

POLIMORFISMO A66G DEL GEN MTRR EN NIÑOS CON TRASTORNO DEL ESPECTRO AUTISTA

María Fátima Garcés (1), Cristina Sofia Bujosa Amaro (2), Clara Martínez (3), Ana Cecilia Márquez Mardu (4), Xiomara Moreno (5), Celsy Hernández (6), Karolina López (7).

Recibido: 10-10-2021
Aceptado: 15-12-2021

RESUMEN

Introducción: El Trastorno del Espectro Autista (TEA) es un trastorno psiquiátrico complejo del neurodesarrollo. Se desconoce su etiología, pero existe evidencia científica que indica la existencia de múltiples factores, entre ellos genéticos y ambientales. La metionina sintasa reductasa (MTRR) es una enzima que juega un papel importante en el metabolismo de la homocisteína/folato y se ha demostrado que está implicada en trastornos neurológicos, incluido el autismo. **Objetivo:** Evaluar la asociación entre el polimorfismo A66G, del gen MTRR y el TEA. **Métodos:** La población estudiada incluyó 95 niños atendidos en la Unidad de Autismo "Negra Matea" de la Maternidad Concepción Palacios y 65 niños controles, a los cuales se les extrajo una muestra sanguínea para la extracción de ADN y determinación de vitamina B12 y folato. La genotipificación del polimorfismo se realizó por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP). Para el análisis estadístico se utilizaron tablas de contingencia simple para evaluar la asociación entre las variables en estudio y los alelos de MTRR por Chi2 y Odds ratio. **Resultados:** El 87,4% de los niños con TEA eran del sexo masculino con una proporción 6:1 con respecto al sexo femenino. No se encontró una asociación significativa entre SNP rs1801394 y TEA infantil o su severidad. No se evidenciaron diferencias significativas entre los niveles de Vit B12 y folato entre niños con TEA y controles. **Conclusión:** No se encontró una asociación entre el polimorfismo A66G del gen MTRR y los TEA. *Arch Venez Puer Ped 2021; 84(3): 78 - 84*

Palabras clave: Trastorno del Espectro Autista, folato, vitamina B12, Metionina Sintasa Reductasa, Homocisteína.

A66G polymorphism of the MTRR gene in children with Autism Spectrum Disorder

SUMMARY

Introduction: Autism spectrum disorder (ASD) is a complex psychiatric neurodevelopmental disorder. The etiology of ASD is unknown but there is scientific evidence that indicates the existence of multiple factors, including genetic and environmental factors. Methionine synthase reductase (MTRR) is an enzyme that plays an important role in homocysteine/folate metabolism and has been shown to be implicated in neurological disorders including autism. **Objective:** To evaluate the association between the A66G polymorphism of the MTRR gene and ASD. **Methods:** The studied population included 95 children cared for in the Autism Unit "Negra Matea" of the Concepción Palacios Maternity, and 65 control children, from whom a blood sample was extracted for DNA extraction and determination of vitamin B12 and folate. Polymorphism genotyping was performed by polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphisms (RFLP). For statistical analysis, simple contingency tables were employed to evaluate the association between the studied variables and the MTRR alleles by Chi2 and Odds ratio. **Results:** 87.4% of the children with ASD were male with a 6:1 ratio compared to female. No significant association was found between SNP rs1801394 and childhood ASD or its severity. No significant differences were found between Vit B12 and folate levels between ASD children and controls. **Conclusion:** No association was found between the A66G polymorphism of the MTRR gene and autism spectrum disorders. *Arch Venez Puer Ped 2021; 84(3): 78 - 84*

Key words: Autism Spectrum Disorder, folate, vitamin B12, Methionine Synthase Reductase, Homocysteine.

1. Bioanalista. Dra. en Ciencias mención Bioquímica. Profesor Titular Cátedra de Bioquímica "A" Escuela de Bioanálisis. Coordinador Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas. ORCID 0000-0002-5113-598X. E-mail: mariafatimagarcaldasilva@gmail.com
2. Bioanalista. Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas, Facultad De Medicina, Escuela de Bioanálisis, Universidad Central de Venezuela, Caracas. ORCID 0000-0002-3308-0436. E-mail: tistina20@gmail.com
3. Biólogo. Dra. en Ciencias Biológicas. Profesor Asistente Cátedra de Bioquímica, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas. ORCID 0000-0002-3308-0436. E-mail: clara.martinezp@gmail.com
4. Médico Psiquiatra. Coordinador de la Unidad de Autismo Maternidad Concepción Palacios, Anexo "Negra Matea" Caracas-Venezuela. ORCID 0000-0002-7907-9254. E-mail: anaceciliamardu@gmail.com
5. Bioanalista. Msc en Micología Médica. Microbiólogo del departamento de Microbiología Instituto Médico la Floresta. ORCID 0000-0002-5924-6158. E-mail: x.morenoc@hotmail.comLic.
6. Bioanalista. MSc. en Aseguramiento de la Calidad. Profesor Agregado Cátedra de Bioquímica "B" e Investigador del Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas. ORCID 0000-0001-7161-1835. E-mail: celsyhernandez@gmail.com
7. Médico Pediatra, Gastroenterólogo unidad de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica Hospital General "Dr. Miguel Pérez Carreño", IVSS. Caracas-Venezuela. ORCID 0000-0001-8244-4307. E-mail: drakarolinalopez@hotmail.com

