/2013/609705
[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)
29. Frye RE, Sequeira JM, Quadros EV, James SJ, Rossignol DA. Autoanticuerpos del receptor de folato cerebral en el trastorno del espectro autista. *Mol Psiquiatría.* (2013) 18:369–81. doi: 10.1038/mp.2011.175
[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)
30. James SJ, Melnyk S, Fuchs G, Reid T, Jernigan S, Pavliv O, et al. Eficacia del tratamiento con metilcobalamina y ácido folínico sobre el estado redox del glutatión en niños con autismo. *Soy J Clin Nutr.* (2009) 89:425–30. doi: 10.3945/ajcn.2008.26615

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

31. Adams JB, Audhya T, McDonough-Means S, Rubin RA, Quig D, Geis E, et al. Estado nutricional y metabólico de niños con autismo frente a niños neurotípicos y la asociación con la gravedad del autismo. *Nutri Metab.* (2011) 8:34. doi: 10.1186/1743-7075-8-34

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

32. Mankad D, Dupuis A, Smile S, Roberts W, Brian J, Lui T, et al. Un ensayo aleatorio controlado con placebo de ácidos grasos omega-3 en el tratamiento de niños pequeños con autismo. *Mol Autismo.* (2015) 6:18. doi: 10.1186/s13229-015-0010-7

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

33. Politi P, Cena H, Comelli M, Marrone G, Allegri CE, Emanuele E, et al. Efectos conductuales de la suplementación con ácidos grasos omega-3 en adultos jóvenes con autismo severo: un estudio de etiqueta abierta. *Arco Med Res.* (2008) 39:682–5. doi: 10.1016/j.arcmed.2008.06.005

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

34. Singh K, Connors SL, Macklin EA, Smith KD, Fahey JW, Talalay P, et al. Tratamiento con sulforafano del trastorno del espectro autista (TEA). *Proc Natl Acad Sci USA.* (2014) 111:15550–5. doi: 10.1073/pnas.1416940111

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

35. Voigt RG, Mellon MW, Katusic SK, Weaver AL, Matern D, Mellon B, et al. Suplementos dietéticos de ácido docosahexaenoico en niños con autismo. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* (2014) 58:715–22. doi: 10.1097/MPG.0000000000000260

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

36. Adams JB, Audhya T, Geis E, Gehn E, Fimbres V, Pollard EL, et al. Intervención nutricional y dietética integral para el trastorno del espectro autista: un ensayo aleatorizado y controlado de 12 meses. *Nutrientes.* (2018) 10:369. doi: 10.3390/nu10030369

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

37. Lothian B, Gray V, Kimoff RJ, Lands LC. Tratamiento de la enfermedad obstructiva de las vías respiratorias con un suplemento de proteína donante de cisteína: reporte de un caso. *Cofre*. (2000) 117:914–6. doi: 10.1378/cofre.117.3.914
[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)
38. Watanabe A, Okada K, Shimizu Y, Wakabayashi H, Higuchi K, Niiya K, et al. Terapia nutricional de la hepatitis crónica por proteína de suero (no calentada). *J Med*. (2000) 31:283–302.
[Google Académico](#)
39. Gray V, Mohammed SR, Smountas AA, Bahloul R, Lands LC. Estado de glutatión mejorado en pacientes adultos jóvenes con fibrosis quística suplementados con proteína de suero. *J Quiste Fibros*. (2003) 2:195–8. doi: 10.1016/S1569-1993(03)00097-3
[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)
40. Kern JK, Grannemann BD, Gutman J, Trivedi MH. Tolerabilidad oral del aislado de proteína de suero rico en cisteína en el autismo: un estudio piloto. *J Am Nutraceut Assoc* . (2008) 11:36–41.
[Google Académico](#)
41. Tierras LC, Grey VL, Smountas AA. Efecto de la suplementación con un donante de cisteína sobre el rendimiento muscular. *J Appl Fisiol*. (1999) 87:1381–5. doi: 10.1152/jappl.1999.87.4.1381
[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)
42. Staff P. *Referencia del escritorio del médico* . Montvale, Nueva Jersey: Red PDR (2013).
[Google Académico](#)
43. Schopler E, Reichler RJ, DeVellis RF, Daly K. Hacia una clasificación objetiva del autismo infantil: escala de calificación del autismo infantil (CARS). *J Autism Dev Disord*. (1980) 10:91–103. doi: 10.1007/BF02408436
[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)
44. Lord C, Rutter M, Le Couteur A. Entrevista de diagnóstico de autismo revisada: una versión revisada de una entrevista de diagnóstico para cuidadores de personas con posibles trastornos generalizados del

