

RELACIÓN DE NIVELES DE ZINC Y COBRE CON DISBIOSIS INTESTINAL EN NIÑOS CON TRASTORNO AUTISTA

Xiomara Moreno (1), María Fátima Garcés (2), Yraima Patiño (3), Betania Rodríguez (4), Celsy Hernández (5), Ana Márquez (6), Ma. Luisa Núñez (7), Karolina López (8).

Recibido: 22/12/2020
Aceptado: 20/02/2021

RESUMEN

Introducción: El desequilibrio de Zinc (Zn), Cobre (Cu) y la relación Zn/Cu se asocian a procesos inflamatorios sistémicos y locales en el organismo. La disbiosis en niños con trastornos del espectro autista (TEA), puede inducir inflamación intestinal favoreciendo la presencia de manifestaciones gastrointestinales y neuroconductuales. **Objetivo:** Evaluar los niveles de Zn y Cu séricos con la disbiosis para conocer si existe asociación entre los mismos y las manifestaciones gastrointestinales y neuroconductuales en niños con TEA. **Métodos:** Los niveles de Zn y Cu fueron evaluados por espectrofotometría de absorción atómica y la disbiosis por el método de cultivo, en una cohorte de 95 niños con TEA y 69 niños sanos de la misma edad y sexo, desde septiembre del 2018 hasta mayo del 2019. **Resultados:** Los niveles séricos de Zn, Cu y la relación Zn/Cu fueron más bajos en los niños con TEA en comparación con los controles ($p < 0.05$). Niveles bajos de Zn se vincularon con la disbiosis a expensas del filo Proteobacteria: *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* ($p < 0.05$). Niveles bajos de Cu se relacionaron con insomnio y berriches ($p < 0.05$). Niveles bajos de Zn y Cu se relacionaron con dolor abdominal ($p < 0.05$). La disbiosis estuvo vinculada con manifestaciones gastrointestinales y neuroconductuales ($p < 0.05$). **Conclusiones:** Los niveles bajos de Zn, Cu y la relación Zn/Cu, más la presencia de disbiosis por *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* actúan de manera sinérgica, generando alteraciones gastrointestinal y neuroconductual en niños con TEA.

Palabras clave: trastorno del espectro autista, cobre, zinc, microbiota gastrointestinal aeróbica, disbiosis, alteraciones neuroconductuales, patobionte.

RELATIONSHIP OF ZINC AND COPPER LEVELS WITH INTESTINAL DYSBIOSIS IN CHILDREN WITH AUTISTIC DISORDER

SUMMARY

Introduction: The imbalance of Zinc (Zn), Copper (Cu) and the Zn / Cu ratio are associated with systemic and local inflammatory processes in the body. Dysbiosis in children with autism spectrum disorders (ASD) can induce intestinal inflammation favoring the presence of gastrointestinal and neurobehavioral manifestations. **Objective:** To evaluate serum Zn and Cu levels with dysbiosis to find out if there is an association between them and gastrointestinal and neurobehavioral manifestations in children with ASD. **Methods:** Zn and Cu levels were evaluated by atomic absorption spectrophotometry and dysbiosis by culture method, in a cohort of 95 children with ASD and 69 healthy children of the same age and sex, from September 2018 to May 2018. 2019. **Results:** Serum levels of Zn, Cu and the Zn / Cu ratio were lower in children with ASD compared to controls ($p < 0.05$). Low levels of Zn were associated with dysbiosis at the expense of the phylum Proteobacteria: *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis* ($p < 0.05$). Low Cu levels were related to insomnia and tantrums ($p < 0.05$). Low levels of Zn and Cu were associated with abdominal pain ($p < 0.05$). Dysbiosis was associated with gastrointestinal and neurobehavioral manifestations ($p < 0.05$). **Conclusions:** The low levels of Zn, Cu and the Zn / Cu ratio, plus the presence of *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis* dysbiosis act synergistically, generating gastrointestinal and neurobehavioral alterations in children with ASD.

Key words: autism spectrum disorder, copper, zinc, aerobic gastrointestinal microbiota, dysbiosis, neurobehavioral disturbances, pathobiont.