Autor correspondiente:

Dra. María Fatima Garcés Da Silva

Tel: 0212-6053308 / 0414-1363868, fax 0212-6053312 Email: mariafatimagarcaldasilva@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El Trastorno del Espectro Autista (TEA) es una condición neurobiológica poligénica, con compromiso multiorgánico y disfunción predominante del sistema nervioso central (SNC) que constituye una de las patologías del neurodesarrollo infantil de mayor gravedad, con consecuencias fundamentales en tres áreas de funcionamiento: socialización, comunicación y conducta. En estos pacientes se ven gravemente afectadas sus capacidades de adaptación a la vida en sociedad, en donde sus padres son los primeros en sospechar esta condición (1).

Es fundamental la detección precoz en niños menores de 3 años,

quienes al mejorar el neurodesarrollo tienen un mejor pronóstico con una reducción de los síntomas a corto plazo, reduciendo el deterioro intelectual, mejorando la comunicación social, el desarrollo del lenguaje y las habilidades sociales. Esto debido a que las intervenciones terapéuticas pueden comenzar a edades más tempranas en las que existe mayor plasticidad cerebral. Esto permite una mejor evolución y facilita la aceptación del diagnóstico por parte de las familias (2,3).

Aunque las causas de su etiología son inciertas, se conoce la influencia que tienen factores genéticos y ambientales. Se han observado alteraciones en los niveles de folato y vitamina B12, así como también en el metabolismo de la metionina y la homocisteína. Esto indica que los defectos en la vía del folato/metionina pueden desempeñar un papel importante en la fisiopatología del autismo, lo que ha dado lugar al creciente interés en el estudio de alteraciones involucradas en estas vías (4,5).

El folato participa en reacciones biológicas de metilación, involucradas en la conversión de la homocisteína a metionina. El incremento de los niveles de homocisteína en el plasma (hiperhomocisteinemia) contribuye al deterioro cognitivo por su efecto oxidante sobre proteínas funcionales y estructurales de neuronas y endotelio. También participa en la inhibición de las reacciones dependientes de la metilación, relacionándose directamente con malformaciones del tubo neural, del tracto urinario, del sistema cardiovascular, del paladar, de los miembros y espina bífida (4,6,7). La metionina sintasa reductasa (MRS), codificada por el gen MTRR, es una enzima clave en el metabolismo de la homocisteína, ya que se encarga de mantener activa la enzima metionina sintasa (MS) para que así la homocisteína pueda convertirse en metionina (5). El gen MTRR se encuentra localizado en el cromosoma 5. Se ha identificado que el polimorfismo más común en el gen de la metionina sintasa reductasa es la sustitución del nucleótido adenina por guanina en la posición 66 (66A → G) (rs1801394), ubicado en el exón 2, lo que lleva durante la traducción la incorporación de isoleucina en lugar de metionina en el codón en la posición 22 (I22M). Al existir dicho polimorfismo, se altera la estructura primaria de la proteína, lo que disminuye la actividad funcional de la enzima MSR dentro del metabolismo de remetilación, lo que origina hiperhomocisteinemia, la que puede traer como consecuencia disfunción endotelial, excitotoxicidad o estrés oxidativo, complicaciones de la gestación, defectos del tubo neural (DTN), desórdenes mentales, daño cognitivo en ancianos, psoriasis, algunas neoplasias y trastornos neuropsiquiátricos como el autismo (5,8). El objetivo del estudio es evaluar la asociación entre el polimorfismo A66G, del gen MTRR y el Trastorno del Espectro Autista (TEA).

MÉTODOS

Tipo y nivel de la investigación

El presente trabajo es un estudio descriptivo-correlacio-

nal, transversal no experimental, realizado en un grupo de niños diagnosticados con TEA para identificar el genotipo de riesgo del gen de la MTRR.

