

PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DE RUTINA EN NIÑOS DIAGNOSTICADOS CON TRASTORNO DEL ESPECTRO AUTISTA

Celsy Hernández¹, María Fátima Garcés¹, Betania Rodríguez¹, María Luisa Núñez¹, Ana Cecilia Márquez², Clara Martínez³, Xiomara Moreno⁴.

¹Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas de la Escuela de Bioanálisis. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

²Unidad de Autismo. Maternidad Concepción Palacios. Caracas, Venezuela. ³Cátedra de Bioquímica. Escuela de Nutrición

⁴Departamento de Microbiología Instituto Médico la Floresta.

Recibido para publicación: 3 mayo 2019. Aceptado 24 mayo 2019.

RESUMEN:

Introducción: La etiología del autismo aún no está definida así como tampoco el perfil de pruebas del laboratorio clínico que permitan el diagnóstico y caracterización de los individuos con Trastornos del Espectro Autista. Es por ello, que en el presente estudio se propuso evaluar los niveles séricos de los parámetros bioquímicos de rutina del laboratorio clínico, en niños diagnosticados con Trastorno del Espectro Autista. **Materiales y métodos:** Se realizó la determinación de los parámetros bioquímicos en 64 niños con diagnóstico del Trastorno del Espectro Autista (TEA) pertenecientes a la Unidad de Autismo, de la “Maternidad Concepción Palacios”, sin previo tratamiento junto a un grupo control de 64 niños aparentemente sanos. Los parámetros bioquímicos fueron determinados en una muestra de suero obtenida luego de 8 a 12 horas ayunas, empleando el equipo Dimensión RxL Max de la casa comercial Siemens. Los resultados obtenidos se analizaron considerando los valores de referencia según la edad y el método utilizado, empleando el programa estadístico SPSS versión 17 para Windows. Se calcularon los estadísticos descriptivos y se realizó la comparación entre ambos grupos mediante la prueba T de Student. El intervalo de confianza utilizado fue de un 95% con una significancia de $p < 0.05$. **Resultados y Discusión:** Los niños con TEA poseen niveles significativamente más bajos de colesterol total y más elevados de glicemia con respecto a los niños controles sanos. **Conclusiones:** Aunque no está esclarecida la etiología de la hipocolesterolemia así como su posible contribución en las manifestaciones de los pacientes con TEA, los niveles séricos de colesterol total podrían ser un valioso biomarcador a emplear para el diagnóstico y caracterización del TEA. Así mismo, pensamos es necesario expandir las investigaciones sobre la posible relación entre los niveles de glicemia y el TEA a fin de generar nuevos enfoques para la investigación y el tratamiento del TEA.

Palabras Clave: Trastorno del Espectro Autista, parámetros bioquímicos, hipocolesterolemia, glicemia, autismo, laboratorio clínico.

ROUTINE BIOCHEMICAL PARAMETERS IN CHILDREN DIAGNOSED WITH AUTISM SPECTRUM DISORDER

SUMMARY

Introduction: The etiology of autism is not yet defined as well as the profile of clinical laboratory tests that allow the diagnosis and characterization of individuals with Autism Spectrum Disorders. That is why, in the present study, it was proposed to evaluate the seric levels of the routine biochemical parameters of the clinical laboratory, in children diagnosed with Autism Spectrum Disorder. **Materials and methods:** The determination of the biochemical parameters was carried out in 64 children diagnosed with Autism Spectrum Disorder (ASD) belonging to the Autism Unit, of the “Maternidad Concepción Palacios”, without previous treatment with a control group of 64 apparently healthy children. The biochemical parameters were determined in a serum sample obtained after 8 to 12 hours fasting, using the Dimension RxL Max equipment of the Siemens commercial house. The results obtained were analyzed considering the reference values according to age and the method used, using the statistical program SPSS version 17 for Windows. Descriptive statistics were calculated and the comparison between both groups was made by the Student’s T test. The confidence interval used was 95% with a significance of $p < 0.05$. **Results and Discussion:** Children with ASD have significantly lower levels of total cholesterol and higher glycemic levels than healthy controls. **Conclusions:** Although the etiology of hypocholesterolemia is not clear, as well as its possible contribution in the manifestations of patients with ASD, serum levels of total cholesterol could be a valuable biomarker to be used for the diagnosis and characterization of ASD. Likewise, we think it is necessary to expand the research on the possible relationship between glycemia levels and ASD in order to generate new approaches for the investigation and treatment of ASD.

