

# Alteraciones neuroconductuales en niños con autismo relacionadas con niveles de amonio plasmático y bacterias hidrolizantes de urea

**Autores** Xiomara Moreno Calderón<sup>1</sup> , María Fátima Garcés<sup>2</sup> , Betania Rodríguez<sup>3</sup> ,  
Celsy Hernández<sup>4</sup> , Ana Márquez<sup>5</sup> , Jonattan Ramos<sup>6</sup> , Karolina López<sup>7</sup> 

**Afiliación**

- 1 Bioanalista. M.Sc. en Micología Médica. Microbiólogo del Departamento de Microbiología Instituto Médico la Floresta. Correo: [x.morenoc@hotmail.com](mailto:x.morenoc@hotmail.com) ORCID: [0000-0002-5924-6158](https://orcid.org/0000-0002-5924-6158)
- 2 Bioanalista. Dra. en Ciencias, Mención Bioquímica. Profesor Titular Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas. Facultad de Medicina, Escuela de Bioanálisis, Universidad Central de Venezuela. Correo: [mariafatimagarces@hotmail.com](mailto:mariafatimagarces@hotmail.com) ORCID: [0000-0002-5113-598X](https://orcid.org/0000-0002-5113-598X)
- 3 Bioanalista. Fundación Jacinto Convit. Caracas. Venezuela. Correo: [betaniarodriguez@gmail.com](mailto:betaniarodriguez@gmail.com) ORCID: [0000-0002-7796-7450](https://orcid.org/0000-0002-7796-7450)
- 4 Bioanalista. MSc. en Aseguramiento de la Calidad. Profesor Agregado Cátedra de Bioquímica B. Investigador del Laboratorio de Investigaciones básicas y Aplicadas. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Correo: [celsyhernandez@gmail.com](mailto:celsyhernandez@gmail.com) ORCID: [0000-0001-7161-1835](https://orcid.org/0000-0001-7161-1835)
- 5 Médico Psiquiatra. Coordinadora Unidad de Autismo Maternidad Concepción Palacios. Correo: [anaceciliamardu@gmail.com](mailto:anaceciliamardu@gmail.com) ORCID: [0000-0002-7907-9254](https://orcid.org/0000-0002-7907-9254)
- 6 Estadístico. Jefe de Dpto. de Diseño Estadístico y Modelo de Investigación de Operaciones. Escuela de Estadística y Ciencias Actuariales. Universidad Central de Venezuela. Correo: [jonattanramos@gmail.com](mailto:jonattanramos@gmail.com) ORCID: [0000-0001-5882-1387](https://orcid.org/0000-0001-5882-1387)
- 7 Médico Pediatra-Gastroenterólogo. Unidad de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica, Hospital General Dr. Miguel Pérez Carreño, IVSS. Caracas-Venezuela. Correo: [drakarolinalepez@hotmail.com](mailto:drakarolinalepez@hotmail.com) ORCID: [0000-0001-8244-4307](https://orcid.org/0000-0001-8244-4307)

Autora de Correspondencia: Xiomara Moreno Calderón. Correo: [x.morenoc@hotmail.com](mailto:x.morenoc@hotmail.com)

Revista GEN (Gastroenterología Nacional) 2022; 76(1): 10-16.

© Sociedad Venezolana de Gastroenterología. Caracas, Venezuela- ISSN 2477-975X.

## Resumen

**Introducción:** Diversas teorías indican una relación estrecha entre la disbiosis intestinal y sus metabolitos, en especial las que relacionan la presencia de amonio con alteraciones neuroconductuales en pacientes con trastorno del espectro autista (TEA). **Objetivo:** Relacionar niveles de amonio plasmático con el sobrecrecimiento bacteriano, para conocer si existe asociación con la ingesta de antimicrobianos y anticonvulsivos, cambios en el electroencefalograma y alteraciones neuroconductuales y gastrointestinales en pacientes con TEA. **Métodos:** Se evaluó la disbiosis intestinal y los niveles de amonio plasmático en un grupo intencional de 63 niños con TEA y en 35 niños como grupo control. Se aplicó un cuestionario para recolectar datos epidemiológicos, clínicos y neuroconductuales. **Resultados:** El 61% de los pacientes con disbiosis intestinal presentaron aumentos en el filo Proteobacteria, de los cuales el 40% fueron bacterias capaces de hidrolizar la urea. Los niveles de amonio plasmático se asociaron significativamente con bacterias que hidrolizan la urea en los niños con TEA en un 43%. La ingesta de antimicrobianos estuvo asociada a las bacterias que

hidrolizaron la urea y los niveles de amonio plasmático sobre la media en los pacientes con TEA. Los niveles de amonio plasmático estuvieron asociados con la mayoría de las alteraciones neuroconductuales evaluadas en estos pacientes.

**Conclusiones:** Las alteraciones neuroconductuales evaluadas en los pacientes con TEA en el presente estudio estuvieron relacionadas con el incremento de los niveles de amonio producidos por bacterias que hidrolizan la urea, causantes de disbiosis intestinal.

**Palabras clave:** Trastorno del espectro autista, niveles de amonio plasmático, bacterias hidrolizantes de urea, alteraciones neuroconductuales, microbiota gastrointestinal aeróbica, antimicrobianos.