1. Bioanalista. MSc en Micología Médica. Microbiólogo del Departamento de Microbiología Instituto Médico la Floresta. ORCID 0000-0002-5924-6158. E-mail: x.morenoc@hotmail.com
2. Bioanalista. Dra. en Ciencias Mención Bioquímica. Profesor Agregado Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas. Facultad de Medicina, Escuela de Bioanálisis, Universidad Central de Venezuela. ORCID 0000-0002-5113-598X. E-mail: mariafatimagarcés@hotmail.com
3. Bioanalista. Laboratorio Clínico Endoeste C.A. Caracas. Venezuela. ORCID 0000-0003-2300-0225. E-mail: yrapati20@gmail.com
4. Bioanalista. Fundación Jacinto Convit. Caracas. Venezuela. ORCID 0000-0002-7796-7450. E-mail: betaniarodriguez@gmail.com
5. 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. ORCID 0000-0001-7161-1835. E-mail: celsyhernandez@gmail.com
6. Médico Psiquiatra. Coordinadora Unidad de Autismo Maternidad Concepción Palacios. ORCID 0000-0002-7907-9254. E-mail: anaceciliamardu@gmail.com
7. Bioanalista. MSc. en Ciencias mención Genética Humana. Esp. en Estadística. Profesor Instructor Cátedra de Bioquímica B. Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. ORCID 0000-0003-4152-8402. E-mail: mluisanunezb@gmail.com
8. 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 corresponsal: MSc. Xiomara Moreno Calderón.

Teléfonos: 0212-2846897; 0426-1213570 / Correo electrónico: x.morenoc@hotmail.com; xmorenoc1356@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El Trastorno del Espectro Autista (TEA) está definido como un trastorno biológico del neurodesarrollo causando severas dificultades en la interacción social y en la comunicación; se asocia a conductas estereotipadas y limitación de intereses. Actualmente no está establecida su etiología (1), sin embargo, hay propuestas científicas que involucran alteraciones, metabólicas y microbiológicas que pudieran estar asociados a las conductas presentadas en pacientes con TEA (2,3).

Estudios han propuesto que ciertos metales pesados como el mercurio pueden jugar un papel importante en la patogenia del TEA; pero oligoelementos como el zinc (Zn) y cobre (Cu) han demostrado que son cruciales en el desarrollo cognitivo. Existen evidencias que niños con TEA pueden presentar un marcado incremento en la proporción de Zn y Cu en suero así como una deficiencia en niveles de Zn e incremento del Cu, presentando una baja relación Zn/Cu respecto a niños sanos, indicando una alteración en el metabolismo de estos micronutrientes en este grupo de niños (4-6). El exceso de Cu altera el equilibrio de Zn e interfiere con la producción de hormonas suprarrenales, debilitando así el sistema inmunológico, que se observa en individuos autistas (7). El equilibrio de estos micronutrientes, generan una serie de beneficios en el organismo humano, como una función adecuada del sistema inmune, cofactor en diversas reacciones enzimáticas, crecimiento celular, así como la síntesis y degradación de hidratos de carbono, proteínas y grasas; pero un desequilibrio puede interferir en el funcionamiento normal de los órganos y sistemas del cuerpo incluyendo el desarrollo y función del cerebro (5). El Zn y el Cu interactúan a nivel de la mucosa del intestino. Cambios en la microbiota intestinal (MI) y la función son comunes en pacientes con TEA. Por tanto, es concebible que la mala absorción debido a cambios patológicos en la mucosa intestinal juegue un papel importante en la deficiencia de Zn en el autismo (7). Un sobrecrecimiento de la microbiota patobionte o transitoria sobre la microbiota benéfica, puede provocar una desregulación del eje intestino-cerebro, generándose cambios en las conductas del neurodesarrollo y alteraciones gastrointestinales (2,3,7). Sin embargo, datos clínicos sobre la relación entre estos dos micronutrientes u oligoelementos con la MI en pacientes con TEA todavía son insuficientes. Por lo tanto, el presente estudio, se propone evaluar la relación entre niveles séricos de Zn y Cu con la disbiosis intestinal en niños con TEA sin tratamiento previo, con el fin de conocer si hay alteración de estos micronutrientes debido a un problema de absorción intestinal causado por la disbiosis, asociado a alteraciones gastrointestinales y neuroconductuales.

MÉTODOS

Estudio prospectivo, transversal y descriptivo de un grupo de niños diagnosticados con TEA y un grupo de niños sanos como control, realizado entre septiembre 2018 y mayo 2019.

Este 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 colaboración con la Unidad de Autismo “Negra Matea”, adscrito a la Maternidad Concepción Palacios, el Departamento de Microbiología del Instituto Médico La Floresta y la Unidad de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica Hospital General “Dr. Miguel Pérez Carreño”. El protocolo para desarrollar la presente investigación se apejó 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 séricos de Zn y Cu y la microbiota gastrointestinal aeróbica (MGIA) en una muestra intencional de 95 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”, presentar un 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 69 niños (aparentemente sanos) tomados de manera intencional, provenientes del Colegio “Patria de Bolívar”, ubicado en Santa Mónica-Caracas; con edades comprendidas 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.