Key words: Autistic Spectrum Disorder, biochemical parameters, hypocholesterolemia, glycemia, autism, clinical laboratory.

Solicitar copia a: Celsy Hernández (e-mail: celsyhernandez@gmail.com)

Introducción

El trastorno del espectro autista (TEA) se define como una disfunción neurológica crónica con fuerte base genética que desde edades tempranas se manifiesta en una serie de síntomas basados en una tríada de trastornos como lo son la falta de interacción social, de comunicación y de flexibilidad en el razonamiento y comportamiento. El Autismo es definido como un trastorno biológico del desarrollo que causa severas dificultades en la interacción social y en la comunicación; se asocia a una conducta estereotipada, dificultad en la comunicación y limitación de intereses (1). Es incluido dentro de la categoría de los Trastornos Generalizados del Desarrollo (TGD), según el “Manual de Diagnóstico y Estadística de Enfermedades Mentales, en su quinta edición (DSM-IV) (2) así como en la onceava revisión de la “Clasificación Internacional de Enfermedades” (ICD-11) (3).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, 1 de cada 160 niños en el mundo padece TEA, aceptándose que cada día el TEA es un trastorno más común (4). En Venezuela no existe un control exacto de las cifras de prevalencia del TEA, sin embargo, fundaciones y expertos de atención a la población con TEA estiman extraoficialmente que por cada 45 niños nacidos, 1 presenta TEA en nuestro país (5).

Hoy en día, el diagnóstico para la detección del TEA se centra en el Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales (DSM-V). De acuerdo con el DSM-V y en vista que no se conoce la etiología exacta del TEA y por ende, no se han podido establecer los biomarcadores genéticos, metabólicos, inmunológicos, microbiológicos y/o neurológicos causales del TEA, el método para diagnosticar el Trastorno del Espectro Autista se basa en una revisión minuciosa que persigue la detección de alteraciones del lenguaje, conductas restringidas y estereotipadas así como alteraciones en la interacción social, es decir, una revisión completa del comportamiento y desarrollo del paciente, en la que el especialista reconoce y detecta el TEA. Es por ello, que hoy en día se considera que diagnosticar un paciente con TEA a edad temprana (antes de los 3 años), puede ser difícil y poco probable, lo que trae como consecuencia que el trastorno se agrava significativamente en una gran cantidad de pacientes no diagnosticados ni tratados a tiempo (6). Es por ello, que en el presente estudio se propuso evaluar los niveles séricos de los parámetros bioquímicos realizados en el laboratorio clínico de rutina entre los

que se incluyen glicemia, nitrógeno ureico sanguíneo (BUN), creatinina, ácido úrico, proteínas totales y fraccionadas, colesterol, triglicéridos, Alanino aminotransferasa (ALT), Aspartato aminotransferasa (AST) y Bilirrubina total, en niños diagnosticados con Trastorno del Espectro Autista sin tratamiento previo de ninguna naturaleza, a fin de establecer un perfil de pruebas de laboratorio clínico que permitan el diagnóstico precoz y la caracterización oportuna de los pacientes con TEA en Venezuela.