**NEUROCONDUCTUAL ALTERATIONS IN CHILDREN WITH AUTISM ASSOCIATED WITH LEVELS OF PLASMA AMMONIA AND UREA HYDROLYZING BACTERIA**

## Summary

**Introduction:** Autism is a neurodevelopmental disorder; its etiology is not yet well defined. Several theories indicating a close relationship between intestinal dysbiosis and its metabolites have emerged, especially those related with the presence of ammonium and neurobehavioral alterations in patients with autism spectrum disorder (ASD). **Objectives:** Relate plasmatic ammonium levels with bacterial overgrowth, to find out if there is an association with antimicrobials and anticonvulsants intake, electroencephalogram changes, and neurobehavioral and gastrointestinal alterations in patients with ASD. **Methods:** Intestinal dysbiosis and plasmatic ammonium levels were evaluated in an intentional group of 63 children with ASD and in 35 healthy children as a control group. A survey to collect epidemiological, clinical and neurobehavioral data was applied. **Results:** 61% of the patients with intestinal dysbiosis showed increases in Proteobacteria phylum, of which 40% were urea hydrolyzing bacteria. The plasmatic ammonium levels were significantly associated with urea hydrolyzing bacteria in 43% of children with ASD. Antimicrobials intake were associated with levels of plasmatic ammonium levels and urea hydrolyzing bacteria above the average in patients with ASD. Most of the neurobehavioral alterations evaluated in these patients were associated with plasmatic ammonium levels. **Conclusions:** In this study, the neurobehavioral alterations evaluated in patients with ASD were related to the increase in plasmatic ammonium levels produced by urea hydrolyzing bacteria causing intestinal dysbiosis.

**Key words:** Autism spectrum disorder; Plasmatic ammonium levels; Urea hydrolyzing bacteria; Neurobehavioral alterations; Aerobic gastrointestinal microbiota; Antimicrobials.

## Introducción

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. Actualmente no se conoce la etiología del trastorno del espectro autista (TEA)<sup>1</sup>. Sin embargo, existen propuestas científicas que involucran alteraciones metabólicas y microbiológicas que pudieran estar asociados a las alteraciones neuroconductuales presentadas en los pacientes con TEA<sup>2,3</sup>.

Se ha descrito que los niños con TEA pueden tener cierta predisposición a errores innatos del metabolismo. Uno de los tantos metabolitos implicados en estos errores innatos es el amonio como producto de alteraciones en el ciclo de la urea, debido a que el nitrógeno se acumula en forma de amoníaco<sup>3,4</sup>. Adicionalmente el amonio puede ser generado por el metabolismo que ejerce la ureasa bacteriana de proteínas y aminoácidos que llegan al colon, así como también por la actividad de la glutaminasa del epitelio duodenal<sup>3,5</sup>.

La presencia de hiperamonemia leve o moderada existente en niños con TEA<sup>6</sup>, pudiera deberse a un error congénito del metabolismo que causan acidemias orgánicas, defectos en la

oxidación de ácidos grasos y síndrome de hiperinsulinismo; por defectos de las enzimas que catalizan el ciclo de la urea y la arginasa, además de falla en el transporte intermediario del ciclo de la urea; así como también por un sobrecrecimiento bacteriano que genera una desregulación en la simbiosis de la microbiota intestinal (MI) ocasionando una disbiosis en el paciente<sup>3,5-8</sup>, trayendo como consecuencia alteraciones en el desarrollo cognitivo y conductual en los niños con TEA, por lo que es conveniente aclarar que pueden encontrarse situaciones diversas donde la hiperamonemia no corresponde a un trastorno del metabolismo y que deben ser tomadas en cuenta para el diagnóstico diferencial.

Bajo estas consideraciones, en el presente estudio se relacionaron niveles de amonio plasmático (NAP) con el sobrecrecimiento bacteriano o disbiosis, para conocer si existe asociación con la ingesta de antimicrobianos, anticonvulsivos, cambios en el electroencefalograma y alteraciones neuroconductuales y gastrointestinales en pacientes con TEA.

## Pacientes y Métodos

Investigación de tipo transversal, prospectiva y descriptiva, en un grupo de niños diagnosticados con TEA y un grupo de niños sanos como control, realizada entre mayo 2018 y julio 2019; en el laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad Central de Venezuela (U.C.V) y el Departamento de Microbiología del Instituto Médico la Floresta.

El protocolo para desarrollar la presente investigación se apegó a la Declaración Helsinki de 1975, bajo la última revisión realizada el 5 de mayo de 2015. Adicionalmente, esta investigación contó con el aval del comité de Bioética de la Maternidad Concepción Palacios y el consentimiento informado de los padres y/o representantes de los niños del estudio.

Se evaluaron los niveles de amonio plasmático (NAP) y la microbiota gastrointestinal aeróbica (MGIA) en una muestra intencional de 63 niños diagnosticados con TEA del área Metropolitana de Caracas. Los criterios de aceptación fueron que debían provenir del Centro de Referencia Nacional de la Unidad de Autismo "Negra Matea", rango de edad comprendido entre los 2 y 14 años, que no estuviesen bajo ningún tratamiento médico ni nutricional previo a la recolección de las muestras.