Las muestras para la determinación de los niveles séricos de Zn y Cu, fueron realizadas en condiciones de ayuno, obtenidas mediante punción venosa en la región del antebrazo y recolectadas en tubos comerciales (Vacutainer® de BD Life Sciences) sin anticoagulante. Inmediatamente luego de la retracción del coágulo, la muestra se centrifugó 10 minutos a 3.000 xg. Una vez centrifugada, fue separada del paquete globular y alicuotada en tubos de reacción (Eppendorf) estériles y desionizados. Posteriormente, las alícuotas fueron conservadas a -70 °C hasta el momento de su análisis (8). Las determinaciones séricas de Zn y Cu fueron analizadas por un equipo de espectrometría de absorción atómica (Perkin Elmer Analyst 200, Norwalk, CT, EEUU). La técnica de espectrometría de absorción atómica empleada consistió en la medición de la especie atómica por absorción a una longitud de onda de 234,75 nm para el Cu, y de 213, 86 nm para Zn. Para llevar a cabo las determinaciones, todo el material de laboratorio utilizado fue tratado con ácido nítrico al 10 % durante doce horas, y posteriormente lavado cuatro veces con agua destilada desionizada. Los estándares de Zn y Cu fueron preparados según las especificaciones del manual de Perkin Elmer, utilizando glicerol al 10 %. Las concentraciones de los patrones fueron elegidas considerando los límites de cuantificación (Límite inferior de cuantificación y linealidad del método),

así como los valores de referencia y variaciones fisiopatológicas para cada uno de los analitos (9). Antes de llevar a cabo el análisis de las muestras, se determinó la precisión del sistema de medición mediante el análisis interdiario de un pool de muestras elaborado a partir de sueros de pacientes aparentemente sanos. Los valores de referencia para Zn y Cu empleados fueron: (0,78-1,55 ug/ml) y (1,33-2,06 ug/ml) respectivamente (8).

Para la evaluación de la MGIA se utilizó 1 gramo de heces por cada medio de transporte (Cary-Blair y Amies, Oxoid-U.S. A), la muestra fue tomada por los padres de acuerdo a un instructivo suministrado para la recolección, preservación y traslado. 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, Firmicute 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, síntomas gastrointestinales (diarrea, estreñimiento y dolor abdominal) y alteraciones de conductas del neurodesarrollo (aleteo, autoagresión, berrinches, insomnio y disminución de la capacidad verbal) provenientes de la historia clínica, referencias de los padres, el médico psiquiatra y gastroenterólogo tratante del protocolo y de la observación directa de los investigadores.

Para el análisis de datos se utilizó el programa estadístico SPSS versión 23 para Windows. La comparación de los analitos Zn y Cu (entre pacientes y controles), fue mediante la prueba t de Student, asumiendo igualdad de varianzas con distribución normal de los datos. Para conocer las asociaciones entre Zn, Cu, relación entre Zn/Cu, MGIA, alteraciones gastrointestinales y del neurodesarrollo en los pacientes con TEA, se utilizó asociación lineal por el coeficiente de correlación de Spearman, con un nivel de significación $p < 0,05$. También 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

En el presente estudio se realizaron determinaciones de Zn y Cu sérico en 96 niños con TEA, en edades comprendidas entre 2 y 14 años, con una media de 7 años; 82 (85 %) eran de género masculino y 14 (15 %) género femenino. La población control, estuvo conformada por 69 niños neurotípicos, con edades comprendida entre 2 y 12 años, con una media de 7 años; en este grupo 32 (46 %) era sexo masculino

y 37 (54%) sexo femenino.

Los resultados obtenidos de Zn, Cu y la relación Zn/Cu en los niños con TEA, estuvieron por debajo de los valores respecto al grupo control ($p < 0,05$) (Tabla 1).

Tabla 1. Niveles de Zinc, Cu (mg/L) y Relación Zinc/Cu en niños con Trastorno del Espectro Autista y grupo control sano.

Oligoelementos	Grupo Control	N control	Grupo en estudio	N estudio	p-valor
Zn	1,2049 ± 0,3075	34	0,9742 ± 0,2408	81	<0,005
Cu	1,6638 ± 0,2404	34	1,5126 ± 0,2576	96	<0,005
Zn/Cu	0,7379 ± 0,9926	34	0,6309 ± 0,1785	81	<0,005

Los datos se presentan con una media ± la desviación estándar y una significancia de $p < 0,005$

De los 96 niños con TEA, solo 62 (65 %) se realizaron estudio de disbiosis, de los cuales 52 (84 %) presentaron disbiosis en sus diferentes grados y 10 (16 %) no presentaron disbiosis. Mientras que de los 69 niños controles, solo 35 (51 %) se realizaron estudio de disbiosis y ninguno presentó disbiosis (Figura 1).