El estudio fue realizado en el Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad Central De Venezuela (U.C.V), en cooperación con la Unidad de Autismo del edificio “Negra Matea” de la Maternidad Concepción Palacios. El protocolo del estudio se realizó bajo las normas de ética establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), para trabajos de investigación en humanos y la Declaración de Helsinki (9). La investigación contó con el aval del comité de Bioética de la Maternidad Concepción Palacios, y con el consentimiento informado de los padres y/o representantes de los niños del estudio.

Población de estudio

La población estuvo constituida por 95 niños y adolescentes con edades comprendidas entre los 3 a 15 años, atendidos entre mayo 2014 – marzo 2020 en la unidad de Autismo del edificio “Negra Matea” de la Maternidad Concepción Palacios, y como grupo control de 65 niños aparentemente sanos entre los 3 y 13 años de edad, estudiantes del colegio “La Patria de Bolívar” en Caracas.

Criterios de inclusión: niños y adolescentes atendidos en el servicio de neuropediatría de la unidad de Autismo de la Maternidad Concepción Palacios con criterios incluidos en el manual de diagnóstico y estadística de los trastornos mentales DSM V (10) y la escala de observación para el diagnóstico del autismo (ADOS) (11). No debían estar recibiendo tratamiento alguno (terapias conductuales y de comunicación, tratamientos nutricionales, farmacológicos, entre otros). Grupo control: niños sin trastornos del neurodesarrollo, enfermedades de base o disfuncionalidad del sistema inmunológico.

Requisitos para el diagnóstico de TEA descritos en el manual DMS-V: A. deficiencias persistentes en la comunicación e interacción social; B. Patrones restrictivos y repetitivos de comportamiento, intereses o actividades; C. los síntomas deben de estar presentes en las primeras fases del período de desarrollo; D. los síntomas causan un deterioro clínicamente significativo en lo social, laboral u otras áreas importantes del funcionamiento habitual; E. estas alteraciones no se explican por la discapacidad intelectual (trastorno del desarrollo intelectual) o por retraso global del desarrollo (10). A partir de las observaciones realizadas se asignaron y registraron las puntuaciones o códigos de acuerdo con la aplicación en vivo. Posteriormente, en el momento de la corrección, los códigos se convierten en puntuaciones de algoritmo y se utilizan para completar el algoritmo diagnóstico que consiste en una selección de elementos que se suman y se comparan con puntos de corte predeterminados. El ADOS-2 es una evaluación estandarizada y semiestructurada de la comunicación, interacción social, juego o uso imaginativo de los materiales y las conductas restrictivas y repetiti-

vas dirigidas a niños, jóvenes y adultos con sospecha de encontrarse dentro de los TEA. El ADOS-2 es una revisión de la Escala de Observación para el Diagnóstico del Autismo (ADOS), que está compuesto por cinco módulos de evaluación, cada uno ofrece distintas actividades estandarizadas que han sido diseñadas para evocar comportamientos relacionados con el diagnóstico de los TEA en distintos niveles de desarrollo y edades cronológicas (11).

Recolección y procesamiento de muestras sanguíneas

Las muestras de sangre se colocaron en dos tubos, uno con y otro sin anticoagulante EDTA. Las muestras con anticoagulante fueron refrigeradas a 4 °C hasta realizar la extracción del ADN.

Genotipificación

La extracción de ADN se realizó por el método de "Bunce" (12) modificados y almacenados a -20 °C hasta la amplificación del ADN, la cual fue realizada por medio de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), en un termociclador (lab cycler de senso Quest, Alemania). La amplificación del polimorfismo A2756G del gen MTR se realizó por la técnica descrita por Leclerc y col., 1996 (13). El polimorfismo A66G, del gen MTRR fue detectado a través de una RFLP (Polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción), previa digestión enzimática del producto de PCR amplificado del gen MTRR con la enzima de restricción NspI, durante 3 horas a 37 °C. Las muestras digeridas fueron separadas por electroforesis en gel de poliacrilamida y visualizadas por tinción con nitrato de plata y visualizadas en un sistema de fotodocumentación digital, equipo uvitec (Gel Documentation Uvitec Limited, USA).

Determinación sérica de vitamina B12 y folato

Los niveles de vitamina B12 y folato se midieron me-

dante un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) tipo competitivo, al usar el kit de Panel de Anemia: Folato/Vit B12, de la casa comercial Monobind Inc. Los Intervalos de referencia para el folato son >3ng/mL y para la vitamina B12 son 200 – 835 pg/mL.