El grupo control estuvo constituido por 35 niños (aparentemente sanos) tomados de manera intencional, provenientes del Colegio "Patria de Bolívar", ubicado en Santa Mónica-Caracas; entre 2 y 14 años, normotípicos sin ninguna condición neurológica ni enfermedad gastrointestinal demostrada. Los criterios de exclusión establecidos para los 2 grupos fue que no cumplieren con los criterios de aceptación antes mencionados.

La muestra para la determinación de amonio plasmático se obtuvo mediante punción venosa en el antebrazo (sin la utilización del torniquete) y recolección anaerobia en tubos comerciales con vacío y anticoagulante EDTA. Los NAP fueron determinados a través del método AMON provisto por la casa

comercial Siemens, este último es una adaptación del método enzimático de Glutamato deshidrogenasa (GLDH) de Van Anken, que se sustituye el uso de NADPH por NADH, evitándose la interferencia producida por otras reacciones que consumen NADH, a una absorbancia de 340 nm 9 a través del equipo Dimension RxL Max. Los valores obtenidos fueron analizados de acuerdo a los valores de referencia del amonio plasmático establecido para la edad (11-32 µmol/L), según el método utilizado.

Para la evaluación de la MGIA se utilizó 1 gramo de heces por cada medio de transporte (Cary-Blayr y Ammies, Oxoid-U.S. A), la muestra fue tomada por los padres de acuerdo a un instructivo suministrado para la recolección, preservación y traslado de la misma. Para el procesamiento de las muestras de heces en el laboratorio de microbiología y la interpretación del grado de disbiosis se utilizó la metodología estandarizada por Moreno y col., la cual clasifica la disbiosis en Grado I, Grado II, Grado III y Ausente 10. Los microorganismos identificados se agruparon en 3 filos: *Proteobacteria*, *Firmicutes* y *Ascomycota*. Este análisis se basó en la identificación y evaluación de la alteración de la MGIA como causante de disbiosis.

Se utilizó un cuestionario para recolectar los datos epidemiológicos (edad, sexo, diagnóstico), síntomas gastrointestinales (diarrea, estreñimiento y dolor abdominal), alteraciones de conductas del neurodesarrollo (aleteo, autoagresión, berrinches, insomnio y alteración de la capacidad verbal), ingesta de antimicrobianos, anticonvulsivos y si tenían electroencefalograma; provenientes de la historia clínica, referencias de los padres, el médico psiquiatra y gastroenterólogo tratantes del protocolo y de la observación directa de los investigadores.

El análisis de datos se realizó empleando el programa estadístico SPSS versión 23 para Windows. Se realizaron comparaciones de los NAP, MGIA, antibióticos, anticonvulsivos y EEG entre pacientes y controles mediante el método paramétrico prueba t de student. Se utilizó estadística descriptiva, frecuencias y porcentajes. Para comparar las variables entre sí, se utilizó la prueba de Chi-cuadrado. El nivel de significancia fue de  $p < 0,05$ .

Resultados

La presente investigación estuvo conformada por un grupo problema de 63 niños con TEA en edades comprendidas entre 2 y 14 años, ± 7 años; 52 (83 %) masculinos y 11 (17 %) femeninos. El grupo control, estuvo conformada por 35 niños normotípicos, con edades comprendida entre 2 y 14 años, ± 7 años; 18 (51 %) masculinos y 17 (49 %) femeninos.

En el estudio de disbiosis realizado a los 63 niños con TEA, un 84 % presentó alteración de la MGIA en diferentes grados, (figura 1). Los estudios de disbiosis en el grupo control utilizaron para evaluar la ausencia de alteración de la MGIA, observándose una valoración estadística significativa de  $p < 0,05$  respecto al grupo con TEA.

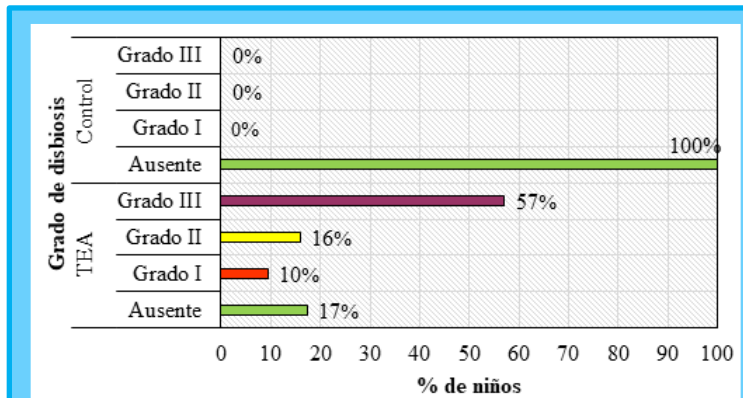


Figura 1. Grado de disbiosis en niños con trastorno del espectro autista y controles.

La valoración del estudio de disbiosis en los niños con TEA, estuvo representado por una variedad de 34 especies de microorganismo, de las cuales 23 fueron causantes de disbiosis, agrupándose por categorías taxonómicas: el 61 % perteneció al filo *Proteobacteria*, el 26% al filo *Firmicutes* y el 13% al filo *Ascomycota* (figura 2).