desarrollo. *J Autism Dev Disord.* (1994) 24:659–85. doi: 10.1007/BF02172145

[Texto completo de referencia cruzada | Google Académico](#)

45. Volden J, Smith IM, Szatmari P, Bryson S, Fombonne E, Mirenda P, et al. Uso de la escala de lenguaje preescolar, cuarta edición para caracterizar el lenguaje en preescolares con trastornos del espectro autista. *Soy J Speech Lang Pathol.* (2011) 20:200–8. doi: 10.1044/1058-0360(2011/10-0035)

[Texto completo de referencia cruzada | Google Académico](#)

46. Rutter M, Bailey A, Lord C. *El Cuestionario de Comunicación Social: Manual*. Los Ángeles: Western Psychological Services (2003).

[Google Académico](#)

47. Mullen EM. *Escala Mullen de Aprendizaje Temprano (AGS)*. Circle Pines, MN: American Guidance Service Inc. (1995).

[Google Académico](#)

48. Manohari SM, Raman V, Mysore A. Uso de escalas de comportamiento adaptativo Vineland-II en niños con autismo-una experiencia india. *J Indian Assoc Child Adolesc Mental Health.* (2013) 9:5–12.

[Google Académico](#)

49. Gorrión S, Balla D, Vineland CD. *Escala de conducta adaptativa*. Circle Pines, MN: American Guidance Service Inc. (1984).

[Google Académico](#)

50. Achenbach TM. *Manual para The Child Behavior Checklist/4-18 and 1991 Profile*. Burlington: Universidad de Vermont, Departamento de Psiquiatría (1991).

[Google Académico](#)

51. Achenbach TM. Lista de verificación de comportamiento infantil. En: Kreutzer JS, DeLuca J, Caplan B, editores. *Enciclopedia de Neuropsicología Clínica*. Nueva York, NY: Springer New York (2011), pág. 546–552.

[Google Académico](#)

52. Adams JD, Lauterburg BH, Mitchell JR. Glutación plasmático y disulfuro de glutación en la rata: regulación y respuesta al estrés oxidativo. *J Pharmacol Exp Ther.* (1983) 227:749–54.

[Google Académico](#)

53. Equipo central R. *R: un lenguaje y entorno para la computación estadística*. Viena: Fundación R para la Computación Estadística (2020). Disponible en línea en: <https://www.R-project.org/>

[Google Académico](#)

54. Moretti P, Sahoo T, Hyland K, Bottiglieri T, Peters S, Gaudio D, et al. Deficiencia de folato cerebral con retraso en el desarrollo, autismo y respuesta al ácido folínico. *Neurología.* (2005) 64:1088–90. doi: 10.1212/01.WNL.0000154641.08211.B7

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

55. Chatham CH, Taylor KI, Charman T, Liogier D'ardhuy X, Eule E, et al. Comportamiento adaptativo en el autismo: diferencias mínimas clínicamente importantes en Vineland-II. *Autismo Res.* (2018) 11:270–83. doi: 10.1002/aur.1874