Análisis estadístico

Se empleó la estadística descriptiva (media y desviación estándar); para las comparaciones entre variables se empleó la prueba t de Student. Se considera la diferencia como estadísticamente significativa cuando $p < 0,05$. Se calculó la frecuencia alélica (FA) y frecuencia genotípica (FG) del gen en estudio, la cual fue obtenida por conteo directo a partir de los fenotipos asignados a cada individuo. Se empleó el paquete estadístico SPSS versión y tablas de contingencia simple, evaluando la asociación entre las variables en estudio (TEA y severidad de la enfermedad) y los alelos de MTRR por χ^2 y odds ratio (OR). Para determinar las relaciones entre los alelos de la MTRR estudiada y el trastorno se realizaron pruebas de ANOVA

RESULTADOS

Características generales de los individuos en estudio

En la tabla 1 se clasifican los grupos de estudio según edad y sexo y sus respectivos porcentajes. Se evaluaron 162 niños (95 correspondientes al grupo de pacientes TEA y 67 al grupo control). Estos fueron clasificados según la edad en preescolares (2-6 años), escolares (7-12 años) y adolescentes (mayores de 12 años). Estos resultados arrojan una razón de 6:1 a favor del sexo masculino en el grupo de pacientes. Igualmente se puede observar que un mayor porcentaje de pacientes (44,21%) se encuentra dentro del grupo preescolar. Según el diagnóstico de TEA la mayoría de los pacientes se encuentra en el grupo con diagnóstico moderado (49,4%),

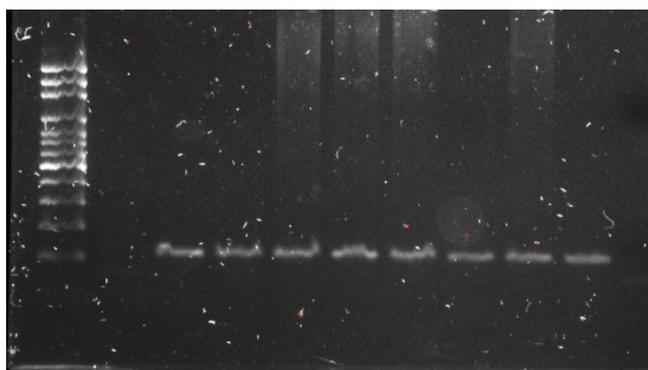


Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa al 2% del producto amplificado del gen de la enzima MTRR. La posición número 1 corresponde al marcador de peso molecular. La posición 2 al control negativo y las posiciones 3 al 10 corresponden a los productos amplificados del gen MTRR que poseen un peso molecular de 118 pb (pares de bases).

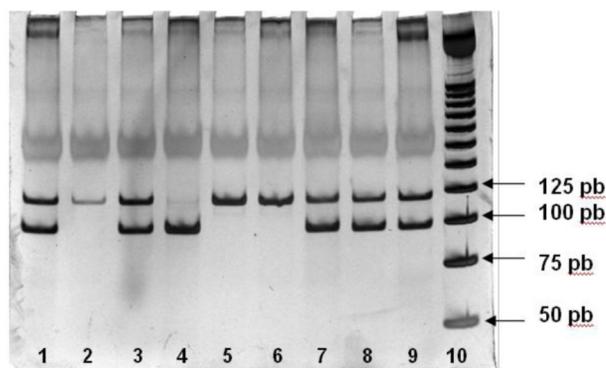


Figura 2. Producto de Digestión del fragmento amplificado por PCR, con la enzima de restricción Nsp I. Se muestra en la figura un gel de poliacrilamida al 10% (19:1) a 200 V por 30 min, coloreado con nitrato de plata y visualizado y fotografiado por el equipo BIORAD. En la posición: 1,3,7,8,9) portador del genotipo AG. 2, 5, 6) portador del genotipo AA. 4) portador del genotipo GG 10) Marcador de peso molecular de 25 pb.

seguido del grupo leve (44,21%) y en menor proporción el grupo severo (6,32%).

Tipificación de la variante A66G del gen MTRR

En la Figura 1 se observa el producto de amplificación correspondiente al polimorfismo A66G (rs 1801394) del gen MTRR, obtenido por el método de PCR, en el que puede visualizarse el producto de 118pb. En la Figura 2, se observa la RFLP de la digestión del producto de 118pb. Se evidencia para el genotipo A que la enzima no corta y para el genotipo G un corte obteniendo dos fragmentos, uno de 94pb y otro de 24pb (fragmento pequeño que no se observa en el gel). Interpretación de los fragmentos:

- o Visualización de 2 fragmentos (118pb, 94pb), correspondiente al genotipo heterocigoto AG.