Materiales y métodos

Este estudio incluyó una investigación de tipo descriptiva con un diseño experimental, en la cual se realizó la determinación de los niveles séricos de los parámetros bioquímicos realizados de rutina en el laboratorio clínico a 65 niños con diagnóstico del Trastorno del Espectro Autista pertenecientes a la Unidad de Autismo del Edificio “Negra Matea”, de la “Maternidad Concepción Palacios”, con edades comprendidas entre 2 y 17 años, sin previo tratamiento de ninguna naturaleza. Adicionalmente, se evaluó un grupo control conformado por 65 niños sanos sin diagnóstico de TEA, con edades comprendidas entre 3 y 12 años.

La muestra de suero se obtuvo mediante punción venosa en el antebrazo luego de 8 a 12 horas de ayuno, y recolección en tubos comerciales evacuados con gel y activador de coagulo. Inmediatamente luego de la retracción del coágulo (30 min), la muestra fue centrifugada por 10 minutos a 2000 g e inmediatamente separado el suero para su análisis. El procesamiento de la muestra de suero se realizó empleando el equipo Dimensión RxL Max de la casa comercial Siemens.

Los valores obtenidos fueron analizados empleando el programa estadístico SPSS versión 17 para Windows. Se calcularon los análisis estadísticos descriptivos correspondientes a la media aritmética (X) y la desviación estándar (S) para cada uno de los parámetros bioquímicos analizados. La comparación entre ambos grupos (paciente/control) se realizó mediante la prueba T de Student. El intervalo de confianza fue de un 95% con una significancia de $p < 0.05$.

y recibió aval por parte del Comité de Bioética de la “Maternidad Concepción Palacios”. Todos los pacientes y sus representantes, incluidos en esta investigación, dieron su consentimiento informado escrito para participar en el estudio.

Resultados

En la Tabla 1 se clasifican los grupos de estudio según el género (masculino y femenino). De acuerdo con estos resultados se puede observar que un 76,6% del grupo de pacientes que presentan TEA pertenecen al sexo masculino, mientras que solo un 23,4% son de sexo femenino.

Tabla 1. Clasificación de los pacientes con TEA y control según el género.

Grupo	Masculino	Femenino
Paciente TEA	49 (76,6%)	15 (23,4%)
Control	20 (31,3%)	44(68,7%)

En la Tabla 2 se muestran los estadísticos descriptivos de los niveles de los parámetros bioquímicos analizados en los pacientes con TEA y control, evidenciándose que los niveles séricos de Creatinina, Ácido Úrico, BUN, Triglicéridos, Proteínas Totales, Albumina, Globulinas, ALT, AST y Bilirrubina Total, son muy similares y no presentaron diferencias significativas entre ambos grupos ($p > 0.05$). De igual manera, se observa que los niños con TEA presentan niveles significativamente más elevados de glicemia ($p=0.001$), así como niveles significativamente más bajos de colesterol total ($p<0,05$) con respecto al grupo control.

Tabla 2. Estadísticos descriptivos de los resultados de los parámetros bioquímicos analizados en los pacientes con TEA y control.

Parámetros	Grupo Pacientes TEA			Grupo Pacientes Control			P
	n	(X)	S	n	(X)	S	
Glicemia	64	83,413	6,724	64	75,797	7,413	<0,001
Colesterol	64	142,438	26,881	64	155,906	28,931	<0,05
Creatinina	64	0,494	0,122	64	0,459	0,100	>0,05
Ácido Úrico	64	3,731	1,091	64	3,600	0,548	>0,05
BUN	64	9,141	2,343	64	9,453	1,935	>0,05
Triglicéridos	64	73,032	32,663	64	76,031	35,875	>0,05
Proteínas Totales	64	7,166	0,413	64	7,061	0,339	>0,05
Albumina	64	4,117	0,405	64	4,148	0,406	>0,05
Globulinas	64	3,042	0,400	64	2,930	0,419	>0,05
ALT	64	29,578	8,131	64	31,143	4,871	>0,05
AST	64	32,125	9,140	64	29,828	5,667	>0,05
Bilirrubina Total	64	0,478	0,254	64	0,432	0,168	>0,05

Discusión

Hoy en día se acepta que los trastornos del espectro autista (TEA) es un grupo heterogéneo de desórdenes que interfieren con el adecuado desarrollo social, verbal, no verbal y de la comunicación. La etiología de esta condición es desconocida, pero probablemente se deba al resultado de la interacción de factores genéticos, neurológicos, ambientales e inmunológicos, que dan lugar a un fenotipo de comportamiento definido como TEA (7).