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

56. ext-link-type="uri"
xlink:href="https://ClinicalTrials.gov">ClinicalTrials.gov Bethesda (MD): Biblioteca Nacional de Medicina (EE. UU.), Identificador NCT0179344. Un estudio de RG7314 para investigar la seguridad de la eficacia en personas con trastornos del espectro autista (TEA) (2018). Disponible en línea en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01793441>

[Google Académico](#)

57. Ghezze A, Visconti P, Abruzzo PM, Bolotta A, Ferreri C, Gobbi G, et al. Estrés oxidativo y alteraciones de la membrana de los eritrocitos en niños con autismo: correlación con las características clínicas. *Más uno.* (2013) 8:e66418. doi: 10.1371/journal.pone.0066418

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

58. Ghanizadeh A, Moghimi-Sarani E. Un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo de N-acetilcisteína añadida a la

risperidona para el tratamiento de trastornos autistas. *BMC Psiquiatría*. (2013) 13:196. doi: 10.1186/1471-244X-13-196

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

59. Melnyk S, Fuchs GJ, Schulz E, Lopez M, Kahler SG, Fussell JJ, et al. Desequilibrio metabólico asociado con la desregulación de la metilación y el daño oxidativo en niños con autismo. *J Autism Dev Disord*. (2012) 42:367–77. doi: 10.1007/s10803-011-1260-7

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

60. Hanson E, Kalish LA, Bunce E, Curtis C, McDaniel S, Ware J, et al. Uso de medicina complementaria y alternativa entre niños diagnosticados con trastorno del espectro autista. *J Autism Dev Disord*. (2007) 37:628–36. doi: 10.1007/s10803-006-0192-0

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

61. Lofthouse N, Hendren R, Hurt E, Arnold L, Butter E. Una revisión de los tratamientos complementarios y alternativos para los trastornos del espectro autista. *Tratamiento del autismo Res*. (2012) 2012:870391. doi: 10.1155/2012/870391

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

62. Perrin JM, Coury DL, Hyman SL, Cole L, Reynolds AM, Clemons T. Uso de medicina complementaria y alternativa en una gran muestra de autismo pediátrico. *Pediatría*. (2012) 130:S77–82. doi: 10.1542/peds.2012-0900E

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

63. Rossignol DA. Tratamientos nuevos y emergentes para los trastornos del espectro autista: una revisión sistemática. *Ann Clin Psiquiatría*. (2009) 21:213–36.

[Google Académico](#)

64. Werling DM, Geschwind DH. Diferencias sexuales en los trastornos del espectro autista. *Curr Opin Neurol*. (2013) 26:146–53. doi: 10.1097/OMA.0b013e32835ee548

[Texto completo de referencia cruzada](#) | [Google Académico](#)

Palabras clave: trastornos del espectro autista, proteína de suero rica en cisteína, VABS-II, GSH, medicina complementaria y alternativa, estrés oxidativo

Cita: Castejon AM, Spaw JA, Rozenfeld I, Sheinberg N, Kabot S, Shaw A, Hardigan P, Faillace R y Packer EE (2021) Mejora de la capacidad antioxidante en niños con autismo: un estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con cisteína- Proteína rica en suero. *Parte delantera. Psiquiatría* 12:669089. doi: 10.3389/fpsyt.2021.669089

Recibido: 17 de febrero de 2021; **Aceptado:** 16 de agosto de 2021; **Publicado:** 30 de septiembre de 2021.

Editado por:

Francesca Bonomini , Universidad de Brescia, Italia

Revisado por:

Mostafa Waly , Universidad Sultan Qaboos, Omán

Katarina Jansakova , Universidad Comenius, Eslovaquia

Copyright © 2021 Castejon, Spaw, Rozenfeld, Sheinberg, Kabot, Shaw, Hardigan, Faillace y Packer. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de **Creative Commons Attribution License (CC BY)** . Se permite el uso, distribución o reproducción en otros foros, siempre que se acredite al autor o autores originales y a los propietarios de los derechos de autor y se cite la publicación original en esta revista, de acuerdo con la práctica académica aceptada. No se permite ningún uso, distribución o reproducción que no cumpla con estos términos.