- o Visualización de 1 fragmentos (118pb), correspondiente al genotipo homocigoto AA
- o Visualización de 1 fragmentos (94pb), correspondiente al genotipo homocigoto GG.

Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo A66G del gen de la MTRR

En el grupo de estudio, la distribución genotípica del polimorfismo A66G del gen MTRR se encontró en equilibrio de Hardy Weinberg ($X^2 = 3,33984375$, $p = 0,067621$). En la Tabla 2 se refleja la frecuencia genotípica del polimorfismo A66G, del gen MTRR en los niños con TEA y los controles. En el grupo de los niños estudiados se observó la presencia de dos de los tres genotipos posibles, A/A y A/G. La mayor frecuencia que se observó en niños con TEA fue para el genotipo A/A (68%), seguido por el genotipo A/G (32%). En el grupo de los niños controles, se tiene como genotipo predominante el A/A (55%) y con menor porcentaje el A/G (45%). El genotipo G/G no se presentó en los pacientes TEA y controles.

Determinación de folato y vitamina B12

Los resultados obtenidos en la determinación de los niveles séricos de folato y vitamina B12 se muestran en la Tabla 3. Tanto para los pacientes TEA como para el grupo control se obtuvieron resultados dentro de los valores de referencia normales para el folato y la vitamina B12, no observándose diferencias significativas entre ambos grupos. No se evidenciaron diferencias significativas entre los niveles de folato y vitamina B12 para los pacientes TEA de acuerdo con el genotipo del gen MTRR (Tabla 4).

Tabla 1. Clasificación de los grupos de estudio según edad y sexo

Grupo	Sexo	Grupo Etario			Total (%)
		Preescolar (%)	Escolar (%)	Adolescente (%)	
Paciente	Masculino	36 (37,89)	32 (33,68)	14 (14,74)	82 (86,73)
	Femenino	6 (6,32)	5 (5,26)	2 (2,11)	13 (13,27)
	Total	42 (44,21)	37 (38,94)	16 (16,85)	95 (100)
Control	Masculino	12 (17,91)	18 (26,87)	0	30 (44,78)
	Femenino	11 (16,42)	26 (38,81)	0	37 (55,22)
	Total	23 (34,33)	44 (65,67)	0	67 (100)

Preescolar: 2 – 6 años; Escolar: 7 – 12 años; Adolescente: > 12 años

Tabla 2. Frecuencias genotípicas y alélicas de la variante A66G MTRR de niños TEA y niños control.

Genotipo	Niños TEA (casos)	Niño control	OR (95%)	p
A/A	65 (68%)	36 (55%)	1,745 (0,908 – 3,353)	
A/G	30 (32%)	29 (45%)	0,57 (0,298 – 1,101)	0,093
G/G	0	0		
Alelo				
A	160 (84%)	101 (78%)	1,531 (0,868 – 2,702)	0,140
G	30 (16%)	29 (22%)	0,653 (0,370 – 1,152)	

Tabla 3. Niveles de folato y vitamina B12 de niños TEA y niños control

Parámetros	Niños TEA	Niños control	p
Folato	15,66 ± 10,17	14,22 ± 9,89	> 0,05
Vitamina B12	497,34 ± 201,10	466,42 ± 148,12	> 0,05

Los datos representan la media ± desviación estándar

Tabla 4. Niveles de folato y vitamina B12 según el genotipo de MTRR

Parámetros	Genotipo		p
	A/A	A/G	
Folato	15,02 ± 9,99	15,08 ± 10,08	> 0,05
Vitamina B12	490,35 ± 182,71	482,01 ± 179,26	> 0,05

Los datos representan la media ± desviación estándar

DISCUSIÓN

Los estudios realizados a nivel mundial muestran que el TEA posee una prevalencia de 0,6% en la población en general, y se ha demostrado que una intervención oportuna es un factor importante en el pronóstico y tratamiento del trastorno. Actualmente, se reconoce que la etiología del autismo es compleja y muy heterogénea. Existe un amplio espectro de hipótesis sobre sus causas, siendo que la

mayoría concluye que es un trastorno que se caracteriza por patrones atípicos de conectividad establecidos durante el neurodesarrollo. Se investigan factores genético-ambientales que podrían favorecer la vulnerabilidad, haciéndose gran énfasis en la posibilidad de que muchos defectos genéticos resulten de cambios epigenéticos. Ejemplo de ello serían daños a nivel de ADN fetal, proceso que puede verse inducido por elementos ambientales como alguna respuesta inmune materna a procesos infecciosos in útero, la cual puede causar daños significativos en el desarrollo neural temprano (14,15).