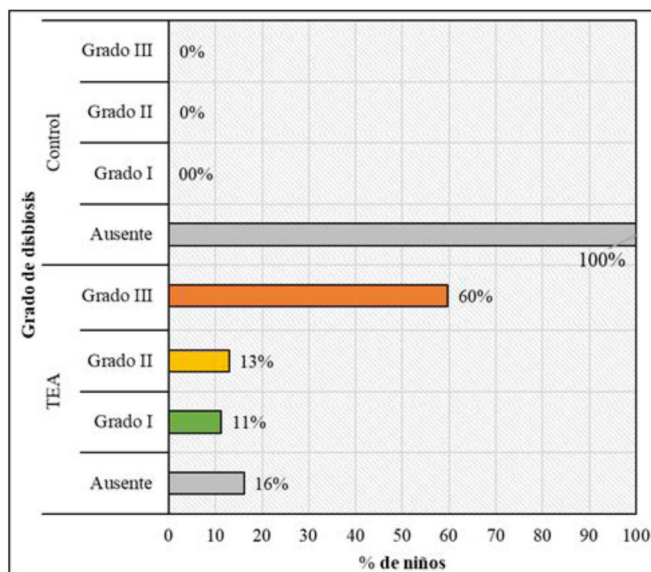


Figura 1. Grados de disbiosis en niños con Trastorno del espectro autista y grupo control sano

En cuanto a los microorganismos benéficos aislados en el estudio de la MGIA en niños TEA el crecimiento de *E. coli* como representante del filo Proteobacteria se encontró: normal 55 (89 %), disminuida 3 (5 %), y no detectable 4 (6 %); en el grupo control: normal 33 (94 %), disminuida 2 (6 %) y ningún paciente la tuvo no detectable. Así mismo, para *E. faecalis* como representante del filo Firmicute se encontró: normal 40 (65%), disminuido 10 (16%) y no detectable 12 (19 %) en niños con TEA; para el grupo control: normal 29 (83 %), disminuido 6 (17 %) y ningún paciente lo tuvo no detectable.

Del estudio de disbiosis en niños con TEA, se identificaron 34 especies de microorganismos, de las cuales solo 22 fueron causantes de disbiosis distribuidas de la siguiente ma-

nera: 16 (73 %) pertenece al filo Proteobacteria que incluyen bacterias gramnegativas, 4 (18 %) pertenecientes al filo Firmicute que incluyen bacterias grampositivas y 2 (9 %) pertenecen al filo Ascomycota constituido por especies del género *Cándida*. En cuanto a los microorganismos patobiontes o causantes de disbiosis se encontró que *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus* del grupo viridans y *Proteus mirabilis* fueron los microorganismos mayormente aislados en un 22 %, 21 % y 9 % respectivamente (Figura 2).

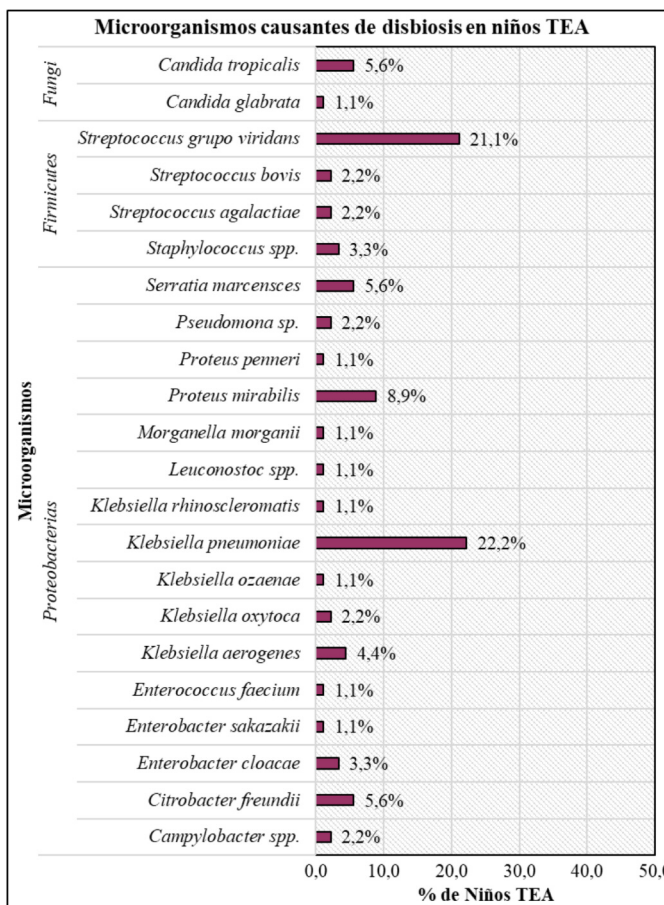


Figura 2. Microorganismos causantes de disbiosis en niños con Trastorno del Espectro Autista, de acuerdo al filo.