***Correspondencia:** Ana María Castejon, castejon@nova.edu

Descargo de responsabilidad: Todas las afirmaciones expresadas en este artículo pertenecen únicamente a los autores y no representan necesariamente las de sus organizaciones afiliadas, o las del editor, los editores y los revisores. Cualquier producto que pueda ser evaluado en este artículo o reclamo que pueda hacer su fabricante no está garantizado ni respaldado por el editor.

2 Comentarios - Alicewood Wood Alice .



Alicia de madera de Alicewood TESTIMONIO DE COMO MI HIJO SE CURÓ TOTALMENTE DEL VIRUS DEL AUTISMO POR DR SAM HERBS Quiero informar al público cómo mi hijo fue curado del virus del autismo por el Doctor llamado Dr SAM. Visité diferentes hospitales pero me dieron una lista de medicamentos como Famvir, Zovirax y Valtrex que son muy caros para tratar los síntomas y nunca me curaron. Estaba navegando por Internet buscando remedios para el Herpes y vi comentarios de personas hablando de cómo el Doctor Sam los curó. Estaba asustado porque nunca creí en Internet, pero estaba convencido de darle una oportunidad porque no tenía ninguna esperanza de curarme del herpes, así que decidí contactarlo en su correo electrónico, busqué su correo electrónico en la red y vi un mucha gente testificando de su bondad. Cuando lo contacté, me dio esperanza y me envió un medicamento a base de hierbas que tomé y realmente funcionó para mí, Ahora soy una persona libre sin ningún problema, mi resultado de HERPES salió negativo. Puede contactarlo en su correo electrónico (samherbalhelp@gmail.com) o what - sapp vía (+234-8110-856-113) y resolver todos sus problemas. 1)Enfermedad de cualquier tipo 2)Ayuda a curar la

HEPATITIS B, DIABÉTICA, VIH/SIDA y BIPOLAR 3)Divorcio, Problema de ruptura, Reunir o hechizar 4)Problema de embarazo 5)Problema financiero y Promoción laboral 6) mal olor de boca o problema de dientes 7) problema de ojos u oídos agrandamiento de la hombría

- Hoy a las 1:24 a. m.

-



Alicia de madera de Alicewood TESTIMONIO DE COMO MI HIJO SE CURÓ TOTALMENTE DEL VIRUS DEL AUTISMO POR DR SAM HERBS Quiero informar al público cómo mi hijo fue curado del virus del autismo por el Doctor llamado Dr SAM. Visité diferentes hospitales pero me dieron una lista de medicamentos como Famvir, Zovirax y Valtrex que son muy caros para tratar los síntomas y nunca me curaron. Estaba navegando por Internet buscando remedios para el Herpes y vi comentarios de personas hablando de cómo el Doctor Sam los curó. Estaba asustado porque nunca creí en Internet, pero estaba convencido de darle una oportunidad porque no tenía ninguna esperanza de curarme del herpes, así que decidí contactarlo en su correo electrónico, busqué su correo electrónico en la red y vi un mucha gente testificando de su bondad. Cuando lo contacté, me dio esperanza y me envió un medicamento a base de hierbas que tomé y realmente funcionó para mí, Ahora soy una persona libre sin ningún problema, mi resultado de HERPES salió negativo. Puede contactarlo en su correo electrónico (samherbalhelp@gmail.com) o what - sapp vía (+234-8110-856-113) y resolver todos sus problemas. 1)Enfermedad de cualquier tipo 2)Ayuda a curar la HEPATITIS B, DIABÉTICA, VIH/SIDA y BIPOLAR 3)Divorcio, Problema de ruptura, Reunir o hechizar 4)Problema de embarazo 5)Problema financiero y Promoción laboral 6) mal olor de boca o problema de dientes 7) problema de ojos u oídos agrandamiento de la hombría