Según nuestros resultados 76,6% de los niños diagnosticados corresponden al sexo masculino, con una razón de 4:1, es decir, por cada hembra hay aproximadamente 4 varones con TEA. Este aumento de la prevalencia masculina ha sido frecuentemente reportado en varios trastornos del desarrollo neurológico, lo que sugiere el hecho de un modelo de protección femenina. A favor de esta conclusión se ha publicado en la revista "American Journal of Human Genetics", un estudio donde se analizaron los genes de 1.614 personas con autismo. Identificando un gen conocido como SHANK1 que cuando muta, puede ser responsable de generar alteraciones en el funcionamiento adecuado de la sinapsis, desencadenando dificultades en la capacidad de comunicación e interacción social propias del autismo, y aunque la razón todavía no se conoce completamente, se observa que en mujeres esta mutación no parece afectar la sinapsis, creando cierto nivel de resistencia. Sin embargo, cuando los casos de la mutación son más severos se rompe la inmunidad femenina, y es allí cuando son capaces de presentar alteraciones en la sinapsis (8).

A favor de la inmunidad femenina se publicó otro estudio en la revista "American Journal of Human Genetics", en el que identifican un nuevo gen candidato para el autismo, el receptor de alfa huérfano (RORA) relacionado con el ácido retinoico (RAR), que es un factor de transcripción dependiente de hormonas sexuales. En resumen, indican que los pacientes con autismo presentan una reducción en la expresión proteica de RORA, este último está involucrado en varios procesos claves, incluida la diferenciación de células de Purkinje, protección de las neuronas contra el estrés oxidativo, supresión de inflamación y regulación del ritmo circadiano. Se observó en

esta investigación que los niveles de testosterona (Andrógenos) generaban menor expresión proteica de RORA, sin embargo, los aumentos de los niveles de estrógenos generaban a su vez aumentos de RORA. En conclusión, las mujeres al presentar fisiológicamente mayores niveles de estrógenos generaban un efecto protector de las neuronas contra el estrés oxidativo y de esta manera menos riesgos de presentar TEA (9).

En relación al diagnóstico, sabemos que actualmente no existe un biomarcador específico para los TEA capaz de generar diferencias medibles, ya sea intracelular o extracelularmente, entre estados fisiológicos y patológicos (10). En este estudio analizamos todos los parámetros bioquímicos rutinarios tanto en los niños con TEA como en controles; evidenciando que los niños con TEA poseen niveles significativamente más bajos de colesterol total con respecto a los niños sanos.

En el año 2006, Tierney. E y cols diseñaron un estudio para determinar la incidencia de Smith-Lemli-Opitz (SLOS), en un grupo de sujetos con dos o más parientes de primer grado con TEA. Para esta investigación utilizaron 100 muestras de suero de niños con TEA seleccionados, y evaluaron el colesterol y todos los precursores de escualeno. Los resultados indicaron que ninguna muestra tuvo un nivel anormalmente aumentado de 7-deshidrocolesterol reductasa (7DHC), consistente con el diagnóstico de SLOS. Sin embargo, 19 de las 100 muestras presentaron un nivel de colesterol total inferior a 100 mg / dL. Los investigadores demostraron que el SLOS es una causa poco común de TEA, y adicionalmente evidenciaron que al menos el 20% de los niños TEA presentan una hipocolesterolemia importante (11).