De acuerdo a las manifestaciones gastrointestinales se encontró que los niños con TEA comparten estas sintomatologías clínicas con el grupo control, sin embargo, es notorio que los niños con TEA presentan con mayor frecuencia este tipo de síntomas (Figura 3). Las conductas del neurodesarrollo evaluadas en los niños con TEA se observan en la figura 4.

La disbiosis presente en niños con TEA estuvo relacionada con cada uno de los filos bacterianos clasificados, y las manifestaciones gastrointestinales y neuroconductuales, evidenciando una significancia estadística de $p < 0,005$. Los niveles disminuidos de Zn se vincularon con la disbiosis presente en los niños con TEA ($p < 0,05$), a expensas del filo

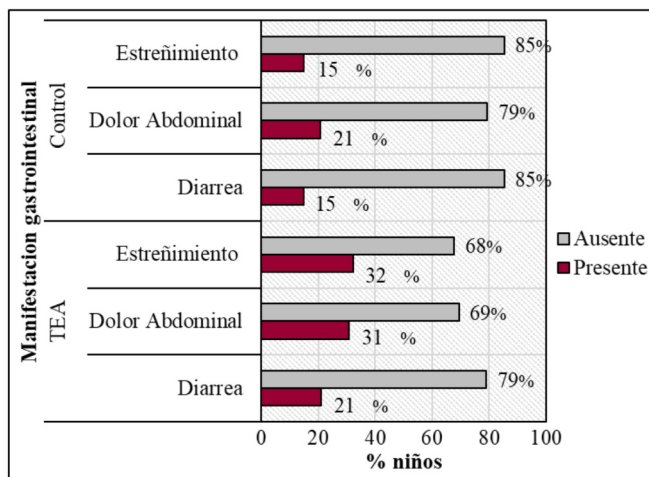


Figura 3. Manifestaciones gastrointestinales presentes en niños con Trastorno del Espectro Autista y grupo control sano.

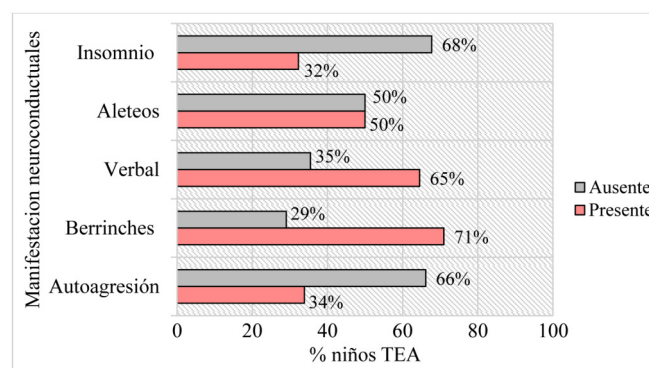


Figura 4. Manifestaciones neuroconductuales presentes en niños con Trastorno del Espectro Autista.

Proteobacteria (*Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis*). Niveles de Cu disminuidos estuvieron relacionados con el insomnio y los berrinches continuos ($p < 0,05$); los niveles bajos de Zn y Cu se relacionaron con dolor abdominal ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

En el presente estudio se encontró una mayor prevalencia de niños con TEA en relación con las niñas, concordando con estudios realizados a nivel nacional y mundial (2,11). Estudios han demostrado que la condición autista es cuatro veces mayor en niños genéticamente susceptibles que en niñas (4:1), así como factores cognitivos o neuroanatómicos. Además, que las evaluaciones de los síntomas autistas en las niñas pueden ser subidentificados por algunos instrumentos de medición del TEA. (11-14).

El 84 % de niños con TEA en el presente estudio presentaron disbiosis, resultados que concuerdan con los obtenidos por varios investigadores quienes demostraron un alto por-

centaje de disbiosis intestinal en niños con TEA respecto al grupo control (15,16). Esta alteración de la microbiota, puede estar relacionada con diversos factores, incluyendo una alimentación restringida, exposición elevada de antibióticos en edades tempranas, entre otros (11,17). La relación de la disbiosis encontrada en niños con TEA en el presente estudio con las manifestaciones gastrointestinales evaluadas concuerdan con las investigaciones hechas por Casaubon y colaboradores, donde el dolor abdominal y la diarrea fueron las manifestaciones gastrointestinales más frecuentes, refiriendo que conocer estos trastornos intestinales en estos pacientes se podría aplicar un tratamiento adecuado y oportuno mejorando así el comportamiento de la condición (18). De acuerdo con el estudio realizado por Torrijo y colaboradores, la irritabilidad y agresividad común en estos pacientes puede ser consecuencia de molestias gastrointestinales, entendiéndolas como una manera de expresión, motivado a que estos pacientes tienen una severa limitación en el habla y expresarán el dolor con comportamientos atípicos (19).