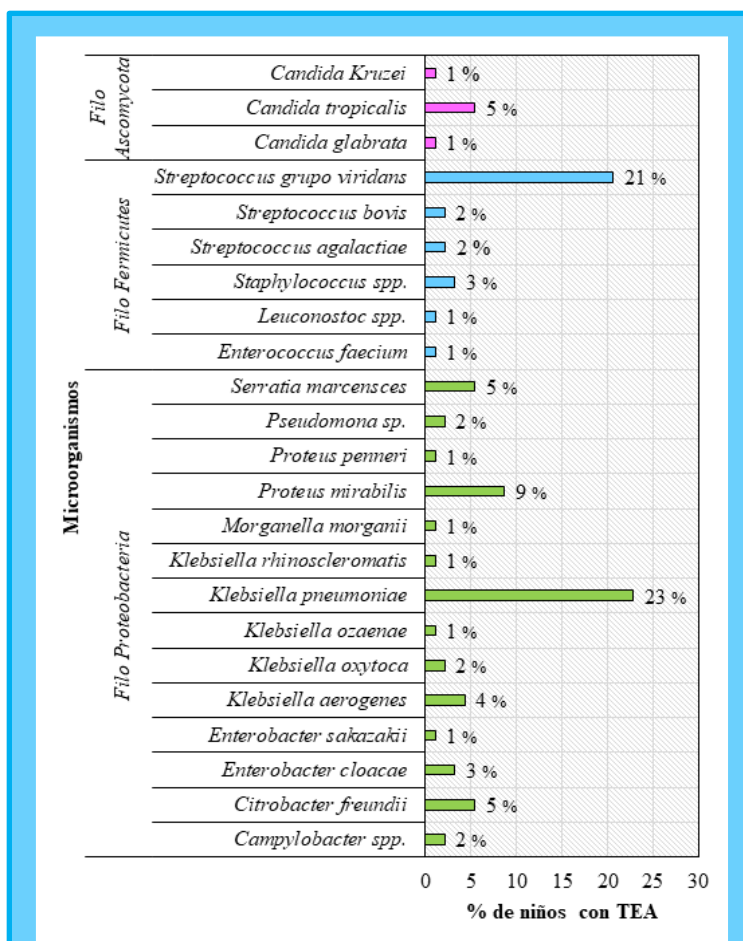


Figura 2. Microorganismos causantes de disbiosis en niños con trastorno del espectro autista.

Al asociar la DI presente en los niños con TEA y los filos *Proteobacteria*, *Firmicutes* y *Ascomycota* se evidenció que, los tres filos presentan una asociación estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ), con la alteración de la MGIA en estos pacientes.

En cuanto a los patobiontes o microorganismos transitorios más frecuentes, se encontraron: *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus* grupo *viridans* y *Proteus mirabilis* como causantes de disbiosis mayormente aislados, obteniéndose un 23%, 21% y 9% en los pacientes con TEA, respectivamente (figura 2).

El número total de microorganismos aislados perteneciente al filo *Proteobacteria* fue de 57 (62%), de los cuales el 37 (40%) de microorganismos fueron capaces de hidrolizar la urea, reportándose una significancia de  $p < 0,00001$  entre la disbiosis y los microorganismos capaces de hidrolizar la urea perteneciente al filo *Proteobacteria*. De los 63 niños con TEA, 41 (65%) presentaron aislamiento de microorganismos capaces de hidrolizar la urea. (figura 3, tabla 1).

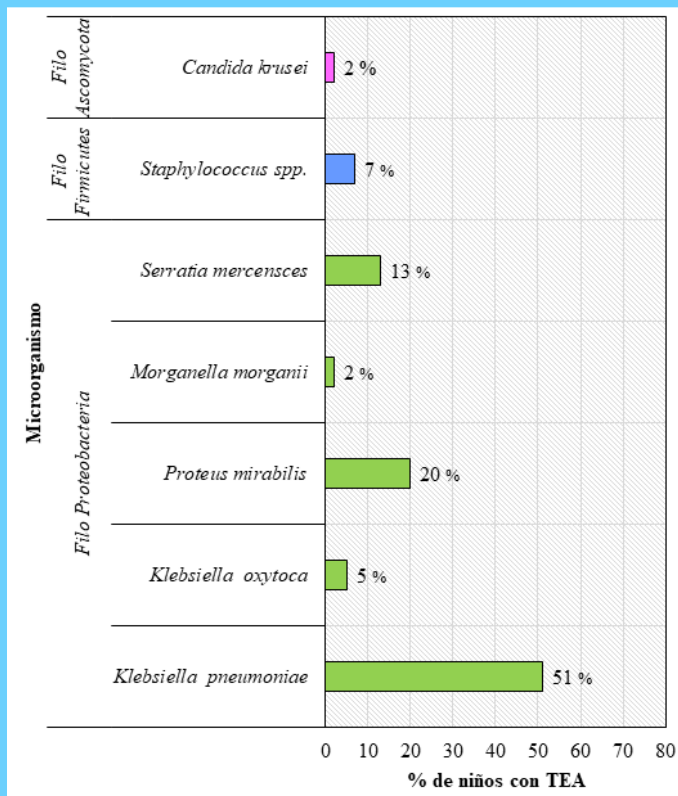


Figura 3. Microorganismos causantes de disbiosis que hidrolizan la urea en niños con trastorno del espectro autista.