Los resultados obtenidos en el presente estudio arrojan que existe mayor número de niños diagnosticados con TEA que niñas, con una relación de 6:1. Esto se correlaciona con teorías de diferentes autores, las cuales indican un aumento en la prevalencia de trastornos neurológicos en pacientes masculinos, con lo que se refiere que la población femenina posee un modelo de protección genética (16).

Las enzimas MTRR, MTR, MTHFR y CBS tienen un importante papel en el metabolismo del ácido fólico, Vit B12 y Vit B6. La enzima MTRR tiene un papel clave en mantener la Vit B12 en el estado activo que a su vez dona grupo metilo a MTR que convierte la homocisteína (Hcy) en el aminoácido metionina (17). La enzima MTRR es codificada por el gen MTRR y el polimorfismo más común es A66G, en el que sustituye la metionina por isoleucina después de cambiar el alelo A por el alelo G en la posición 66, el cual disminuye la actividad de la enzima (18). También se ha sugerido que aumentan las concentraciones de Hcy (19). Una de las etiologías de los TEA es la hiperhomocisteinemia (HHcy), que puede ser causada por el polimorfismo de MTRR A66G. Sin embargo, este polimorfismo y su asociación con TEA todavía no está clara; varias investigaciones argumentan su papel en patogénesis que no son consistentes entre sí, pero algunos investigadores documentaron que los alelos portadores de G están presentes en mayor número de individuos con Hcy (20). Por otro lado, Guéant-Rodríguez y col, reportaron que el aumento moderado de Hcy puede deberse al genotipo AA (21).

En el presente estudio se analizó el polimorfismo SNP MTRR, el cual es un gen relacionado con la vitamina B12 y el metabolismo del folato en niños con TEA. No se encontraron diferencias significativas en la distribución genotípica y frecuencia alélica del SNP rs1801394 del gen MTRR entre niños con TEA y controles sanos. No se observó una correlación significativa entre los SNP examinados y la severidad de la enfermedad. El polimorfismo rs1801394 (A66G) en el gen MTRR conduce a una afinidad reducida por el sustrato (18). Un estudio de casos y controles encontró que el alelo A de rs1801394 en el gen MTRR se asoció con un riesgo reducido de TEA (2).

Los resultados reportados en este estudio no mostraron una asociación significativa entre SNP rs1801394 y TEA infantil o su gravedad. Resultados similares fueron halla-

dos por Zhang Z y col en un estudio con 201 niños chinos en los que no encontraron asociación entre los polimorfismos de las enzimas del metabolismo de la Vitamina B12, folato y TEA, ni con la severidad de la enfermedad (22). Sin embargo, el polimorfismo rs1801394 en el gen MTRR se ha identificado como un factor de riesgo para varios trastornos neuropsiquiátricos (23). Kaluzna-Czaplinska y col. encontraron que HHcy e hiperhomocistinuria son más comunes en niños autistas y están relacionados con el trastorno del desarrollo de TEA; pueden ser considerados como un buen factor diagnóstico de la enfermedad y reflejan la desnutrición en niños que padecen la enfermedad. Además, el folato/ciclo de la metionina, que determina el nivel de Hcy en la sangre juega un papel esencial en el TEA y sus síntomas (24). La HHcy y su papel en las enfermedades neuropsiquiátricas, incluido el TEA están respaldados por muchos estudios (25, 26). La hiperhomocistinuria, seguida de HHcy, refleja la elevación anormal de Hcy en la sangre, en paralelo a la homocistinuria. La penetración de la Hcy en el sistema nervioso central ocurre debido a que este aminoácido cruza la barrera hematoencefálica (25). En el cerebro, la Hcy actúa como agonista del glutamato (27), aumentando la actividad del glutamato en el cerebro, lo cual podría estar implicado en el desarrollo de trastornos neuropsiquiátricos, incluido el TEA (28). En este estudio no se determinó la concentración de Hcy por lo que no se puede establecer su asociación con el polimorfismo.

Los trastornos metabólicos de las vitaminas podrían interactuar con ciertos polimorfismos de estos genes aumentando el riesgo de desarrollar TEA, por lo que es necesario medir las vitaminas y sus metabolitos para buscar una posible asociación, no sólo con la MTRR, sino con los otros genes que intervienen en el metabolismo del ácido fólico y la Vitamina B12.

Actualmente las investigaciones tratan de esclarecer la genética y la biología molecular de los TEA para introducir nuevas opciones diagnósticas y terapéuticas efectivas. Las modificaciones epigenéticas ofrecen un mecanismo por el cual los factores ambientales pueden conducir a cambios en la salud de la población. Estos hallazgos llevan a proponer la hipótesis de que “varios factores ambientales pueden cambiar el estado epigenético y alterar la expresión de varios genes neuronales, lo que da como resultado una función cerebral anormal, asociada con algunos trastornos del neurodesarrollo (29). Estos estudios tienen el potencial de aumentar nuestra comprensión de la etiología de los TEA y pueden ayudar en el desarrollo de biomarcadores para su predicción, diagnóstico, pronóstico y, finalmente, en su prevención e intervención.