Al evaluar la MGIA en este estudio se evidenciaron 22 microorganismos en los niños con TEA, donde el 73 % pertenecía al filo Proteobacteria, 18 % al filo Firmicute y 9 % al filo Ascomycota, asociados a disbiosis intestinal, en contraste con estudios realizados en la Universidad de Arizona, donde el 97,2 % del total de secuencias clasificadas de muestras fecales de niños con TEA, su predominio fue Firmicute, Bacteroides, mientras que el filo Proteobacteria, ocupó el tercer lugar (20); pero similar a los resultados obtenidos por Moreno y colaboradores, Gondalia y colaboradores y por Adams y colaboradores., donde el filo Proteobacteria, fue el principal causante de disbiosis (16,21,22).

Del filo Proteobacteria, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* fueron las bacterias más comunes aisladas en esta investigación, encontrándose en un 22,2 % y 8,9 % de los niños con TEA respectivamente. Se ha evidenciado en los últimos años que estas dos bacterias pantobiontes, son capaces de generar afecciones inflamatorias crónicas. Estas enterobacteriales se relacionan con inflamación local y sistémica generada por los lipopolisacáridos (LPS) presentes en su membrana externa que inducen la síntesis de citoquinas proinflamatorias, por lo que pueden activar el sistema inmunológico, promover enfermedades inflamatorias y a su vez generar alteraciones neuroconductuales en los niños con TEA (23-25).

De los tres filos bacterianos encontrados en este estudio, el filo Proteobacteria se relacionó con bajos niveles séricos de Zn, debido a la necesidad de las bacterias gramnegativas de adquirirlo (7). Las bacterias según la concentración de Zn que encuentren en el microambiente deberán sintetizar transportadores con el fin de regular las concentraciones del metal, por lo que este oligoelemento es utilizado como cofactor por numerosas enzimas presentes en el espacio periplásmico (26).

El Zn en el presente estudio muestra niveles bajos en los niños TEA, con respecto al grupo control. Estos resultados

concuerdan con el estudio de Li et al., quienes realizaron una evaluación de los niveles de Zn y Cu sérico en 60 niños normotípicos y 60 niños con TEA, refiriendo que los niveles séricos de Zn y la relación Zn / Cu fue más bajo en los niños con TEA respecto al grupo control, debido a que la deficiencia de Zn contribuye al mal funcionamiento del sistema neurotransmisor, disminuyendo la actividad enzimática gastrointestinal y aumentando el estrés oxidativo (27). Esta concordancia de resultados con los obtenidos en el presente estudio, orientan a pensar que la deficiencia de Zn en estos pacientes puede deberse, no solamente a la pérdida de factores nutricionales, sino a enfermedades gastrointestinales incluyendo el síndrome de mala absorción que impide la adquisición nutricional de este oligoelemento y a la utilización del mismo por parte de la microbiota patobionte (7,11,28).

El Zn es un antiinflamatorio por excelencia, una deficiencia de éste puede generar inflamación sistémica y local en el organismo (7); más la disbiosis derivada en esta investigación como desequilibrio de la MGIA en pacientes con autismo, se generan efectos negativos incluyendo una alteración tanto en la inmunidad local como en la sistémica conduciendo a enfermedades gastrointestinales comunes en pacientes con TEA como el dolor abdominal, encontrado en la presente investigación.

Por otro parte, los bajos niveles de Cu sérico obtenidos en este estudio difieren de varias investigaciones, quienes describen un aumento significativo de Cu sérico en pacientes con TEA cuando la concentración de Zn se encuentra disminuida (7,27,29). Necesariamente niveles bajos de Cu no son indicativos de que los niveles de Zn estén elevados o disminuidos. Actualmente existen investigaciones que reflejan una concentración de Cu dentro del intervalo de referencia, sin diferencia significativa entre pacientes con TEA y grupo control (30,31). La deficiencia de Cu puede ser de origen genético o más frecuente como fenómeno adquirido. Una escasa absorción del Cu se relaciona con una dieta baja de este oligoelemento. Curiosamente, las manifestaciones neurológicas en humanos producidas por la deficiencia adquirida de Cu, han sido objeto de estudio. La patología más común es una mielopatía que se presenta con movimientos espásmicos y ataxia sensorial, así como una neuropatía periférica aislada y desmielinización del sistema nervioso central con posibles consecuencias a nivel del neurodesarrollo (32). En este estudio los niveles bajos de Cu fueron asociados con los berrinches e insomnio continuo, dos alteraciones del neurodesarrollo comúnmente reflejados en niños con TEA.