La determinación de los NAP les fue realizada a 63 niños con TEA y 35 niños controles. Los datos obtenidos para el grupo paciente con TEA fueron los siguientes: una media  $\pm 2$  desviaciones estándar ( $X \pm 2DS$ ) de  $23,0 \pm 11,5 \mu\text{mol/L}$ , mientras que para el grupo control se obtuvo una media  $\pm 2$  desviaciones estándar ( $X \pm 2DS$ ) de  $15,4 \pm 3,8 \mu\text{mol/L}$  (tabla 2, figura 4).

Tabla 1. Asociación entre los niveles de amonio igual o mayor a la media versus microorganismos que hidrolizan la urea, ingesta de antimicrobianos, patrón del electroencefalograma y manifestaciones neuroconductorales

Niveles de amonio plasmático versus microorganismos del Filo <i>Proteobacteria</i> que hidrolizan la Urea en pacientes con TEA				
NAP total	Pacientes con NAP $\geq 23 \mu\text{mol/L}$	Total de <i>Proteobacterias</i> que hidrolizan urea	Pacientes con NAP $\geq 23 \mu\text{mol/L}$ + hidrolizantes de urea	p
21/63	21 (34 %)	37 (40 %)	9 (43 %)	<0,05
Niveles de amonio plasmático versus ingesta de antimicrobianos en pacientes con TEA				
NAP total	N total de pacientes	Ingirieron antimicrobianos	No ingirieron antimicrobianos	p
21/63	21 (100 %)	20 (95 %)	1 (5 %)	<0,05
Niveles de amonio plasmático versus patrón del electroencefalograma en pacientes con TEA				
NAP total	N total de pacientes con ECG	Patrón normal	Patrón anormal	P
18/63	18 (100 %)	13 (72 %)	5 (28 %)	<0,05
Niveles de amonio plasmático versus manifestaciones neuroconductorales en TEA				
NAP Total	N total de pacientes	Presencia de autoagresión	Ausencia de autoagresión	p
21/63	21 (100 %)	9 (43 %)	12 (57 %)	<0,05
NAP Total	N total de pacientes	Presencia de berrinches	Ausencia de berrinches	p
21/63	21 (100 %)	15 (71 %)	6 (29 %)	<0,05
NAP Total	N total de pacientes	Alteración de comunicación	No alteración de comunicación	p
21/63	21 (100 %)	9 (43 %)	12 (57 %)	<0,05
NAP Total	N total de pacientes	Presencia de insomnio	Ausencia de insomnio	p
21/63	21 (100 %)	8 (38 %)	13 (62 %)	<0,05

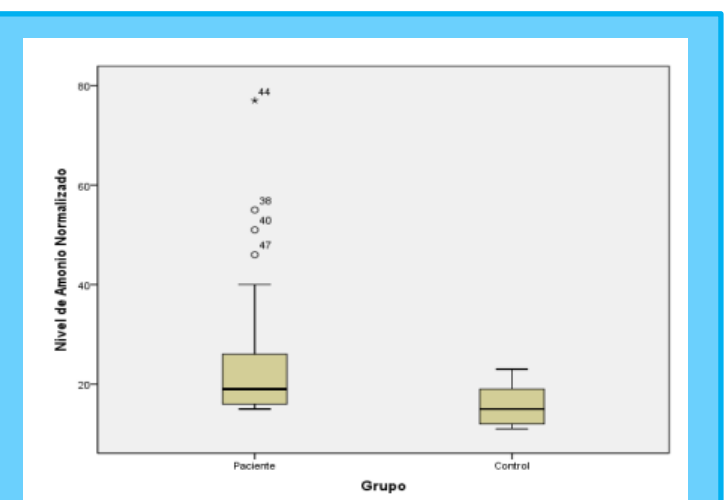


Figura 4. Gráfico de cajas donde se observa la distribución de los Niveles de amonio plasmático igual o mayor a la media en niños con trastorno del espectro autista y grupo control.

**Tabla 2.** Niveles de amonio plasmático en niños con trastorno del espectro autista y grupo control

	Grupos	n	Media $\mu\text{mol/L}$	Mediana	varianza	DS	P
Amonio	Control	35	15,77	15	14	3,76	<0,05
	Pacientes	63	23,07	19	132	11,49	

El nivel poblacional sigue una distribución probabilística normal dentro del rango de referencia establecido (11-32  $\mu\text{mol/L}$ ), por lo que se aplicó una prueba diferencial de medias asumiendo varianzas distintas, con un nivel de amonio promedio (23,0  $\mu\text{mol/L}$ ) en los pacientes con TEA sobre el nivel promedio de los controles (16  $\mu\text{mol/L}$ ), obteniendo una significancia estadística ( $p < 0,05$ ), (tabla 2).

Al correlacionar los 63 pacientes TEA con NAP y la DI total, relación NAP con trastornos gastrointestinales (estreñimiento, diarrea, dolor abdominal), aleteos como manifestación neuroconductual y NAP con la ingesta de anticonvulsivos no hubo relación estadística significativa ( $p > 0,05$ ).