CONCLUSIONES

No se encontró una asociación entre el polimorfismo A66G MTRR y los TEA o su severidad.

AGRADECIMIENTOS

El proyecto fue financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) Proyecto de Grupo n° 09-00-8202-2013, por el Ministerio del Poder Popular para Ciencia, Tecnología e Innovación diciembre 2014, la Coordinación de Investigación de la Facultad de Medicina. Agradecimiento especial: a los padres o representantes de los niños incluidos en el estudio, a la unidad de Autismo de la Maternidad Concepción Palacios “Negra Matea” y al Colegio la Patria de Bolívar.

REFERENCIAS

- 1.- Baxter A, Brugha T, Erskine H, Scheurer R, Vos T, Scott J. the epidemiology and global burden of autism spectrum disorders. *Psychol med* 2015;45:601–613. <https://doi.org/10.1017/s003329171400172X>.
- 2.- Fuller EA, Kaiser A. The effects of early intervention on social communication outcomes for children with autism spectrum disorder: a meta-analysis. *J Autism Dev Disord*. 2020;50(5):1683–1700. <https://doi.org/10.1007/s10803-019-03927-z>.
- 3.- Rogers SJ, Estes A, Lord C, Vismara L, Winter J, Fitzpatrick A et al. Effects of a brief Early Start Denver model (ESDM)-based parent intervention on toddlers at risk for autism spectrum disorders: a randomized controlled trial. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2012;51(10):1052-1065. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2012.08.003>.
- 4.- Hiraoka M, Kagawa Y. Genetic polymorphisms and folate status. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2017;57(5):142-149. <https://doi.org/10.1111/cga.122325>.
- 5.- Ajabi S, Mashayekhi F, Bidabadi E. A study of MTRR 66A>G gene polymorphism in patients with autism from northern Iran. *Neurology Asia*. 2017;22(1):59 – 64. [citado 10 feb 2020]. Disponible en: [http://www.neurology-asia.org/articles/neuroasia-2017-22\(1\)-059.pdf](http://www.neurology-asia.org/articles/neuroasia-2017-22(1)-059.pdf)
- 6.- Al Mutairi F. Hyperhomocysteinemia: Clinical Insights. *J Cent Nerv Syst Dis*. Jan 2020; <https://doi.org/10.1177/1179573520962230>
- 7.- Gallardo-Carrasco MC, Jiménez-Barbero JA, Bravo-Pastor MDM, Martín-Castillo D, Sánchez-Muñoz M. Serum Vitamin D, Folate and Fatty Acid Levels in Children with Autism Spectrum Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Autism Dev Disord*. Nov 2021;doi: 10.1007/s10803-021-05335-8.
- 8.- Navarro M, Vicci H, Rivero L, Sosa M, Niño C, Martínez A et al. Polimorfismos de los genes que expresan para la metionina sintasa reductasa y metileno tetrahidrofolato reductasa en individuos con un evento cardiovascular. *Odous Científica*. 2013;14(2):14-22. [citado 10 feb 2020]. Disponible en: <http://servicio.bc.uc.edu.ve/odontologia/revista/vol14-n2/art02.pdf>
- 9.- The World Medical Association Ethics Unit. Declaration of Helsinki. [citado 10 feb 2020]. Disponible en: <http://www.wma.net/e/ethicsunit>.
- 10.- American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-V). 5th edition. Washington, DC: American Psychiatric Association 2013.
- 11.- Lord C, Rutter M, Di Lavore P, Risi S, Gotham K, Bishop S. ADOS-2. Escala de observación para el diagnóstico del Autismo - 2. Manual (Parte I): módulos 1-4. TEA ediciones. Madrid 2015, pp. 11-216.
- 12.- Welsh KI, Bunce M. Molecular typing for the MHC with PCR-SSP. *Rev Immunogenet*. 1999;1(2):157-176.
- 13.- Leclerc D, Campeau E, Goyette P, Adjalla C, Christensen B, Ross M et al. Human Methionine Synthase: cDNA Cloning and Identification of Mutations in Patients of the cblG Complementation Group of Folate/Cobalamin Disorders. *Hum Mol Genet*. 1996;5(12):1867-1874. <https://doi.org/10.1093/hmg/5.12.1867>
- 14.- Modabbernia A, Velthorst E, Reichenberg A. Environmental risk factors for autism: an evidence-based review of systematic reviews and meta-analyses. *Mol Autism*. 2017;8:13. <https://doi.org/10.1186/s13229-017-0121-4>.