En el año 2008, Aneja, A y cols publicaron en la revista "Journal International Review of Psychiatry", un estudio que refleja la importancia que tiene el colesterol y lo que su déficit puede contribuir al TEA, tal y como se observa en el SLOS. Los investigadores indican que las personas con SLOS tratadas con colesterol presentan menos conductas autistas, así como también menos infecciones y síntomas de irritabilidad e hiperactividad. Los estudios indican que en definitiva el colesterol debe considerarse como un enfoque de tratamiento útil mientras se espera

una mejor comprensión del metabolismo del colesterol y el TEA (12).

De este modo, en el año 2011, Lee, R y cols; publicaron un documento donde exponen las diferentes hipótesis sobre el papel de los esteroides en pacientes TEA y proponen a su vez direcciones futuras para terapias dirigidas a los niños TEA. Este documento reseña que la disfunción del colesterol puede conducir a TEA mediante tres mecanismos que funcionan sinérgicamente durante el desarrollo cerebral. El primer mecanismo descrito es la alteración del patrón “sonic hedgehog” (SHH); el colesterol bajo genera un gradiente de SHH anormal, que puede alterar el destino de las células del cerebro en desarrollo, dando lugar a trastornos con anormalidades neuronales difusas, tales como Autismo y SLOS. El segundo mecanismo propone que las balsas lipídicas de la membrana celular y la función proteica necesitan de manera indispensable el contenido de colesterol; estas últimas pueden representar uno de los muchos sustratos biológicos que dan forma a las redes neuronales en el cerebro. Por último, el tercer mecanismo propone que un déficit de colesterol genera un deterioro de la síntesis de neuroesteroides, influyendo posiblemente en el comportamiento del SLOS (13).

Por su parte Maderas, A y cols en el año 2012, estudiaron los posibles biomarcadores que pudiesen ser significativos en los trastornos neurológicos. Los autores concluyeron que un candidato relevante en el perfil de biomarcadores en pacientes TEA era el colesterol, así como también sus moléculas asociadas, debido a su gran importancia en el desarrollo y mantenimiento del Sistema Nervioso Central. Este estudio indicó que la determinación del colesterol puede generar pistas relevantes para el diagnóstico y la intervención temprana en la infancia de niños con Trastorno del Espectro Autista (10).

Adicionalmente a la hipocolesterolemia, en nuestra investigación hayamos niveles significativamente más elevados de glicemia en los pacientes con TEA en relación a los controles sanos. En la literatura internacional es poca la información encontrada con respecto a la evaluación de los niveles de glicemia en la población con TEA, sin embargo se encuentran disponibles los resultados del estudio realizado por Currais, A y cols en el año 2015, en el

que se observaron 2 grupos de una cepa de ratones con manifestaciones similares a las observadas en el autismo. El primer grupo estuvo sometido a una dieta con bajo índice glucémico mientras que el segundo grupo fue sometido a una dieta de índice glucémico alto. En la investigación se compararon ambos grupos, obteniéndose que los ratones con dietas ricas en azúcar presentaron niveles cerebrales mucho más bajos de doblecortina, una proteína asociada con las células nerviosas del cerebro. Adicionalmente, este grupo mostró más actividad genética asociada con la inflamación así como evidente comportamiento autista, es decir, evitaron el contacto con ratones nuevos colocados cerca de sus cámaras, y repetían acciones que no tenían un propósito aparente. Por el contrario, los ratones sometidos a dieta de bajo índice glucémico mostraron una reducción general en sus comportamientos similares al autismo y, fueron capaces de pasar más tiempo cerca de nuevos ratones (14).

Conclusiones

Aunque aún no está esclarecida la etiología de la hipocolesterolemia así como su posible contribución en las manifestaciones del TEA, los niveles séricos de colesterol total podrían ser un valioso biomarcador a emplear en el diagnóstico y caracterización del Trastorno del Espectro Autista. Así mismo, pensamos es necesario expandir los estudios sobre la posible relación entre los niveles de glicemia y el TEA, a fin de generar nuevos enfoques para la investigación y el tratamiento del TEA.