En cuanto a la relación de los NAP con la ingesta de antimicrobianos (amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, azitromicina y cefadroxilo) patrón del electroencefalograma y manifestaciones neuroconductuales, presentaron significancia estadística de  $p < 0,05$ , resultados que se observan en la tabla 1.

## Discusión

La mayoría de los niños con TEA presentaron disbiosis respecto al grupo control, resultados concordantes con los obtenidos por otros investigadores<sup>11-13</sup> quienes demostraron que existe un alto porcentaje de DI en niños con TEA en comparación con un grupo control. La DI aerobia evaluada en el presente estudio respecto a las 3 categorías taxonómicas reportó: 1) Para el filo Proteobacterias el mayor porcentaje de microorganismos gramnegativos fue *Klebsiella pneumoniae* seguido de *Proteus mirabilis*. Estas bacterias patobiontes o transitorias son capaces de generar afecciones inflamatorias crónicas relacionándose con inflamación local o sistémica generada por los lipopolisacáridos presentes en la membrana externa que inducen la síntesis de citoquinas proinflamatorias<sup>14-16</sup>. 2) En el filo Firmicutes, el microorganismo más aislado fue *Streptococcus* grupo *viridans*. Esta bacteria predomina habitualmente en la cavidad oral a pesar de que su desarrollo a nivel intestinal es poco frecuente, su sobre crecimiento en esta área está asociado con enfermedades como el síndrome de colon irritable e inflamación intestinal, intolerancia alimentaria, enfermedades autoinmunes, entre otras<sup>17,18</sup>. En cuanto al filo Ascomycota, su papel como causante DI se encontró en menor proporción respecto a los dos filos investigados y descritos anteriormente, siendo *Candida tropicalis* la levadura más común.

De los microorganismos causantes de DI pertenecientes al filo *Proteobacteria*, más de un tercio fueron capaces de hidrolizar la urea en los pacientes con TEA. Diversos estudios indican que

diversas sustancias pueden influir en la inflamación del TGI como la ingesta de antimicrobianos, gluten, caseína, aditivos químicos, insuficiencia enzimática e incremento de toxinas producto del metabolismo de las bacterias<sup>19</sup>. Adicionalmente se ha evidenciado, que el deterioro de la integridad de la pared intestinal puede deberse al incremento de los microorganismos transitorios que generan sustancias lesivas propias de su metabolismo, atravesando dicha pared e invadiendo al torrente circulatorio<sup>20-22</sup>.

De las sustancias lesivas más influyentes capaz de ingresar al torrente sanguíneo y generar afecciones neurológicas se encuentran el amoniaco<sup>23</sup>. En el presente estudio la determinación de los NAP en los pacientes con TEA, se observaron valores iguales o superiores a la media con respecto al grupo control. Investigadores como Filipek, *et al.*, evaluaron metabolitos como carnitina, amonio, lactato y piruvato en niños con TEA encontrando el amonio elevado en la mayoría de los pacientes estudiados obteniendo valores significativos en comparación al grupo control<sup>24</sup>, así como los resultados obtenidos por Saleem *et al.*<sup>25</sup>, y Hassan *et al.*<sup>26</sup>. Valores sobre la media o elevados de los NAP en pacientes con TEA pueden deberse a trastornos metabólicos entre ellos los errores congénitos en la síntesis de urea acumulándose el nitrógeno en forma de amoniaco o deberse al metabolismo que ejerce la ureasa bacteriana hidrolizando la urea en amoniaco y dióxido de carbono<sup>3,25-27</sup>.

En esta investigación al correlacionar la disbiosis en sus diferentes grados con los NAP igual o mayor al promedio en los pacientes con TEA no se encontró analogía, situación que pudiera deberse a que no todos los microorganismos causantes de DI son capaces de hidrolizar la urea. Sin embargo, a favor de la teoría planteada en esta investigación se obtuvo una asociación significativa entre los microorganismos que hidrolizan la urea específicamente los pertenecientes al filo *Proteobacteria* y los NAP igual o superiores al promedio, como lo describen Hassan *et al.*<sup>26</sup>. Investigadores como Fallon, *et al.*<sup>28</sup>, indican que los NAP cercanos al límite superior estándar o elevados, puede ser producto del amoniaco metabolizado por las bacterias; ocasionando toxicidad en las células en especial las del SNC. Esta neurotoxicidad puede estar involucrada en enfermedades neurológicas incluyendo el autismo<sup>28</sup>. El aumento de amoniaco impacta el cerebro a nivel de la función microcapilar y reduce el ciclo del glutamato-óxido nítrico conduciendo a déficits de aprendizaje y pérdidas de habilidades previamente desarrolladas que conllevan a alteraciones neuroconductuales<sup>26</sup> como las que se encontraron en el presente estudio.