- 15.- Zalaquett D, Schönstedt M, Angeli M, Herrera C, Moyano A. Fundamentos de la intervención temprana en niños con Trastornos del Espectro Autista. *Rev Chil Pediatr*. 2015; 86(2):126-131. <https://doi.org/10.1016/j.rchipe.2015.04.025>
- 16.- Jacquemont S, Coe B, Hersch M, Duyzend M, Krumm N, Bergmann S et al. A higher mutational Burden in females supports a “Female Protective Model” in neurodevelopmental disorder. *Am J Hum Genet*. 2014;94(3):415-425. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.02.001>
- 17.- Al Mutairi F. Hyperhomocysteinemia: Clinical Insights. *J Cent Nerv Syst Dis*. 2020;12:1179573520962230. <https://doi.org/10.1177/1179573520962230>.
- 18.- Olteanu H, Munson T, Banerjee R. Differences in the efficiency of reductive activation of methionine synthase and exogenous electron acceptors between the common polymorphic variants of human methionine synthase reductase. *Biochemistry*. 2002;41(133):78–85. <https://doi.org/10.1021/bi020536s>.
- 19.- Frye RE, Slattery JC, Quadros EV. Folate metabolism abnormalities in autism: potential biomarkers. *Biomark Med*. 2017;8(8):687-699. <https://doi.org/10.2217/bmm-2017-0109>.
- 20.- Kluijtmans LA, Young IS, Boreham CA, Murray L, McMaster D, McNulty H et al. Genetic and nutritional factors contributing to hyperhomocysteinemia in young adults. *Blood*. 2003;101(7):2483-2488. doi: <https://doi.org/10.1182/blood.V101.7.2483>
- 21.- Guéant-Rodríguez RM, Juillière Y, Candito M, Adjalla M, Gibelin P, Herbeth B et al. Association of MTRR A66G polymorphism (but not of MTHFR C677T and A1298C, MTR A2756G, TCN C776G) with homocysteine and coronary artery disease in the French population. *Thromb Haemost*. 2005;94(3):510-515. <https://doi.org/10.1160/TH05-04-0262>
- 22.- Zhang Z, Yu L, Li S, Liu J. Association Study of Polymorphisms in Genes Relevant to Vitamin B12 and Folate Metabolism with Childhood Autism Spectrum Disorder in a Han Chinese Population. *Med Sci Monit*. 2018;19(24):370-376. <https://doi.org/10.12659/msm.905567>.
- 23.- Mitchell ES, Conus N, Kaput J. B vitamin polymorphisms and behavior: Evidence of associations with neurodevelopment, depression, schizophrenia, bipolar disorder and cognitive decline. *Neurosci Biobehav Rev*. 2014;47:307–320. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.08.006>.
- 24.- Kaluzna-Czaplinska J, Zurawicz E, Michalska M, Rynkowsky J. A focus on homocysteine in autism. *Acta Biochim Pol*. 2013;60(2):137-142. [citado 17 mar 2020]. Disponible en: http://www.actabp.pl/pdf/2_2013/137.pdf
- 25.- Obeid R, McCaddon A, Herrmann W. The role of hyperhomocysteinemia and B vitamin deficiency in neurological and psychiatric diseases. *Clin Chem Lab Med*. 2007;45(12):1590-1606. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2007.356>
- 26.- Moustafa A, Hewedi D, Eissa A, Frydecka D, Misiak, B. Homocysteine levels in schizophrenia and affective disorders-

- focus on cognition. *Front Behav Neurosci.* 2014;8(343). <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00343>
- 27.- Puig-Alcaraza C, Fuentes-Albero M, Calderon J, Garrotes D, Cauli O. Increased homocysteine levels correlate with the communication deficit in children with autism spectrum disorder. *Psychiatry Research.* 2015;229(3):1031-1037. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2015.05.021>
- 28.- Rojas D. The role of glutamate and its receptors in autism and the use of glutamate receptor antagonists in treatment. *J Neural Transm.* 2014;121:891-905. <https://doi.org/10.1007/s00702-014-1216-0>.
- 29.- Rahmani Z, Fayyazi Bordbar MR, Dibaj M, Alimardani M, Moghbeli M. Genetic and molecular biology of autism spectrum disorder among Middle East population: a review. *Hum Genomics.* 2021;15(1):17. <https://doi.org/10.1186/s40246-021-00319-2>