Agradecimiento

Este proyecto está adscrito al Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad Central de Venezuela (U.C.V.), obtuvo financiamiento a través del programa de financiamiento para la investigación del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH), de la U.C.V., bajo el contrato N°PG-09-8820-2013/1, por el Ministerio del Poder Popular para Ciencia, Tecnología e Innovación 2014, la Coordinación de Investigación de la Facultad de Medicina y AIVEPET. Agradecimiento especial a los padres o representantes de los niños incluidos en el estudio, a la Unidad de Autismo de la

Maternidad Concepción Palacios ubicada en el edificio “Negra Matea” y al Colegio la Patria de Bolívar

Referencias

1. Asociación Americana de Psiquiatría. DSM-IV-TR. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. 1ª Edición. Masson: Barcelona, España; 2002.
2. American Psychiatric Association. DSM-5. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Fifth edition. Washington D.C: American Psychiatric Association; 2013.
3. World Health Organization. ICD-11. International Classification of Diseases. 11th Revision. WHO: Ginebra; 2018.
4. Organización Mundial de la Salud. Trastorno del Espectro Autista. OMS [en línea]. 2017 [Citado 15 Junio 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/autism-spectrum-disorders/es/>
5. Laguna, A. Estadísticas del Trastorno Autista aumentaron en un 700% en los últimos 20 años. El Carabobeño [en línea]. 2017 [Citado 2 Junio 2018]. Disponible en: <https://www.el-carabobeno.com/estadisticas-del-trastorno-autista-aumentado-700-los-ultimos-20-anos/>
6. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Centro Nacional de Defectos Congénitos y Discapacidades del Desarrollo de los CDC. CDC [en línea]. 2016 [Citado 21 Julio 2018]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/65/ss/ss6503a1.htm>
7. Domínguez C, Mahfoud A. Una mirada a la investigación en autismo en Venezuela. RET, 2009;1(2):110-115.
8. Sato D, Lionel A, Leblond C, Prasad A, Pinto D, Walker S, *et al.* SHANK1 Deletions in Males with Autism Spectrum Disorder. *Am J Hum Genet* 2012;90(5):879-887. doi: 10.1016/j.ajhg.2012.03.017.
9. Sarachana T, Xu M, Wu R-C, Hu VW. Sex Hormones in Autism: Androgens and Estrogens Differentially and Reciprocally Regulate RORA, a Novel Candidate Gene for Autism. *PLoS One* 6(2): e17116. [en línea]. 2011 [Citado 12 Julio 2018]. [aprox. 7p.]. doi.org/10.1371/journal.pone.0017116.
10. Maderas A, Sokolowska I, Taurines R, Gerlach M, Dudley E, Thome J *et al* Potential biomarkers in psychiatry: focus on the cholesterol system. *Cell Mol Med* 2012;16(6):1184-1195. doi: 10.1111/j.1582-4934.2012.01543.x
11. Tierney E, Bukelis I, Thompson RE, Ahmed K, Aneja A, Kratz L, *et al.* Abnormalities of Cholesterol Metabolism in Autism Spectrum Disorders. *Am J Med Genet* 2006;141B(6):666-668. doi: 10.1002/ajmg.b.30368.
12. Aneja A, Tierney E. Autism: The role of cholesterol in treatment. *Int Rev Psychiatry* 2008;20 (2):165-170. doi: 10.1080/09540260801889062.
13. Lee R y Tierney E. Hypothesis: The Role of Sterols in Autism Spectrum Disorder. *Autism Research and Treatment* [en línea]. 2011 [Citado 21 Agosto 2018]; [aprox. 7p.]. doi.org/10.1155/2011/653570
14. Currais A, Farrokhi C, Dargusch R Goujon-Svrzic M, Maher P. Dietary glycemic index modulates the behavioral and biochemical abnormalities associated with autism spectrum disorder. *Mol Psychiatry* 2016;21(3):426-436. doi: 10.1038/mp.2015.64.