Con respecto a la ingesta de antimicrobianos y su relación con los microorganismos causantes de DI capaces de hidrolizar la urea, se pudo constatar que casi tres tercios de los pacientes con TEA ingirieron antimicrobianos, evidenciándose de esta manera que su ingesta intervino en la alteración de la simbiosis del TGI coadyuvando en la producción de NAP igual o superior al promedio de manera significativa. Es importante acotar que al observar el historial médico de los pacientes con TEA la mayoría les fue administrado amoxicilina/ácido clavulánico

(AAC) por alguna enfermedad relacionada con el tracto respiratorio superior (otitis, faringitis, rinitis, entre otras afecciones). Estos resultados concuerdan nuevamente con los de Fallon *et al.*<sup>28</sup>, quienes resalta la hipótesis de que la DI es debida al uso prolongado de antimicrobianos, los cuales pueden promover como efecto secundario la acumulación de residuos neurotóxicos como el amonio.

Un estudio en niños con TEA en edades  $\leq 3$  años, demostró que el uso excesivo de antibiototerapia con AAC debido a episodios recurrentes de otitis media crónica elevaron los niveles de amoniaco. El AAC necesita para su elaboración procesos catalíticos fermentativos, y para ello incorpora cantidades de amoniaco; sin embargo esas cantidades pueden inhibir las enzimas involucradas en el ciclo de la urea específicamente la ureasa, así como también dejar residuos de amoniaco en el TGI conllevando a que el paciente presente concentraciones de amonio plasmático elevados bien sea por encima de la media normal estandarizada o por niveles fuera del control, afectando el neurodesarrollo del paciente<sup>29</sup>. Otro estudio evaluó los medios de cultivo y las condiciones ideales para mejorar los títulos de producción del AAC, empleando procesos de fermentación con la bacteria *Streptomyces clavuligerus* de manera natural y la producción de AAC con amoniaco; resultando más fructífero comercialmente la producción del antimicrobiano con el segundo procedimiento<sup>30</sup>. Las investigaciones anteriormente señaladas evidencian que efectivamente existe una correlación entre los antibióticos, los NAP y los microorganismos que hidrolizan la urea, dándole mayor soporte a la presente investigación.

Al correlacionar los NAP iguales o superiores al promedio con los patrones anormales reflejados en el EEG en los pacientes con TEA se obtuvieron valores significantes; resultados similares a los obtenidos por Saleem *et al.*<sup>25</sup>. Además, concuerda con la hipótesis sugerida por Fallon *et al.*<sup>28</sup>, que refieren que niveles de amonio por encima de la media o elevados respecto al estándar pueden ocasionar neurotoxicidad en las células del sistema nervioso central y por consiguiente una alteración en la función cerebral en diferentes enfermedades neurológicas donde los patrones del EEG puedan resultar anormales.

Un estudio realizado por Etchepareborda, *et al.*<sup>31</sup>, seleccionaron cuatro grupos de 10 pacientes cada uno: 1) Grupo con trastorno del habla y lenguaje (THL), 2) Grupo con trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), 3) Grupo con sintomatología neuropsicológica mixta (SNM) y 4) Grupo con TEA. Estos pacientes tenían en común una alteración en el EEG, sin presentar síntomas de epilepsia, todos fueron tratados con anticonvulsivantes logrando una mejoría del 80% en los patrones del EEG<sup>31</sup>. Resultados que no concuerdan con los obtenidos en la presente investigación donde los niños con TEA que presentaban alteraciones en el patrón del EEG y tomaban anticonvulsivantes no presentaron ninguna mejoría, lo que permite sugerir que existen múltiples factores que pueden intervenir en las alteraciones a nivel conductual y en el patrón del EEG, y uno de esos factores serían los niveles de amonio

por encima de la media o elevados encontrados en esta investigación.

## Conclusión

Esta investigación concluye que la causa principal de la mayoría de las alteraciones neuroconductuales evaluadas en los pacientes con TEA está relacionada con el incremento de los niveles de amonio por microorganismos que hidrolizan la urea como causantes de disbiosis intestinal. Los pacientes con TEA que no presentaron este tipo de asociación se les deberían evaluar la hiperamonemia asociada a otros procesos metabólicos, que pudieran ser considerados en futuras investigaciones. Además, evaluar un mayor número de pacientes con TEA, el comportamiento de la hiperamonemia causada por microorganismos hidrolizantes de urea y las diferentes alteraciones emitidas en el EEG para confirmar o rechazar los resultados obtenidos en la presente investigación.

## Referencias

1. American Psychiatric Association. neurodevelopment disorders in: diagnostic and statistical Manual of Mental disorders, 5th edition. Washington, DC: American Psychiatric Publishing, Inc., 2014. 01.
2. Trating Autism, ESPA Research, Autism Tratment Plus. Comorbilidades médicas en los trastornos del espectro autista. Hinking Autism. 2014; 2da. Edición.
3. Urdaneta Yllen M. Relación del amonio sérico con la severidad de la encefalopatía hepática. Rev Gen. 2008; 62 (1): 44-48
4. Nogales A, López K, Navarro D, Rosell A, Quintana Betsabeth, Enicar P, et al. Hiperamonemia en niños: clasificación y opciones terapéuticas. Gen. 2013; 7(1):11-15.
5. Martins I. Una aproximación a los desórdenes hereditarios del ciclo de la urea en el hombre. Rev Biomed. 2005; 16(3):196-204.
6. Varela-Gonzales D, Ruiz-García M, Vela-Amieva M, Munive-Baez L, Hernández-Antúnez B. Conceptos actuales sobre la etiología del autismo. Acta Pediatr Mex. 2011; 32(4):213-222.
7. Enns G, Packman S. Diagnosing Inborn Errors of Metabolism in the Newborn: Laboratory Investigations. Neo Reviews. 2001; 2:192- 200.
8. Ortega JA, Bacarreza DV, Castillo I, Ceballos C, Mata P. Hiperamonemia como complicación en Pacientes con Síndrome de Intestino Corto. Rev Mex de Cir Ped. 2006; 13 (3):117-131.
9. García R, Soto A, Ortega A, Guevara P, Guillén E, Matin J, et al. Recomendaciones para la utilización de la determinación de amonio en plasma en el Laboratorio Clínico. SEQC-ML 2007; 26(5):256-264.