Los niveles de Zn, Cu y la relación Zn/Cu alterados, sumado al marcado incremento de microorganismos patobiontes causantes de disbiosis como *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* indican que ambos desequilibrios actúan de manera sinérgica, generando alteraciones a nivel gastrointestinal y neuroconductual en niños con TEA en esta investigación. Los niños con TEA tienen más riesgo de desarrollar un trastorno en la alimentación, siendo la dieta selectiva la más

frecuente. Estas alteraciones pueden pasar inadvertidas ya que no causan compromiso orgánico a corto plazo. Sin embargo, los pacientes se encuentran en riesgo de complicaciones a largo plazo, en especial por las deficiencias de ciertos micronutrientes como el Zn y el Cu. Cabe destacar, que no se conoce quien pudiera iniciar este desequilibrio, si un desbalance de Zn/Cu o un desequilibrio de la MGIA, los cuales conllevan a que ocurran alteraciones a nivel gastrointestinal y neuroconductual en individuos con TEA.

REFERENCIAS

- American Psychiatric Association. *neurodevelopment disorders en: diagnostic and statistical Manual of Mental disorders*, 5th edition. Washington, DC: American Psychiatric Publishing, Inc., 2014. [consultado en: 20 de enero de 2020]. Disponible en: <https://dsm.psychiatryonline.org/doi/full/10.1176/appi.books.9780890425596.dsm.01>.
- Moreno X, Olivares A, Sánchez R, Santamaría G, Garcés F, Márquez A, et al. Disbiosis en niños con Trastorno Autista antes y después de un tratamiento biológico y nutricional. *Arch Venez Puer Ped*. 2019; 82 (1):15-20.
- Xu M., Xu X., Li J, Li F. Association between Gut Microbiota and Autism Spectrum Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Psychiatr*. 2019. doi.org/10.3389/fpsy.2019.00473.
- Ming X, Stein P, Barnes V, Rhodes N, Lining G. Metabolic Perturbance in Autism Spectrum Disorders: A Metabolomics Study. *J Proteome Res*. 2012; 11(12): 5856-62. doi:10.1021/pr300910n
- Groff J and Gropper S. *Advanced Human Nutrition*, 3rd ed. Wadsworth Thomson Learning United Kingdom. 2000; 419-440.
- Crăciun EC, Björklund G, Tinkov AA, Urbina MA, Skalny AV, Rad F, et al. Evaluation of whole blood zinc and copper levels in children with autism spectrum disorder. *Metabolic Brain Disease*. 2016; 31(4), 887–890. doi:10.1007/s11011-016-9823-0
- Björklund G. The role of zinc and copper in autism spectrum disorders. *Acta Neurobiol Exp*. 2013 [consultado en: 20 de enero de 2020]; 73 (2): 225-236. PMID: 23823984. Disponible en: <https://www.ane.pl/cookie?page=linkout.php?pii=7315>.
- Garcés MF, Hernández C, Patiño Y, Rodríguez B, Márquez A, Bustamante Y, et al. Valores de referencia de zinc y cobre séricos y la relación zinc/cobre en niños en edad escolar. *A C SVBE*. 2019 [consultado en: 20 de enero de 2020]; 22 (2): 37-46. Disponible en: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ACSVBE/article/view/21456/144814487750
- Herrero E, Rodríguez A. Metodología recomendada para la medición del contenido de zinc en especímenes biológicos. *Química Clínica*. 2003 [consultado en: 20 de enero de 2020]; 22 (1) 13- 18. Disponible en: <https://www.seqc.es/download/doc/126/2891/140224698/56218/cms/metodologia-recomendada-para-la-medicion-del-contenido-de-zinc-en-liquidos-biologicos-2003.pdf/>.
- 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 [consultado en: 21 de enero de 2020]; 69 (2):36-44. Disponible en: <http://www.genrevista.org/index.php/GEN/article/view/12/4>.
- Alkhalidy H, Abushaikha A, Alnaser K, Obeidat MD, Islam Al-Shami I. Nutritional Status of Pre-school Children and Determinant Factors of Autism: A Case-Control Study. *Front Nutr*. 2021. doi.org/10.3389/fnut.2021.627011.
- Dodds L, Fell DB, Shea S, Armson BA, Allen AC, Bryson S. The role of prenatal, obstetric and neonatal factors in the development of autism. *J Autism Dev Disord*. 2011; 41 (7): 891-902. doi:10.1007/s10803-010-1114-8.
- Beggiato A, Peyre H, Maruani A, Scheid I, Rastam M, Amsellem F, et al. Gender differences in autism spectrum disorders: Divergence among specific core symptoms. *Autism Res*. 2017; 10 (4):680-689. doi: 10.1002/aur.1715.
- Baron-Cohen S, Knickmeyer R, Belmonte M. Sex differences in the brain: implications for explaining autism. *Science*. 2005; 310(5749):819-23. doi:10.1126/science.1115455.
- Strati F, Cavalieri D, Albanese D, De-Felipe C, Donati C, Hayek J, et al. New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. *Microbiome*. 2017; 5(1): 24. doi:10.1186/s40168-017-0242-1.
- Moreno X, Santamaría 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 [consultado en: 21 de enero de 2020]; 21 (2): 36-44. Disponible en: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ACSVBE/article/view/21232.
- Finegold SM, Molitoris D, Song Y, Liu C, Vaisanen M, Bolte E, et al. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clin Infect Dis*. 2002; 35: S6-S16. doi:10.1086/341914.
- Casaubon P, Goldbbard D. Manifestaciones gastrointestinales en niños con trastorno de espectro autista. *An Med Mex*. 2015 [consultado en: 20 de enero de 2020]; 60 (4): 266-272. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/abc/bc-2015/bc154f.pdf>.
- Torrijo B. Influencia de la microbiota en pacientes con trastornos del comportamiento. Tesis de Maestría. España. Universidad de Cantabria. 2017. 16 pp. Disponible en: <https://repositorio.unican.es/xmlui/bitstream/handle/10902/12432/TorrijoBuenoBeatriz.pdf?sequence=4>.
- Kang DW, Park JG, Ilhan ZE, Wallstrom G, Labaer J, Adams JB, et al. Reduced incidence of Prevotella and other fermenters in intestinal microflora of autistic children. *PLoS One*. 2013; 8 (7): e68322. doi.org/10.1371/journal.pone.0068322.
- Gondalia SV, Palombo EA, Knowles SR. Molecular Characterization of Gastrointestinal Microbiota of children with autism (with and without gastrointestinal dysfunction) and their neurotypical siblings. *Autism Res*. 2012; 5 (6): 419-427. doi: 10.1002/aur.1253.
- Adams A, Johansen L, Powell L, Quig D, Rubin RA. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism-comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterology*. 2011; 11 (22): 1333-1341. doi: 10.1186/1471-230X-11-22.
- Gupta VK, Paul S, Dutta C. Geography, Ethnicity or Subsistence-Specific Variations in Human Microbiome Composition and Diversity. *Front Microbiol*. 2017; 8:1162. doi:10.3389/fmicb.2017.01162.
- Kwan Chan Y, Estaki M, Gilbson D. Consecuencias clínicas de la disbiosis inducida por la dieta. *Ann Nutr Metab*. 2013; 63: 28-40. doi:10.1159/000354902.
- Chow J, Haiging T, Mazmanian S. Pathobionts of the gastrointestinal microbiota and inflammatory disease. *Curr Opin Immunol*. 2011; 23 (4): 473-480. doi:10.1016/j.coi.2011.07.010.
- Garret W, Punit S, Gallini C, Michaud M, Zhang D, Lord G, et al. Colitis-associated colorectal cancer driven by T-bet deficiency in dendritic cells. *Cancer Cell*. 2009; 16 (3): 208-219. doi: 10.1016/j.ccr.2009.07.015.
- Li S, Wang J, Björklund B, Zhao W, Yin C. Serum copper and