10. Moreno X, Santamaría G, Sánchez R, de la Torre B, Garcés, F, Hernández C, et al. Microbiota gastrointestinal aeróbica en niños con trastorno del espectro autista. Estudio preliminar. GEN. 2015; 69 (2):36-44.
11. Finegold SM, Molitoris D, Song Y, et al. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2002; 35(1): S6-S16.
12. Strati F, Cavalieri D, Albanese D, De Felice C, Donati C, Hayek J, Jousson O, Leoncini S, Renzi D, Calabrò A, De Filippo C. New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. *Microbiome*. 2017; 5(1):24.
13. Moreno X, Santamaria G, Sánchez R, Olivares A, Garcés Fátima, Hernández C, et al. Disbiosis aeróbica y síntomas gastrointestinales y conductuales en niños con trastorno del espectro autista. *A C SVBE*. 2018; 21(2): 36-44.
14. Chow J, Tang H, Mazmanian SK. Pathobionts of the gastrointestinal microbiota and inflammatory disease. *Curr Opin Immunol*. 2011; 23(4):473-80.
15. Garrett WS, Punit S, Gallini CA, Michaud M, Zhang D, Sigrist KS, et al. Colitis-associated colorectal cancer driven by T-bet deficiency in dendritic cells. *Cancer Cell*. 2009; 16(3):208-19.
16. Chan YK, Estaki M, Gibson DL. Clinical consequences of diet-induced dysbiosis. *Ann Nutr Metab*. 2013; 63(2):28-40.
17. Yan Q, Gu Y, Li X, Yang W, Jia L, Chen C, et al. Alterations of the Gut Microbiome in Hypertension Front Cell Infect Microbiol. 2017; 7:381.
18. Moreno-Calderón X, Vialva-Guerrero A, Núñez-Bello M, Macero-Esteves C, López-Barrera K, Márquez-Duque A, et al. Estudio observacional de la microbiota intestinal aeróbica. *Kasmera*. 2020; 48(2): e48231547.
19. Royero Gutiérrez HA. Enfermedad inflamatoria intestinal. *Rev Col Gastroenterol*. 2003; 18(1): 24-41.
20. Alparo Herrera I. Manifestaciones gastrointestinales de niños con espectro autista. *Rev. Bol. Ped*. 2013; 52(3): 165-167.
21. Srikantha P, Mohajeri MH. The Possible Role of the Microbiota-Gut-Brain-Axis in Autism Spectrum Disorder. *Int J Mol Sci*. 2019;20(9):2115.
22. Burrus CJ. A biochemical rationale for the interaction between gastrointestinal yeast and autism. *Med Hypotheses*. 2012; 79(6):784-5.
23. Auron A, Brophy PD. Hyperammonemia in review: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Pediatr Nephrol*. 2012; 27(2):207-22.
24. Filipek PA, Juraneck J, Nguyen MT, Cummings C, Gargus JJ. Relative carnitine deficiency in autism. *J Autism Dev Disord*. 2004; 34(6):615-23.
25. Saleem TH, Shehata GA, Toghian R, Sakhr HM, Bakri AH, Desoky T, et al. Assessments of Amino Acids, Ammonia and Oxidative Stress Among Cohort of Egyptian Autistic Children: Correlations with Electroencephalogram and Disease Severity. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2020; 16:11-24.
26. Hassan MH, Desoky T, Sakhr HM, Gabra RH, Bakri AH. Possible Metabolic Alterations among Autistic Male Children: Clinical and Biochemical Approaches. *J Mol Neurosci*. 2019;67(2):204-216.
27. Ming X, Stein TP, Barnes V, Rhodes N, Guo L. Metabolic perturbation in autism spectrum disorders: a metabolomics study. *J Proteome Res*. 2012; 11(12):5856-62.
28. Fallon JM, Feltenstein R. Use of lactulose in the treatment of Autism. Patent Application Publication: US 2008/0058282 A1. Mar. 6, 2008. United States.
29. Fallon J. Could one of the most widely prescribed antibiotics amoxicillin/clavulanate "augmentin" be a risk factor autism. *Medical Hypotheses*. 2005; 64: 312-315..
30. Sánchez C, Gómez N, Quintero J. Producción de ácido clavulánico por fermentación *Streptomyces clavuligerus*: evaluación de diferentes medios de cultivos y modelo matemático. *Dyna*. 2012; 175: 158-165.
31. Etchepareborda M. Tratamiento de los niños con electroencefalograma paroxístico sin crisis. *Rev Neurol*. 2003; 37:293-297.