- zinc levels in individuals with autism spectrum disorders. *Rev Neuro Report*. 2014; 25 (15): 1216-1220. doi:10.1097/WNR.0000000000000251/.
28. Prasad A. The role of zinc in gastrointestinal and liver disease. *Clin Gastroenterol*. 1983 [consultado en: 20 de enero de 2020]; 12 (3): 713-741. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6616939/>.
 29. Russo A, De Vito R. Analysis of Copper and Zinc Plasma Concentration and the Efficacy of Zinc Therapy in Individuals with Asperger's Syndrome, Pervasive Developmental Disorder Not Otherwise Specified (PDD-NOS) and Autism. *Rev Biomark Insights*. 2011; 6: 127-133. doi.org/10.4137/BMI.S7286.
 30. Charris E. Determinación de elementos esenciales en cabello y suero sanguíneo de niños con trastorno del espectro autista (tea) mediante espectrometría de emisión óptica con plasma inductivamente acoplado (ICP-OES). [Trabajo Especial de Investigación]. Escuela de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas. 2015.
 31. Wu LL, Mao SS, Lin X, Yang RW, Zhu ZW. Evaluation of Whole Blood Trace Element Levels in Chinese Children with Autism Spectrum Disorder. *Biol Trace Elem Res*. 2019; (2): 269-275. doi:10.1007/s12011-018-1615-4.
 32. Sáez- Pérez L. Optimización en el diagnóstico de deficiencia de cobre en paciente crítico. Aplicación de Quantum Dot a la determinación de cobre en muestras biológicas. Tesis Doctoral. Granada. Universidad de Granada, 2013. 21-30 p.